

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 07/12/2024.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA TRICOSTATINA A DURANTE O CULTIVO PRÉ-
MATURAÇÃO *IN VITRO* SOBRE O PADRÃO DA
CONFIGURAÇÃO DA CROMATINA E ATIVIDADE
TRANSCRICIONAL DE OÓCITOS RECUPERADOS DE
FOLÍCULOS ANTRAIS INICIAIS**

**Cíntia Rodrigues da Silva
Médica Veterinária**

**D
I
S
S.**

/

**S
I
L
V
A**

**C.
R.**

**2
0
2
2**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA TRICOSTATINA A DURANTE O CULTIVO PRÉ-
MATURAÇÃO *IN VITRO* SOBRE O PADRÃO DA
CONFIGURAÇÃO DA CROMATINA E ATIVIDADE
TRANSCRICIONAL DE OÓCITOS RECUPERADOS DE
FOLÍCULOS ANTRAIS INICIAIS**

Discente: Cíntia Rodrigues da Silva

Orientadora: Profa. Dra. Gisele Zoccal Mingoti

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Mestre em Medicina
Veterinária.

S586e Silva, Cíntia Rodrigues da
Efeito da Tricostatina A durante o cultivo pré-maturação in vitro sobre o padrão da configuração da cromatina e atividade transcricional de oócitos recuperados de folículos antrais iniciais / Cíntia Rodrigues da Silva. -- Jaboticabal, 2023
55 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Gisele Zoccal Mingoti

1. Técnicas de maturação in vitro de oócitos. 2. Epigenética. 3. Embriões. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

REGISTRO DE IMPACTO ESPERADO NA SOCIEDADE
PORTARIA UNESP N° 117, DE 21 DE DEZEMBRO DE 2022

O presente trabalho está inserido no âmbito da ciência básica, com contribuição para o melhor entendimento da fisiologia reprodutiva de mamíferos, podendo servir de base para resolver questões da reprodução assistida em humanos.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO DA TRICOSTATINA A DURANTE O CULTIVO PRÉ-MATURAÇÃO IN VITRO SOBRE O PADRÃO DA CONFIGURAÇÃO DA CROMATINA E ATIVIDADE TRANSCRICIONAL DE OÓCITOS RECUPERADOS DE FOLÍCULOS ANTRAIS INICIAIS

AUTORA: CÍNTIA RODRIGUES DA SILVA

ORIENTADORA: GISELE ZOCCAL MINGOTI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Medicina Veterinária, área: Reprodução Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. GISELE ZOCCAL MINGOTI (Participação Virtual)
Departamento de Produção e Saúde Animal / FMVA UNESP Araraquã/SP

Profa. Dra. CLAUDIA LIMA VERDE LEAL (Participação Virtual)
Departamento de Medicina Veterinária / FZEA USP Pirassununga/SP

Profa. Dra. CLARA SLADE OLIVEIRA (Participação Virtual)
EMBRAPA Gado de Leite-Campus Experimental Santa Mônica / Valença/RJ

Jaboticabal, 07 de dezembro de 2022

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Cíntia Rodrigues da Silva, filha de Maria Eunice Rodrigues da Silva e Sinval Rodrigues da Silva, nascida em Araçatuba-SP, no dia 25 de março de 1997. Ingressou no curso de Medicina Veterinária em 2015 e concluiu no dia 20 de janeiro de 2020, pelo Centro Universitário Católico Salesiano *Auxilium* – UniSALESIANO/Araçatuba-SP. Durante a graduação participou de eventos como palestras, cursos e simpósios relacionados em sua maioria na área de reprodução animal. Foi estagiária de treinamento técnico no período de 2016 a 2017 e aluna bolsista de Iniciação Científica do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC-CNPq) entre os anos de 2017 a 2018 no Laboratório de Fisiologia da Reprodução Animal (FMVA/UNESP). Membro da Liga de Estudos em Reprodução Animal (LERA) no período de 2016 a 2018 e Presidente da mesma no período de 2018 a 2019 no Centro Universitário Católico Salesiano *Auxilium* – UniSALESIANO/Araçatuba-SP. Atualmente, cursa Mestrado em Medicina Veterinária com ênfase em Reprodução Animal pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV/UNESP).

