



Principais genes implicados na aquisição de competência oocitária

[*Key genes involved in the acquisition of oocyte competence*]

"Revisão/Review"

Letícia Ferrari **Crocomo**^{1*}, Fernanda da Cruz **Landim-Alvarenga**², Sony Dimas **Bicudo**²

¹Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais (ICA-UFMG), Montes Claros-MG, Brasil.

²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (FMVZ-UNESP), Botucatu-SP, Brasil.

*Autor para correspondência/Corresponding author: E-mail: leticia.crocomo@gmail.com

Resumo

Apesar do bloqueio meiótico no estágio diplóteno da prófase I, os oócitos da maioria dos mamíferos domésticos mantêm a capacidade de transcrição gênica devido ao fato da cromatina apresentar áreas de descondensação. Com a retomada da meiose sob estímulo do hormônio luteinizante, no entanto, esta atividade transcricional é interrompida, sendo restabelecida somente com a ativação do genoma embrionário. Deste modo, todo o processo de maturação oocitária, fertilização e embriogênese inicial assim como a expansão das células do cumulus dependem da adequada transcrição e estoque de RNAs mensageiros ainda durante o bloqueio meiótico que, em momentos oportunos e sob sinais específicos, serão recrutados para tradução e síntese proteica. Neste contexto de controle gênico, alguns transcritos se destacam por sua importância nos eventos que regem a aquisição de competência oocitária e o embriogênese inicial como o MATER, ZAR1, GDF9, BMP15, BAX e BCL2, expressos nos oócitos, além do PTGS2, PTX3, HSA2, TNFAIP6 e GREMLIN, expressos nas células do cumulus. Sendo assim, dada a relevância do tema, esta revisão tem como intuito explorar a interação oócito-cumulus e compilar o conhecimento referente à função e perfil de expressão dos principais transcritos maternos considerados imprescindíveis para o adequado desenvolvimento oocitário e embrionário.

Palavras-chave: RNAm; oócitos; célula da granulosa; embrião; apoptose.

Abstract

Despite meiotic arrest at diplotene stage of prophase I, oocytes from most domestic mammals retain the capacity for gene transcription due to the presence of descondensation areas in chromatin. With meiosis resumption under stimulation from luteinizing hormone, however, this transcriptional activity is interrupted and resumed only with the activation of the embryonic genome. So, all the process of oocyte maturation, fertilization and early embryogenesis, as well as the expansion of cumulus cells depend on the proper transcription and storage of messenger RNAs still during the meiotic arrest which, at appropriate moments and under specific signals, will be recruited for translation and protein synthesis. In this context of genetic control, some transcripts stand out due to their importance in the events that govern the acquisition of oocyte competence and the initial embryogenesis, such as MATER, ZAR1, GDF9, BMP15, BAX, and BCL2, expressed in oocytes, beyond the PTGS2, PTX3, HSA2, TNFAIP6, and GREMLIN, expressed on cumulus cells. Thus, due to theme relevance, this review aims to explore the oocyte-cumulus interaction and to compile the knowledge regarding the function and profile expression of the main maternal transcripts considered essential for the proper oocyte and embryonic development.

Keywords: mRNA; oocytes; granulosa cells; embryo; apoptosis.

Introdução

Na maioria dos mamíferos, ainda durante o desenvolvimento fetal, os oócitos iniciam a meiose

e estabelecem íntima comunicação com as células da granulosa em diferenciação ao seu redor. Este

Recebido 01 de agosto de 2018. Aceito 02 de julho de 2019.

DOI: <https://doi.org/10.26605/medvet-v13n2-3090>

processo de divisão meiótica, no entanto, é bloqueado no estágio diplóteno da prófase I, por ação de fatores inibidores da maturação, e assim permanece até a puberdade, sendo retomado, próximo a ovulação, sob estímulo do hormônio luteinizante (LH), em concomitância à expansão do cumulus (Sarraj, 2012).

Durante este período de bloqueio no estágio dictiado, morfológicamente reconhecido pela vesícula germinativa (VG), a cromatina oocitária apresenta áreas descondensadas que possibilitam transcrição com conseqüente formação de ácido ribonucleico (RNAm) que, em momentos oportunos, será traduzido para síntese de proteínas consideradas as reais efetoras dos processos celulares (Sirard, 2012; Shruthi et al., 2016). Com o reinício meiótico, contudo, embora a capacidade de tradução gênica e síntese proteica se mantenha, a atividade transcricional é interrompida, devido ao alto grau de compactação cromossômica, sendo restabelecida apenas com a ativação do genoma embrionário (Sirard, 2012).

Apesar disso, diferentemente das células somáticas, os oócitos detêm capacidade de estocar RNAm de maneira inativa e estável no ooplasma. Sendo assim, todo o processo de maturação oocitária, fertilização e embriogênese inicial é controlado, basicamente, pelos transcritos maternos produzidos durante o bloqueio meiótico os quais são recrutados para tradução, sob sinais específicos, conforme a necessidade celular (Lee et al., 2014; Zhang e Smith, 2015). Do mesmo modo, a ação de algumas moléculas implicadas na mucificação e expansão do cumulus também é regulada por RNAm maternos (Lin et al., 2014).

