

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 21/02/2022.

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Campus de Botucatu
Instituto de Biociências



**SISTEMA FOLICULAR: UM NOVO PROTOCOLO PARA A MATURAÇÃO
OOCITÁRIA *IN VITRO*. EFEITOS NA DIFERENCIAÇÃO DO COMPLEXO
CUMULUS-OÓCITO E PRODUÇÃO EMBRIONÁRIA**

ANA CAROLINE SILVA SOARES

Botucatu – SP

2020

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Campus de Botucatu
Instituto de Biociências

**SISTEMA FOLICULAR: UM NOVO PROTOCOLO PARA A MATURAÇÃO
OOCITÁRIA *IN VITRO*. EFEITOS NA DIFERENCIAÇÃO DO COMPLEXO
CUMULUS-OÓCITO E PRODUÇÃO EMBRIONÁRIA**

ANA CAROLINE SILVA SOARES

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. Dr. José Buratini Junior
Co-orientador: Prof. Dr. Alberto Maria Luciano

Botucatu – SP

2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Soares, Ana Caroline Silva.

Sistema folicular : um novo protocolo para a maturação oocitária *in vitro*. Efeitos na diferenciação do complexo cumulus-oócito e produção embrionária / Ana Caroline Silva Soares. - Botucatu, 2020

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: José Buratini Junior
Coorientador: Alberto Maria Luciano
Capes: 21000000

1. Técnicas *In Vitro*. 2. Técnicas de maturação *in vitro* de oócitos. 3. Oócitos. 4. Oogênese.

Palavras-chave: OPU; PIV; maturação *in vitro*; oócito; vesícula germinativa.

“Nada na vida deve ser temido, somente compreendido.
Agora é hora de compreender mais para temer menos.”

Marie Curie

Sumário

Agradecimentos.....	06
Resumo.....	07
Introdução.....	08
Revisão de Literatura.....	09
<i>Fisiologia do ciclo estral bovino</i>	09
<i>Fisiologia da maturação</i>	14
<i>Configuração da cromatina em vesícula germinativa</i>	18
Hipótese.....	22
Objetivo geral.....	22
Capítulo I.....	23
<i>Abstract</i>	24
<i>Introduction</i>	24
<i>Materials and methods</i>	25
<i>Results</i>	26
<i>Discussion</i>	28
<i>References</i>	29
Capítulo II.....	31
<i>Abstract</i>	34
<i>Introduction</i>	35
<i>Materials and methods</i>	37
<i>Results</i>	41
<i>Discussion</i>	42
<i>References</i>	46
<i>Figures</i>	50
Considerações Finais.....	54
Referências.....	56

Agradecimentos

Aos meus familiares por se fazerem presentes apesar da distância e pelo apoio e amor incondicional. Ao meu orientador, José Buratini pela confiança e companheirismo que me motivam a seguir com entusiasmo. Aos co-orientadores Alberto Luciano e Valentina Lodde, por formar e transformar minha visão sobre a ciência e sobre a vida. Ao Eduardo por ser exemplo na vida acadêmica e no amor, caminhar de mãos dadas com você deixa a vida mais leve. Aos colegas de laboratório, Thaisy, Jhessica, Isabela e Isabella, pela prontidão e disposição com os problemas do dia a dia e madrugada a fora. Mais uma vez à Thaisy, pelo sertanejo e por ter assumido a responsabilidade. Ao Rodrigo por ser amigo fiel e estar comigo no bom e mau comportamento, nas boas e péssimas ideias durante todo o caminho acadêmico. Às companheiras de jornada Fernanda, Priscila e Elisa por dividirem as angústias, vitórias e insumos laboratoriais, pela mão amiga na vida e nos experimentos; compartilhar tantos momentos com vocês deixou a vida mais feliz. Ao Ramon, por ser o Ramon. Ao Anthony por dividir as alunas, o conhecimento e a amizade. Aos amigos do “coffee break”, Vinícius, Maycon, Larissa, Gabriela e Rie pelos momentos de alegria e descontração mesmo nos dias ruins. À Fernanda Drudi por compartilhar a casa e pela intensa amizade. Aos professores e funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, pelo apoio diário e dedicação ao trabalho. Aos membros da banca pela disponibilidade e por me permitirem a oportunidade de enriquecer o conhecimento. À Capes e à Fapesp, pela concessão da bolsa de doutorado (2016/21671-9) e pelo suporte financeiro para realização deste trabalho (2017/07588-4).