DEDICO

Dedico este trabalho à minha mãe, Eunice por todo seu esforço, amor e carinho. Ao meu pai, Sinval (*in memoriam*), por todos ensinamentos, amor e carinho ao longo da sua vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo que conquistei até agora, mas peço a Ele para me dar sabedoria para conquistar muito mais.

À Profa. Dra. Gisele Zoccal Mingoti pela orientação, confiança, ensinamento e paciência.

Aos meus amigos e companheiros do laboratório, Giovana Barros Nunes, Priscila Chediek Dall'Acqua e Lukas Mendes de Abreu, por todos os ensinamentos e amizade.

Ao técnico do laboratório, Alexandre Teixeira, pelo auxílio necessário para realização do experimento, assim como seus sábios conselhos.

Ao funcionário Adão Custódio por providenciar o material necessário para realização do experimento.

Às estagiárias que acompanharam e ajudaram na execução do experimento: Beatriz Mendes, Bianca Ávila e Gabriela Vechi.

Às professoras componentes da banca examinadora Profa. Dra. Clara Slade Oliveira e Profa. Dra. Cláudia Lima Verde Leal pelos ensinamentos e contribuições durante a defesa.

À minha mãe Eunice, meu pai Sinval (*in memoriam*) e minha irmã Natália por todo amor e cuidado.

Ao meu namorado Jonathan Cavalcante, por todo companheirismo e amor ao meu lado, assim como a minha sogra Cleonice, meu sogro Jonias e minha cunhada Janaina por todo acolhimento sempre.

Aos meus grandes amigos da vida, Marina Barreto, Francieli Yamasaki, Carla Andrade, Tainá Torrezan, Rodrigo Farias, Adriane e Murilo Nogaroto, Taís Otoboni, Larissa Marchiori e Ronerio Bach, pela amizade e apoio.

À CAPES pela bolsa de estudo.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal da Universidade Estadual Paulista e ao Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal pela oportunidade de realizar o mestrado.

À Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista e ao Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal pelas instalações oferecidas para a realização dos experimentos.

À toda equipe do Laboratório de Fisiologia da Reprodução (#labfisiorep) que já passou e pode contribuir de alguma forma para esse trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento: 88887.514543/2020-00.

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
JÚLIO DE MESQUITA FILHO



CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "Efeito da Tricostatina A durante o cultivo e pré-maturação in vitro sobre o padrão da configuração da cromatina e atividade transcricional de oócitos recuperados de folículos antrais iniciais", Processo FOA nº 0096-2021, sob responsabilidade de Gisele Zoccal Mingoti apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 29 de Abril de 2021.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 29 de Janeiro de 2022.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 01 de Março de 2022.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled "Trichostatin effects during in vitro prematuration culture on chromatin remodeling and transcriptional activity of oocytes from initial antral follicles", Protocol FOA nº 0096-2021, under the supervision of Gisele Zoccal Mingoti presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on April 29, 2021.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: January 29, 2022.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: March 01, 2022.

Prof. Associado João Carlos Callera
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba
Rua José Bonifácio, 1193 - Vila Mendonça - CEP: 16015-080 - ARAÇATUBA - SP
Fone (16) 3636-3234 Email CEUA: ceua.foa@unesp.br

EFEITO DA TRICOSTATINA A DURANTE O CULTIVO PRÉ-MATURAÇÃO *IN VITRO* SOBRE O PADRÃO DA CONFIGURAÇÃO DA CROMATINA E ATIVIDADE TRANSCRICIONAL DE OÓCITOS RECUPERADOS DE FOLÍCULOS ANTRAIS INICIAIS