Sendo assim, dada à relevância do tema, esta revisão propõe a discussão de aspectos relacionados à interação cumulus-oócito e à função e perfil de expressão dos principais genes, expressos tanto nos oócitos quanto nas células do cumulus, responsáveis pela regulação de eventos biológicos fundamentais para o adequado desenvolvimento oocitário e embrionário.

Antígeno Materno Requerido pelo Embrião (MATER) e Bloqueio Zigótico 1 (ZAR1)

Evidências demonstram que a embriogênese, em seu estágio inicial, é controlada pelo genoma materno por meio dos transcritos sintetizados e estocados nos oócitos ainda no estágio de vesícula germinativa. Com a ativação do genoma embrionário (AGE), este controle é transferido ao embrião que se torna autossuficiente

em termos transcricional e passa a sintetizar as próprias moléculas de que necessita (Lee et al., 2014; Zhang e Smith, 2015). Este processo de transição materno-embriônica (TME) é determinado por eventos coordenados que envolvem reprogramação gênica além de alterações no ciclo celular e na proporção de componentes nuclear e citoplasmático, sendo crucial para o adequado desenvolvimento embrionário (Jukam et al., 2017).

Tal fenômeno, contudo, não ocorre numa única etapa, mas sim, de maneira gradual. Primeiramente ocorre degradação e substituição dos transcritos maternos seguida pela reprogramação nuclear e expressão de uma nova geração de transcritos específicos ao embrião (Lee et al., 2014). Ainda de acordo com Hamatani et al. (2004), a ativação do genoma embrionário ocorre em duas fases, caracterizadas pela síntese de uma pequena quantidade de polipeptídios num primeiro momento (AGE menor), seguida pela intensa reprogramação gênica determinando a expressão de novos transcritos e, conferindo ao embrião, controle transcricional (AGE maior).

O momento específico da AGE maior é variável entre espécies ocorrendo em embriões com cerca de 2 células em camundongos, 4 a 8 células em suínos e humanos, e 8 a 16 células em bovinos (Sirard, 2012; Lee et al., 2014). Independentemente do estágio embrionário, a reprogramação da expressão gênica consiste na base molecular para formação de blastômeros totipotentes de modo que qualquer distúrbio neste processo resultará em bloqueio no desenvolvimento e mortalidade embrionária (Schultz, 2002; Li et al., 2010).

Embora os aspectos bioquímicos implicados neste processo ainda não estejam esclarecidos, evidências sugerem que a transição do estado transcricional inativo para ativo é determinada pelo remodelamento da cromatina (Li et al., 2010). Segundo Cho et al. (2002), esta reconfiguração da cromatina é regulada por proteínas cuja síntese é estimulada pelo aumento intraoocitário de íons cálcio decorrente da fertilização.

No contexto da TME se destacam ainda duas classes de transcritos maternos: aqueles comuns tanto ao oócito quanto ao embrião e cuja transcrição é restabelecida após a ativação do genoma, e aqueles essenciais à maturação e embriogênese inicial, porém desnecessários aos demais estágios de desenvolvimento sendo, portanto, degradados sem posterior compensação

transcricional (Schultz, 2002). Neste último caso, se enquadram os genes de efeito materno (MEG) cujos transcritos, apesar de essenciais para clivagem embrionária, são degradados durante a TME sem compensação (Pennetier et al., 2004).

A função específica dos MEG ainda não está totalmente elucidada, no entanto, sua relevância é reconhecida uma vez que embriões com deleção destes genes são incapazes de se desenvolver além das primeiras clivagens (Li et al., 2010). Dentre os RNAm maternos codificados pelos MEG destacam-se o MATER, também designado NLRP5, e ZAR1, já descritos em diversas espécies como camundongos (Tong et al., 2000; Wu et al., 2003), bovinos (Cho et al., 2002), suínos (Uzbekova et al., 2006) e ovinos (Bebbere et al., 2008).

Expressos no oócito em vesícula germinativa, tanto o ZAR1 quanto o MATER parecem desempenhar importante função não somente durante a embriogênese inicial como também durante a AGE (Bebbere et al., 2008). Tal constatação é reforçada pelos estudos realizados por Tong et al. (2000) e Wu et al. (2003) em camundongos, segundo os quais, na ausência do MATER e ZAR1, embora ocorra adequado desenvolvimento folicular, ovulação e fertilização com formação de zigotos normais, os embriões obtidos não se desenvolvem além do estágio de 2 células e tendem à degeneração. Sendo assim, o bloqueio no desenvolvimento dos embriões cultivados *in vitro*, o qual coincide com a AGE, está possivelmente relacionado à menor quantidade de MATER e ZAR1 conforme constatado por Pereira et al. (2010) em oócitos bovinos.

Com relação ao perfil de expressão, Adona et al. (2011) e Nath et al. (2013), em seus estudos com bovino e búfalo, respectivamente, constataram decréscimo da quantidade relativa de MATER e ZAR1 durante a maturação oocitária *in vitro*. Expressiva redução destes transcritos também foi observada durante a TME em ovinos (Bebbere et al., 2008). Segundo estes mesmos autores, tal constatação revela possível envolvimento das proteínas codificadas pelo MATER e ZAR1 tanto na AGE quanto na progressão da meiose oocitária, uma vez que existe uma relação direta entre os processos de tradução e degradação do RNAm. Resultados similares foram constatados em camundongos (Wu et al., 2003) e suínos (Uzbekova et al., 2006). Evidências demonstram ainda que o MATER pode constituir um importante marcador da qualidade oocitária, uma vez que

oócitos mais velhos e, portanto, com menor viabilidade, apresentam menor concentração de tal transcrito (Lu et al., 2016).

