

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

VINICIUS MARETTO

**ATIVIDADE DA VIA L-ARG/NO E L-ARG/PAs NA MATURAÇÃO *IN VITRO* DE
OÓCITOS BOVINOS E SEUS REFLEXO NA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE
EMBRIÕES**

Campos dos Goytacazes

Março de 2024

VINICIUS MARETTO

ATIVIDADE DA VIA L-ARG/NO E L-ARG/POLIAMINAS NA MATURAÇÃO *IN VITRO* DE OÓCITOS BOVINOS E SEUS REFLEXO NA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, na área de concentração de Produção e Reprodução Animal.

Orientadora: Profa Maria Clara Caldas Bussiere

Co-orientador: Prof. Angelo José Burla Dias

Campos dos Goytacazes

Março de 2024

VINICIUS MARETTO

**ATIVIDADE DA VIA L-ARG/NO E L-ARG/PAs NA MATURAÇÃO *IN VITRO* DE
OÓCITOS BOVINOS E SEUS REFLEXO NA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE
EMBRIÕES**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, na área de concentração de Produção e Reprodução Animal.

Aprovada em 01 de março de 2024

BANCA EXAMINADORA

Dra. Clara Slade Oliveira - EMBRAPA

Dr. Valter Luiz Maciel Júnior – UNIFESP

Dra. Paula Magnelli Mangiavacchi - UENF

Dr. Wilder Hernando Ortiz Vega - UENF

Dr. Angelo José Burla Dias – UENF (Coorientador)

Dra. Maria Clara Caldas Bussiere - UENF (Orientadora)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a meus pais Jorge Luiz Maretto e Rita de Fátima Moreira Maretto, que foram sempre meus grandes e incondicionais apoiadores. A vocês, eu dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pelo dom da vida e pelo caminho percorrido até aqui. Por toda força que me destes durante essa jornada, nunca permitindo que as pedras me desviassem do meu caminho

À meus pais, pelo apoio e incentivo empregados a mim durante esta caminhada, que nunca mediram esforços para me ajudar a alcançar meus objetivos.

À minha esposa Cristyelen, por todo amor, companheirismo, paciência e incentivo destinados a mim. Por ser sempre minha incentivadora e por acreditar em mim mais do que eu mesmo.

À minha orientadora Maria Clara Caldas Bussiere, por ter me aceitado como seu aluno já no doutorado, por todos os ensinamentos não só científicos, mas também pessoais, que edificaram em mim uma nova visão da ciência e me fizeram crescer muito profissional e pessoalmente.

Ao meu coorientador Angelo José Burla Dias, pelos ensinamentos dirigidos a mim durante os últimos quatro anos, essenciais para meu crescimento profissional.

À professora Claudete Santa Catarina e ao amigo Renan Carrari Santos, por toda contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

À pós-doutoranda e amiga, Paula Magnelli Mangiavacchi, por toda disponibilidade nas análises de qPCR.

À professora Célia Raquel Quirino, por toda disponibilidade e contribuição para análise dos dados.

À técnica Carla Paes Sobrinho, por todos os ensinamentos e apoio durante à realização desse trabalho.

À técnica Bruna Lomba Dias, por todo apoio, ensinamentos e amizade.

Ao professor Reginaldo Silva Fontes, pela amizade e conselhos a mim direcionados, e ao professor Luís Fonseca Matos, por ter me incentivado buscar voos mais altos.

Aos amigos João Vitor, Ana Jéssica, Marina e Helen, por toda contribuição com as atividades desenvolvidas no presente trabalho e pela amizade durante essa caminhada.

Aos demais técnicos do LRMGA que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização desse trabalho.

Ao Frigorífico Guarus por disponibilizar material para realização dos nossos estudos.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense “Darcy Ribeiro” e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pela concessão da bolsa de estudos que me permitiu realizar este curso.

RESUMO

A L-arginina (L-arg) é o aminoácido precursor de importantes metabólitos com funções descritas na reprodução, como o óxido nítrico (NO) e as poliaminas (PAs). Em um primeiro estudo, objetivou-se avaliar o efeito dose-resposta da suplementação com diferentes concentrações de L-arg na MIV de oócitos bovinos. Em um segundo estudo, objetivou-se mensurar a concentração intraoocitária de PAs durante a MIV de oócitos bovinos e associá-la à maturação nuclear. Para o primeiro estudo, Oócitos obtidos de ovários de abatedouro foram levados à MIV utilizando diferentes concentrações de L-arg (0,625 mMol; 1,25 mMol; 2,5 mMol; 5,0 mMol; 10 mMol). A taxa de maturação foi avaliada por coloração com orceína acética. A integridade de membrana das células do *cumulus* (IMP) foi avaliada por marcação com H33342 e iodeto de propídio. O pH do meio foi mensurado utilizando tiras comerciais. A dosagem de nitrito total foi realizada por meio do método colorimétrico de Griess. A atividade de junções GAP e potencial de membrana mitocondrial (MMP) foram determinados por marcação com calceína e JC-1. As taxas de clivagem, blastocisto e eclosão foram avaliadas nos dias 2, 7 e 9 do cultivo, respectivamente. A análise dos transcritos relativos foi avaliada por qPCR. A morfometria dos oócitos foi mensurada com auxílio do programa PrimeCam. Para o segundo estudo, os oócitos foram divididos em dois tratamentos (GC: grupo controle e; GT: meio de maturação suplementado com 2,5 mMol de L-arginina) e maturados em placas de quatro poços contendo 30 COCs por poço. Os oócitos foram retirados da MIV nos tempos 0 h (imaturo), 3 h, 6 h, 9 h, 12 h, 15 h e 22 h. A avaliação do estágio de maturação foi realizada por coloração com orceína acética. PAs livres foram analisadas por dansilação, identificadas e quantificadas por HPLC. A análise dos transcritos relativos foi avaliada por qPCR. Para ambos os estudos, foi realizada análise de variância das variáveis testando o efeito de grupo, sendo as médias comparadas através do teste SNK. A variação na abundância de mRNA foi analisada por ANOVA e comparações múltiplas entre grupos foram realizadas pelo teste t de Student LSMeans. No primeiro estudo, as concentrações de 5,0 e 10 mMol apresentaram efeitos deletérios à MIV e foram retiradas das etapas seguintes ($p < 0,05$). 1,25 mMol e 2,5 mMol de L-arg apresentaram maior tempo de permanência e atividade de junções GAP ($p < 0,05$). 2,5 mMol apresentou maior MMP ($p < 0,05$). 0,625 mMol apresentou menor taxa de clivagem ($p < 0,05$). 2,5 mMol apresentou maior taxa de blastocisto e eclosão ($p < 0,05$). Não houve transcrição para Bcl2 e AREG. BAX e SOD2 apresentaram maior expressão em GC quando comparado à 2,5 mMol. Não houve diferença para expressão de OCT4. O GC apresentou maior expressão de iNOS. A suplementação com 2,5 mMol aumentou o diâmetro e área da vesícula germinativa ($p < 0,05$). No segundo estudo, observou-se um retardo na retomada da meiose em oócitos tratados com L-arg ($p < 0,05$), não sendo observada diferença no estágio de maturação a partir da hora 15 ($p \geq 0,05$) entre os grupos. PUT apresentou retardo no pico de concentração no grupo L-arg, acompanhando o retardo meiótico ($p < 0,05$). SPM apresentou pico de concentração na hora 9 (GC) e 12 (L-arg) ($p < 0,05$). SPD e CAD apresentaram acentuada redução na sua concentração após o início da MIV ($p < 0,05$), mantendo-se estáveis durante a mesma. A abundância para Histona H2A foi menor em GC na hora 3 de MIV ($p < 0,05$). A expressão de TP53BP1 e RAD52 foi menor nas horas 3 e 6 de MIV do GC ($p < 0,05$). BAX apresentou maior abundância para GC e menor abundância para L-arg na hora 3 de MIV ($p < 0,05$). XRCC5 apresentou menor abundância na hora 6 de MIV em L-arg ($p < 0,05$) enquanto XRCC6 apresentou menor abundância nas horas 3 para GC e 6 para L-arg ($p < 0,05$). Não houve diferença na expressão de ATM ($p > 0,05$). Identificamos pela primeira vez a concentração de poliaminas intraoocitária em mamíferos. A sincronia entre RVG e picos de PUT sugerem a participação da mesma durante a MIV, assim como a suplementação com L-arg pode alterar a concentração de SPD. Conclui-se que a suplementação com 2,5 mMol de L-arg melhora a qualidade de oócitos bovinos MIV, contribuindo para produção de embriões em maior quantidade e qualidade. Mais

estudos são necessários para verificar a importância das poliaminas na cinética e qualidade dos oócitos maturados *in vitro* e seu impacto na produção de blastocistos.

Palavras-chave: óxido nítrico; poliaminas; produção *in vitro* de embriões.

ABSTRACT

L-arginine (L-arg) is the amino acid precursor of important metabolites with functions described in reproduction, such as nitric oxide (NO) and polyamines (PAs). In a first study, the objective was to evaluate the dose-response effect of supplementation with different concentrations of L-arg on the IVM of bovine oocytes. In a second study, the objective was to measure the intraoocyte concentration of PAs during IVM of bovine oocytes and associate it with nuclear maturation. For the first study, Oocytes obtained from slaughterhouse ovaries were taken to IVM using different concentrations of L-arg (0.625 mMol; 1.25 mMol; 2.5 mMol; 5.0 mMol; 10 mMol). The maturation rate was assessed by staining with orcein acetic acid. Cumulus cell membrane integrity (IMP) was assessed by labeling with H33342 and propidium iodide. The pH of the medium was measured using commercial strips. Total nitrite was measured using the Griess colorimetric method. GAP junction activity and mitochondrial membrane potential (MMP) were determined by labeling with calcein and JC-1. Cleavage, blastocyst and hatching rates were evaluated on days 2, 7 and 9 of cultivation, respectively. Relative transcript analysis was assessed by qPCR. Oocyte morphometry was measured using the PrimeCam program. For the second study, oocytes were divided into two treatments (CG: control group and; GT: maturation medium supplemented with 2.5 mMol L-arginine) and matured in four-well plates containing 30 COCs per well. Oocytes were removed from IVM at times 0 h (immature), 3 h, 6 h, 9 h, 12 h, 15 h and 22 h. The evaluation of the maturation stage was carried out by staining with orcein acetic acid. Free PAs were analyzed by dansylation, identified and quantified by HPLC. Relative transcript analysis was assessed by qPCR. For both studies, analysis of variance was performed on the variables testing the group effect, with the means compared using the SNK test. Variation in mRNA abundance was analyzed by ANOVA and multiple comparisons between groups were performed by Student LSMeans t test. In the first study, concentrations of 5.0 and 10 mMol showed deleterious effects on IVM and were removed from the following stages ($p < 0.05$). 1.25 mMol and 2.5 mMol of L-arg showed greater residence time and GAP junction activity ($p < 0.05$). 2.5 mMol showed higher MMP ($p < 0.05$). 0.625 mMol showed a lower cleavage rate ($p < 0.05$). 2.5 mMol showed a higher blastocyst and hatching rate ($p < 0.05$). There was no transcription for Bcl2 and AREG. BAX and SOD2 showed higher expression in GC when compared to 2.5 mMol. There was no difference in OCT4 expression. The GC showed higher expression of iNOS. Supplementation with 2.5 mMol increased the diameter and area of the germinal vesicle ($p < 0.05$). In the second study, a delay in the resumption of meiosis was observed in oocytes treated with L-arg ($p < 0.05$), with no difference in the maturation stage from hour 15 onwards ($p \geq 0.05$) between the groups. PUT showed a delay in peak concentration in the L-arg group, following the meiotic delay ($p < 0.05$). SPM showed a peak concentration at hours 9 (GC) and 12 (L-arg) ($p < 0.05$). SPD and CAD showed a marked reduction in their concentration after the start of IVM ($p < 0.05$), remaining stable during it. The abundance for Histone H2A was lower in GC at hour 3 of IVM ($p < 0.05$). The expression of TP53BP1 and RAD52 was lower in hours 3 and 6 of IVM in GC ($p < 0.05$). BAX showed greater abundance for GC and lower abundance for L-arg at hour 3 of MIV ($p < 0.05$). XRCC5 showed lower abundance at hour 6 of MIV in L-arg ($p < 0.05$) while XRCC6 showed lower abundance at hours 3 for GC and 6 for L-arg ($p < 0.05$). There was no difference in ATM expression ($p > 0.05$). We identified for the first time the concentration of intraoocyte polyamines in mammals. The synchrony between RVG and PUT peaks suggests its participation during IVM, just as supplementation with L-arg can alter the concentration of SPD. It is concluded that supplementation with 2.5 mMol of L-arg improves the quality of bovine IVM oocytes, contributing to the production of embryos in greater quantity and quality. More studies are needed to verify the importance of polyamines in the kinetics and quality of oocytes matured in vitro and their impact on blastocyst production.

Keywords: nitric oxide; polyamines; *in vitro* production of embryos.

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Metabolismo da L-arginina em mamíferos.	28
Figura 2	Representação esquemática da participação da via L-arg/NO na retomada da meiose de oócitos bovinos. A óxido nítrico sintase (NOS) metaboliza a L-arg em L-citrulina e óxido nítrico (NO). O NO estimula a enzima guanilato ciclase soluvel (GCs) que catalisa a conversão de 5P guanosina-trifosfato (GTP) em guanosina cíclico 3P,5P guanosina-trifosfato (GMPc). O GMPc atua estimulando a Fosfodiesterase 3A (PDE3A), que promove a hidrólise de AMPc, o que contribui com a retomada da meiose. Uma via alternativa para a produção de NO seria através de nitrato/nitrito (NO ³⁻ /NO ²⁻). O 2-fenil-4,4,5,5-tetrametilimidazolina-1-oxil 3-óxido (PTIO) é um quelante do NO, enquanto o 1H- [1,2,4] Oxadiazolo [4,3-a] quinoxalin-1-ona (ODQ) é um inibidor da enzima GCs.	29
Figura 3	Representação esquemática da via de produção de poliaminas pela célula. DFMO = Difluorometilornitina; atua como inibidor da Arginase. ODC1 = ornitina dexcarboxilase 1; ES = espermidina sintase; ESPS = espermina sintase.	33
Figura 4	Fig.1, Artigo 1. Análise da morfometria de oócitos bovinos maturados <i>in vitro</i> suplementados com L-arg onde: AO: área do oócito; AVG: área da vesícula germinativa; DO: diâmetro do oócito; DVG: diâmetro da vesícula germinativa; EZP: espessura da zona pelúcida.	65
Figura 5	Fig.2, Artigo 1. Taxa de maturação (painel A) e integridade de membrana plasmática (IMP – painel B) de células do <i>cumulus</i> de oócitos bovinos maturados <i>in vitro</i> suplementados com diferentes concentrações de L-arginina.	66
Figura 6	Fig.3, Artigo 1. Contagem de pixels de emissão de epifluorescência de funcionalidade de junções GAP e potencial de membrana mitocondrial de oócitos bovinos maturados <i>in vitro</i> suplementados com L-arginina. GC+: grupo controle positivo; GC-: grupo controle negativo; G1: meio de MIV suplementado com 0,625 mMol de L-arg; G2: meio de MIV suplementado com 1,25 mMol de L-arg; G3: meio de MIV suplementado com 2,5 mMol de L-arg.	67
Figura 7	Fig.4, Artigo 1. Taxa de clivagem (painel A), taxa de blastocisto (painel B) e taxa de eclosão (painel C) de embriões bovinos produzidos <i>in vitro</i> utilizando oócitos suplementados com diferentes concentrações de L-arginina durante a MIV.	69

- Figura 8** **Fig.5, Artigo 1.** Análise de abundância relativa de mRNA de BAX, SOD 2, OCT4 e iNOS em embriões bovinos em estágio de blastocisto eclodido aos 9 dias de cultivo *in vitro* advindos de oócitos suplementados com L-arginina durante a MIV. **70**
- Figura 9** **Fig.6, Artigo 1.** Oócitos bovinos do grupo controle (painel A) e suplementados com 2,5 mMol de L-arg (painel B) após 3 horas de maturação *in vitro* corados comorceína acética 2% para realização de morfometria indicando a vesícula germinativa (seta preta). **71**
- Figura 10** **Fig.1, Artigo 2.** Representação esquemática da via de síntese de poliaminas. L-arg: L-arginina; ODC1: ornitina descarboxilase 1; PUT: putrescina; SPD: espermidina; SPM: espermina; SS: espermidina sintase; SPS: espermina sintase. **93**
- Figura 11** **Fig.2, Artigo 2.** Concentração de putrescina (painel A), espermina (painel B), espermidina (painel C) e cadaverina (painel D) em oócitos bovinos ao longo da maturação *in vitro* (0, 3, 6, 9, 12, 15 e 22 h). Grupo Controle: oócitos maturados em meio MIV; Grupo L-arg: oócitos maturados em meio MIV suplementado com 2,5 mMol de L-arg. Letras maiúsculas diferem entre tratamentos, letras minúsculas difere entre horas ($p < 0,05$). A mensuração de poliaminas foi realizada em triplicata, sendo que cada amostra representa 200 oócitos (n total=4.200 oócitos). **97**
- Figura12** **Fig.3, Artigo2.** Análise de abundância relativa de mRNA de Histona H2A, TP53PB1, ATM, RAD52, BAX, XRCC5 e XRCC6 em oócitos bovinos suplementados com L-arginina durante as horas 3 e 6 MIV.