RESUMO – A população heterogênea de folículos ovarianos pode afetar de maneira significativa a eficiência da produção *in vitro* de embriões bovinos, uma vez que oócitos de folículos menores que 2 mm de diâmetro, não possuem competência para o desenvolvimento embrionário *in vitro*. Sendo assim, como ferramenta para melhorar a competência desses oócitos, o presente trabalho teve como objetivo estabelecer um sistema de cultivo de pré-maturação *in vitro* (pré-MIV) com uso do bloqueador NPPC suplementado com tricostatina A (TSA), substância que promove hiperacetilação de histonas, a fim de aumentar a atividade transcricional oocitária para que os mesmos tivessem maior competência para o desenvolvimento. Os experimentos foram divididos em duas partes, sendo o primeiro momento feita a avaliação de oócitos bovinos em cultivo de pré-MIV simples, e no segundo, utilizou-se cultivo de pré-MIV enriquecido com substâncias estimuladoras. Os resultados foram obtidos através das comparações entre as médias dos grupos, utilizando-se a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey, sendo $P < 0,05$. Com isso, os resultados demonstraram que o cultivo de pré-MIV simples e enriquecido não foram capazes estimular o crescimento oocitário até o tamanho esperado da espécie bovina (102-109 microns de diâmetro), no entanto a TSA demonstrou nos dois experimentos um possível efeito protetor contra danos oxidativos nos oócitos tratados quando comparados ao grupo controle, assim como melhorou a atividade transcricional dos mesmos. Ainda que com alta transcrição, nossos resultados não apresentaram melhores taxas no desenvolvimento embrionário, uma vez que as taxas de blastocistos foram menores que 5% de embriões em meio simples e 2% em meio enriquecido. A partir destes resultados, concluímos que o cultivo de pré-MIV acrescido da TSA, proporcionou maior atividade transcricional e proteção à estresse oxidativo, embora não tenha melhorado o crescimento oocitário, assim como a produção de embriões. Sendo assim, nossos resultados demonstram possíveis ferramentas de como melhorar a qualidade de oócitos recuperados de folículos antrais iniciais, e futuramente, melhorar os índices de produção de embriões *in vitro*.

Palavras-chave: acetilação, oócito bovino, pré-maturação, tricostatina A

EFFECT OF TRICHOSTATIN A DURING IN VITRO PREMATURATION CULTURE ON CHROMATIN CONFIGURATION PATTERN AND TRANSCRIPTIONAL ACTIVITY OF OOCYTES RECOVERED FROM EARLY ANTRAL FOLLICLES

ABSTRACT – The heterogeneous population of ovarian follicles can significantly affect the efficiency of in vitro production of bovine embryos, since oocytes from follicles smaller than 2 mm in diameter do not have competence for in vitro embryonic development. Therefore, as a tool to improve the competence of these oocytes, the present work aimed to establish an in vitro pre-maturation culture system (pre-IVM) using the NPPC blocker supplemented with trichostatin A (TSA), a substance that promotes histone hyperacetylation, in order to increase oocyte transcriptional activity so that they have greater competence for development. The experiments were divided into two parts, with the first moment evaluating bovine oocytes in simple pre-IVM culture, and the second, using pre-IVM culture enriched with stimulating substances. The results were obtained through comparisons between the means of the groups, using the analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey test, with $P < 0.05$. Thus, the results showed that the cultivation of simple and enriched pre-IVM were not able to stimulate oocyte growth to the expected size of the bovine species (102-109 microns in diameter), however TSA showed a possible effect in both experiments. protective against oxidative damage in treated oocytes when compared to the control group, as well as improved their transcriptional activity. Although with high transcription, our results did not show better rates in embryonic development, since blastocyst rates were lower than 5% of embryos in plain medium and 2% in enriched medium. Based on these results, we conclude that pre-IVM culture plus TSA provided greater transcriptional activity and protection against oxidative stress, although it did not improve oocyte growth or embryo production. Therefore, our results demonstrate possible tools on how to improve the quality of oocytes recovered from early antral follicles, and in the future, improve in vitro embryo production rates.

Key words: acetylation, bovine oocyte, prematuration, trichostatin A

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. INTRODUÇÃO

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) bovinos é uma biotecnologia de reprodução assistida que consiste na obtenção de oócitos imaturos para submetê-los às etapas de maturação, fertilização e cultivo *in vitro* (MIV, FIV e CIV, respectivamente). No entanto, embriões produzidos *in vitro* ainda apresentam taxas inferiores quando comparados *in vivo*, uma vez que a população de oócitos recuperados durante a aspiração é heterogênea, ou seja, de origem de folículos com diferentes diâmetros. Dessa forma, os oócitos estarão em diferentes fases de desenvolvimento e ao serem submetidos às etapas da PIVE, muitos não possuem capacidade para o desenvolvimento *in vitro* (Lonergan e Fair, 2008).