Fator de Crescimento e Diferenciação-9(GDF-9) e a Proteína Morfogenética Óssea 15(BMP15)

No que diz respeito à aquisição de competência oocitária e foliculogênese, o oócito não é uma estrutura passiva. Pelo contrário, através da síntese de fatores de crescimento, o oócito controla inúmeras funções das células da granulosa ao seu redor como proliferação, diferenciação, expressão de receptores, esteroidogênese, expansão do cumulus e, conseqüentemente, determina seu próprio desenvolvimento. Dentre os fatores parácrinos secretados pelo oócito considerados importantes peptídeos reguladores intraovarianos estão o GDF-9 e a BMP15 os quais pertencem à família dos fatores de crescimento transformante beta (TGF β) e são codificados por genes específicos de mesma designação (Gilchrist et al., 2008; Gilchrist e Richani, 2013; Budna et al., 2017).

Além de exercerem importante função no controle da foliculogênese, evidências sugerem possível implicação destes fatores na maturação oocitária, luteinização, ovulação e determinação da fertilidade em mamíferos (Gilchrist et al., 2008; Sugimura et al., 2015). Em ovinos foi constatado que a ocorrência de mutações nos genes que codificam BMP15 e GDF9 aumenta a taxa de ovulação em portadores heterozigotos, de maneira mais significativa no caso do GDF9, e induz a esterilidade em portadores homozigotos devido ao bloqueio da foliculogênese em folículo primário (Hanrahan et al., 2004). Já em humanos, alterações no perfil de expressão destes fatores estão diretamente relacionadas à ocorrência da síndrome do ovário policístico e à falência ovariana pré-matura (Wei et al., 2011).

Nas células da granulosa, o GDF-9 e a BMP15 atuam de maneira sinérgica sendo esta ação mediada pela ativação da via de sinalização intracelular constituída pelas proteínas SMAD. Ao se ligar aos receptores proteína morfogenética óssea II (BMPRII) e ativina semelhante à quinase5 (ALK5), o GDF9 ativa as proteínas SMAD 2/3. Já a BMP15 promove a ativação das proteínas SMAD 1/5 e 8 ao interagir com os receptores BMPRII e ALK6. Estas SMADs, por sua vez, quando fosforiladas se translocam para o núcleo aonde interagem com reguladores transcricionais e induzem a expressão de genes específicos

implicados não apenas no processo de expansão do cumulus como também na oogênese e maturação oocitária em virtude da comunicação bidirecional (Gilchrist et al., 2008; Budna et al., 2017).

Com relação ao perfil de expressão, tanto o GDF9 quanto a BMP15 são transcritos nos oócitos no estágio de vesícula germinativa, sendo detectados já nos folículos primordial e primário em suínos, humanos e camundongos (Sun et al., 2010). Devido à demanda proteica, a quantidade relativa do RNAm de ambos os fatores tende a apresentar redução gradual ao longo da maturação oocitária, por conta do processo de tradução, sem haver ainda compensação embrionária após a AGE como constatado em bovinos (Pennetier et al., 2004) e ovinos (Bebbere et al., 2008). Por outro lado, os genes que codificam os receptores BMPRII e ALK6 nas células do cumulus dos complexos cumulus oócitos (COCs), em ovinos, apresentam expressão incrementada ao longo da maturação oocitária devido, provavelmente, ao recrutamento promovido pelos seus ligantes específicos (Kyassari, et al., 2012). No entanto, estes mesmos autores não constataram variação na expressão do receptor ALK5.

Hialurona sintetase-2 (HAS2), Ciclooxigenase-2 (COX2), Proteína indutora do fator de necrose tumoral (TNFAIP6), Pentraxina-3 (PTX3) e Gremlin (GREM1)

O cumulus consiste nas células da granulosa em associação com o oócito por meio das junções comunicantes (GAP). Através da transferência de substâncias de baixo peso molecular, estas células controlam importantes eventos oocitários como a progressão da maturação nuclear e citoplasmática. Do mesmo modo, importantes funções da granulosa são reguladas por moléculas sintetizadas pelo oócito (Gilchrist et al., 2008; Gilchrist e Richani, 2013).

In vivo, sob estímulo do pico pré-ovulatório de LH, ocorre a expansão das células do cumulus, caracterizada pela síntese de uma matriz extracelular rica em ácido hialurônico a qual promove aumento expressivo do volume do complexo cumulus-oócito (Russel e Salustri, 2006). Evidências demonstram que a perda das junções GAP e a conseqüente interrupção da transferência de moléculas reguladoras decorrentes da expansão do cumulus estão implicadas no reinício meiótico oocitário (Norris et al., 2008).

Este processo de mucificação do cumulus é imprescindível para ovulação uma vez que facilita

a extrusão e captura do oócito pelas fimbrias e auxilia seu deslocamento até o sítio de fertilização no infundíbulo (Akison et al., 2012). Além disso, auxilia a fertilização por criar um microambiente favorável à capacitação, reação acrossomal e penetração do espermatozóide no oócito (Tanghe et al., 2002). De acordo com Schoenfelder e Einspanier (2003), a matriz extracelular de ácido hialurônico também confere proteção ao oócito e serve como reservatório de fatores de crescimento.