LISTA DE TABELAS

		Pág.
Tabela 1	Tab. 1, Artigo 1. Lista de primers utilizados nas análises qPCR.	64
Tabela 2	Tab. 2, Artigo 1. Grau de expansão de células do <i>cumulus</i> de oócitos bovinos maturados <i>in vitro</i> suplementados com diferentes concentrações de L-arginina.	68
Tabela 3	Tab. 3, Artigo 1. Mensuração do pH e da concentração de nitrito total no meio de maturação <i>in vitro</i> de oócitos bovinos suplementado com diferentes concentrações de L-arginina.	68
Tabela 4	Tab. 4, Artigo 1. Morfometria de oócitos bovinos após 3 horas de maturação <i>in vitro</i> suplementados com L-arginina.	71
Tabela 5	Tab.1, Artigo2. Primers utilizados nas análises qPCR.	
Tabela 6	Tab. 2, Artigo 2. Cinética de maturação de oócitos bovinos maturados <i>in vitro</i> e suplementados com L-arginina.	108

LISTA DE ABREVIATURAS

AO	Área do oócito
ATP	Adenosina trifosfato
AVG	Área da vesícula germinativa
BSA	Albumina sérica bovina
CAD	Cadaverina
cAMP	Monofosfato cíclico de adenosina
CCO	Complexo <i>cumulus</i> -oócito
cGMP	Monofosfato cíclico de guanosina
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DO	Diâmetro do oócito
DVG	Diâmetro da vesícula germinativa
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
ES	Espermina sintase
ESPS	Espermidina sintase
EZP	Espessura da zona pelúcida

FSH	Hormônio folículo estimulante
FIV	Fertilização <i>in vitro</i>
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
IP	Iodeto de propídeo
L-arg	L-arginina
LH	Hormônio luteinizante
M I	Metáfase I
M II	Metáfase II
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinases
MIV	Maturação <i>in vitro</i>
MMP	Potencial de membrana mitocondrial
MPF	Fator promotor de meiose
NaNO₃	Nitrato de sódio
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
ODC-1	Ornitinadscarboxilase-1
PAs	Poliaminas
PBS	Solução salina tamponada com fosfato

PIVE	Produção <i>in vitro</i> de embriões
PUT	Putrescina
PVA	Álcool polivinílico
RNA	Ácido ribonucleico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RVG	Rompimento da vesícula germinativa
SFB	Soro fetal bovino
SOF	Fluido sintético de oviduto
SPD	Espermidina
SPM	Espermina
TCM	Meio de cultura de tecidos
VG	Vesícula germinativa
VGC	Vesícula germinativa condensada

SUMÁRIO

Resumo	06
Abstract.....	08
Lista de figuras	10
Lista de tabelas	12
Lista de abreviações.....	13
1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	20
2.1. Objetivo geral	20
2.2. Objetivos específicos	20
<u>CAPÍTULO 1</u>	<u>21</u>
3. REVISÃO DE LITERATURA	22
3.1. Maturação oocitária	22
3.1.1. Maturação nuclear	22
3.1.2. Maturação citoplasmática	23
3.1.3. Maturação molecular	25
3.2. L-arginina	25
3.3. Óxido nítrico.....	28
3.4. Poliaminas	30
4. REFERÊNCIAS	34
<u>CAPÍTULO 2</u>	<u>60</u>
5. Artigo: A L-arginina aumenta a atividade das junções GAP e potencial de membrana mitocondrial de oócitos bovinos maturados <i>in vitro</i> em meio de cultivo convencional e melhora a produção e qualidade de blastocistos bovinos	61
Resumo	61
Palavras-chave	61
Introdução	61
Material e métodos	63
Resultados.....	71
Discussão.....	77
Referências	85
<u>CAPÍTULO 3</u>	<u>111</u>
6. Artigo: A L-arginina retarda a retomada da meiose, o pico de putrescina e aumenta a expressão de genes relacionados ao reparo de DNA durante a maturação <i>in vitro</i> em oócitos bovinos	112
Resumo	112
Palavras-chave	113
Introdução	113
Material e métodos	115

Resultados.....	120
Discussão.....	124
Conclusão	132
Referências	133

1. INTRODUÇÃO

A ideia de que a vida dos animais começava em um óvulo foi proposta em 1951, por Willian Harvey e, desde então, inúmeras pesquisas foram desenvolvidas em torno desta célula (TUKUR *et al.*, 2020). Hoje, acredita-se que o oócito desempenhe um papel central no sucesso da reprodução e, ao mesmo tempo, é um grande obstáculo ao avanço das biotécnicas reprodutivas (CONTI; FRANCIOSI, 2018). A viabilidade dos oócitos é o principal determinante do sucesso da interação espermatozoide-óvulo, tornando-se essencial uma maior compreensão e pesquisas mais aprofundadas sobre o seu desenvolvimento e sua regulação (CONTI; FRANCIOSI, 2018; TUKUR *et al.*, 2020).

O processo de maturação dos oócitos é um dos eventos mais impactantes na PIV, sendo por meio deste evento que os oócitos tornam-se células fertilizáveis competentes (PAN; LI, 2019). Ainda durante a vida fetal, os oócitos iniciam a meiose, porém ficam presos no estágio de vesícula germinativa (VG) até que recebam estímulos para a retomada da meiose e posterior ovulação ou atresia (LONERGAN; FAIR, 2016). Com a retomada da meiose e progressão do processo de maturação, estes oócitos alcançam a metáfase II (M II), que é caracterizada pela extrusão do primeiro corpúsculo polar, permanecendo nessa fase até a sua fertilização (HOLT; JONES, 2009).

Diversas tentativas para melhorar as condições de maturação *in vitro* (MIV) de oócitos vem sendo estudadas (TUKUR *et al.*, 2020). Substâncias que estão presentes nos tecidos reprodutivos e no fluido folicular *in vivo* e com funções reconhecidas na reprodução vem sendo acrescentadas ao meio de MIV para otimizar os resultados (DARMANI; ELBETIEHA; BASHIR, 2019).

O óxido nítrico (NO) é uma substância cujo seus efeitos vem sendo estudados no processo de MIV (BU *et al.*, 2003; DARMANI; ELBETIEHA; BASHIR, 2019; DUBEIBE *et al.*, 2017; VIANA *et al.*, 2011; VIANA *et al.*, 2007). O NO é produzido principalmente pela atividade da enzima óxido nítrico sintase (NOS), que catalisa a reação que converte o aminoácido L-arginina (L-arg) em L-citrulina e NO (BASINI; GRASSELLI, 2015; HOSSEINI *et al.*, 2022; IGNARRO, 2000; LIND *et al.*, 2017; NATHAN; XIE, 1994). O NO está envolvido em vários eventos que afetam a MIV dos oócitos bovinos (MATTA *et al.*, 2009; TRIPATHI *et al.*, 2009; VIANA *et al.*, 2007). Em concentrações adequadas, o NO melhora a integridade da membrana plasmática das células da granulosa (FAES *et al.*, 2009),

células do *cumulus* (MATTA et al., 2009; VIANA et al., 2011) e oócitos (VIANA et al., 2011), na migração dos grânulos corticais (MATTA *et al.*, 2009), além de participar da regulação da atividade esteroidogênica das células foliculares (FAES *et al.*, 2009) e alterar o perfil dos nucleotídeos durante a retomada da meiose (TORRES, 2015).

A L-arg é um aminoácido semi-essencial, precursor de importantes metabólitos, como o óxido nítrico e poliaminas, participando da síntese de proteínas, ureia, creatina, agmatina e L-ornitina (AURICH *et al.*, 2019). A disponibilidade de L-arg para a síntese de NO no meio usado para cultivar células é um dos pontos principais no controle da síntese de NO *in vitro* (IGNARRO, 2000; LEAL *et al.*, 2009).

A maioria dos estudos utiliza doadores de NO (LANCELLOTTI SCHWARZ et al., 2014; VIANA et al., 2007). No entanto, a suplementação do meio com L-arg em vez de doadores de NO para avaliar seu papel na MIV de oócitos pode ter a vantagem de melhor controlar a quantidade de NO sintetizado pelas próprias células em cultura (IGNARRO, 2000), evitando possíveis efeitos deletérios pelo excesso de NO (BU et al., 2003; VIANA et al., 2007). Estudos contendo L-arg em diferentes concentrações no meio de MIV foram conduzidos por DUBEIBE et al. (2013, 2017). No entanto, no referido estudo, a L-arg foi utilizada na presença de hemisseções da parede folicular, o que ocasionou uma inibição parcial da retomada da meiose, o que não ocorre quando COCs são cultivados em sistemas convencionais de maturação.

Além disso, a suplementação com L-arg poderia atuar em outras vias, como a via das poliaminas. Apesar de pouco estudadas, as poliaminas regulam mecanismos de funções ovarianas durante a foliculogênese, a ovulação e a luteinização de células da teca e da granulosa (KWON et al., 2003). Estudos realizados com suplementação de putrescina em oócitos de ratos maturados *in vitro* indicaram efeitos benéficos dessa poliamina durante a maturação, uma vez que oócitos tratados apresentaram uma melhora significativa em seu potencial de desenvolvimento e expressaram um número menor de genes apoptóticos (LIU et al., 2017).

Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar as vias de sinalização utilizadas pela L-arg durante a MIV de oócitos bovinos e sua concentração ideal, visando proporcionar melhores condições de maturação aos oócitos, otimizando seus resultados na PIV de embriões bovinos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Avaliar a participação da L-arg em vias de sinalização durante a MIV de oócitos bovinos e determinar sua concentração ideal.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a(s) melhor(es) concentração(ões) de L-arg no meio de MIV de oócitos bovinos;
- Avaliar os efeitos da(s) melhor(es) concentração(ões) de L-arginina durante a MIV na produção *in vitro* de embriões;
- Avaliar a função das vias do óxido nítrico e das poliaminas durante a MIV de oócitos bovinos;
- Determinar a concentração intraocitária de poliaminas durante a MIV, correlacionando com a cinética de maturação nuclear;
- Avaliar a participação da L-arginina em vias de reparo de DNA em oócitos bovinos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Maturação Oocitária

A maturação oocitária é a ocorrência simultânea de diversos fatores que resultam em um oócito maturado, ou seja, um oócito pronto para ser fertilizado (SIRARD, 2001; TUKUR et al., 2020). Esse processo pode ser dividido em três etapas: maturação nuclear, citoplasmática e molecular (SIRARD, 2001; VIVEIROS; DE LA FUENTE, 2019).

A maturação nuclear compreende as modificações dos cromossomos do estágio de VG à M II. A maturação citoplasmática abrange a redistribuição das organelas, enquanto a maturação molecular engloba alterações que promovem a progressão nuclear e citoplasmática (SIRARD, 2001).

Para que a maturação ocorra de forma ideal, a comunicação entre as células do *cumulus* e o oócito é importante. Uma das principais vias de comunicação são as junções gap, que se localizam entre a membrana do oócito e a membrana das projeções tranzonais (LUCIANO et al., 2011; MACAULAY et al., 2014; SUTTON, 2003). As junções GAP transportam moléculas de baixo peso molecular importantes para o desenvolvimento dos oócitos, como íons, nucleotídeos e aminoácidos (LODDE *et al.*, 2013; THOMAS, Rebecca E.; ARMSTRONG; GILCHRIST, 2004).

3.1.1. Maturação nuclear

A maturação nuclear é a progressão do oócito do estágio do núcleo intacto na prófase I à parada da metáfase II (TUKUR *et al.*, 2020). Seu principal objetivo é produzir um gameta haploide (n) (HOLT; JONES, 2009).

As células germinativas femininas iniciam a meiose I (M I) durante o desenvolvimento embrionário e são interrompidas no estágio diplóteno da prófase I (PEI *et al.*, 2023). O monofosfato cíclico de adenosina (cGMP) sintetizado pelas células do *cumulus* é transportado para o oócito e inibe a atividade da fosfodiesterase 3A (CONTI *et al.*, 2002), mantendo elevados os níveis de monofosfato cíclico de adenosina (cAMP) e impedindo a retomada meiótica (MEHLMANN, 2005; PEI *et al.*, 2023). *In vivo*, após o pico de LH, a concentração de cAMP cai, induzindo o oócito a retomar o processo de meiose (CONTI *et al.*, 2002; MEHLMANN, 2005).

Antes do início da maturação, o oócito possui uma grande vesícula germinativa (VG) com grande nucléolo. Inicialmente, os cromossomos encontram-se descondensados, dispersos e transcricionalmente ativos (LUCIANO; SIRARD, 2018). Com o início da maturação, os cromossomos iniciam a condensação, o nucléolo se dispersa, a transcrição cessa e ocorre o rompimento da VG (MASUI, Yoshio; CLARKE, 1979; PEI *et al.*, 2023).

A fase de VG do oócito pode ser dividida em 4 fases. VG0 quando a cromatina está descondensada e dispersa por todo nucleoplasma, VG1 quando ocorre o aparecimento de poucos focos de condensação, VG2 quando a cromatina encontra-se condensada e compactada em agregados e VG3 quando observa-se cromatina compactada em um único agregado, ocupando uma área restrita do nucleoplasma (LODDE *et al.*, 2007; LUCIANO; SIRARD, 2018), sendo que VG1 é relacionada à oócitos em crescimento, VG2 a oócitos em fase *plateau* e VG3 a oócitos atrésicos (LUCIANO; SIRARD, 2018). Oócitos recuperados na fase 2 de VG são os mais competentes para realização de MIV (SIRARD, 2019).

Após o reinício da meiose, a vesícula germinativa é rompida, formando então a placa metafásica no estágio de metáfase I (M I), até completar a primeira fase da divisão meiótica, com a segregação dos cromossomos homólogos entre o oócito e o primeiro corpúsculo polar na telófase I (HOLT; JONES, 2009; MADDOX; AZOURY; DUMONT, 2012; ROELES; TSIAVALIARIS, 2019; VIVEIROS; DE LA FUENTE, 2019). No final do processo de maturação nuclear, inicia-se a segunda fase da meiose com formação do segundo fuso até atingir a metáfase II (M II), período em que ocorre uma nova parada, já que a segunda meiose só irá completar-se após a fertilização (HOLT; JONES, 2009; TUKUR *et al.*, 2020).

3.1.2. Maturação citoplasmática

A maturação citoplasmática se dá pela redistribuição das organelas no citoplasma (FERREIRA *et al.*, 2009). Não baseada em cromatina como a maturação nuclear, a maturação citoplasmática prepara o oócito para recepção, ativação e desenvolvimento pré-implantacional de espermatozoides, englobando as mudanças estruturais brutas no oócito, incluindo rearranjo de organelas celulares (mitocôndrias, ribossomo, retículo endoplasmático, grânulos corticais), modulação do nível de energia e acúmulo de mRNA, proteína e substratos para apoiar a fertilização e o desenvolvimento pré-embriônico antes da ativação do genoma embriônico (MAO *et al.*, 2014; WATSON, 2007).

Apesar de serem processos diferentes, a maturação nuclear e citoplasmática ocorrem simultaneamente, são conectados e dependentes um do outro. Os eventos durante a maturação citoplasmática dos oócitos contribuem para a conclusão bem-sucedida da maturação nuclear dos oócitos, aumentando sua capacidade de fertilizar e dão suporte ao desenvolvimento embrionário inicial (TUKUR *et al.*, 2020; YAMADA; ISAJI, 2011).

As mitocôndrias, os ribossomos, o retículo endoplasmático, os grânulos corticais e o aparato de Golgi foram reconhecidos por desempenharem papéis significativos na maturação citoplasmática (ELAHI *et al.*, 2017).

O número de mitocôndrias, a distribuição e a atividade dessas organelas têm efeito profundo no desenvolvimento de oócitos e embriões (COTTERILL *et al.*, 2013; HARVEY, 2019). Estas organelas são responsáveis por fornecer toda a energia necessária para a síntese de proteínas que suportam o processo de maturação e o desenvolvimento inicial do embrião (TARAZONA *et al.*, 2006). As mitocôndrias são dinâmicas em sua distribuição. Oócitos imaturos dos folículos antrais iniciais têm suas mitocôndrias principalmente no córtex, enquanto nos oócitos em M II, as mitocôndrias se localizam de forma difusa no citoplasma (TARAZONA *et al.*, 2006; TUKUR *et al.*, 2020).

O retículo endoplasmático é o principal reservatório de íon cálcio, necessário para a retomada e conclusão da segunda divisão meiótica, prevenção da polissemia e recrutamento de mRNAs maternos necessários para a ativação do genoma embrionário (AJDUK; MAŁAGOCKI; MALESZEWSKI, 2008). Durante a maturação do oócito, esta organela sofre uma reorganização dinâmica, passando de um acúmulo na região central do citoplasma em estágio de VG, para um característico agrupamento na região cortical em oócitos em M II (YAMADA; ISAJI, 2011).

O aparato de Golgi é responsável pelo transporte intracelular de proteínas. Eles estão espalhados por todo o ooplasma, mas são mais localizados na região interior do que no córtex. No entanto, à medida que a maturação dos oócitos progride, o aparato de Golgi, o ribossomo e os lisossomos vão desaparecendo, tornando-se raros em oócitos totalmente maduros (TUKUR *et al.*, 2020).