Para este propósito, os oócitos são recuperados de folículos com diâmetro entre 3 a 8 mm, uma vez que este intervalo compreende oócitos competentes para continuarem o desenvolvimento no ambiente *in vitro*. Em contrapartida, oócitos derivados de folículos menores que 2 mm são considerados inapropriados, uma vez que ainda não são capazes de retomar a meiose e se desenvolver até o estágio de blastocisto (Pavlok et al., 1992).

O processo de aquisição de competência oocitária está intimamente ligado ao crescimento e desenvolvimento folicular, sabendo-se que folículos de tamanhos médios (entre 3 e 6 mm de diâmetro) já possuem oócitos mais competentes para o cultivo em ambiente *in vitro* (Tseng et al., 2004). Porém, o oócito incluso no ambiente folicular é considerado imaturo, pois permanece em bloqueio meiótico, caracterizado pela presença vesícula germinativa (VG) (Mehlmann, 2005). Quando em VG, a cromatina do oócito, sofre modificações químicas nas histonas (acetilação) resultando em condensação progressiva da cromatina, sendo esta considerada um marco no início da aquisição de competência meiótica (Dall'Acqua et al., 2017). A remodelação da cromatina é dividida em diferentes graus de condensação que vão da menos para a mais condensada, sendo: VG0, VG1, VG2 e VG3, respectivamente. Folículos menores do que 2 mm de diâmetro possuem oócitos quase que em sua totalidade com padrão VG0, havendo poucos gametas em VG1 (Luciano et al., 2011). Mesmo ainda incompetentes para o desenvolvimento quando cultivados no ambiente *in vitro*, oócitos nestes estágios são caracterizados por intensa atividade transcricional. Por

outro lado, conforme o folículo cresce além dos 2 mm de diâmetro, os oócitos adquirem gradualmente maior competência para o desenvolvimento, ao passo que a cromatina assume maior padrão de condensação, como VG2 e, por fim, o grau de condensação total em VG3 (Luciano et al., 2014). Esses eventos se devem à reprogramações epigenéticas, como modificações nas histonas e que por ações enzimáticas regulam o padrão de condensação da cromatina. A acetilação de histonas está relacionada ao momento em que o oócito não apresenta ou apresenta baixa condensação da cromatina e, assim, exibe alta atividade transcrricional. Sendo assim, quando o padrão de condensação está mais elevado, a transcrição diminui ou cessa (Bannister e Kouzarides, 2011).

Pelo fato da população de oócitos submetidos à produção *in vitro* de embriões bovinos ser heterogênea (recuperados folículos de diferentes diâmetros), diversos sistemas de cultivo de pré-maturação (pré-MIV) de oócitos tem sido propostos como etapa prévia à maturação *in vitro*, na tentativa de fornecer tempo e ambiente favorável para que estes gametas adquiram competência para o desenvolvimento (Albuz et al., 2010; Luciano et al., 2011). A mesma estratégia pode ser utilizada numa população de oócitos derivados de folículos menores do que 2 mm, que não tem capacidade para continuar o desenvolvimento *in vitro*.

A tricostatina A (TSA), uma droga que promove hiperacetilação de histonas, se mostrou efetiva em prolongar o tempo de MIV, impedindo o envelhecimento oocitário em suínos e melhorando taxas de desenvolvimento embrionário (Jin et al., 2014). No entanto, de acordo com a literatura disponível, não foram encontrados relatos prévios acerca do uso da tricostatina A em sistema de pré-MIV de oócitos bovinos com o intuito de melhorar a aquisição de competência oocitária para o desenvolvimento. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo estabelecer um sistema de pré-MIV de oócitos bovinos a fim de que oócitos não competentes (provenientes de folículos antrais iniciais com diâmetros menores do que 2 mm) possam adquirir competência meiótica e de desenvolvimento embrionário até o estágio de blastocisto.