Embora o estímulo gonadotrófico seja essencial para indução da expansão do cumulus e reinício meiótico *in vivo*, aparentemente, tanto as células do cumulus como o oócito não apresentam receptores para LH, diferentemente das células murais da granulosa (Assidi et al., 2013). Deste modo, estudos indicam que a ação do LH é mediada por peptídeos da família dos fatores de crescimento epidermal (EGF) como a ampiregulina (AREG), epiregulina (EREG) e betacelulina (BTC). Sendo assim, ao interagir com seus receptores específicos nas células murais da granulosa que constituem o folículo, o LH induz a expressão do AREG, EREG e BTC por meio da ativação do segundo mensageiro AMPc (adenosina monofostafa cíclico) e da quinase PKA (Hanrahan et al., 2004; Sugimura et al., 2015).

Estes peptídeos, por sua vez, interagem com receptores específicos nas células do cumulus e, através da ativação da proteína quinase ativada por mitógenos (MAPK), sinalizam a expressão de genes implicados na expansão do cumulus, entre os quais se destacam a HAS2, a COX2, a TNFAIP6, a PTX3 e o GREM1 (Pangas et al., 2004; Salustri et al., 2004; Sugiura et al., 2010; Nuttinck et al., 2011).

A expressão destes genes, no entanto, depende não somente da ação isolada dos fatores de crescimento epidermal (EGF-like), mas também do estímulo gerado pelos fatores parácrinos secretados pelo oócitos e da interação entre estas moléculas. Evidências sugerem que o GDF9 e BMP15 sintetizados no oócito estimulam a expressão de receptores para os fatores EGF-like no cumulus por meio da ativação das proteínas SMAD (Su et al., 2010). Richani et al. (2013) demonstraram ainda que a adição dos peptídeos AREG e EREG ao meio de maturação oocitária melhora a taxa e qualidade dos embriões produzidos *in vitro*. Deste modo, por estarem implicados no processo de aquisição de competência oocitária, muito provavelmente, os TGFβ e EGF também determinam, indiretamente,

o potencial de desenvolvimento embrionário (Gode et al., 2011; Sugimura et al., 2015).

Dentre os genes alvo dos fatores EGF-like, o HAS2 é considerado crucial uma vez que codifica a enzima hialurona sintetase-2 responsável pela síntese do ácido hialurônico que consiste no arcabouço viscoelástico da matriz extracelular implicada na mucificação do cumulus (Sugiura et al., 2010). Em oócitos de suínos, Procházka et al. (2011) constataram incremento da expressão da HAS2 no início da maturação *in vitro* na presença de FSH, a qual atingiu nível máximo nas primeiras 4 horas com decréscimo após 20 horas de cultivo. Do mesmo modo, a concentração do glicosaminoglicano HAS2 aumentou durante a maturação *in vitro* de oócitos bovinos (Schoenfelder e Einspanier, 2003).

Com relação a COX2 também designada prostaglandina endoperoxidase sintetase-2 (PTGS2), embora sua ação específica ainda não esteja totalmente determinada, se reconhece sua implicação na síntese da prostaglandina E₂ (PGE₂) e sua importância na expansão do cumulus (Takahashi et al., 2006). Em bovinos, Nuttinck et al. (2011) constataram que a inibição da atividade da PTGS2 durante a maturação *in vitro* prejudicou a expansão do cumulus, reduziu a taxa de maturação e alterou a cinética de desenvolvimento e qualidade embrionária. Do mesmo modo, a deleção do gene PTGS2 em camundongos resultou em falhas na maturação oocitária e fertilização (Takahashi et al., 2006). Marei et al. (2014) demonstraram ainda que a adição de PGE₂ exógeno ao meio de maturação *in vitro* isento de gonadotrofinas proporciona maiores taxas de oócito em metáfase II. Tais constatações evidenciam a importância da PTGS2 e PGE₂ nos eventos acima descritos.

Quanto ao perfil de expressão, Nuttinck et al. (2011), detectaram incremento progressivo do RNAm PTGS2 durante a maturação *in vitro* de COCs bovinos na presença de EGF. Evidente expressão foi constatada a partir de 6 horas de maturação, atingindo nível máximo ao final de 24 horas. Este padrão também foi acompanhado pela constatação visual de expansão do cumulus e aumento da concentração de PGE₂ no meio de cultivo.

A estrutura e estabilidade da matriz extracelular são mantidas ainda pela interação entre diferentes proteínas, como a TSG6 e a PTX3, cuja expressão nas células do cumulus também é regulada pelos fatores EGF-like. Evidências

demonstram que a PTX3 se liga ao TSG6 em seu sítio específico formando um complexo que serve para ancoragem do ácido hialurônico (Levoli et al., 2011). Além disso, a PTX3 parece exercer atividade antiproteolítica protegendo o oócito e a matriz extracelular da ação de proteases sintetizadas pelo próprio oócito e pelas células do cumulus algumas horas após a ovulação (Salustri et al., 2004).