Os grânulos corticais são organelas formadas a partir do aparato de Golgi e são exclusivas de oócitos. Estas organelas são formadas no oócito em crescimento e sofrem redistribuição durante o período de maturação, sendo que sua principal função é o bloqueio à polispermia (HOSOE; SHIOYA, 1997; HYTTEL *et al.*, 1997). Inicialmente, os grânulos corticais

podem ser identificados em pequenos grupos no citoplasma dos oócitos em estágio de VG. Sua migração para a periferia do oócito ocorre durante o avanço da maturação, podendo ser encontrados próximos à membrana plasmática em oócitos completamente maduros (GOTTARDI; MINGOTI, 2009; LIU 2011).

3.1.3. Maturação molecular

A maturação molecular poderia ser considerada como uma subdivisão da maturação citoplasmática, relacionada à síntese de mRNA específicos e proteínas. Essas proteínas estarão envolvidas na maturação do oócito, extrusão do 1º corpúsculo polar e em processos futuros, tais como a extrusão do 2º corpúsculo polar, fertilização e fase inicial do desenvolvimento embrionário (SIRARD, 2001; SIRARD et al., 2006).

Sabe-se que a síntese de novas proteínas é necessária para que ocorra o evento de retomada da meiose e a maioria é sintetizada logo nas primeiras horas de maturação, sendo o MPF (fatores promotores da meiose) o responsável pela retomada (TREMBLAY *et al.*, 2005).

A proteína MOS (*Proto-oncogene serine/threonine-protein kinase*) é codificada pelo mRNA materno que se mantém armazenado durante o período de crescimento do oócito. Quando se inicia a maturação esse mRNA é traduzido e sofre degradação nas fases mais avançadas do desenvolvimento. Sua função é ativar a cascata MAPK (*Mitogen Activated Protein Kinases*) que, por sua vez, modula o MPF e promove a transição da fase G2 à meiose (BREVINI GANDOLFI; GANDOLFI, 2001). Nos oócitos bovinos, a poliadenilação de RNAs que codificam as proteínas necessárias para a ativação de MPF e MAPK, ocorre entre 9 e 12 horas de maturação (KRISCHEK; MEINECKE, 2002; RODRIGUEZ; FARIN, 2004).

3.2. L-Arginina

A arginina é um aminoácido condicionalmente essencial para mamíferos (WU *et al.*, 2009). Além de sua principal função na deposição de proteínas, participa de vários eventos fisiológicos importantes, como síntese e secreção de hormônios (DAVENPORT; BOLING; SCHILLO, 1995), síntese e oxidação de energia celular de outros aminoácidos e uréia, eventos reprodutivos e atua no sistema imunológico (BÖGER; BODE-BÖGER, 2001; WU; MEININGER, 2002). Além disso, auxilia na vasodilatação, regulação da pressão arterial (WU; MEININGER, 2002) e, como aminoácido funcional, atua como substrato para a síntese de

moléculas biológicas, incluindo ornitina, poliaminas (putrescina, espermina e espermidina), prolina, glutamina, creatina, agmatina e NO (BÖGER; BODE-BÖGER, 2001; HSU; TAIN, 2019; WECKMAN *et al.*, 2019; WU; MORRIS, 1998).

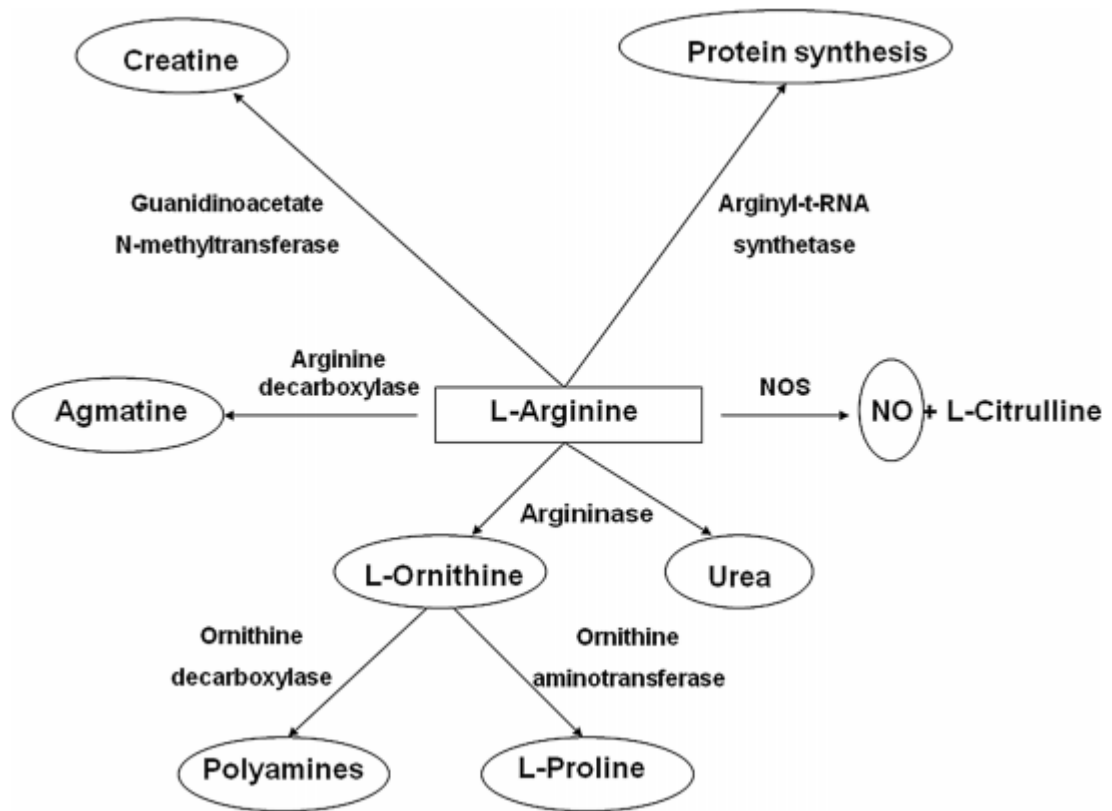


Figura 1: Metabolismo da L-arginina em mamíferos (POPOLO *et al.*, 2014).

A arginina é o principal precursor da síntese do NO, sendo extremamente necessária para manter a concentração de NO tanto *in vivo* quanto *in vitro* (IGNARRO, 2000; LEAL *et al.*, 2009). Estudos anteriores demonstram que apenas 1,5% da arginina entra na via NOS (CASTILLO *et al.*, 1996) e, apesar de existirem consideráveis estoques intracelulares de arginina, a arginina extracelular é quem limita a taxa de produção de NO (CHIN-DUSTING; WILLEMS; KAYE, 2007; HSU; TAIN, 2019). A L-arginina (L-arg) é o isômero fisiologicamente ativo da arginina, sendo, portanto, utilizado para suplementação (WECKMAN *et al.*, 2019).

Diversos estudos vêm demonstrando que a arginina desempenha um papel crucial na reprodução (WU *et al.*, 2013), desenvolvimento fetal (CHE *et al.*, 2019; RODRIGUES-KRAUSE *et al.*, 2018; WU *et al.*, 2013), cicatrização de feridas, manutenção da integridade do tecido e função imunológica (MCKNIGHT *et al.*, 2010), bem como no tratamento de doenças na

gravidez (WU et al., 2009). Em várias espécies de mamíferos, foram documentados efeitos positivos relacionados à suplementação com L-arg no desenvolvimento embrionário, na placentação e no crescimento fetal (AURICH *et al.*, 2019).

Em suínos, o desenvolvimento embrionário e fetal demonstrou melhorar após a suplementação com L-arg na dieta (GAO *et al.*, 2012; MATEO *et al.*, 2007). Utilizada no terço final da gestação, a L-arg aumentou o número de leitões nascidos vivos e o peso da leitegada (BÉRARD; BEE, 2010; LI et al., 2010, 2014; WU et al., 2012).

Em ratos, a suplementação com L-arg durante os primeiros sete dias de gestação aumenta o número de locais de implantação e o tamanho da ninhada (ZENG *et al.*, 2008). Em equinos, a suplementação com L-arg durante o estro e terço inicial da gestação aumentou o diâmetro da vesícula embrionária, o comprimento e o diâmetro fetal entre os dias 25 e 45 de gestação (AURICH *et al.*, 2019).

Em ruminantes, poucas informações sobre os efeitos da suplementação de L-arg na função reprodutiva estão disponíveis (RUIZ DE CHÁVEZ *et al.*, 2015). Em ovelhas, estudos relatam um efeito positivo da L-arg nas taxas de ovulação (BULBARELA-GARCÍA *et al.*, 2009) e a suplementação de L-arginina durante a gestação tardia aumentou o número total de cordeiros nascidos vivos (LASSALA *et al.*, 2011).

Estudos *in vitro* mostraram que a adição de L-arg ao meio de fertilização está associada a um aumento na produção de NO, que se correlaciona com uma melhoria nos parâmetros de capacitação espermática, bem como na capacidade de fertilização *in vitro* em várias espécies, incluindo camundongos (HERRERO *et al.*, 1996), suínos (AQUILA *et al.*, 2011), humanos (WANG *et al.*, 2014), búfalos (ROY; ATREJA, 2008) e bovinos (AGUIAR et al., 2019; LEAL et al., 2009; OFLAHERTY; RODRIGUEZ; SRIVASTAVA, 2004; RODRIGUEZ et al., 2005; SANTANA et al., 2016), bem como altera o perfil proteômico de espermatozoides bovinos (MACIEL JR et al., 2018).

De forma semelhante, a atuação do NO na maturação de oócitos bovinos foi demonstrada pela presença de diferentes isoformas da NOS, especialmente endotelial (eNOS) e NOS induzível (iNOS), em oócitos e em células somáticas do ovário (PIRES *et al.*, 2009; TESFAYE *et al.*, 2006). Da mesma forma, alterações na concentração de NO no meio de maturação *in vitro* devido à suplementação com doador de NO (SCHWARZ et al., 2010; VIANA et al., 2011; VIANA et al., 2007) ou inibidor da atividade da NOS (MATTA *et al.*, 2009;

SCHWARZ *et al.*, 2010) afetaram a retomada e a progressão da meiose (DUBEIBE *et al.*, 2013). Além disso, oócitos maturados em meio de maturação *in vitro* suplementados com L-arg apresentam maior integridade das células do *cumulus* e melhores índices de maturação na presença de hemisseções da parede folicular (DUBEIBE *et al.*, 2017).

3.3. Óxido Nítrico

O óxido nítrico (NO) é um radical livre diatômico, possuindo em sua estrutura química um elétron livre, sendo, dessa forma, uma espécie instável que pode reagir facilmente com outros radicais, e conseqüentemente, tem uma meia-vida biológica bastante curta (3-5 segundos) (IGNARRO, 2000). Essa molécula é solúvel em água e em lipídios, podendo difundir-se facilmente através das membranas biológicas para atuar como um importante agente nos processos de sinalização inter e intracelular (FUJII; IUCHI; OKADA, 2005; IGNARRO, 2000). O NO é gerado a partir de oxigênio molecular e L-arginina pela enzima óxido nítrico sintase (NOS) (IGNARRO, 2000; KWON *et al.*, 1990; LAMAS *et al.*, 1992; MONCADA; PALMER; HIGGS, 1991; MUNGRUE *et al.*, 2003; NATHAN; XIE, 1994).

Por mais de três décadas, o NO foi apenas um poluente que induziu a chuva ácida e a depleção da camada de ozônio. Hoje, o NO é considerado um dos principais mediadores parácrinos de diversos papéis biológicos na imunidade, bem como nos sistemas circulatório e nervoso (KESHET; EREZ, 2018; SCHMIDT; WALTER, 1994).

Ao contrário de muitas outras moléculas cujos mecanismos de sinalização e efeitos biológicos foram estudados por muitos anos, os processos de sinalização do NO apenas recentemente começaram a ser estudados (ROMERO-AGUIRREGOMEZCORTA *et al.*, 2014). Apesar de sua simplicidade molecular, o NO atua como um sinal biológico de várias maneiras (FRANCIS; BUSCH; CORBIN, 2010).

Nas últimas décadas, tornou-se claro que o NO é importante no controle de várias funções na reprodução feminina (TIAN *et al.*, 2018). NOS estão presentes no tecido endometrial de diferentes animais atuando como mediadores-chave na função endometrial (KHAN *et al.*, 2018), além de terem sido encontradas nas células da granulosa (GRASSELLI *et al.*, 2001; MITCHELL, 2004; TAO *et al.*, 2005), nas células do *cumulus* (MITCHELL, 2004; VAN VOORHIS *et al.*, 1995), e em oócitos de suínos (TAKESUE *et al.*, 2003), ratas (MITCHELL, 2004; VAN VOORHIS *et al.*, 1995), camundongos (JABLONKA-SHARIFF; OLSON, 2000) e bovinos (PIRES *et al.*, 2009; TESFAYE *et al.*, 2006). Além disto, a expressão de mRNA para as isoformas

da NOS foi registrada em oócitos bovinos (PIRES *et al.*, 2009; TESFAYE *et al.*, 2006) e de búfalo (DUBEY *et al.*, 2012).

O NO desempenha um papel duplo na reprodução, dependendo de sua concentração (ROMERO-AGUIRREGOMEZCORTA *et al.*, 2014). Quando presente em baixas concentrações, o NO melhora os eventos reprodutivos precoces, mas tanto o excesso quanto a falta de NO têm consequências negativas (BARROSO, 1998; LEE *et al.*, 2013). Em oócitos de mamíferos, em condições *in vitro*, verificou-se que altas concentrações de NO inibem a maturação meiótica, produzem estresse oxidativo e apoptose (BARROSO, 1998; JABLONKA-SHARIFF; OLSON, 2000; JABLONKA-SHARIFF; OLSON, 1998), enquanto baixas concentrações protegem contra o estresse oxidativo, estimulam a maturação meiótica (BU *et al.*, 2003; KUO *et al.*, 2000; TAO *et al.*, 2005, 2004) e aumentam o tempo ótimo para a fertilização e o desenvolvimento ideais (GOUD *et al.*, 2008).

Envolvido em vários eventos que afetam a MIV dos oócitos bovinos, o NO auxilia na regulação da integridade, viabilidade e atividade das células foliculares (TRIPATHI *et al.*, 2009). O NO pode reduzir os índices de apoptose (BASINI *et al.*, 1998; ZAMBERLAM *et al.*, 2011) e, em concentrações adequadas, o NO pode contribuir para uma melhora na integridade da membrana plasmática das células da granulosa (FAES *et al.*, 2009), células do *cumulus* (MATTA *et al.*, 2009; VIANA *et al.*, 2011) e na qualidade dos oócitos (DUBEIBE *et al.*, 2017; VIANA *et al.*, 2011). Há evidências ainda de que o NO participa da regulação da atividade esteroideogênica das células foliculares (BASINI *et al.*, 1998; FAES *et al.*, 2009) e, de acordo com a concentração no meio de cultura, pode promover ou inibir a síntese de progesterona e 17β -estradiol pelas células da granulosa (DUBEY *et al.*, 2012; FAES *et al.*, 2009), estando estas envolvidas na MIV (ALI; SIRARD, 2002; FAIR; LONERGAN, 2012).

Quanto à retomada meiótica, estudos demonstram que o NO atua principalmente na ativação da guanilato ciclase solúvel (sGC), enzima responsável pela síntese de cGMP (BOTIGELLI *et al.*, 2017).