5. CONCLUSÃO

Desta forma, concluímos que o sistema de cultivo de pré- maturação prolongado na presença de TSA e fatores de crescimento foi eficaz para promover o crescimento do oócito, melhorar sua qualidade pela redução do estresse e aumento da transcrição e, mesmo que em menor grau, proporcionar a aquisição da competência meiótica. Embora o sistema proposto não tenha sido eficaz para atingir o crescimento final do oócito e aquisição de competência para o desenvolvimento embrionário, os resultados estimulam a continuidade do estudo, visando o aprimoramento do sistema para o melhor aproveitamento dos oócitos incompetentes obtidos de folículos antrais iniciais, visando aumentar a oferta de gametas femininos para o aproveitamento da biotécnica de produção de embriões *in vitro*.

REFERÊNCIAS

Albuz FK, Sasseville M, Lane M, Armstrong DT, Thompson JG, Gilchrist RB (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.

Ambrogi M, Dall'Acqua PC, Rocha-Frigoni NAS, Leão BCS, Mingoti GZ (2017) Transporting bovine oocytes in a medium supplemented with different macromolecules and antioxidants: Effects on nuclear and cytoplasmic maturation and embryonic development in vitro. **Reprod Dom Anim** 52: 409-421.

Anchordoquy JM, Anchordoquy JP, Testa JA, Sirini MA, Furnus CC (2015) Influence of vascular endothelial growth factor and Cysteamine on in vitro bovine oocyte maturation and subsequent embryo development. **Cell Biol Int** 39: 1090-1098.

Bannister AJ, Kouzarides T (2011) Regulation of chromatin by histone modifications. **Cell Res** 21: 381-395.

Casas E, Bonilla E, Ducolomb Y, Betancourt M (2010) Differential effects of herbicides atrazine and fenoxaprop-ethyl, and insecticides diazinon and malathion, on viability and maturation of porcine oocytes in vitro. **Toxicol In Vitro** 24: 224-230.

Córdova B, Morató R, Izquierdo D, Paramio T, Mogas T (2010) Effect of the addition of insulin-transferrin-selenium and/or L-ascorbic acid to the in vitro maturation of prepubertal bovine oocytes on cytoplasmic maturation and embryo development. **Theriogenology** 74: 1341-1348.

Franciosi F, Coticchio G, Lodde V, Tessaro I, Modina SC, Fadini R, Dal-Canto M, Renzini MM, Albertini DF, Luciano AM (2014) Natriuretic peptide precursor C delays meiotic resumption and sustains gap junction-mediated communication in bovine cumulus-enclosed oocytes. **Biol Reprod** 91: 1-9.

Gu L, Wang Q, Sun QY (2010) Histone modifications during mammalian oocyte maturation: dynamics, regulation and functions. **Cell Cycle** 9: 1942-1950.

Guo Y, Li Z, Shi C, Li J, Yao M, Chen X (2017) Trichostatin A attenuates oxidative stress-mediated myocardial injury through the FoxO3 signaling pathway. **Int J Mol Med** 40: 999-1008.

Hyttel P, Fair T, Callesen H, Greve T (1997) Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle. **Theriogenology** 47: 23-32.

Jin,YX, Zhao MH, Zheng Z, Kwon JS, Lee SK, Cui XS, Kim NH (2014) Histone deacetylase inhibitor trichostatin A affects porcine oocyte maturation in vitro. **Reprod Fertil Dev**, 26: 806–816.

Jones A, Blerkom JV, Davis P, Toledo AA (2004) Cryopreservation of metaphase II human oocytes effects mitochondrial membrane potential implications for developmental competence. **Hum Reprod** 19: 1861-1866.

Labrecque R, Lodde V, Dieci C, Tessaro I, Luciano AM, Sirard MA (2015) Chromatin remodelling and histone mRNA accumulation in bovine germinal vesicle oocytes. **Mol Reprod Dev** 82: 450-462.

Lodde V, Modina S, Maddox-Hyttel P, Franciosi F, Lauria A, Luciano AM (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.

Lonergan P, Fair T (2008) In vitro-produced bovine embryos: dealing with the warts **Theriogenology** 69: 17-22.