A baixa concentração de RNAm e proteína TSG6 em camundongos com deleção do gene que codifica a PTGS2 sugere ainda possível participação da PGE₂ na indução da expressão da TSG6. Além disso, evidências demonstram que na ausência de TSG6 e PTX3 não ocorre formação da matriz extracelular, resultando em falhas na expansão do cumulus e consequente infertilidade (Ochsner et al., 2003; Salustri et al., 2004). Em camundongos, o perfil de expressão do TSG6 é similar ao observado para PTX3, com pico de expressão após 12 horas de maturação *in vitro* na presença de soro fetal bovino (Yoshino et al., 2006).

Com relação ao GREM1, sua expressão também é rapidamente induzida pelo estímulo gonadotrófico e se mantém ao longo de toda maturação oocitária, sendo o GDF9 a principal molécula regulatória deste processo (Pangas et al., 2004). No entanto, apesar do envolvimento na foliculogênese, expansão do cumulus, maturação, ovulação e prevenção da luteinização prematura, o modo de ação exato do GREM 1 ainda não foi esclarecido (Dhali et al., 2017).

Célula-B de linfoma-2 (BCL-2) e Proteína X associada ao BCL-2(BAX)

O desenvolvimento é controlado não apenas pela proliferação e diferenciação celular, mas também pela eliminação de células indesejáveis ou prejudiciais. Este processo de morte celular programada que caracteriza a apoptose é determinado geneticamente e envolve alterações morfológicas evidenciadas pela desestabilização da membrana plasmática, agregação da cromatina, condensação e fragmentação nuclear e citoplasmática, acometendo qualquer tipo celular (Fuchs e Steller, 2011).

Nos ovários, a apoptose está implicada tanto na degeneração e perda de quantidade expressiva de oogônias e oócitos ao longo da oogênese como no desenvolvimento folicular normal (Hussein, 2005). Dentre os transcritos envolvidos neste processo se destacam o Bcl-2, com função anti-

apoptótica, e o Bax, com função pró-apoptótica. O equilíbrio entre estas moléculas determina se a célula permanecerá ou não viável, sendo, portanto, crucial para o adequado desenvolvimento oocitário e embrionário (Krysko et al., 2008).

Um dos primeiros estudos realizados neste contexto em ovários de camundongos demonstrou redução significativa da quantidade de folículos primordiais mediante deleção do gene que codifica o Bcl-2 (Ratts et al., 1995). Esta ação anti-apoptótica do Bcl-2 também foi evidenciada mais tarde pela menor porcentagem de atresia folicular quando o referido gene estava superexpresso (Morita et al., 1999). Em humanos, Filali et al. (2009) demonstraram ainda que a competência oocitária para completar a maturação, e suportar a fertilização e embriogênese inicial está diretamente relacionada a adequada concentração de RNAm Bcl-2 nas células do cumulus.

Já o Bax é reconhecido como um importante regulador negativo do desenvolvimento folicular devido a sua ação pró-apoptótica (Greenfeld et al., 2007). Estes mesmos autores relataram aumento significativo da população de oócitos e folículos primordiais em camundongos com deleção do gene que codifica o Bax, resultando em tempo de vida reprodutiva útil mais prolongado. O mecanismo através do qual o Bax determina a apoptose celular e, conseqüentemente, controla a população folicular ainda não está totalmente desvendado. No entanto, se reconhece que na presença de um sinal apoptótico, a BAX se adere a membrana mitocondrial externa alterando sua permeabilidade e resultando no extravasamento de proteínas pró-apoptóticas, como o citocromo c, da matriz mitocondrial para o citoplasma além de promover a interrupção na síntese de ATP e produção de radicais livres que levam a ativação de uma cascata enzimática mediada pelas caspases, resultando no colapso celular (Grivicich et al., 2007).

Observação similar foi relatada em embriões por Liu et al. (2000) de modo que aqueles considerados não viáveis e fragmentados apresentaram significativa prevalência de Bax em contraste aos embriões viáveis nos quais apenas o Bcl-2 foi constatado. Sendo assim, o adequado estoque materno de RNAm Bcl-2 assim como o restabelecimento da transcrição deste gene a partir da AGE confere ao embrião competência para suprimir a ação do Bax e prosseguir seu desenvolvimento de maneira adequada. Ainda segundo Haouzi e Hamamah (2009), a proporção Bax:Bcl-2 e conseqüente viabilidade ou morte

celular é determinada não somente pela qualidade intrínseca dos gametas como também por estímulos externos ou alterações intracelulares que podem culminar com a maior prevalência de um transcrito em detrimento a outro. Deste modo, aspectos relacionados à produção *in vitro* de embriões como a manipulação dos gametas e condições inadequadas de cultivo podem favorecer a apoptose.

Considerações Finais

O esclarecimento da função exata dos mecanismos de ação dos transcritos implicados na aquisição da competência oocitária consiste numa importante ferramenta para a compreensão dos fenômenos fisiológicos que regem o desenvolvimento do organismo assim como para o aperfeiçoamento das técnicas de reprodução assistida. No entanto, apesar do avanço científico, novas pesquisas são necessárias no âmbito do controle molecular da maturação oocitária e embriogênese a fim de desvendar moléculas e vias metabólicas implicadas neste contexto.