Resumo

A produção *in vitro* (PIV) de embriões bovinos tem sido utilizada para aumentar a fertilidade e a velocidade do melhoramento genético em rebanhos de corte e leite, embora sua eficiência seja reconhecidamente baixa, principalmente em rebanhos leiteiros. A maturação oocitária *in vitro* (MIV) é considerada o principal gargalo tecnológico da PIV já que os protocolos vigentes não refletem a fisiologia e determinam descompasso entre a maturação nuclear e citoplasmática do oócito. Os oócitos submetidos à MIV são oriundos de folículos em diferentes fases de desenvolvimento e heterogêneos quanto ao grau de condensação da cromatina e estoques de transcritos importantes para o desenvolvimento embrionário inicial. Este projeto investigou um novo sistema para MIV, que inclui estratégia para obtenção de população homogênea de oócitos associado a um sistema de cultivo sequencial ajustado à fase de maturação dos oócitos recuperados, denominado fase pré-MIV do Sistema Folicular, que mimetiza as condições intrafoliculares antes da ovulação. Os experimentos aqui propostos têm como objetivo a caracterização da população oocitária quanto a configuração da cromatina nas raças Holandesa e Nelore, além da validação de uma estratégia para obtenção de oócitos homogêneos de doadoras Holandesas com e sem a associação da fase pré-MIV do Sistema Folicular na modulação do estágio de vesícula germinativa (GV – “germinal vesicle”). Este projeto direciona o estudo para o desenvolvimento e aperfeiçoamento de protocolos para a sincronização ovariana das vacas doadoras e para os cultivos sequenciais, que buscam mimetizar as condições intrafoliculares visando melhorar as taxas de blastocisto tanto em quantidade quanto em qualidade.

Introdução

O emprego das biotécnicas da reprodução tem como um de seus objetivos otimizar o potencial reprodutivo da fêmea por meio do aproveitamento daquelas células germinativas que entrariam em atresia fisiológica, uma vez que os ovários de um animal em idade reprodutiva estão repletos de folículos imaturos que não chegam a ovular. Com isto, diversas biotecnologias reprodutivas têm sido aprimoradas, tais como superovulação seguida de transferência de embriões (TE) e produção *in vitro* de embriões (PIV), esta última compreendendo a maturação *in vitro* (MIV), a fecundação *in vitro* (FIV) e o cultivo *in vitro* (CIV). Essas biotecnologias, embora comercialmente viáveis, tiveram progresso limitado nos últimos anos, e o aumento da eficiência destas teria grande impacto sobre a produção de embriões bovinos e, conseqüentemente, sobre a produtividade dos rebanhos. Especialmente agora, com a disponibilidade de novas abordagens genômicas para a identificação precoce de animais superiores, o que impulsiona o melhoramento animal (Webb and Buratini 2016).

Contudo, os sistemas de cultivo não conseguem mimetizar em laboratório o ambiente *in vivo*, o que resulta em descompasso entre a maturação nuclear e citoplasmática dos oócitos e alterações epigenéticas nos embriões, que comprometem a eficiência da PIV (Machatkova *et al.* 2004). A maturação oocitária apresenta-se como um dos principais gargalos da PIV, já que sua eficiência é amplamente superior quando realizada *in vivo* (Rizos *et al.* 2002; Farin *et al.* 2007). O ambiente folicular permite que o oócito se mantenha em parada meiótica, denominada também como estágio de vesícula germinativa (GV – “germinal vesicle”) e, posteriormente, após o pico ovulatório do hormônio luteinizante (LH), fatores intrafoliculares induzem a retomada da meiose e a diferenciação do cumulus (revisado por Gilchrist 2011).