Luciano A, Sirard MA (2018) Successful in vitro maturation of oocytes: a matter of follicular differentiation. **Biol Reprod** 98: 162-169.

Luciano AM, Franciosi F, Dieci C, 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.

Luciano AM, Franciosi F, Modina SC, 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.

Matzuk MM, Bruns KH, Viveiros MM, Eppig JJ (2002) Intercellular communication in the mammalian ovary: oocytes carry the conversation. **Science** 296: 2178-2180.

Mehlmann LM (2005) Stops and starts in mammalian oocytes: recent advances in understanding the regulation of meiotic arrest and oocyte maturation. **Reproduction** 130: 791-799.

Merton JS, Knijn HM, Flapper H, Dotinga F, Roelen BAJ, Vos PLAM, Mullaart E (2013) Cysteamine supplementation during in vitro maturation of slaughterhouse- and opu-derived bovine oocytes improves embryonic development without affecting cryotolerance, pregnancy rate, and calf characteristics. **Theriogenology** 80: 365-371.

Nho RS, Hergert P (2014) FoxO3a and disease progression. **World J Biol Chem** 5: 346-354.

Otoi T, Yamamoto K, Koyama N, Tachikawa S, Suzuki T (1997) Bovine oocyte diameter in relation to developmental competence. **Theriogenology** 48: 769-774.

Pavlok A, Lucas-Hahn A, Niemann H (1992) Fertilization and developmental competence of bovine oocytes derived from different categories of antral follicles. **Mol Reprod Dev** 31: 63-67.

Qiu X, Rong X, Yang J, Lu Y (2019) Evaluation of the antioxidant effects of different histone deacetylase inhibitors (HDACis) on human lens epithelial cells (HLECs) after UVB exposure. **BMC Ophthalmol** 19: 1-12.

Racedo SE, Wrenzycki C, Lepikhov K, Salamone D, Walter J, Niemann H (2009) Epigenetic modifications and related mRNA expression during bovine oocyte in vitro maturation. **Reprod Fertil Dev** 21: 738-748.

Re M, Zhang T, Yang Y, Wang C (2021) Mechanisms of oocyte maturation and related epigenetic regulation. **Front Cell Dev Biol** 9: 654028.

Rocha-Frigoni NAS, Leão BSC, Dall'Acqua PC, Mingoti GZ (2016) Improving the cytoplasmic maturation of bovine oocytes matured in vitro with intracellular and/or extracellular antioxidants is not associated with increased rates of embryo development. **Theriogenology** 86: 1897-1905.

Roth Z (2018) Symposium review: Reduction in oocyte developmental competence by stress is associated with alterations in mitochondrial function. **J Dairy Sci** 101: 3642-3654.

Shabankareh HK, Zandi M (2010) Developmental potential of sheep oocytes cultured in different maturation media: effects of epidermal growth factor, insulin-like growth factor I, and cysteamine. **Fertil Steril** 94: 335-340.

SILVA, CG, Martins CF et al. (2019) Use of trichostatin A alters the expression of HDAC3 and KAT2 and improves *in vitro* development of bovine embryos cloned using less methylated mesenchymal stem cells. **Reprod Domest Anim** 54:289-299.

Simonsson S, Gurdon J (2004) DNA demethylation is necessary for the epigenetic reprogramming of somatic cell nuclei. **Nat Cell Biol** 6: 984-990.

Tseng JK, Chen CH, Chou PC, Yeh SP, Ju JC (2004) Influences of follicular size on parthenogenetic activation and *in vitro* heat shock on the cytoskeleton in cattle oocytes. **Reprod Domest Anim** 39:146-153.

Wasielak M, Bogacki M (2007) Apoptosis inhibition by insulin-like growth factor (IGF)-I during *in vitro* maturation of bovine oocytes. **J Reprod Dev** 53: 419-426.

Yang S, Yang Y, Hao H, Du W, Pang Y, Zhao S, Zou H, Zhu H, Zhang P, Zhao X (2022) Supplementation of EGF, IGF-1, and Connexin 37 in IVM Medium Significantly Improved the Maturation of Bovine Oocytes and Vitrification of Their IVF Blastocysts. **Genes** 30: 1-13.