Referências

- Adona, P.R.; Bem, T.H.C.; Mesquita, L.G.; Rochetti, R.C.; Leal, C.L.V. Embryonic development and gene expression in oocytes cultured *in vitro* in supplemented pre-maturation and maturation media. **Reproduction in Domestic Animals**, 46: e31-8, 2011.
- Akison, L.K.; Alvino, E.R.; Dunning, K.R.; Robkerand, R.L.; Russell, D.L. Transient invasive migration in mouse cumulus oocyte complexes induced at ovulation by luteinizing hormone. **Biology of Reproduction**, 86(4): 125,1-8, 2012.
- Assidi, M.; Richard, F.J.; Sirard, M.A. FSH *in vitro* versus LH *in vivo*: similar genomic effects on the cumulus. **Journal of Ovarian Research**, 25;6(1): 68, 2013.
- Bebbere, D.; Bogliolo, L.; Ariu, F.; Fois, S.; Leoni, G.G.; Tore, S.; Succu, S.; Berlinguer, F.; Naitana, S.; Ledda, S. Expression pattern of zygote arrest 1 (*ZARI*), maternal antigen that embryo requires (*MATER*), growth differentiation factor 9 (*GDF9*) and bone morphogenetic protein 15 (*BMP15*) genes in ovine oocytes and *in vitro*-produced preimplantation embryos. **Reproduction, Fertility and Development**, 20: 908-915, 2008.

- Budna, J.; Rybska, M.; Ciesiółka, S.; Bryja, A.; Borys, S.; Kranc, W.; Wojtanowicz-Markiewicz, K.; Jeseta, M.; Sumelka, E.; Bukowska, D.; Antosik, P.; Brüssow, K.P.; Bruska, M.; Nowicki, M.; Zabel, M.; Kempisty. Expression of genes associated with BMP signaling pathway in porcine oocytes before and after IVM - a microarray approach. **Reproductive Biology and Endocrinology**, 2: 15-43, 2017.
- Cho, T.; Sakai, S.; Nagata, M.; Aoki, F. Involvement of chromatin structure in the regulation of mouse zygotic gene activation. **Animal Science Journal**, 73: 113-122, 2002.
- Dhali, A.; Javvaji, P.K.; Kolte, A.P.; Francis, J.R.; Roy, S.C.; Sejian, V. Temporal expression of cumulus cell marker genes during in vitro maturation and oocyte developmental competence. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, 34(11): 1493-1500, 2017.
- Filali, M.; Frydman, N.; Belot, M.P.; Hesters, L.; Gaudin, F.; Tachdjian, G.; Emilie, D.; Frydman, R.; Machelon, V. Oocyte in-vitro maturation: BCL2 mRNA content in cumulus cells reflects oocyte competency. **Reproductive Biomedicine Online**, 19(4): 71-84, 2009.
- Fuchs, Y.; Steller, H. Programmed cell death in animal development and disease. **Cell**. 147(4): 742-758, 2011.
- Gilchrist, R.B.; Richani, D. Somatic guidance for the oocyte. **Developmental Cell**, 27(6): 603-605, 2013.
- Gilchrist, R.B.; Lane, M.; Thompson, J.G. Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. **Human Reproduction Update**, 14(2): 159-177, 2008.
- Gode, F.; Gulekli, B.; Dogan, E.; Korhanm P.; Dogan, S.; Bige, O.; Cimrin, D.; Atabey, N. Influence of follicular fluid GDF9 and BMP15 on embryo quality. **Fertility and Sterility**, 95(7): 2274-2278, 2011.
- Greenfeld, C.R.; Pepling, M.E.; Babus, J.K.; Furth, P.A.; Flaws, J.A. BAX regulates follicular endowment in mice. **Reproduction**, 133: 865-876, 2007.
- Grivicich, I.; Regner, A.; Rocha, A.B. Apoptosis: Programmed Cell Death. **Revista Brasileira de Cancerologia**, 53(3): 335-343, 2007.
- Hamatani, T.; Carter, M.G.; Sharov, A.A. Ko, M.S.H. Dynamics of global gene expression changes during mouse preimplantation development. **Developmental Cell**, 6: 117-131, 2004.
- Hanrahan, J.P.; Gregan, S.M.; Mulsant, P.; Mullen, M.; Davis, G.H.; Powell, R.; Galloway, S.M. Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (Ovisaries). **Biology of Reproduction**, 70(4): 900-909, 2004.
- Haouzi, D.; Hamamah, S. Pertinence of apoptosis markers for the improvement of in vitro fertilization (IVF). **Current Medicinal Chemistry**, 16(15): 1905-1916, 2009.
- Hussein, M.R. Apoptosis in the ovary: molecular mechanisms. **Human Reproduction Update**, 11: 162-177, 2005.
- Jukam, D.; Shariati, S.A.M.; Skotheim, M. Zygotic genome activation in vertebrates. **Developmental Cell**, 42(4): 316-332, 2017.
- Kyassari, O.R.; Valojerdi, M.R.; Farrokin, A.; Ebrahimi, B. Expression of maturation genes and their receptors during *in vitro* maturation of sheep COCs in the presence and absence of somatic cells of cumulus origin. **Theriogenology**, 77(1): 12-20, 2012.
- Krysko, D.V.; Diez-Fraile, A.; Criel, G.; Svistunov, A.A.; Vandenabeele, P.; D'Herde, K. Life and death of female gametes during oogenesis and folliculogenesis. **Apoptosis**. 13: 1065-1087, 2008.
- Lee, M.T.; Bonneau, A.R.; Giraldez, A.J. Zygotic genome activation during the maternal-to-zygotic transition. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, 30: 581-513, 2014.
- Levoli, E.; Lindstedt, R.; Inforzato, A.; Camaioni, A.; Palone, F.; Day, A.J.; Mantovani, A.; Salvatori, G.; Salustri, A. Implication of the oligomeric state of the N-terminal PTX3 domain in cumulus matrix assembly. **Matrix Biology**, 30 (1-5): 330-337, 2011.
- Li, L.; Zheng, P.; Dean, J. Maternal control of early mouse development. **Development**, 137: 859-870. 2010.
- Lin, Z.L.; Li, Y.H.; Xu, Y.N.; Wang, Q.L.; Namgoong, S.; Cui, X.S.; Kim, N.H. Effects of growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 on the in vitro maturation of porcine oocytes. **Reproduction in Domestic Animals**, 49(2): 219-227, 2014.
- Liu, H.C.; He, Z.Y.; Mele, C.A.; Veeck, L.L.; Davis, O.; Rosenwaks, Z. Expression of