Como descrito por Lodde *et al.* 2007, a condensação da cromatina de oócitos bovinos no estágio de GV ocorre de maneira gradual até a quebra da vesícula germinativa (GVBD – “germinal vesicle breakdown”). A crescente condensação da cromatina é acompanhada pela redução da atividade transcricional do oócito em fases sequenciais conhecidas como GV0, GV1, GV2 e GV3. A grande maioria dos oócitos presentes em folículos antrais jovens encontra-se em GV0, quando são transcricionalmente ativos, mas incapazes de progredir até a meiose II (MII). A competência para completar a MII e para a fecundação aumenta gradativamente entre GV1 e GV3. Oócitos bovinos obtidos *post mortem* a partir de ovários de abatedouro ou através de aspiração folicular *in vivo* por OPU (“ovum pick up”) em momentos aleatórios do ciclo estral são heterogêneos do ponto de vista da fase de maturação nuclear, distribuindo-se entre GV0 e GV3. Os protocolos correntes para MIV-PIV submetem essa população heterogênea de oócitos a um protocolo de cultivo único com estímulo gonadotrófico suprafisiológico que, independentemente da fase de maturação em que o oócito se encontra, precipita a interrupção da comunicação cumulus-oócito e, conseqüentemente, a condensação da cromatina, antes que os transcritos oocitários necessários para sustentar o desenvolvimento embrionário inicial se acumulem (Lodde *et al.* 2007, 2008; Luciano *et al.* 2011). O conhecimento dos mecanismos intrafoliculares que controlam a maturação oocitária e sua aplicação nos sistemas de cultivo apresenta-se como alternativa promissora para a melhoria da MIV, que deve proporcionar a progressão da meiose em perfeita sincronia com a maturação do citoplasma do oócito (Sánchez and Smitz 2012).

Visando melhorar a MIV, várias modificações no sistema de cultivo têm sido propostas, tais como o estabelecimento de duas fases de cultivo, incluindo uma fase de pré-maturação do complexo cumulus-oócito na presença de inibidores da maturação nuclear,

majoritariamente inibidores de fosfodiesterases oocitárias ou moduladores de monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) (Albuz *et al.* 2010; Richani *et al.* 2014; Santiquet *et al.* 2017; Razza *et al.* 2018). Esses agentes farmacológicos elevam a concentração de AMPC no oócito, o que retarda a retomada da meiose (Sirard and Coenen 1993; Machatkova *et al.* 2004).

Recentemente nosso laboratório iniciou o desenvolvimento de um sistema para MIV com duas fases de cultivo denominado Sistema Folicular. O intuito do Sistema Folicular é expor, em um primeiro momento, os complexos cumulus-oócito (COCs) a um ambiente semelhante ao encontrado no folículo dominante, capaz de promover melhor sintonia entre a maturação nuclear e citoplasmática do oócito, bem como a diferenciação adequada das células do cumulus e a manutenção funcional das junções comunicantes entre cumulus e oócito (fase pré-MIV). Em seguida, na segunda fase do cultivo (fase MIV), o Sistema Folicular objetiva induzir a maturação final do COC pela ativação da cascata bioquímica e molecular de indução ovulatória iniciada nas células do cumulus por meio de agentes fisiológicos (Soares *et al.* 2017). Associado ao Sistema Folicular, utilizamos neste trabalho estratégias para a sincronização da atividade folicular na vaca doadora antes da OPU a fim de proporcionar uma população mais homogênea de oócitos e em estágio de maturação compatível com o sistema de cultivo.

O presente trabalho teve como objetivo identificar os padrões de configuração da cromatina em estágio de GV em gado de leite *Bos taurus* (Holandês) e de corte *Bos indicus* (Nelore). Além da validação de protocolo de sincronização da atividade folicular e avaliação da produção embrionária em doadoras da raça Holandesa, também avaliamos parâmetros da associação da sincronização com a fase pré-MIV do Sistema Folicular. Neste trabalho, o foco principal dos estudos são vacas Holandesas devido às taxas extremamente baixas atingidas

por esta raça na PIV em virtude de sua baixa qualidade oocitária inerente a condições metabólicas particulares (Sartori *et al.* 2010; Leroy *et al.* 2011; Baruselli *et al.* 2012).

Considerações finais

Ao longo do desenvolvimento deste projeto, algumas alterações precisaram ser feitas para melhorar o conteúdo do trabalho. Substituímos a investigação dos efeitos do sistema folicular sobre a expressão gênica nas células do cumulus, como citado no título do trabalho, por uma série de experimentos a campo que permitiram o aperfeiçoamento das estratégias de sincronização para a raça Holandesa, além de uma estratégia capaz de modular o estágio de GV por meio de cultivo pré maturação *in vitro*, e os impactos do protocolo sobre a produção e qualidade embrionária.