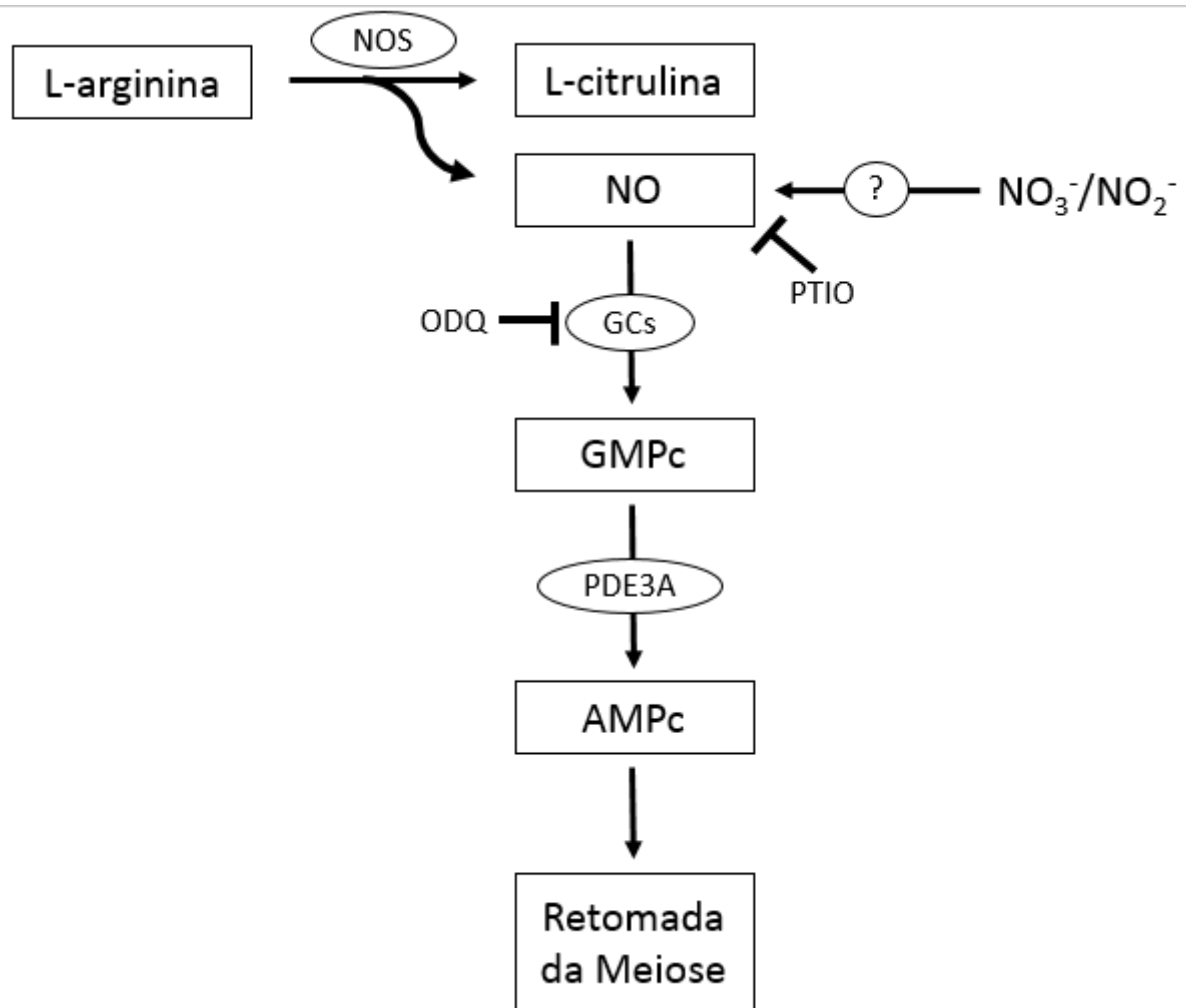


Figura 2: Representação esquemática da participação da via L-arg/NO na retomada da meiose de oócitos bovinos. A óxido nítrico sintase (NOS) metaboliza a L-arg em L-citrulina e óxido nítrico (NO). O NO estimula a enzima guanilato ciclase solúvel (GCs) que catalisa a conversão de 5P guanosina-trifosfato (GTP) em guanosina cíclico 3P,5P guanosina-trifosfato (GMPc). O GMPc atua estimulando a Fosfodiesterase 3A (PDE3A), que promove a hidrólise de AMPc, o que contribui com a retomada da meiose. Uma via alternativa para a produção de NO seria através de nitrato/nitrito ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$). O 2-fenil-4,4,5,5-tetrametilimidazolina-1-óxido 3-óxido (PTIO) é um quelante do NO, enquanto o 1H- [1,2,4] Oxadiazolo [4,3-a] quinoxalin-1-ona (ODQ) é um inibidor da enzima GCs. Autoria própria.

3.4. Poliaminas

As poliaminas são compostos alifáticos de baixo peso molecular composto por cadeias de carbono de comprimento variável com dois ou mais grupos de aminoácidos primários (LENIS *et al.*, 2017; TABOR; TABOR, 1964) e estão presentes em todas as células eucarióticas e procarióticas (COFFINO, 2001; TIBURCIO *et al.*, 2014). Os grupos de aminoácidos presentes nas poliaminas são críticos para os seus efeitos biológicos, uma vez que permitem que elas

interajam com componentes celulares como o ácido desoxirribonucleico (DNA), o ácido ribonucleico (RNA), a adenosina trifosfato (ATP) e fosfolípidos que têm uma carga negativa (WANG *et al.*, 2014). As poliaminas estão presentes em todos os tipos celulares, sendo que, em mamíferos, as quatro principais poliaminas de interesse científico são espermina, espermidina, putrescina, e cadaverina (KUSANO *et al.*, 2008a; LENIS *et al.*, 2017; TABOR; TABOR, 1964).

As poliaminas podem provir de diferentes fontes para os mamíferos, podendo ser obtidas diretamente da dieta (BARDOCZ, 1993; LARQUÉ; SABATER-MOLINA; ZAMORA, 2007), produzidas pela microflora intestinal (HESSELS *et al.*, 1989) ou sintetizadas a partir de aminoácidos como a arginina, prolina e metionina (TABOR; TABOR, 1964; WU, G. *et al.*, 2008). A habilidade das poliaminas interagirem com anions celulares depende principalmente do número de cargas positivas associadas com cada poliamina. A espermina é a poliamina mais ativa em gerar interação com anions e a putrescina é a menos ativa, pois tem um menor número de cargas positivas (MOINARD; CYNOBER; DEBANDT, 2005).

Nos mamíferos, a síntese de poliaminas ocorre por meio das ações da arginase e da ornitina descarboxilase1 (ODC1). A arginase é uma metaloenzima com três subunidades que hidrolisam a arginina para produzir dois produtos importantes: ornitina e ureia (GRILLO; COLOMBATTO, 2004; WANG *et al.*, 2014). Uma vez gerada a ornitina, esta é descarboxilada pela ODC1 para produzir putrescina que, por sua vez, é o substrato da espermidina sintase (ES) para gerar espermidina. Esta última torna-se espermina por ação da espermina sintase (ESPS) (LEFÈVRE; PALIN; MURPHY, 2011; LENIS *et al.*, 2017; VUJCIC *et al.*, 2003).

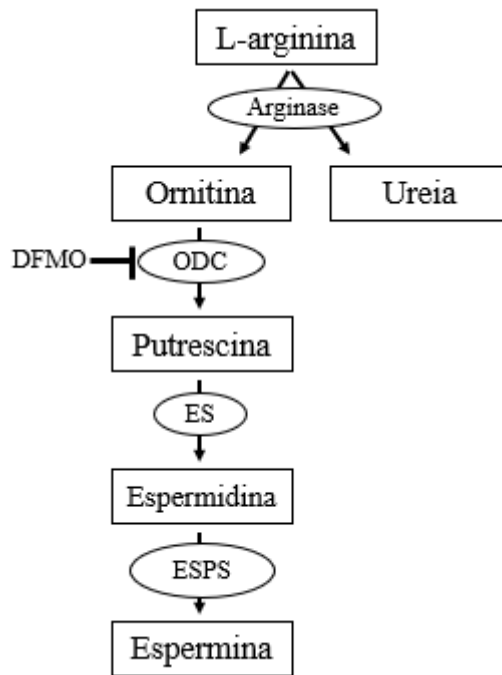


Figura 3. Representação esquemática da via de produção de poliaminas pela célula. DFMO = Difluorometilornitina; atua como inibidor da Arginase. ODC1 = ornitina dexcarboxilase 1; ES = espermidina sintase; ESPS = espermina sintase. Autoria própria.

As poliaminas desempenham diversos papéis a nível celular. Por meio de interações moleculares, as poliaminas atuam estabilizando a estrutura do DNA, induzindo a remodelação da cromatina, e, desta forma, regulam a expressão gênica (IGARASHI; KASHIWAGI, 2010; LEE et al., 2019; WALLACE; FRASER; HUGHES, 2003). Além disto, essas moléculas parecem desempenhar papéis essenciais na proliferação celular (ALM; OREDSSON, 2009), morte celular programada (SEILER; RAUL, 2005) e em modificações da cromatina (BISTULFI et al., 2009; HUANG et al., 2009). Estas modificações múltiplas e papéis variados indicam que uma regulação precisa da homeostase intracelular de poliaminas é essencial para a sobrevivência celular (LEFÈVRE; PALIN; MURPHY, 2011).

As poliaminas têm efeitos sobre o sistema reprodutivo tanto dos machos (LEFÈVRE; PALIN; MURPHY, 2011; RODRÍGUEZ-PÁEZ et al., 2021, 2023; WANG et al., 2014), como de fêmeas. Nos machos, as células de Sertoli e Leydig sintetizam e armazenam poliaminas que regulam a diferenciação das espermatogônias durante a espermatogênese, sendo que a espermina é considerada uma poliamina vital para a fertilidade de machos, sendo encontrada em maior concentração no plasma seminal do que em qualquer outro fluido corporal (LEFÈVRE; PALIN; MURPHY, 2011).

Nas fêmeas, as poliaminas regulam mecanismos de funções ovarianas durante a foliculogênese, a ovulação e a luteinização de células teca e granulosa, além de melhorar a maturação dos oócitos (KWON et al., 2003; LEFÈVRE; PALIN; MURPHY, 2011).

Apesar de seus inúmeros efeitos, ainda se tem pouca informação sobre o papel das poliaminas na oogênese dos mamíferos. Estudos realizados com oócitos de *Xenopus laevis*, revelaram que a maturação é simultaneamente precedida e acompanhada por aumentos da atividade da ODC1 nos oócitos (ZHOU et al., 2009), sugerindo que a atividade do ODC1 e a biossíntese da poliamina atuam sobre células foliculares de apoio à maturação meiótica. Além disso, as alterações em Ca_{2+} transientes associados ao recomeço da maturação meiótica em oócitos (TOSTI; BONI; CUOMO, 2000) são consistentes com os efeitos das poliaminas nos canais iônicos (COBURN, 2009), o que leva a crer que existe um mecanismo para regulação direta da meiose no oócito por poliaminas (LEFÈVRE; PALIN; MURPHY, 2011).

Recentemente, estudos relatam que as poliaminas melhoram a qualidade de oócitos e embriões de roedores (LIU et al., 2017; TAO et al., 2015) e suínos (JIN, J. X. et al., 2016), melhoram o desenvolvimento folicular, a maturação oocitária e o desenvolvimento embrionário inicial (SHI et al., 2022ab; ZHANG et al., 2023), além de aumentar a mitofagia (ZHANG et al., 2023), o potencial de membrana mitocondrial (SHI et al., 2022a; ZHANG et al., 2022b), reduzir a aneuploidia e produção de espécies reativas de oxigênio (SHI et al., 2022a).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, Gester Breda; CALDAS-BUSSIÈRE, Maria Clara; MACIEL JUNIOR, Valter Luiz; CARVALHO, Carla_Sobrinho Paes de; SOUZA, Cláudio Luiz Melo de. Association of L-arginine with heparin on the sperm capacitation improves in vitro embryo production in bovine. **Animal Reproduction**, vol. 16, no. 4, p. 938–944, 2019. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0022>.

AGUILA, Luis; TREULEN, Favian; THERRIEN, Jacinthe; FELMER, Ricardo; VALDIVIA, Martha; SMITH, Lawrence C. Oocyte Selection for In Vitro Embryo Production in Bovine Species: Noninvasive Approaches for New Challenges of Oocyte Competence. **Animals**, vol. 10, no. 12, p. 2196, 24 Nov. 2020. <https://doi.org/10.3390/ani10122196>.

AJDUK, Anna; MAŁAGOCKI, Antoni; MALESZEWSKI, Marek. Cytoplasmic maturation of mammalian oocytes: development of a mechanism responsible for sperm-induced Ca²⁺ oscillations. **Reproductive Biology**, vol. 8, no. 1, p. 3–22, Mar. 2008. [https://doi.org/10.1016/S1642-431X\(12\)60001-1](https://doi.org/10.1016/S1642-431X(12)60001-1).

ALI, Atef; SIRARD, Marc-André. The effects of 17β-estradiol and protein supplement on the response to purified and recombinant follicle stimulating hormone in bovine oocytes. **Zygote**, vol. 10, no. 1, p. 65–71, 9 Feb. 2002. <https://doi.org/10.1017/S0967199402002095>.

ALM, Kersti; OREDSSON, Stina. Cells and polyamines do it cyclically. **Essays in Biochemistry**, vol. 46, p. 63–76, 30 Oct. 2009. <https://doi.org/10.1042/bse0460005>.

ALVARADO RINCÓN, Joao Alveiro; GINDRI, Patricia Carvalho; MION, Bruna; GIULIANA DE ÁVILA, Ferronato; BARBOSA, Antônio Amaral; MAFFI, Addressa Stein; PRADIEÉ, Jorgea; MONDADORI, Rafael Gianella; CORRÊA, Marcio Nunes; LIGIA MARGARETH CANTARELLI, Pegoraro; SCHNEIDER, Augusto. Early embryonic development of bovine oocytes challenged with LPS in vitro or in vivo. **Reproduction**, vol. 158, no. 5, p. 453–463, Nov. 2019. <https://doi.org/10.1530/REP-19-0316>.

AQUILA, Saveria; GIORDANO, Francesca; GUIDO, Carmela; RAGO, Vittoria; CARPINO, Amalia. Nitric oxide involvement in the acrosome reaction triggered by leptin in pig sperm. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 9, no. 1, p. 133, 4 Dec. 2011. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-133>.

AURICH, Jörg; KÖHNE, Martin; WULF, Manuela; NAGEL, Christina; BEYTHIEN, Elisabeth; GAUTIER, Camille; ZENTEK, Jürgen; AURICH, Christine. Effects of dietary L-arginine supplementation to early pregnant mares on conceptus diameter—Preliminary findings. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 54, no. 5, p. 772–778, 8 May 2019. <https://doi.org/10.1111/rda.13422>.

BARDOCZ, S. The role of dietary polyamines. **European journal of clinical nutrition**, vol. 47, no. 10, p. 683–90, Oct. 1993. .

BARNES, Deborah E.; LINDAHL, Tomas. Repair and Genetic Consequences of Endogenous DNA Base Damage in Mammalian Cells. **Annual Review of Genetics**, vol. 38, no. 1, p. 445–476, 1 Dec. 2004. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.38.072902.092448>.

BARROSO, R. Nitric oxide inhibits development of embryos and implantation in mice. **Molecular Human Reproduction**, vol. 4, no. 5, p. 503–507, 1 May 1998. <https://doi.org/10.1093/molehr/4.5.503>.

- BARTEK, Jiri; LUKAS, Jiri. Chk1 and Chk2 kinases in checkpoint control and cancer. **Cancer Cell**, vol. 3, no. 5, p. 421–429, May 2003. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(03\)00110-7](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(03)00110-7).
- BASINI, G.; BARATTA, M.; PONDERATO, N.; BUSSOLATI, S.; TAMANINI, C. Is nitric oxide an autocrine modulator of bovine granulosa cell function? **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 10, no. 6, p. 471, 1998. <https://doi.org/10.1071/RD98114>.
- BASINI, Giuseppina; GRASSELLI, Francesca. Nitric oxide in follicle development and oocyte competence. **REPRODUCTION**, vol. 150, no. 1, p. R1–R9, Jul. 2015. <https://doi.org/10.1530/REP-14-0524>.
- BÉRARD, J.; BEE, G. Effects of dietary l-arginine supplementation to gilts during early gestation on foetal survival, growth and myofiber formation. **Animal**, vol. 4, no. 10, p. 1680–1687, 2010. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000881>.
- BEZERRA, F.T.G.; SILVA, A.W.B.; RISSI, V.B.; ROSA, P.A.; CESARO, M.P.; COSTA, J.J.N.; GONÇALVES, P.B.D.; SILVA, J.R.V. Cilostamide and follicular hemisections inhibit oocyte meiosis resumption and regulate gene expression and cAMP levels in bovine cumulus-oocyte complexes. **Livestock Science**, vol. 184, p. 112–118, Feb. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.12.014>.
- BISTULFI, G.; DIEGELMAN, P.; FOSTER, B. A.; KRAMER, D. L.; PORTER, C. W.; SMIRAGLIA, D. J. Polyamine biosynthesis impacts cellular folate requirements necessary to maintain S -adenosylmethionine and nucleotide pools. **The FASEB Journal**, vol. 23, no. 9, p. 2888–2897, 5 Sep. 2009. <https://doi.org/10.1096/fj.09-130708>.
- BÖGER, Rainer H; BODE-BÖGER, Stefanie M. The Clinical Pharmacology of L-Arginine. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, vol. 41, no. 1, p. 79–99, Apr. 2001. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.41.1.79>.
- BOHRER, Rodrigo Camponogara; COUTINHO, Ana Rita S.; DUGGAVATHI, Raj; BORDIGNON, Vilceu. The Incidence of DNA Double-Strand Breaks Is Higher in Late-Cleaving and Less Developmentally Competent Porcine Embryos1. **Biology of Reproduction**, vol. 93, no. 3, 1 Sep. 2015. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.130542>.
- BOTIGELLI, Ramon Cesar; SCHWARZ, Katia Lancellotti; ZAFFALON, Fabiane Gilli; DEL COLLADO, Maite; CASTRO, Fernanda Cavallari; FERNANDES, Hugo; LEAL, Claudia Lima Verde. Influence of nitric oxide and phosphodiesterases during *in vitro* maturation of bovine oocytes on meiotic resumption and embryo production. **Zygote**, vol. 25, no. 3, p. 321–330, 27 Jun. 2017. <https://doi.org/10.1017/S096719941700017X>.
- BOYMAN, Liron; KARBOWSKI, Mariusz; LEDERER, W. Jonathan. Regulation of Mitochondrial ATP Production: Ca²⁺ Signaling and Quality Control. **Trends in Molecular Medicine**, vol. 26, no. 1, p. 21–39, Jan. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2019.10.007>.
- BRADSHAW, J.; JUNG, T.; FULKA, J.; MOOR, R. M. UV irradiation of chromosomal DNA and its effect upon MPF and meiosis in mammalian oocytes. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 41, no. 4, p. 503–512, 4 Aug. 1995. <https://doi.org/10.1002/mrd.1080410413>.
- BREVINI GANDOLFI, T.A.L.; GANDOLFI, Fulvio. The maternal legacy to the embryo: cytoplasmic components and their effects on early development. **Theriogenology**, vol. 55, no. 6, p. 1255–1276, Apr. 2001. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00481-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00481-2).