- apoptosis-related genes in human oocytes and embryos. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, 17(9): 521-533, 2000.
- Lu, Y.Q.; He, X.C.; Zheng, P. Decrease in expression of maternal effect gene Mater is associated with maternal ageing in mice. **Molecular Human Reproduction**, 22(4): 252-260, 2016.
- Marei, W.F.; Abayasekara, D.R.E.; Wathes, D.C.; Fouladi-Nashta, A.A. Role of PTGS2-generated PGE₂ during gonadotrophin-induced bovine oocyte maturation and cumulus cell expansion. **Reproductive Biomed Online**, 28(3): 388-400, 2014.
- Morita, Y.; Perez, G.; Maravei, D.V.; Tilly, K.I.; Tilly, J.L. Targeted expression of bcl-2 in mouse oocytes inhibits ovarian follicle atresia and prevents spontaneous and chemotherapy-induced oocyte apoptosis *in vitro*. **Molecular Endocrinology**, 13: 841-850, 1999.
- Nath, A.; Sharma, V.; Dubey, P.K.; Pratheesh, M.D.; Gade, N.E.; Saikumar, G. Impact of gonadotropin supplementation on the expression of germ cell marker genes (MATER, ZAR1, GDF9, and BMP15) during *in vitro* maturation of buffalo (*Bubalus bubalis*) oocyte. **In Vitro Cellular & Developmental Biology Animal**, 49: 34-41, 2013.
- Norris, R.P.; Freudzon, M.; Mehlmann, L.M.; Cowan, A.E.; Simon, A.M.; Paul, D.L., Lampe, P.D.; Jaffe, L.A. Luteinizing hormone causes MAP kinase-dependent phosphorylation and closure of connexin 43 gap junctions in mouse ovarian follicles: one of two paths to meiotic resumption. **Development**, 135: 3229-3238, 2008.
- Nuttinck, F.; Gall, L.; Ruffini, S.; Laffont, L.; Clement, L.; Reinaud, P.; Adenor, P.; Grimard, B.; Charpigny, G.; Marquant-le Guienne, B. PTGS2-Related PGE₂ affects oocyte MAPK phosphorylation and meiosis progression in cattle: late effects on early embryonic development. **Biology of Reproduction**, 84: 1248-1257, 2011.
- Ochsner, S.A.; Day, A.J.; Rugg, M.S.; Breyer, M.R.; Gomer, R.H.; Richards, J.S. Disrupted function of tumor necrosis factor alpha - stimulated gene 6 blocks cumulus cell-oocyte complex expansion. **Endocrinology**, 144(10): 4376-4384, 2003.
- Pangas, S.A.; Jorgez, C.J.; Matzuk, M.M. Growth differentiation factor nine regulates expression of the bone morphogenic protein antagonist, gremlin. **Journal of Biological Chemistry**, 279: 32281-32286, 2004.
- Pennetier, S.; Uzbekova, S.; Perreau, C.; Papillier, P.; Mermillod, P.; Dalbiès-Tran, R. Spatio-temporal expression of the germ cell marker genes MATER, ZAR1, GDF9, BMP15, and VASA in adult bovine tissues, oocytes, and preimplantation embryos. **Biology of Reproduction**, 71(4): 1359-1366, 2004.
- Pereira, M.M.; Costa, F.Q.; Oliveira, A.P.; Serapião, P.R., Machado, M.A.; Viana, J.H.M.; Camargo, L.S.A. Quantificação de transcritos maternos em oócitos bovinos submetidos a diferentes condições de maturação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 62(6): 1394-1400, 2010.
- Procházka, R.; Petlach, M.; Nagyová, E.; Nemcová, L. Effect of epidermal growth factor-like peptides on pig cumulus cell expansion, oocyte maturation, and acquisition of developmental competence *in vitro*: comparison with gonadotropins. **Reproduction**, 141(4): 425-435, 2011.
- Ratts, V.S.; Flaws, J.A.; Kolp, R.; Sorenson, C.M.; Tilly, J.L. Ablation of bcl-2 gene expression decreases the number of oocytes and primordial follicles established in the post-natal female mouse gonad. **Endocrinology**, 136:3665-3668, 1995.
- Richani, D.; Ritter, L.J.; Thompson, J.G.; Gilchrist, R.B. Mode of oocyte maturation affects EGF-like peptide function and oocyte competence. **Molecular Human Reproduction**, 19(8): 500-509, 2013.
- Russel, D.L.; Salustri, A. Extracellular matrix of the cumulus-oocyte complex. **Seminars in Reproductive Medicine**, 24: 217-227, 2006.
- Salustri, A.; Garlanda, C.; Hirsch, E.; Acetis, M.D.; Maccagno, A.; Bottazzi, B.; Doni, A.; Bastone, A.; Mantovani, G.; Beck Peccoz, P.; Salvatori, G.; Mahoney, D.J.; Day, A.J.; Siracusa, G.; Romani, L.; Mantovani, A. PTX3 plays a key role in the organization of the cumulus oophorus extracellular matrix and in *in vivo* fertilization. **Development**, 131: 1577-1586, 2004.
- Sarraj, M.A.; Drummond, A.E. Mammalian fetal ovarian development: consequences for health and disease. **Reproduction**, 143: 151-163, 2012.