Nossos resultados demonstram relatos nunca citados na literatura, como a ocorrência de diferentes padrões de configuração da cromatina na população de oócitos recuperados em um dia aleatório do ciclo estral entre vacas Nelore e Holandesa, elucidando mais um parâmetro dentre as diferenças na fisiologia reprodutiva nestas duas raças. Esses padrões distintos podem ajudar a explicar, pelo menos em parte, o desempenho superior das doadoras Nelore em protocolos para PIV. Além disso, desenvolvemos um protocolo de sincronização para vacas Holandesas que proporciona a obtenção de uma população oocitária majoritariamente em GV2 e com maior competência para o desenvolvimento, e a modulação dessa população quando associada à fase pré-MIV de cultivo do sistema folicular resulta em uma população de oócitos predominantemente em GV3.

Nossos achados corroboram com trabalhos anteriores que indicaram que o estágio de GV2 representa a categoria mais preparada para o desenvolvimento subsequente, sendo considerado o “padrão ouro” para a PIV. Demonstramos que quando a população de oócitos submetidos à MIV se apresenta majoritariamente em estágio de GV2, pode ser alcançado um desempenho muito maior, aumentando a taxa de blastocisto em cerca de 90% quando

comparada à obtida utilizando uma população de oócitos não sincronizada. Além disso, a qualidade embrionária tende a aumentar também.

Em conclusão, os dados aqui apresentados contribuem para elucidar diferenças na fisiologia reprodutiva e no desempenho entre raças bovinas, além de revelar que estratégias capazes de modular a população de oócitos em relação à configuração da cromatina provam ser uma ferramenta importante para identificar as necessidades específicas de cada categoria e, em seguida, cultivá-las com fatores que melhorem sua competência para desenvolvimento. Essa abordagem fomenta iniciativas atreladas ao desenvolvimento de protocolos que podem ser adotados para cada situação específica. Identificar e explorar esses parâmetros é de extrema importância para o aprimoramento de biotecnologias reprodutivas.

Referências

- Aardema H., Roelen B. A., van Tol H. T., Oei C. H., Gadella B. M., and Vos P. L. (2013). Follicular 17 β -estradiol and progesterone concentrations and degree of cumulus cell expansion as predictors of in vivo-matured oocyte developmental competence in superstimulated heifers. *Theriogenology* **80**, 576–583. doi:10.1016/j.theriogenology.2013.05.025
- Albertini D. F., Sanfins A., and Combelles C. M. H. (2003). Origins and manifestations of oocyte maturation competencies. *Reprod Biomed Online* **6**, 410–415. doi:10.1016/S1472-6483(10)62159-1
- Albuz F. K., Sasseville M., Lane M., Armstrong D. T., Thompson J. G., and Gilchrist R. B. (2010). Simulated physiological oocyte maturation (SPOM): a novel in vitro maturation system that substantially improves embryo yield and pregnancy outcomes. *Hum Reprod* **25**, 2999–3011. doi:10.1093/humrep/deq246
- Ali A., and Sirard M. A. (2002). The effects of 17beta-estradiol and protein supplement on the response to purified and recombinant follicle stimulating hormone in bovine oocytes. *Zygote* **10**, 65–71. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11964093>
- Aparicio I. M., Garcia-Herreros M., O’Shea L. C., Hensey C., Lonergan P., and Fair T. (2011). Expression, regulation, and function of progesterone receptors in bovine cumulus oocyte complexes during in vitro maturation. *Biol Reprod* **84**, 910–921. doi:10.1095/biolreprod.110.087411
- Baruselli P. S., Gimenes L. U., and Sales J. N. S. (2007). Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. *Rev. Bras. Reprodução Anim.* **31**, 205–211.
- Baruselli P. S., Sá Filho M. F., Ferreira R. M., Sales J. N., Gimenes L. U., Vieira L. M., Mendanha M. F., and Bó G. A. (2012). Manipulation of follicle development to ensure optimal oocyte quality and conception rates in cattle. *Reprod Domest Anim* **47 Suppl 4**, 134–141. doi:10.1111/j.1439-0531.2012.02067.x
- Beaumont HM and Mandl AM (1962). A quantitative and cytological study of oögonia and oocytes