BRUNET, Stephane; MARO, Bernard. Cytoskeleton and cell cycle control during meiotic maturation of the mouse oocyte: integrating time and space. **Reproduction**, vol. 130, no. 6, p. 801–811, Dec. 2005. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00364>.

BU, Shumin; XIA, Guoliang; TAO, Yong; LEI, Lei; ZHOU, Bo. Dual effects of nitric oxide on meiotic maturation of mouse cumulus cell-enclosed oocytes in vitro. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 207, no. 1–2, p. 21–30, Sep. 2003. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(03\)00213-2](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(03)00213-2).

BULBARELA-GARCÍA, Gerónimo; PRO-MARTÍNEZ, Arturo; BECERRIL PÉREZ, Carlos Miguel; PABLO, Díaz-Rivera; ROSENDO-PONCE, Adalberto; SÁNCHEZ, Jaime. Effect of L-arginine and fish oil on the reproductive performance of hair sheep synchronization with a progestagen. **Agrociencia**, vol. 43, p. 371–377, Jan. 2009. .

CAI, Xuebi; STRINGER, Jessica M.; ZERAFA, Nadeen; CARROLL, John; HUTT, Karla J. Xrcc5/Ku80 is required for the repair of DNA damage in fully grown meiotically arrested mammalian oocytes. **Cell Death & Disease**, vol. 14, no. 7, p. 397, 5 Jul. 2023. <https://doi.org/10.1038/s41419-023-05886-x>.

CAO, Chuanai; XU, Yining; LIU, Meiyue; KONG, Baohua; ZHANG, Fengxue; ZHANG, Hongwei; LIU, Qian; ZHAO, Jinhai. Additive Effects of L-Arginine with Potassium Carbonate on the Quality Profile Promotion of Phosphate-Free Frankfurters. **Foods**, vol. 11, no. 22, p. 3581, 10 Nov. 2022. <https://doi.org/10.3390/foods11223581>.

CASEY, P J; HILLMAN, R B; ROBERTSON, K R; YUDIN, A I; LIU, I K; DROBNIS, E Z. Validation of an acrosomal stain for equine sperm that differentiates between living and dead sperm. **Journal of andrology**, vol. 14, no. 4, p. 289–97, 1993. .

CASTILLO, L; BEAUMIER, L; AJAMI, A M; YOUNG, V R. Whole body nitric oxide synthesis in healthy men determined from [15N] arginine-to-[15N]citrulline labeling. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 93, no. 21, p. 11460–11465, 15 Oct. 1996. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.21.11460>.

CHANG, Haoya; CHEN, Huanhuan; ZHANG, Lei; WANG, Yile; XIE, Xiaogang; ZHANG, Yong; QUAN, Fusheng. Effect of oocyte vitrification on DNA damage in metaphase II oocytes and the resulting preimplantation embryos. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 86, no. 11, p. 1603–1614, 13 Nov. 2019. <https://doi.org/10.1002/mrd.23247>.

CHE, Dongsheng; ADAMS, Seidu; ZHAO, Bao; QIN, Guixin; JIANG, Hailong. Effects of Dietary L-arginine Supplementation from Conception to Post- Weaning in Piglets. **Current Protein & Peptide Science**, vol. 20, no. 7, p. 736–749, 27 Jun. 2019. <https://doi.org/10.2174/1389203720666190125104959>.

CHIN-DUSTING, J.P.F.; WILLEMS, L.; KAYE, D.M. l-Arginine transporters in cardiovascular disease: A novel therapeutic target. **Pharmacology & Therapeutics**, vol. 116, no. 3, p. 428–436, Dec. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.08.001>.

CHOUDHURY, Shouhartha. A comparative analysis of BCL-2 family. **Bioinformatics**, vol. 15, no. 4, p. 299–306, 15 Apr. 2019. <https://doi.org/10.6026/97320630015299>.

CICCIA, Alberto; ELLEDGE, Stephen J. The DNA Damage Response: Making It Safe to Play with Knives. **Molecular Cell**, vol. 40, no. 2, p. 179–204, Oct. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.09.019>.

CLARKE, Hugh J. Regulation of germ cell development by intercellular signaling in the mammalian ovarian follicle. **WIREs Developmental Biology**, vol. 7, no. 1, 11 Jan. 2018. <https://doi.org/10.1002/wdev.294>.

CLARKE, Hugh J. Transzonal projections: Essential structures mediating intercellular communication in the mammalian ovarian follicle. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 89, no. 11, p. 509–525, 16 Nov. 2022. <https://doi.org/10.1002/mrd.23645>.

COBURN, Ronald F. Polyamine effects on cell function: Possible central role of plasma membrane PI(4,5)P₂. **Journal of Cellular Physiology**, vol. 221, no. 3, p. 544–551, 25 Dec. 2009. <https://doi.org/10.1002/jcp.21899>.

COFFINO, Philip. Regulation of cellular polyamines by antizyme. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, vol. 2, no. 3, p. 188–194, Mar. 2001. <https://doi.org/10.1038/35056508>.

CONTI, Marco; ANDERSEN, Carsten Bo; RICHARD, Francois; MEHATS, Celine; CHUN, Sang-Young; HORNER, Kathleen; JIN, Catherine; TSAFRIRI, Alex. Role of cyclic nucleotide signaling in oocyte maturation. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 187, no. 1–2, p. 153–159, Feb. 2002. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(01\)00686-4](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(01)00686-4).

CONTI, Marco; FRANCIOSI, Federica. Acquisition of oocyte competence to develop as an embryo: integrated nuclear and cytoplasmic events. **Human Reproduction Update**, vol. 24, no. 3, p. 245–266, 1 May 2018. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmx040>.

COTTERILL, Matthew; HARRIS, Sarah E.; COLLADO FERNANDEZ, Esther; LU, Jianping; HUNTRISS, John D.; CAMPBELL, Bruce K.; PICTON, Helen M. The activity and copy number of mitochondrial DNA in ovine oocytes throughout oogenesis in vivo and during oocyte maturation in vitro. **MHR: Basic science of reproductive medicine**, vol. 19, no. 7, p. 444–450, Jul. 2013. <https://doi.org/10.1093/molehr/gat013>.

DA ROSA, Paulo Roberto Antunes; DE CESARO, Matheus Pedrotti; PEREIRA DAU, Andressa Minussi; DUGGAVATHI, Raj; BORDIGNON, Vilceu; GONÇALVES, Paulo Bayard Dias. Reversible meiotic arrest of bovine oocytes by EGFR inhibition and follicular hemisections. **Theriogenology**, vol. 99, p. 53–62, Sep. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.05.014>.

DARMANI, Homa; ELBETIEHA, Ahmed M; BASHIR, Nabil. Effects of L-Arginine and L-Omega-Nitro-L-Arginine Methyl Ester on Fertility of Female Rats. **Journal of Applied Biological Sciences**, vol. 13, no. 1, p. 29–32, 23 Sep. 2019. Available at: <https://jabsonline.org/index.php/jabs/article/view/590>.

DAVENPORT, G.M.; BOLING, J.A.; SCHILLO, K.K. Growth and endocrine responses of lambs fed rumen-protected ornithine and arginine. **Small Ruminant Research**, vol. 17, no. 3, p. 229–236, Aug. 1995. [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(95\)00685-E](https://doi.org/10.1016/0921-4488(95)00685-E).

DE BEM, THC; ADONA, PR; BRESSAN, FF; MESQUITA, LG; CHIARATTI, MR; MEIRELLES, FV; LEAL, CLV. The Influence of Morphology, Follicle Size and Bcl-2 and Bax Transcripts on the

Developmental Competence of Bovine Oocytes. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 49, no. 4, p. 576–583, 30 Aug. 2014. <https://doi.org/10.1111/rda.12325>.

DE LOOS, F.; VAN VLIET, C.; VAN MAURIK, P.; KRUIP, Th. A. M. Morphology of immature bovine oocytes. **Gamete Research**, vol. 24, no. 2, p. 197–204, 17 Oct. 1989a. <https://doi.org/10.1002/mrd.1120240207>.

DE LOOS, F.; VAN VLIET, C.; VAN MAURIK, P.; KRUIP, Th. A. M. Morphology of immature bovine oocytes. **Gamete Research**, vol. 24, no. 2, p. 197–204, 17 Oct. 1989b. <https://doi.org/10.1002/mrd.1120240207>.

DEMARTINO, Anthony W; KIM-SHAPIRO, Daniel B.; PATEL, Rakesh P; GLADWIN, Mark T. Nitrite and nitrate chemical biology and signalling. **British Journal of Pharmacology**, vol. 176, no. 2, p. 228–245, 3 Jan. 2019. <https://doi.org/10.1111/bph.14484>.

DEMETRIO, Daniela; DEMETRIO, Clarice; OLIVEIRA, Mayara; REIS, Roberta; SANTOS, Ricarda. From oocyte to calf: practical aspects of bovine in vitro embryo production. **Clinical Theriogenology**, vol. 14, p. 193–201, 2022. .

DIKALOV, Sergey. Cross talk between mitochondria and NADPH oxidases. **Free Radical Biology and Medicine**, vol. 51, no. 7, p. 1289–1301, Oct. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.033>.

DUBEIBE, D. F.; CALDAS, M. C.; MACIEL, V. L.; QUIRINO, C. R.; GONÇALVES, P. B. 260 THE EFFECTS OF L-ARGININE ON CUMULUS CELL INTEGRITY AND MEIOTIC RESUMPTION DURING IN VITRO MATURATION OF BOVINE OOCYTES IN THE PRESENCE OF OVARIAN FOLLICLE HEMI-SECTIONS. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 25, no. 1, p. 278, 2013. <https://doi.org/10.1071/RDv25n1Ab260>.

DUBEIBE, D.F.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; MACIEL, V.L.; SAMPAIO, W.V.; QUIRINO, C.R.; GONÇALVES, P.B.D.; DE CESARO, M.P.; FAES, M.R.; PAES DE CARVALHO, C.S. L-arginine affects the IVM of cattle cumulus-oocyte complexes. **Theriogenology**, vol. 88, p. 134–144, Jan. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.09.017>.

DUBEY, Pawan K.; TRIPATHI, Vrajesh; SINGH, Ram Pratap; SAIKUMAR, G.; NATH, Amar; PRATHEESH; GADE, Nitin; SHARMA, G. Taru. Expression of nitric oxide synthase isoforms in different stages of buffalo (*Bubalus bubalis*) ovarian follicles: Effect of nitric oxide on in vitro development of preantral follicle. **Theriogenology**, vol. 77, no. 2, p. 280–291, Jan. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.08.002>.

ELAHI, Fazle; SHIN, Hyeji; LEE, Joohyeong; LEE, Eunsong. Endoplasmic Stress Inhibition during Oocyte Maturation Improves Preimplantation Development of Cloned Pig Embryos. **Journal of Animal Reproduction and Biotechnology**, vol. 32, no. 4, p. 287–295, 29 Dec. 2017. <https://doi.org/10.12750/JET.2017.32.4.287>.

EL-SHEIKH, Marwa; MESALAM, Ahmed Atef; KANG, Seon-Min; JOO, Myeong-Don; SOLIMAN, Seham Samir; KHALIL, Atif Ali Khan; AHN, Mi-Jeong; KONG, Il-Keun. Modulation of Apoptosis and Autophagy by Melatonin in Juglone-Exposed Bovine Oocytes. **Animals**, vol. 13, no. 9, p. 1475, 26 Apr. 2023. <https://doi.org/10.3390/ani13091475>.

FAES, M.R.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; VIANA, K.S.; DIAS, B.L.; COSTA, F.R.; ESCOCARD, R.M. Nitric oxide regulates steroid synthesis by bovine antral granulosa cells in a chemically defined medium. **Animal Reproduction Science**, vol. 110, no. 3–4, p. 222–236, Feb. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.01.018>.

FAIR, T; LONERGAN, P. The Role of Progesterone in Oocyte Acquisition of Developmental Competence. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 47, no. s4, p. 142–147, 25 Aug. 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02068.x>.

FEAR, Justin M.; HANSEN, Peter J. Developmental Changes in Expression of Genes Involved in Regulation of Apoptosis in the Bovine Preimplantation Embryo1. **Biology of Reproduction**, vol. 84, no. 1, p. 43–51, 1 Jan. 2011. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.086249>.

FERREIRA, E.M.; VIREQUE, A.A.; ADONA, P.R.; MEIRELLES, F.V.; FERRIANI, R.A.; NAVARRO, P.A.A.S. Cytoplasmic maturation of bovine oocytes: Structural and biochemical modifications and acquisition of developmental competence. **Theriogenology**, vol. 71, no. 5, p. 836–848, Mar. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.10.023>.

FIRSANOV, Denis V.; SOLOVJEVA, Liudmila V.; SVETLOVA, Maria P. H2AX phosphorylation at the sites of DNA double-strand breaks in cultivated mammalian cells and tissues. **Clinical Epigenetics**, vol. 2, no. 2, p. 283–297, 25 Aug. 2011. <https://doi.org/10.1007/s13148-011-0044-4>.

FRANCIS, Sharron H.; BUSCH, Jennifer L.; CORBIN, Jackie D. cGMP-Dependent Protein Kinases and cGMP Phosphodiesterases in Nitric Oxide and cGMP Action. **Pharmacological Reviews**, vol. 62, no. 3, p. 525–563, Sep. 2010. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002907>.

FUJII, Junichi; IUCHI, Yoshihito; OKADA, Futoshi. Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 3, no. 1, p. 43, 2 Dec. 2005. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-3-43>.

FUJII, Wataru; FUNAHASHI, Hiroaki. Exogenous Adenosine Reduces the Mitochondrial Membrane Potential of Murine Oocytes During the Latter Half of In Vitro Maturation and Pronuclear Formation Following Chemical Activation. **Journal of Reproduction and Development**, vol. 55, no. 2, p. 187–193, 2009. <https://doi.org/10.1262/jrd.20122>.

GANTNER, Benjamin N.; LAFOND, Katy M.; BONINI, Marcelo G. Nitric oxide in cellular adaptation and disease. **Redox Biology**, vol. 34, p. 101550, Jul. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101550>.

GAO, Kaiguo; JIANG, Zongyong; LIN, Yingcai; ZHENG, Chuntian; ZHOU, Guilian; CHEN, Fang; YANG, Lin; WU, Guoyao. Dietary l-arginine supplementation enhances placental growth and reproductive performance in sows. **Amino Acids**, vol. 42, no. 6, p. 2207–2214, 21 Jun. 2012. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0960-9>.

GOETTEN, André Lucio Fontana; KOCH, Júlia; ROCHA, Cecília Constantino; MEZZALIRA, Alceu; PRICE, Christopher Allan; PORTELA, Valério Marques; BARRETA, Marcos Henrique. Expression profile of key genes involved in DNA repair mechanisms in bovine cumulus cells cultured with bovine serum albumin or fetal calf serum. **Reproductive Biology**, vol. 23, no. 1, p. 100709, Mar. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2022.100709>.

GOTTARDI, F. P.; MINGOTI, G. Z. Maturação de oócitos bovinos e influência na aquisição da competência para o desenvolvimento do embrião. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, vol. 33, p. 82–94, 2009. .

GOUD, Pravin T.; GOUD, Anuradha P.; DIAMOND, Michael P.; GONIK, Bernard; ABU-SOUD, Husam M. Nitric oxide extends the oocyte temporal window for optimal fertilization. **Free Radical Biology and Medicine**, vol. 45, no. 4, p. 453–459, 15 Aug. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.04.035>.

GOUGE, R. C.; MARSHBURN, P; GORDON, B E; NUNLEY, W; HUET-HUDSON, Y M. Nitric Oxide as a Regulator of Embryonic Development. **Biology of Reproduction**, vol. 58, no. 4, p. 875–879, 1 Apr. 1998. <https://doi.org/10.1095/biolreprod58.4.875>.

GRAHAM, J. K.; KUNZE, E.; HAMMERSTEDT, R H. Analysis of Sperm Cell Viability, Acrosomal Integrity, and Mitochondrial Function Using Flow Cytometry1. **Biology of Reproduction**, vol. 43, no. 1, p. 55–64, 1 Jul. 1990. <https://doi.org/10.1095/biolreprod43.1.55>.

GRASSELLI, F; PONDERATO, N; BASINI, G; TAMANINI, C. Nitric oxide synthase expression and nitric oxide/cyclic GMP pathway in swine granulosa cells. **Domestic animal endocrinology**, vol. 20, no. 4, p. 241–52, May 2001. [https://doi.org/10.1016/s0739-7240\(01\)00096-0](https://doi.org/10.1016/s0739-7240(01)00096-0).

GRILLO, M. A.; COLOMBATTO, S. Arginine revisited: Minireview article. **Amino Acids**, vol. 26, no. 4, 8 Jul. 2004. <https://doi.org/10.1007/s00726-004-0081-9>.