- Schoenfelder, M.; Einspanier, R. Expression of hyaluronan synthases and corresponding hyaluronan receptors is differentially regulated during oocyte maturation in cattle. **Biology of Reproduction**, 69: 269-277, 2003.
- Schultz, R.M. The molecular foundations of the maternal to zygotic transition in the preimplantation embryo. **Human Reproduction Update**, 8(4): 323-331, 2002.
- Shruthi, B.S.; Vinodhkumar, P.; Selvamani. Proteomics: a new perspective for cancer. **Advanced Biomedical Research**, 5 (67): 1-17, 2016.
- Sirard, M.A. Factors affecting oocyte and embryo transcriptomes. **Reproduction in Domestic Animals**, 47(4): 148-155, 2012.
- Su, Y.Q.; Sugiura, K.; Li, Q.; Wigglesworth, K.; Matzuk, M.M.; Eppig, J.J. Mouse oocytes enable LH-induced maturation of the cumulus-oocyte complex via promoting EGF receptor-dependent signaling. **Molecular Endocrinology**, 24(6): 1230-1239, 2010.
- Sugimura, S.; Ritter, L.J.; Rose, R.D.; Thompson, J.G.; Smitz, J.; Mottershead, D.G., Gilchrist, R.B. Promotion of EGF receptor signaling improves the quality of low developmental competence oocytes. **Developmental Biology**, 403(2): 139-149, 2015.
- Sugiura, K.; Su, Y.Q.; Li, Q.; Wigglesworth, K.; Matzuk, M.M.; Eppig, J.J. Estrogen promotes the development of mouse cumulus cells in coordination with oocyte-derived GDF9 and BMP15. **Molecular Endocrinology**, 24: 2303-2314, 2010.
- Sun, R.Z.; Lei, L.; Cheng, L.; Jin, Z.F.; Zu, S.J.; Shan, Z.Y.; Wang, Z.D.; Liu, Z.H. Expression of GDF-9, BMP-15 and their receptors in mammalian ovary follicles. **Journal of Molecular Histology**, 41: 325-332, 2010.
- Takahashi, T.; Morrow, J.D.; Wang, H.; Dey, S.K. Cyclooxygenase-2-derived prostaglandin E2 directs oocyte maturation by differentially influencing multiple signaling pathways. **Journal of Biological Chemistry**, 281: 37117-37129, 2006.
- Tanghe, S.; Soom, A.V.; Nauwynck H.; Coryn, M.; De Kruif, A. Minireview: Functions of the cumulus oophorus during oocyte maturation, ovulation and fertilization. **Molecular Reproduction and Development**, 61: 414-424, 2002.
- Tong, Z.B.; Gold, L.; Pfeifer, K.E.; Dorward, H.; Lee, E.; Bondy, C.A.; Dean, J.; Nelson, L.M. Mater, a maternal effect gene required for early embryonic development in mice. **Nature Genetics**, 26(3): 267-268, 2000.
- Uzbekova, S.; Roy-Sabau, M.; Dalbiès-Tran, R.; Perreau, C.; Papillier, P.; Mompert, F.; Thelie, A.; Pannetier, S.; Cognie, J.; Cadoret, V.; Royere, D.; Monget, P.; Mermillod, P. Zygote arrest 1 gene in pig, cattle and human: evidence of different transcript variants in male and female germ cells. **Reproductive Biology and Endocrinology**, 4(12): 1-14, 2006.
- Wei, L.N.; Liang, X.Y.; Fang, C.; Zhang, M.F. Abnormal expression of growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 in stimulated oocytes during maturation from women with polycystic ovary syndrome. **Fertility and Sterility**, 96: 464-468, 2011.
- Wu, X.; Viveiros, M.M.; Eppig, J.J.; Ba, Y.; Fitzpatrick, S.L.; Matzuk, M.M. Zygote arrest 1 (Zar1) is a novel maternal-effect gene critical for the oocyte-to-embryo transition. **Nature Genetics**, 33: 187-191, 2003.
- Yoshino, O.; McMahon, H.E.; Sharma, S.; Shimasaki, S. A unique preovulatory expression pattern plays a key role in the physiological functions of BMP-15 in the mouse. **Proceedings of the National Academy Sciences**, 103(28): 10678-10683, 2006.
- Zhang, K.; Smith, G.W. Maternal control of early embryogenesis in mammals. **Reproduction, Fertility and Development**, 27(6): 880-896, 2015.