- in the foetal and neonatal rat. *Proc R Soc L. B.* **155**, 557–579.
- Ben-Ami I., Freimann S., Armon L., Dantes A., Strassburger D., Friedler S., Raziel A., Seger R., Ron-El R., and Amsterdam A. (2006). PGE2 up-regulates EGF-like growth factor biosynthesis in human granulosa cells: new insights into the coordination between PGE2 and LH in ovulation. *Mol Hum Reprod* **12**, 593–599. doi:10.1093/molehr/gal068
- Boer H. M. T., Stötzel C., Röblitz S., Deuflhard P., Veerkamp R. F., and Woelders H. (2011). A simple mathematical model of the bovine estrous cycle: Follicle development and endocrine interactions. *J. Theor. Biol.* **278**, 20–31. doi:10.1016/j.jtbi.2011.02.021
- Caixeta E. S., Machado M. F., Ripamonte P., Price C., and Buratini J. (2013). Effects of FSH on the expression of receptors for oocyte-secreted factors and members of the EGF-like family during in vitro maturation in cattle. *Reprod. Fertil. Dev.* **25**, 890–899. doi:10.1071/RD12125
- Colazo M. G., and Mapletoft R. (2014). Fisiología del Ciclo Estral Bovino. *Cienc. Vet.* **16**, 31–46. doi:10.19137/cienvet2014-1623
- Conti M., Hsieh M., Park J. Y., and Su Y. Q. (2006). Role of the epidermal growth factor network in ovarian follicles. *Mol. Endocrinol.* **20**, 715–723. doi:10.1210/me.2005-0185
- Coticchio G., Albertini D. F., and De Santis L. (2013). Oogenesis. *Oogenesis* 1–353. doi:10.1007/978-0-85729-826-3
- Dieci C., Lodde V., Labreque R., Dufort I., Tessaro I., Sirard M. A., and Luciano A. M. (2016). Differences in cumulus cell gene expression indicate the benefit of a pre-maturation step to improve in-vitro bovine embryo production. *Mol. Hum. Reprod.* **22**, 882–897. doi:10.1093/molehr/gaw055
- Farin C. E., Rodriguez K. F., Alexander J. E., Hockney J. E., Herrick J. R., and Kennedy-Stoskopf S. (2007). The role of transcription in EGF- and FSH-mediated oocyte maturation in vitro. *Anim Reprod Sci* **98**, 97–112. doi:10.1016/j.anireprosci.2006.10.007
- Ferreira E. M., Vireque A. A., Adona P. R., Meirelles F. V., Ferriani R. A., and Navarro P. A. A. S. (2009). Cytoplasmic maturation of bovine oocytes: Structural and biochemical modifications

- and acquisition of developmental competence. *Theriogenology* **71**, 836–848.
doi:10.1016/j.theriogenology.2008.10.023
- Forde N., Beltman M. E., Lonergan P., Diskin M., Roche J. F., and Crowe M. A. (2011). Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Anim. Reprod. Sci.* **124**, 163–169.
doi:10.1016/j.anireprosci.2010.08.025
- Fortune J. E., Rivera G. M., and Yang M. Y. (2004). Follicular development: The role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim. Reprod. Sci.* **82–83**, 109–126. doi:10.1016/j.anireprosci.2004.04.031
- Franciosi F., Coticchio G., Lodde V., Tessaro I., Modina S. C., Fadini R., Dal Canto M., Renzini M. M., Albertini D. F., and Luciano A. M. (2014). Natriuretic peptide precursor C delays meiotic resumption and sustains gap junction-mediated communication in bovine cumulus-enclosed oocytes. *Biol Reprod* **91**, 61. doi:10.1095/biolreprod.114.118869
- Freimann S., Ben-Ami I., Dantes A., Ron-El R., and Amsterdam A. (2004). EGF-like factor epiregulin and amphiregulin expression is regulated by gonadotropins/cAMP in human ovarian follicular cells. *Biochem Biophys Res Commun* **324**, 829–834.
doi:10.1016/j.bbrc.2004.09.129
- Gilchrist R. B. (2011). Recent insights into oocyte-follicle cell interactions provide opportunities for the development of new approaches to in vitro maturation. *Reprod Fertil Dev* **23**, 23–31.
doi:10.1071/RD10225
- Gilchrist R. B., Lane M., and Thompson J. G. (2008). Oocyte-secreted factors: Regulators of cumulus cell function and oocyte quality. *Hum. Reprod. Update* **14**, 159–177.
doi:10.1093/humupd/dmm040
- Ginther O. J. (2000). Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Anim. Reprod. Sci.* **60–61**, 61–79. doi:10.1016/S0378-4320(00)00083-X
- Ginther O. J., Knopf L., and Kastelic J. P. (1989). Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fertil.* **87**, 223–