HA, Hyo Chol; SIRISOMA, Nilantha S.; KUPPUSAMY, Periannan; ZWEIER, Jay L.; WOSTER, Patrick M.; CASERO, Robert A. The natural polyamine spermine functions directly as a free radical scavenger. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 95, no. 19, p. 11140–11145, 15 Sep. 1998. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.19.11140>.

HARVEY, Alexandra J. Mitochondria in early development: linking the microenvironment, metabolism and the epigenome. **Reproduction**, vol. 157, no. 5, p. R159–R179, May 2019. <https://doi.org/10.1530/REP-18-0431>.

HE, Meina; ZHANG, Tuo; YANG, Yi; WANG, Chao. Mechanisms of Oocyte Maturation and Related Epigenetic Regulation. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, vol. 9, 19 Mar. 2021. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.654028>.

HEIMLICH, Gerd; MCKINNON, Alastair D.; BERNARDO, Katussevani; BRDICZKA, Dieter; REED, John C.; KAIN, Renate; KRÖNKE, Martin; JÜRGENSMEIER, Juliane M. Bax-induced cytochrome c release from mitochondria depends on alpha-helices-5 and -6. **Biochemical Journal**, vol. 378, no. 1, p. 247–255, 15 Feb. 2004. <https://doi.org/10.1042/bj20031152>.

HENRIQUE BARRETA, Marcos; GARZIERA GASPERIN, Bernardo; BRAGA RISSI, Vitor; CESARO, Matheus Pedrotti de; FERREIRA, Rogério; OLIVEIRA, João Francisco de; GONÇALVES, Paulo Bayard Dias; BORDIGNON, Vilceu. Homologous recombination and non-homologous end-joining repair pathways in bovine embryos with different developmental competence. **Experimental Cell Research**, vol. 318, no. 16, p. 2049–2058, Oct. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2012.06.003>.

HERRERO, MB; VIGGIANO, JM; PEREZ, Martinez S; DE, Gimeno MF. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on the outcome of in vitro fertilization in the mouse. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 8, no. 2, p. 301, 1996. <https://doi.org/10.1071/RD9960301>.

HESSELS, J.; KINGMA, A. W.; FERWERDA, H.; KEU, J.; VAN DEN BERG, G. A.; MUSKIET, F. A. J. Microbial flora in the gastrointestinal tract abolishes cytostatic effects of α -difluoromethylornithine *in vivo*. **International Journal of Cancer**, vol. 43, no. 6, p. 1155–1164, 15 Jun. 1989. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910430632>.

HIOM, K. Dna repair: Rad52 - the means to an end. **Current biology : CB**, vol. 9, no. 12, p. R446-8, 17 Jun. 1999. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(99\)80278-4](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(99)80278-4).

HOLT, J. E.; JONES, K. T. Control of homologous chromosome division in the mammalian oocyte. **Molecular Human Reproduction**, vol. 15, no. 3, p. 139–147, 1 Mar. 2009. <https://doi.org/10.1093/molehr/gap007>.

HOSOE, M.; SHIOYA, Y. Distribution of cortical granules in bovine oocytes classified by cumulus complex. **Zygote**, vol. 5, no. 4, p. 371–376, 26 Nov. 1997. <https://doi.org/10.1017/S0967199400003956>.

HOSSEINI, Nasrin; KOUROSH-ARAMI, Masoumeh; NADJAFI, Shabnam; ASHTARI, Behnaz. Structure, Distribution, Regulation, and Function of Splice Variant Isoforms of Nitric Oxide Synthase Family in the Nervous System. **Current Protein & Peptide Science**, vol. 23, no. 8, p. 510–534, Aug. 2022. <https://doi.org/10.2174/1389203723666220823151326>.

HSU, Chien-Ning; TAIN, You-Lin. Impact of Arginine Nutrition and Metabolism during Pregnancy on Offspring Outcomes. **Nutrients**, vol. 11, no. 7, p. 1452, 27 Jun. 2019. <https://doi.org/10.3390/nu11071452>.

HUANG, Yi; MARTON, Laurence J; WOSTER, Patrick M; CASERO, Robert A. Polyamine analogues targeting epigenetic gene regulation. **Essays in biochemistry**, vol. 46, p. 95–110, 4 Nov. 2009. <https://doi.org/10.1042/bse0460007>.

HYTTEL, P.; FAIR, T.; CALLESEN, H.; GREVE, T. Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle. **Theriogenology**, vol. 47, no. 1, p. 23–32, Jan. 1997. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(96\)00336-6](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(96)00336-6).

IGARASHI, Kazuei; KASHIWAGI, Keiko. Modulation of cellular function by polyamines. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, vol. 42, no. 1, p. 39–51, Jan. 2010a. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.07.009>.

IGARASHI, Kazuei; KASHIWAGI, Keiko. Modulation of cellular function by polyamines. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, vol. 42, no. 1, p. 39–51, Jan. 2010b. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.07.009>.

IGNARRO, Louis J. **Nitric oxide: biology and pathobiology**. 1st ed. California: Academic Press, 2000.

JABLONKA-SHARIFF, A; OLSON, L M. Nitric oxide is essential for optimal meiotic maturation of murine cumulus-oocyte complexes *in vitro*. **Molecular reproduction and development**, vol. 55, no. 4, p. 412–21, Apr. 2000. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2795\(200004\)55:4<412::AID-MRD9>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2795(200004)55:4<412::AID-MRD9>3.0.CO;2-W).

JABLONKA-SHARIFF, Albina; OLSON, Lisa M. The Role of Nitric Oxide in Oocyte Meiotic Maturation and Ovulation: Meiotic Abnormalities of Endothelial Nitric Oxide Synthase Knock-Out Mouse Oocytes ¹. **Endocrinology**, vol. 139, no. 6, p. 2944–2954, Jun. 1998. <https://doi.org/10.1210/endo.139.6.6054>.

JACKSON, Stephen P.; BARTEK, Jiri. The DNA-damage response in human biology and disease. **Nature**, vol. 461, no. 7267, p. 1071–1078, 22 Oct. 2009. <https://doi.org/10.1038/nature08467>.

JANG, You-Jee; PARK, Jae-Il; MOON, Won-Jin; DAM, Phuong T.M.; CHO, Moon-Kyoung; CHUN, Sang-Young. Cumulus Cell-Expressed Type I Interferons Induce Cumulus Expansion in Mice. **Biology of Reproduction**, vol. 92, no. 1, 1 Jan. 2015. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.122770>.

JIANG, Dongmei; GUO, Yongni; NIU, Chunyang; LONG, Shiyun; JIANG, Yilong; WANG, Zelong; WANG, Xin; SUN, Qian; LING, Weikang; AN, Xiaoguang; JI, Chengweng; ZHAO, Hua; KANG, Bo. Exploration of the Antioxidant Effect of Spermidine on the Ovary and Screening and Identification of Differentially Expressed Proteins. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 24, no. 6, p. 5793, 17 Mar. 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms24065793>.

JIN, J. X.; LEE, S.; KHOIRINAYA, C.; OH, A.; KIM, G. A.; LEE, B. C. Supplementation with spermine during in vitro maturation of porcine oocytes improves early embryonic development after parthenogenetic activation and somatic cell nuclear transfer. **Journal of Animal Science**, vol. 94, no. 3, p. 963–970, 1 Mar. 2016. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9761>.

JIN, Zhe-Long; KIM, Nam-Hyung. RAD51 maintains chromosome integrity and mitochondrial distribution during porcine oocyte maturation &in vitro. **Journal of Reproduction and Development**, vol. 63, no. 5, p. 489–496, 2017. <https://doi.org/10.1262/jrd.2017-078>.

JIN, Zhe-Long; SUK, Namgoong; KIM, Nam-Hyung. TP53BP1 regulates chromosome alignment and spindle bipolarity in mouse oocytes. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 86, no. 9, p. 1126–1137, 2 Sep. 2019. <https://doi.org/10.1002/mrd.23228>.

JONES, K. T. Turning it on and off: M-phase promoting factor during meiotic maturation and fertilization. **Molecular Human Reproduction**, vol. 10, no. 1, p. 1–5, 1 Jan. 2004. <https://doi.org/10.1093/molehr/gah009>.

KESHET, Rom; EREZ, Ayelet. Arginine and the metabolic regulation of nitric oxide synthesis in cancer. **Disease Models & Mechanisms**, vol. 11, no. 8, 1 Aug. 2018. <https://doi.org/10.1242/dmm.033332>.

KHAN, FA; CHENIER, TS; FOSTER, RA; HEWSON, J; SCHOLTZ, EL. Endometrial nitric oxide synthase activity in mares susceptible or resistant to persistent breeding-induced endometritis and the effect of a specific iNOS inhibitor in vitro. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 53, no. 3, p. 718–724, 14 Jun. 2018. <https://doi.org/10.1111/rda.13162>.

KIRILLOVA, Anastasia; SMITZ, Johan E. J.; SUKHIKH, Gennady T.; MAZUNIN, Ilya. The Role of Mitochondria in Oocyte Maturation. **Cells**, vol. 10, no. 9, p. 2484, 19 Sep. 2021. <https://doi.org/10.3390/cells10092484>.

KRISCHEK, Carsten; MEINECKE, Burkhard. In vitro maturation of bovine oocytes requires polyadenylation of mRNAs coding proteins for chromatin condensation, spindle assembly, MPF and MAP kinase activation. **Animal Reproduction Science**, vol. 73, no. 3–4, p. 129–140, Oct. 2002. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(02\)00131-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00131-8).

KUO, Richard C.; BAXTER, Gregory T.; THOMPSON, Stuart H.; STRICKER, Stephen A.; PATTON, Chris; BONAVENTURA, Joseph; EPEL, David. NO is necessary and sufficient for egg activation at fertilization. **Nature**, vol. 406, no. 6796, p. 633–636, Aug. 2000. <https://doi.org/10.1038/35020577>.

KUSANO, T.; BERBERICH, T.; TATEDA, C.; TAKAHASHI, Y. Polyamines: essential factors for growth and survival. **Planta**, vol. 228, no. 3, p. 367–381, 2 Aug. 2008a. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0772-7>.

KUSANO, T.; BERBERICH, T.; TATEDA, C.; TAKAHASHI, Y. Polyamines: essential factors for growth and survival. **Planta**, vol. 228, no. 3, p. 367–381, 2 Aug. 2008b. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0772-7>.

KWON, Hyukjung; WU, Guoyao; BAZER, Fuller W.; SPENCER, Thomas E. Developmental Changes in Polyamine Levels and Synthesis in the Ovine Conceptus1. **Biology of Reproduction**, vol. 69, no. 5, p. 1626–1634, 1 Nov. 2003. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.019067>.

KWON, N.S.; NATHAN, C.F.; GILKER, C.; GRIFFITH, O.W.; MATTHEWS, D.E.; STUEHR, D.J. L-citrulline production from L-arginine by macrophage nitric oxide synthase. The ureido oxygen derives from dioxygen. **Journal of Biological Chemistry**, vol. 265, no. 23, p. 13442–13445, Aug. 1990. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)77366-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)77366-3).

LAMAS, S; MARSDEN, P A; LI, G K; TEMPST, P; MICHEL, T. Endothelial nitric oxide synthase: molecular cloning and characterization of a distinct constitutive enzyme isoform. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 89, no. 14, p. 6348–6352, 15 Jul. 1992. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.14.6348>.

LANCELLOTTI SCHWARZ, Kátia R.; LISBOA PIRES, Pedro R.; MESQUITA, Ligia Garcia; CHIARATTI, Marcos R.; VERDE LEAL, Cláudia Lima. Effect of nitric oxide on the cyclic guanosine monophosphate (cGMP) pathway during meiosis resumption in bovine oocytes. **Theriogenology**, vol. 81, no. 4, p. 556–564, Mar. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.11.008>.

LANE, Simon I. R.; MORGAN, Stephanie L.; WU, Tianyu; COLLINS, Josie K.; MERRIMAN, Julie A.; ELINATI, Elias; TURNER, James M.; JONES, Keith T. DNA damage induces a kinetochore-based ATM/ATR-independent SAC arrest unique to the first meiotic division in mouse oocytes. **Development**, 1 Jan. 2017. <https://doi.org/10.1242/dev.153965>.

LARQUÉ, Elvira; SABATER-MOLINA, María; ZAMORA, Salvador. Biological significance of dietary polyamines. **Nutrition**, vol. 23, no. 1, p. 87–95, Jan. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2006.09.006>.

LASSALA, Arantzazu; BAZER, Fuller W.; CUDD, Timothy A.; DATTA, Sujay; KEISLER, Duane H.; SATTERFIELD, M. Carey; SPENCER, Thomas E.; WU, Guoyao. Parenteral Administration of L-Arginine Enhances Fetal Survival and Growth in Sheep Carrying Multiple Fetuses1–3. **The Journal of Nutrition**, vol. 141, no. 5, p. 849–855, May 2011. <https://doi.org/10.3945/jn.111.138172>.

LEAL, A.C.M.S.; CALDAS-BUSSIÉRE, M.C.; CARVALHO, C.S. Paes de; VIANA, K.S.; QUIRINO, C.R. Role of nitric oxide on quality of freshly ejaculated bull spermatozoa during heparin-induced in vitro capacitation. **Animal Reproduction Science**, vol. 116, no. 1–2, p. 38–49, Nov. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.12.020>.

LEE, Chih-Ying; SU, Guan-Chin; HUANG, Wen-Yen; KO, Min-Yu; YEH, Hsin-Yi; CHANG, Geen-Dong; LIN, Sung-Jan; CHI, Peter. Promotion of homology-directed DNA repair by polyamines. **Nature Communications**, vol. 10, no. 1, p. 65, 8 Jan. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-08011-1>.

LEE, J.H.; LEE, E.; BISWAS, D.; JEUNG, C.S.; LEE, G.S.; HYUN, S.H.; JEUNG, E.B. Amphiregulin promotes the proliferation of trophoblast cells during preimplantation development of porcine embryos. **Theriogenology**, vol. 72, no. 8, p. 1023–1031, Nov. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.05.021>.

LEE, Tsung-Hsien; LEE, Maw-Sheng; HUANG, Chun-Chia; TSAO, Hui-Mei; LIN, Pi-Mei; HO, Hong-Nerng; SHEW, Jin-Yuh; YANG, Yu-Shih. Nitric oxide modulates mitochondrial activity and apoptosis through protein S-nitrosylation for preimplantation embryo development. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 30, no. 8, p. 1063–1072, 6 Aug. 2013. <https://doi.org/10.1007/s10815-013-0045-7>.

LEFÈVRE, Pavine L. C.; PALIN, Marie-France; MURPHY, Bruce D. Polyamines on the Reproductive Landscape. **Endocrine Reviews**, vol. 32, no. 5, p. 694–712, 1 Oct. 2011. <https://doi.org/10.1210/er.2011-0012>.

LEI, Tiantian; DU, Suyu; PENG, Zhe; CHEN, Lin. Multifaceted regulation and functions of 53BP1 in NHEJ-mediated DSB repair (Review). **International Journal of Molecular Medicine**, vol. 50, no. 1, p. 90, 16 May 2022. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2022.5145>.

LENIS, Yasser Y.; ELMETWALLY, Mohammed A.; MALDONADO-ESTRADA, Juan G.; BAZER, Fuller W. Physiological importance of polyamines. **Zygote**, vol. 25, no. 3, p. 244–255, 7 Jun. 2017. <https://doi.org/10.1017/S0967199417000120>.

LERIN, Joviana; ARAGÃO, Victor Paulo Mesquita; REIS, Ricardo Souza; SILVEIRA, Vanildo; SANTA-CATARINA, Claudete. Proteomic profile and polyamine contents are modulated by light source to promote in vitro shoot development in *Cariniana legalis* (Martius) O. Kuntze (Lecythidaceae). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, vol. 137, no. 2, p. 329–342, 12 May 2019. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01574-x>.

LI, H.J.; LIU, D.J.; CANG, M.; WANG, L.M.; JIN, M.Z.; MA, Y.Z.; SHORGAN, B. Early apoptosis is associated with improved developmental potential in bovine oocytes. **Animal Reproduction Science**, vol. 114, no. 1–3, p. 89–98, Aug. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.09.018>.

LI, H.-J.; WANG, C.-Y.; MI, Y.; DU, C.-G.; CAO, G.-F.; SUN, X.-C.; LIU, D.-J.; SHORGAN, B. FasL-induced apoptosis in bovine oocytes via the Bax signal. **Theriogenology**, vol. 80, no. 3, p. 248–255, Aug. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.04.002>.

LI, Xilong; BAZER, Fuller W.; JOHNSON, Gregory A.; BURGHARDT, Robert C.; ERIKSON, David W.; FRANK, James W.; SPENCER, Thomas E.; SHINZATO, Izuru; WU, Guoyao. Dietary Supplementation with 0.8% L-Arginine between Days 0 and 25 of Gestation Reduces Litter Size in Gilts. **The Journal of Nutrition**, vol. 140, no. 6, p. 1111–1116, Jun. 2010. <https://doi.org/10.3945/jn.110.121350>.

LI, Xilong; BAZER, Fuller W.; JOHNSON, Gregory A.; BURGHARDT, Robert C.; FRANK, James W.; DAI, Zhaolai; WANG, Junjun; WU, Zhenlong; SHINZATO, Izuru; WU, Guoyao. Dietary supplementation with l-arginine between days 14 and 25 of gestation enhances embryonic development and survival in gilts. **Amino Acids**, vol. 46, no. 2, p. 375–384, 13 Feb. 2014. <https://doi.org/10.1007/s00726-013-1626-6>.