230. doi:10.1530/jrf.0.0870223

Harris R. C., Chung E., and Coffey R. J. (2003). The EGF Receptor Family. *EGF Recept. Fam.* **17**, 3–14. doi:10.1016/B978-012160281-9/50002-5

Komar C. M., Berndtson A. K., Evans A. C., and Fortune J. E. (2001). Decline in circulating estradiol during the periovulatory period is correlated with decreases in estradiol and androgen, and in messenger RNA for p450 aromatase and p450 17alpha-hydroxylase, in bovine preovulatory follicles. *Biol Reprod* **64**, 1797–1805.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11369611>

Leroy J. L., Rizos D., Sturmey R., Bossaert P., Gutierrez-Adan A., Van Hoeck V., Valckx S., and Bols P. E. (2011). Intrafollicular conditions as a major link between maternal metabolism and oocyte quality: a focus on dairy cow fertility. *Reprod Fertil Dev* **24**, 1–12.
doi:10.1071/RD11901

Lodde V., Modina S., Galbusera C., Franciosi F., and Luciano A. M. (2007). Large-scale chromatin remodeling in germinal vesicle bovine oocytes: interplay with gap junction functionality and developmental competence. *Mol Reprod Dev* **74**, 740–749. doi:10.1002/mrd.20639

Lodde V., Modina S., Maddox-Hyttel P., Franciosi F., Lauria A., and Luciano A. M. (2008). Oocyte morphology and transcriptional silencing in relation to chromatin remodeling during the final phases of bovine oocyte growth. *Mol Reprod Dev* **75**, 915–924. doi:10.1002/mrd.20824

Luciano A. M., Franciosi F., Dieci C., and Lodde V. (2014). Changes in large-scale chromatin structure and function during oogenesis: a journey in company with follicular cells. *Anim Reprod Sci* **149**, 3–10. doi:10.1016/j.anireprosci.2014.06.026

Luciano A. M., Franciosi F., Modina S. C., and Lodde V. (2011). Gap junction-mediated communications regulate chromatin remodeling during bovine oocyte growth and differentiation through cAMP-dependent mechanism(s). *Biol Reprod* **85**, 1252–1259.
doi:10.1095/biolreprod.111.092858

Luciano A. M., and Sirard M.-A. (2018). Successful in vitro maturation of oocytes: a matter of

- follicular differentiation. *Biol. Reprod.* **98**, 162–169. doi:10.1093/biolre/iox149
- Lucy M. C., Savio J. D., Badinga L., De La Sota R. L., and Thatcher W. W. (1992). Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.* **70**, 3615–3626.
doi:10.2527/1992.70113615x
- Machatkova M., Krausova K., Jokesova E., and Tomanek M. (2004). Developmental competence of bovine oocytes: effects of follicle size and the phase of follicular wave on in vitro embryo production. *Theriogenology* **61**, 329–335. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14662132>
- Murphy B. D. (2000). Models of Luteinization1. *Biol. Reprod.* **63**, 2–11.
doi:10.1095/biolreprod63.1.2
- Park J. Y., Su Y. Q., Ariga M., Law E., Jin S. L., and Conti M. (2004). EGF-like growth factors as mediators of LH action in the ovulatory follicle. *Science (80-.)*. **303**, 682–684.
doi:10.1126/science.1092463
- Pincus G., and Enzmann E. V (1935). THE COMPARATIVE BEHAVIOR OF MAMMALIAN EGGS IN VIVO AND IN VITRO : I. THE ACTIVATION OF OVARIAN EGGS. *J Exp Med* **62**, 665–675. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19870440>
- Razza E. M., Sudano M. J., Fontes P. K., Franchi F. F., Belaz K. R. A., Santos P. H., Castilho A. C. S., Rocha D. F. O., Eberlin M. N., Machado M. F., and Nogueira M. F. G. (2018). 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. *Reprod. Fertil. Dev.* **30**, 1314–1328. doi:10.1071/RD17335
- Richani D., Wang X., Zeng H. T., Smits J., Thompson J. G., and Gilchrist R. B. (2014). Pre-maturation with cAMP modulators in conjunction with EGF-like peptides during in vitro maturation enhances mouse oocyte developmental competence. *Mol Reprod Dev* **81**, 422–435.
doi:10.1002/mrd.22307
- Rizos D., Ward F., Duffy P., Boland M. P., and Lonergan P. (2002). Consequences of bovine oocyte maturation, fertilization or early embryo development in vitro versus in vivo:

- Implications for blastocyst yield and blastocyst quality. *Mol. Reprod. Dev.* **61**, 234–248.
doi:10.1002/mrd.1153
- Sánchez F., and Smitz J. (2012). Molecular control of oogenesis. *Biochim Biophys Acta* **1822**, 1896–1912. doi:10.1016/j.bbadis.2012.05.013
- Santiquet N. W., Greene A. F., Becker J., Barfield J. P., Schoolcraft W. B., and Krisher R. L. (2017). A pre-in vitro maturation medium containing cumulus oocyte complex ligand-receptor signaling molecules maintains meiotic arrest, supports the cumulus oocyte complex and improves oocyte developmental competence. *Mol. Hum. Reprod.* **23**, 594–606.
doi:10.1093/molehr/gax032
- Sartori R., Bastos M., Baruselli P., Gimenes L., Ereno R., and Barros C. (2010). Physiological differences and implications to reproductive management of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle in a tropical environment. *Reprod. Domest. Ruminants* **7**, 355–373. doi:10.5661/RDR-VII-357
- Sartori R., Gimenes L. U., Monteiro P. L., Melo L. F., Baruselli P. S., and Bastos M. R. (2016). Metabolic and endocrine differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction. *Theriogenology* **86**, 32–40.
doi:10.1016/j.theriogenology.2016.04.016
- Sartori R., Pursley J. R., and Wiltbank M. C. (2017). Estrous cycle of heifers and lactating dairy cows: Ovarian and hormonal dynamics and estrous cycle abnormalities. ‘Large Dairy Herd Management’. pp. 489–502. (American Dairy Science Association) doi:10.3168/ldhm.0736
- Sirard M. A. (2001). Resumption of meiosis: mechanism involved in meiotic progression and its relation with developmental competence. *Theriogenology* **55**, 1241–1254.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11327682>
- Sirard M. A., and Coenen K. (1993). The co-culture of cumulus-enclosed bovine oocytes and hemi-sections of follicles: Effects on meiotic resumption. *Theriogenology* **40**, 933–942.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16727375>
- Soares A. C. S., Lodde V., Barros R. G., Price C. A., Luciano A. M., and Buratini J. (2017). Steroid

hormones interact with natriuretic peptide C to delay nuclear maturation, to maintain oocyte?cumulus communication and to improve the quality of in vitro-produced embryos in cattle. *Reprod Fertil Dev* **29**, 2217–2224. doi:10.1071/RD16320

Soares A. C. S., Sakoda J. N., Gama I. L., Bayeux B. M., Lodde V., Luciano A. M., and Buratini J. (2020). Characterization and control of oocyte large-scale chromatin configuration in different cattle breeds. *Theriogenology* **141**, 146–152. doi:10.1016/j.theriogenology.2019.09.020

Sugimura S., Ritter L. J., Sutton-McDowall M. L., Mottershead D. G., Thompson J. G., and Gilchrist R. B. (2014). Amphiregulin co-operates with bone morphogenetic protein 15 to increase bovine oocyte developmental competence: effects on gap junction-mediated metabolite supply. *Mol Hum Reprod* **20**, 499–513. doi:10.1093/molehr/gau013

Webb R., and Buratini J. J. (2016). Global Challenges for the 21st Century: The Role and Strategy of the Agri-Food Sector. *Anim. Reprod.* **13**, 10. doi:10.21451/1984-3143 - AR882

Zhang M., Su Y.-Q. Q., Sugiura K., Wigglesworth K., Xia G., and Eppig J. J. (2011). Estradiol promotes and maintains cumulus cell expression of natriuretic peptide receptor 2 (NPR2) and meiotic arrest in mouse oocytes in vitro. *Endocrinology* **152**, 4377–4385. doi:10.1210/en.2011-1118

Zhang M., Su Y. Q., Sugiura K., Xia G., and Eppig J. J. (2010). Granulosa cell ligand NPPC and its receptor NPR2 maintain meiotic arrest in mouse oocytes. *Science (80-.).* **330**, 366–369. doi:10.1126/science.1193573