LIN, Jing; WANG, Ling. Oxidative Stress in Oocytes and Embryo Development: Implications for *In Vitro* Systems. **Antioxidants & Redox Signaling**, vol. 34, no. 17, p. 1394–1406, 10 Jun. 2021. <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8209>.

LIN, Tao; SUN, Ling; LEE, Jae Eun; KIM, So Yeon; JIN, Dong Il. DNA damage repair is suppressed in porcine aged oocytes. **Journal of animal science and technology**, vol. 63, no. 5, p. 984–997, Sep. 2021. <https://doi.org/10.5187/jast.2021.e90>.

LIND, Maggie; HAYES, Alan; CAPRNDA, Martin; PETROVIC, Daniel; RODRIGO, Luis; KRUZLIAK, Peter; ZULLI, Anthony. Inducible nitric oxide synthase: Good or bad? **Biomedicine & Pharmacotherapy**, vol. 93, p. 370–375, Sep. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.06.036>.

LINDAHL, T.; BARNES, D.E. Repair of Endogenous DNA Damage. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, vol. 65, no. 0, p. 127–134, 1 Jan. 2000. <https://doi.org/10.1101/sqb.2000.65.127>.

LIU, Dandan; MO, Guolong; TAO, Yong; WANG, Hongmei; LIU, X. John . Putrescine supplementation during in vitro maturation of aged mouse oocytes improves the quality of blastocysts. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 29, no. 7, p. 1392, 2017. <https://doi.org/10.1071/RD16061>.

LIU, Min. The biology and dynamics of mammalian cortical granules. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 9, no. 1, p. 149, 2011. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-149>.

LIVIGNI, Alessandra; BRICKMAN, Joshua M. Oct4: The Final Frontier, Differentiation Defining Pluripotency. **Developmental Cell**, vol. 25, no. 6, p. 547–548, Jun. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.06.002>.

LODDE, Valentina; FRANCIOSI, Federica; TESSARO, Irene; MODINA, Silvia C.; LUCIANO, Alberto M. Role of gap junction-mediated communications in regulating large-scale chromatin configuration remodeling and embryonic developmental competence acquisition in fully grown bovine oocyte. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 30, no. 9, p. 1219–1226, 24 Sep. 2013. <https://doi.org/10.1007/s10815-013-0061-7>.

LODDE, Valentina; MODINA, Silvia; GALBUSERA, Cristina; FRANCIOSI, Federica; LUCIANO, Alberto M. Large-scale chromatin remodeling in germinal vesicle bovine oocytes: Interplay with gap junction functionality and developmental competence. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 74, no. 6, p. 740–749, 30 Jun. 2007. <https://doi.org/10.1002/mrd.20639>.

LODDE, Valentina; MODINA, Silvia; MADDOX-HYTTEL, Poul; FRANCIOSI, Federica; LAURIA, Antonio; LUCIANO, Alberto M. Oocyte morphology and transcriptional silencing in relation to chromatin remodeling during the final phases of bovine oocyte growth. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 75, no. 5, p. 915–924, 18 May 2008. <https://doi.org/10.1002/mrd.20824>.

LONERGAN, Patrick; FAIR, Trudee. Maturation of Oocytes in Vitro. **Annual Review of Animal Biosciences**, vol. 4, no. 1, p. 255–268, 15 Feb. 2016. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022114-110822>.

LUCIANO, Alberto M.; FRANCIOSI, Federica; MODINA, Silvia C.; LODDE, Valentina. Gap Junction-Mediated Communications Regulate Chromatin Remodeling During Bovine Oocyte Growth

and Differentiation Through cAMP-Dependent Mechanism(s)1. **Biology of Reproduction**, vol. 85, no. 6, p. 1252–1259, 1 Dec. 2011. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.111.092858>.

LUCIANO, Alberto Maria; SIRARD, Marc-André. Successful in vitro maturation of oocytes: a matter of follicular differentiation. **Biology of Reproduction**, vol. 98, no. 2, p. 162–169, 1 Feb. 2018. <https://doi.org/10.1093/biolre/iox149>.

MACAULAY, Angus D.; GILBERT, Isabelle; CABALLERO, Julieta; BARRETO, Rodrigo; FOURNIER, Eric; TOSSOU, Prudencio; SIRARD, Marc-André; CLARKE, Hugh J.; KHANDJIAN, Édouard W.; RICHARD, Francois J.; HYTTEL, Poul; ROBERT, Claude. The Gametic Synapse: RNA Transfer to the Bovine Oocyte1. **Biology of Reproduction**, vol. 91, no. 4, 1 Oct. 2014. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.119867>.

MACHADO, Lucas Simões; BORGES, Camila Martins; DE LIMA, Marina Amaro; SANGALLI, Juliano Rodrigues; THERRIEN, Jacinthe; PESSÔA, Laís Vicari de Figueiredo; FANTINATO NETO, Paulo; PERECIN, Felipe; SMITH, Lawrence Charles; MEIRELLES, Flavio Vieira; BRESSAN, Fabiana Fernandes. Exogenous OCT4 and SOX2 Contribution to In Vitro Reprogramming in Cattle. **Biomedicines**, vol. 11, no. 9, p. 2577, 19 Sep. 2023a. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11092577>.

MACHADO, Lucas Simões; BORGES, Camila Martins; DE LIMA, Marina Amaro; SANGALLI, Juliano Rodrigues; THERRIEN, Jacinthe; PESSÔA, Laís Vicari de Figueiredo; FANTINATO NETO, Paulo; PERECIN, Felipe; SMITH, Lawrence Charles; MEIRELLES, Flavio Vieira; BRESSAN, Fabiana Fernandes. Exogenous OCT4 and SOX2 Contribution to In Vitro Reprogramming in Cattle. **Biomedicines**, vol. 11, no. 9, p. 2577, 19 Sep. 2023b. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11092577>.

MACIEL, V.L.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; SILVEIRA, V.; REIS, R.S.; RIOS, A.F.L.; PAES DE CARVALHO, C.S. l-arginine alters the proteome of frozen-thawed bovine sperm during in vitro capacitation. **Theriogenology**, vol. 119, p. 1–9, Oct. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.06.018>.

MADDOX, Amy Shaub; AZOURY, Jessica; DUMONT, Julien. Polar body cytokinesis. **Cytoskeleton**, vol. 69, no. 11, p. 855–868, Nov. 2012. <https://doi.org/10.1002/cm.21064>.

MALACARIA, Eva; HONDA, Masayoshi; FRANCHITTO, Annapaola; SPIES, Maria; PICHIERRI, Pietro. Physiological and Pathological Roles of RAD52 at DNA Replication Forks. **Cancers**, vol. 12, no. 2, p. 402, 10 Feb. 2020. <https://doi.org/10.3390/cancers12020402>.

MAO, Luna; LOU, Hangying; LOU, Yiyun; WANG, Ning; JIN, Fan. Behaviour of cytoplasmic organelles and cytoskeleton during oocyte maturation. **Reproductive BioMedicine Online**, vol. 28, no. 3, p. 284–299, Mar. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.10.016>.

MARANGOS, Petros; CARROLL, John. Oocytes Progress beyond Prophase in the Presence of DNA Damage. **Current Biology**, vol. 22, no. 11, p. 989–994, Jun. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.03.063>.

MARQUES, TC; DA SILVA SANTOS, EC; DIESEL, TO; LEME, LO; MARTINS, CF; DODE, MAN; ALVES, BG; COSTA, FPH; DE OLIVEIRA, EB; GAMBARINI, ML. Melatonin reduces apoptotic cells, <scp>SOD</scp> 2 and <scp>HSPB</scp> 1 and improves the in vitro production and quality of bovine blastocysts. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 53, no. 1, p. 226–236, 3 Feb. 2018. <https://doi.org/10.1111/rda.13097>.

MARTIN, Jacinta H.; BROMFIELD, Elizabeth G.; AITKEN, R. John; LORD, Tessa; NIXON, Brett. Double Strand Break DNA Repair occurs via Non-Homologous End-Joining in Mouse MII Oocytes. **Scientific Reports**, vol. 8, no. 1, p. 9685, 26 Jun. 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27892-2>.

MASUI, Shinji; NAKATAKE, Yuhki; TOYOOKA, Yayoi; SHIMOSATO, Daisuke; YAGI, Rika; TAKAHASHI, Kazue; OKOCHI, Hitoshi; OKUDA, Akihiko; MATOBA, Ryo; SHAROV, Alexei A.; KO, Minoru S. H.; NIWA, Hitoshi. Pluripotency governed by Sox2 via regulation of Oct3/4 expression in mouse embryonic stem cells. **Nature Cell Biology**, vol. 9, no. 6, p. 625–635, 21 Jun. 2007. <https://doi.org/10.1038/ncb1589>.

MASUI, Yoshio; CLARKE, Hugh J. Oocyte Maturation. [*S. l.: s. n.*], 1979. p. 185–282. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)61464-3](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)61464-3).

MATEO, Ronaldo D.; WU, Guoyao; BAZER, Fuller W.; PARK, Jun C.; SHINZATO, Izuru; KIM, Sung Woo. Dietary l-Arginine Supplementation Enhances the Reproductive Performance of Gilts. **The Journal of Nutrition**, vol. 137, no. 3, p. 652–656, Mar. 2007. <https://doi.org/10.1093/jn/137.3.652>.

MATTA, S.G.C.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; VIANA, K.S.; FAES, M.R.; PAES DE CARVALHO, C.S.; DIAS, B.L.; QUIRINO, C.R. Effect of inhibition of synthesis of inducible nitric oxide synthase-derived nitric oxide by aminoguanidine on the in vitro maturation of oocyte–cumulus complexes of cattle. **Animal Reproduction Science**, vol. 111, no. 2–4, p. 189–201, Apr. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.03.002>.

MCKEEGAN, Paul J.; BOARDMAN, Selina F.; WANLESS, Amy A.; BOYD, Grace; WARWICK, Laura J.; LU, Jianping; GNANAPRABHA, Keerthi; PICTON, Helen M. Intracellular oxygen metabolism during bovine oocyte and preimplantation embryo development. **Scientific Reports**, vol. 11, no. 1, p. 21245, 28 Oct. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99512-5>.

MCKNIGHT, Jason R.; SATTERFIELD, M. Carey; JOBGEN, Wenjuan S.; SMITH, Stephen B.; SPENCER, Thomas E.; MEININGER, Cynthia J.; MCNEAL, Catherine J.; WU, Guoyao. Beneficial effects of l-arginine on reducing obesity: potential mechanisms and important implications for human health. **Amino Acids**, vol. 39, no. 2, p. 349–357, 1 Jul. 2010. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0598-z>.

MEHLMANN, Lisa M. Stops and starts in mammalian oocytes: recent advances in understanding the regulation of meiotic arrest and oocyte maturation. **Reproduction**, vol. 130, no. 6, p. 791–799, Dec. 2005. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00793>.

MEULDERS, Ben; MAREI, Waleed F. A.; XHONNEUX, Inne; BOLS, Peter E. J.; LEROY, Jo L. M. R. Effect of lipotoxicity on mitochondrial function and epigenetic programming during bovine in vitro embryo production. **Scientific Reports**, vol. 13, no. 1, p. 21664, 8 Dec. 2023. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49184-0>.

MITCHELL, L. M. Expression of nitric oxide synthase and effect of substrate manipulation of the nitric oxide pathway in mouse ovarian follicles. **Human Reproduction**, vol. 19, no. 1, p. 30–40, 1 Jan. 2004. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh032>.

MITRA, Jayashree; SCHULTZ, Richard M. Regulation of the acquisition of meiotic competence in the mouse: Changes in the subcellular localization of cdc2, cyclin B1, cdc25C and weel, and in the concentration of these proteins and their transcripts. **Journal of Cell Science**, vol. 109, no. 9, p. 2407–2415, 1 Sep. 1996. <https://doi.org/10.1242/jcs.109.9.2407>.

MITSUI, Kaoru; TOKUZAWA, Yoshimi; ITOH, Hiroaki; SEGAWA, Kohichi; MURAKAMI, Mirei; TAKAHASHI, Kazutoshi; MARUYAMA, Masayoshi; MAEDA, Mitsuyo; YAMANAKA, Shinya. The Homeoprotein Nanog Is Required for Maintenance of Pluripotency in Mouse Epiblast and ES Cells. *Cell*, vol. 113, no. 5, p. 631–642, May 2003. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00393-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00393-3).

MOGHADAM, Ali Reza Eftekhari; MOGHADAM, Mahin Taheri; HEMADI, Masoud; SAKI, Ghasem. Oocyte quality and aging. *JBRA Assisted Reproduction*, 2021. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20210026>.

MOINARD, C; CYNOBER, L; DEBANDT, J. Polyamines: metabolism and implications in human diseases. *Clinical Nutrition*, vol. 24, no. 2, p. 184–197, Apr. 2005. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.11.001>.

MONCADA, S; PALMER, R M; HIGGS, E A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological reviews*, vol. 43, no. 2, p. 109–42, Jun. 1991. .

MUNGRUE, I. N.; BREDT, D. S.; STEWART, D. J.; HUSAIN, M. From molecules to mammals: what's NOS got to do with it? *Acta Physiologica Scandinavica*, vol. 179, no. 2, p. 123–135, 19 Oct. 2003. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2003.01182.x>.

NADDAPPOUR, Azadeh; GHAZVINI ZADEGAN, Faezeh; HAJIAN, Mehdi; HOSSEINI, Sayyed Morteza; JAFARPOUR, Farnoosh; RAHIMI, Mohsen; HABIBI, Razieh; NASR ESFAHANI, Mohammad Hossein. Effects of abundances of OCT-4 mRNA transcript on goat pre-implantation embryonic development. *Animal Reproduction Science*, vol. 215, p. 106286, Apr. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106286>.

NASHUN, Buhe; YUKAWA, Masashi; LIU, Honglin; AKIYAMA, Tomohiko; AOKI, Fugaku. Changes in the nuclear deposition of histone H2A variants during pre-implantation development in mice. *Development*, vol. 137, no. 22, p. 3785–3794, 15 Nov. 2010. <https://doi.org/10.1242/dev.051805>.

NATHAN, Carl; XIE, Qiao-wen. Nitric oxide synthases: Roles, tolls, and controls. *Cell*, vol. 78, no. 6, p. 915–918, Sep. 1994. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90266-6](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90266-6).

NELISSEN, Ewka C.M.; DUMOULIN, John C.M.; BUSATO, Florence; PONGER, Loïc; EIJSSEN, Lars M.; EVERS, Johannes L.H.; TOST, Jörg; VAN MONTFOORT, Aafke P.A. Altered gene expression in human placentas after IVF/ICSI. *Human Reproduction*, vol. 29, no. 12, p. 2821–2831, Dec. 2014. <https://doi.org/10.1093/humrep/deu241>.

NERI, Simona; MARIANI, Erminia; MENEGHETTI, Alessandra; CATTINI, Luca; FACCHINI, Andrea. Calcein-Acetyoxymethyl Cytotoxicity Assay: Standardization of a Method Allowing Additional Analyses on Recovered Effector Cells and Supernatants. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*, vol. 8, no. 6, p. 1131–1135, Nov. 2001. <https://doi.org/10.1128/CDLI.8.6.1131-1135.2001>.

NIIDA, Hiroyuki; NAKANISHI, Makoto. DNA damage checkpoints in mammals. *Mutagenesis*, vol. 21, no. 1, p. 3–9, 1 Jan. 2006. <https://doi.org/10.1093/mutage/gei063>.

NIU, Chunyang; JIANG, Dongmei; GUO, Yongni; WANG, Zelong; SUN, Qian; WANG, Xin; LING, Weikang; AN, Xiaoguang; JI, Chengweng; LI, Shuo; ZHAO, Hua; KANG, Bo. Spermidine suppresses oxidative stress and ferroptosis by Nrf2/HO-1/GPX4 and Akt/FHC/ACSL4 pathway to alleviate ovarian damage. *Life Sciences*, vol. 332, p. 122109, Nov. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.122109>.

NIU, Chunyang; ZHANG, Sujuan; MO, Guilin; JIANG, Yilong; LI, Liang; XU, Hengyong; HAN, Chunchun; ZHAO, Hua; YAN, Yanhong; HU, Shenqiang; HU, Jiwei; KANG, Bo; JIANG, Dongmei. Effects of ODC on polyamine metabolism, hormone levels, cell proliferation and apoptosis in goose ovarian granulosa cells. **Poultry Science**, vol. 100, no. 8, p. 101226, Aug. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101226>.

OFLAHERTY, C; RODRIGUEZ, P; SRIVASTAVA, S. -Arginine promotes capacitation and acrosome reaction in cryopreserved bovine spermatozoa. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, vol. 1674, no. 2, p. 215–221, 24 Sep. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2004.06.020>.

OSBORNE, H. Beverley; MULNER-LORILLON, Odile; MAROT, Jean; BELLE, Robert. Polyamine levels during *Xenopus laevis* oogenesis: A role in oocyte competence to meiotic resumption. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, vol. 158, no. 2, p. 520–526, Jan. 1989. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(89\)80080-4](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(89)80080-4).

OTOI, T.; YAMAMOTO, K.; KOYAMA, N.; TACHIKAWA, S.; SUZUKI, T. Bovine oocyte diameter in relation to developmental competence. **Theriogenology**, vol. 48, no. 5, p. 769–774, Oct. 1997. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(97\)00300-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00300-2).

PAILAS, Alexandros; NIAKA, Konstantina; ZORZOMPOKOU, Chrysoula; MARANGOS, Petros. The DNA Damage Response in Fully Grown Mammalian Oocytes. **Cells**, vol. 11, no. 5, p. 798, 24 Feb. 2022. <https://doi.org/10.3390/cells11050798>.

PAN, Bo; LI, Julang. The art of oocyte meiotic arrest regulation. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 17, no. 1, p. 8, 5 Dec. 2019. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0445-8>.

PANG, Yun-Wei; SUN, Ye-Qing; SUN, Wei-Jun; DU, Wei-Hua; HAO, Hai-Sheng; ZHAO, Shan-Jiang; ZHU, Hua-Bin. Melatonin inhibits paraquat-induced cell death in bovine preimplantation embryos. **Journal of Pineal Research**, vol. 60, no. 2, p. 155–166, Mar. 2016. <https://doi.org/10.1111/jpi.12297>.

PAULL, Tanya T; ROGAKOU, Emmy P; YAMAZAKI, Vikky; KIRCHGESSNER, Cordula U; GELLERT, Martin; BONNER, William M. A critical role for histone H2AX in recruitment of repair factors to nuclear foci after DNA damage. **Current Biology**, vol. 10, no. 15, p. 886–895, Aug. 2000. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(00\)00610-2](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(00)00610-2).

PEI, Zhenle; DENG, Ke; XU, Congjian; ZHANG, Shuo. The molecular regulatory mechanisms of meiotic arrest and resumption in Oocyte development and maturation. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 21, no. 1, p. 90, 2 Oct. 2023. <https://doi.org/10.1186/s12958-023-01143-0>.

PIRES, P.R.L.; SANTOS, N.P.; ADONA, P.R.; NATORI, M.M.; SCHWARZ, K.R.L.; DE BEM, T.H.C.; LEAL, C.L.V. Endothelial and inducible nitric oxide synthases in oocytes of cattle. **Animal Reproduction Science**, vol. 116, no. 3–4, p. 233–243, Dec. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.02.019>.

PODEROSO, Juan José; HELFENBERGER, Katia; PODEROSO, Cecilia. The effect of nitric oxide on mitochondrial respiration. **Nitric Oxide**, vol. 88, p. 61–72, Jul. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.04.005>.

POPOLO, Ada; ADESSO, Simona; PINTO, Aldo; AUTORE, Giuseppina; MARZOCCO, Stefania. l-Arginine and its metabolites in kidney and cardiovascular disease. **Amino Acids**, vol. 46, no. 10, p. 2271–2286, 27 Oct. 2014. <https://doi.org/10.1007/s00726-014-1825-9>.

PRETHEEBAN, T.; GORDON, M.; SINGH, R.; PERERA, R.; RAJAMAHENDRAN, R. Differential mRNA expression in in vivo produced pre-implantation embryos of dairy heifers and mature cows. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 76, no. 12, p. 1165–1172, 31 Dec. 2009. <https://doi.org/10.1002/mrd.21084>.

RAPPOLD, Irene; IWABUCHI, Kuniyoshi; DATE, Takayasu; CHEN, Junjie. Tumor Suppressor P53 Binding Protein 1 (53bp1) Is Involved in DNA Damage–Signaling Pathways. **The Journal of Cell Biology**, vol. 153, no. 3, p. 613–620, 30 Apr. 2001a. <https://doi.org/10.1083/jcb.153.3.613>.

RAPPOLD, Irene; IWABUCHI, Kuniyoshi; DATE, Takayasu; CHEN, Junjie. Tumor Suppressor P53 Binding Protein 1 (53bp1) Is Involved in DNA Damage–Signaling Pathways. **The Journal of Cell Biology**, vol. 153, no. 3, p. 613–620, 30 Apr. 2001b. <https://doi.org/10.1083/jcb.153.3.613>.

REINHARDT, H. Christian; YAFFE, Michael B. Phospho-Ser/Thr-binding domains: navigating the cell cycle and DNA damage response. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, vol. 14, no. 9, p. 563–580, 23 Sep. 2013. <https://doi.org/10.1038/nrm3640>.

RICHANI, Dulama; DUNNING, Kylie R; THOMPSON, Jeremy G; GILCHRIST, Robert B. Metabolic co-dependence of the oocyte and cumulus cells: essential role in determining oocyte developmental competence. **Human Reproduction Update**, vol. 27, no. 1, p. 27–47, 4 Jan. 2021. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa043>.

RICHARD, F. J. Effects of follicular cells on oocyte maturation. I: Effects of follicular hemisections on bovine oocyte maturation in vitro. **Biology of Reproduction**, vol. 54, no. 1, p. 16–21, 1 Jan. 1996. <https://doi.org/10.1095/biolreprod54.1.16>.

RODRIGUES-KRAUSE, Josianne; KRAUSE, Mauricio; ROCHA, Ilanna; UMPIERRE, Daniel; FAYH, Ana. Association of l-Arginine Supplementation with Markers of Endothelial Function in Patients with Cardiovascular or Metabolic Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, vol. 11, no. 1, p. 15, 20 Dec. 2018. <https://doi.org/10.3390/nu11010015>.

RODRIGUEZ, Karina F; FARIN, Charlotte E. Gene transcription and regulation of oocyte maturation. **Reproduction, fertility, and development**, vol. 16, no. 1–2, p. 55–67, 2004. <https://doi.org/10.10371/RD03078>.

RODRIGUEZ, P.C.; O’FLAHERTY, C.M.; BECONI, M.T.; BEORLEGUI, N.B. Nitric oxide-induced capacitation of cryopreserved bull spermatozoa and assessment of participating regulatory pathways. **Animal Reproduction Science**, vol. 85, no. 3–4, p. 231–242, Feb. 2005. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.05.018>.

RODRÍGUEZ-ALVAREZ, Lleretny; COX, José; TOVAR, Heribelt; EINSPANIER, Ralf; CASTRO, Fidel Ovidio. Changes in the expression of pluripotency-associated genes during preimplantation and peri-implantation stages in bovine cloned and *in vitro* produced embryos. **Zygote**, vol. 18, no. 3, p. 269–279, 30 Aug. 2010. <https://doi.org/10.1017/S0967199409990323>.

RODRÍGUEZ-ALVAREZ, Lleretny; SHARBATI, Jutta; SHARBATI, Soroush; COX, José Francisco; EINSPANIER, Ralf; CASTRO, Fidel Ovidio. Differential gene expression in bovine elongated (Day

17) embryos produced by somatic cell nucleus transfer and in vitro fertilization. **Theriogenology**, vol. 74, no. 1, p. 45–59, Jul. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.12.018>.

RODRÍGUEZ-PÁEZ, Lorena; AGUIRRE-ALVARADO, Charmina; CHAMORRO-CEVALLOS, Germán; VERONICA, Alcántara-Farfán; SANDRA IREL, Calderón-Espinosa; HUGO, Castillo-Pérez; GARCÍA-PÉREZ, Carlos Armando; JIMÉNEZ-GUTIÉRREZ, Guadalupe Elizabeth; CORDERO-MARTÍNEZ, Joaquín. Polyamines modulate mouse sperm motility. **Systems Biology in Reproductive Medicine**, vol. 69, no. 6, p. 435–449, 2 Nov. 2023. <https://doi.org/10.1080/19396368.2023.2262714>.

RODRÍGUEZ-PÁEZ, Lorena; AGUIRRE-ALVARADO, Charmina; OVIEDO, Norma; ALCÁNTARA-FARFÁN, Verónica; LARA-RAMÍREZ, Edgar E.; JIMENEZ-GUTIERREZ, Guadalupe Elizabeth; CORDERO-MARTÍNEZ, Joaquín. Polyamines Influence Mouse Sperm Channels Activity. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 22, no. 1, p. 441, 4 Jan. 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22010441>.

ROELES, Johannes; TSIAVALIARIS, Georgios. Actin-microtubule interplay coordinates spindle assembly in human oocytes. **Nature Communications**, vol. 10, no. 1, p. 4651, 11 Oct. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12674-9>.

ROMERO-AGUIRREGOMEZCORTA, Jon; SANTA, Ángela Patricia; GARCÍA-VÁZQUEZ, Francisco Alberto; COY, Pilar; MATÁS, Carmen. Nitric Oxide Synthase (NOS) Inhibition during Porcine In Vitro Maturation Modifies Oocyte Protein S-Nitrosylation and In Vitro Fertilization. **PLoS ONE**, vol. 9, no. 12, p. e115044, 26 Dec. 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115044>.

ROSSI, Meghan J; PEKKURNAZ, Gulcin. Powerhouse of the mind: mitochondrial plasticity at the synapse. **Current Opinion in Neurobiology**, vol. 57, p. 149–155, Aug. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2019.02.001>.

ROSTAMZADEH, Ayoob; AHMADI, Reza; HEYDARI, Mahdi; RAOOFI, Amir. Effects of nitric oxide on reproductive organs and related physiological processes. **Asian Pacific Journal of Reproduction**, vol. 9, no. 4, p. 159, 2020. <https://doi.org/10.4103/2305-0500.288583>.

ROVANI, Bruno Tomazele; RISSI, Vitor Braga; ROVANI, Monique Tomazele; GASPERIN, Bernardo Garziera; BAUMHARDT, Tadeu; BORDIGNON, Vilceu; BAUERMANN, Liliane de Freitas; MISSIO, Daniele; GONÇALVES, Paulo Bayard Dias. Analysis of nuclear maturation, DNA damage and repair gene expression of bovine oocyte and cumulus cells submitted to ionizing radiation. **Animal Reproduction**, vol. 20, no. 2, 2023. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-ar2023-0021>.

ROY, S. C.; ATREJA, S. K. Tyrosine phosphorylation of a 38-kDa capacitation-associated buffalo (*Bubalus bubalis*) sperm protein is induced by L-arginine and regulated through a cAMP/PKA-independent pathway. **International Journal of Andrology**, vol. 31, no. 1, p. 12–24, 9 Feb. 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2007.00745.x>.

RUCKER, Edmund B.; DIERISSEAU, Patricia; WAGNER, Kay-Uwe; GARRETT, Lisa; WYNshaw-BORIS, Anthony; FLAWS, Jodi A.; HENNIGHAUSEN, Lothar. Bcl-x and Bax Regulate Mouse Primordial Germ Cell Survival and Apoptosis during Embryogenesis. **Molecular Endocrinology**, vol. 14, no. 7, p. 1038–1052, 1 Jul. 2000. <https://doi.org/10.1210/mend.14.7.0465>.

RUIZ DE CHÁVEZ, Julio Agustín; GUZMÁN, Adrian; ZAMORA-GUTIÉRREZ, Diana; MENDOZA, Germán David; MELGOZA, Luz María; MONTES, Sergio; ROSALES-TORRES, Ana María. Supplementation with rumen-protected L-arginine-HCl increased fertility in sheep with synchronized

estrus. **Tropical Animal Health and Production**, vol. 47, no. 6, p. 1067–1073, 20 Aug. 2015. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0833-4>.

RUIZ-HERRERA, Aurora; GARCIA, Francisca; GARCIA-CALDÉS, Montserrat. Radiobiology and Reproduction—What Can We Learn from Mammalian Females? **Genes**, vol. 3, no. 3, p. 521–544, 27 Aug. 2012. <https://doi.org/10.3390/genes3030521>.

SALIMOV, Daniil; LISOVSKAYA, Tatiana; OTSUKI, Junko; GZGZYAN, Alexandre; BOGOLYUBOVA, Irina; BOGOLYUBOV, Dmitry. Chromatin Morphology in Human Germinal Vesicle Oocytes and Their Competence to Mature in Stimulated Cycles. **Cells**, vol. 12, no. 15, p. 1976, 31 Jul. 2023. <https://doi.org/10.3390/cells12151976>.

SANCAR, Aziz; LINDSEY-BOLTZ, Laura A.; ÜNSAL-KAÇMAZ, Keziban; LINN, Stuart. Molecular Mechanisms of Mammalian DNA Repair and the DNA Damage Checkpoints. **Annual Review of Biochemistry**, vol. 73, no. 1, p. 39–85, Jun. 2004. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.73.011303.073723>.

SANTA-CATARINA, Claudete; SILVEIRA, Vanildo; BALBUENA, Tiago S.; VIANA, Ana Maria; ESTELITA, Maria Emilia M.; HANDRO, Walter; FLOH, Eny I. S. IAA, ABA, polyamines and free amino acids associated with zygotic embryo development of *Ocotea catharinensis*. **Plant Growth Regulation**, vol. 49, no. 2–3, p. 237–247, 20 Nov. 2006. <https://doi.org/10.1007/s10725-006-9129-z>.

SANTANA, Priscila P.B.; DA SILVA, Bruno B.; SILVA, Thiago V.G.; COSTA, Nathalia N.; CORDEIRO, Marcela S.; SANTOS, Simone S.D.; OHASHI, Otávio M.; MIRANDA, Moysés S. Addition of L-arginine to the fertilization medium enhances subsequent bovine embryo development rates. **Theriogenology**, vol. 85, no. 6, p. 1132–1138, Apr. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.11.027>.

SAVA, Irina G.; BATTAGLIA, Valentina; ROSSI, Carlo A.; SALVI, Mauro; TONINELLO, Antonio. Free radical scavenging action of the natural polyamine spermine in rat liver mitochondria. **Free Radical Biology and Medicine**, vol. 41, no. 8, p. 1272–1281, Oct. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.07.008>.

SCHMIDT, Harald H.H.W.; WALTER, Ulrich. NO at work. **Cell**, vol. 78, no. 6, p. 919–925, Sep. 1994. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90267-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90267-4).

SCHULTZ, Linda B.; CHEHAB, Nabil H.; MALIKZAY, Asra; HALAZONETIS, Thanos D. P53 Binding Protein 1 (53bp1) Is an Early Participant in the Cellular Response to DNA Double-Strand Breaks. **The Journal of Cell Biology**, vol. 151, no. 7, p. 1381–1390, 25 Dec. 2000. <https://doi.org/10.1083/jcb.151.7.1381>.

SCHWARZ, KRL; PIRES, PRL; DE BEM, THC; ADONA, PR; LEAL, CLV. Consequences of Nitric Oxide Synthase Inhibition During Bovine Oocyte Maturation on Meiosis and Embryo Development. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 45, no. 1, p. 75–80, 20 Feb. 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01242.x>.

SCIORIO, Romualdo; MIRANIAN, Daniel; SMITH, Gary D. Non-invasive oocyte quality assessment. **Biology of Reproduction**, vol. 106, no. 2, p. 274–290, 22 Feb. 2022. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioac009>.

SEILER, Nikolaus; RAUL, Francis. Polyamines and apoptosis. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, vol. 9, no. 3, p. 623–642, Jul. 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2005.tb00493.x>.

SEKI, Misato; TAKEUCHI, Eisaku; FUKUI, Emiko; MATSUMOTO, Hiromichi. Upregulation of iNOS and phosphorylated eNOS in the implantation-induced blastocysts of mice. **Reproductive Medicine and Biology**, vol. 22, no. 1, 11 Jan. 2023. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12545>.

SENGOKU, K; TAKUMA, N; HORIKAWA, M; TSUCHIYA, K; KOMORI, H; SHARIFA, D; TAMATE, K; ISHIKAWA, M. Requirement of nitric oxide for murine oocyte maturation, embryo development, and trophoblast outgrowth in vitro. **Molecular reproduction and development**, vol. 58, no. 3, p. 262–8, Mar. 2001. [https://doi.org/10.1002/1098-2795\(200103\)58:3<262::AID-MRD3>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1098-2795(200103)58:3<262::AID-MRD3>3.0.CO;2-8).

SHI, Chennan; YAN, Zhengjie; ZHANG, Yuexin; QIN, Lianju; WU, Wei; GAO, Chao; GAO, Li; LIU, Jiayin; CUI, Yugui. Effects of putrescine on the quality and epigenetic modification of mouse oocytes during. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 34, no. 15, p. 957–970, 29 Aug. 2022. <https://doi.org/10.1071/RD22064>.

SHI, Chennan; ZHANG, Jingyi; YAN, Zhengjie; GAO, Li; GAO, Chao; WU, Wei; LIU, Jiayin; CUI, Yugui. Epigenetic effect of putrescine supplementation during in vitro maturation of oocytes on offspring in mice. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 39, no. 3, p. 681–694, 7 Mar. 2022a. <https://doi.org/10.1007/s10815-022-02448-6>.

SHI, Chennan; ZHANG, Jingyi; YAN, Zhengjie; GAO, Li; GAO, Chao; WU, Wei; LIU, Jiayin; CUI, Yugui. Epigenetic effect of putrescine supplementation during in vitro maturation of oocytes on offspring in mice. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 39, no. 3, p. 681–694, 7 Mar. 2022b. <https://doi.org/10.1007/s10815-022-02448-6>.

SHUHAIBAR, Leia C.; EGBERT, Jeremy R.; NORRIS, Rachael P.; LAMPE, Paul D.; NIKOLAEV, Viacheslav O.; THUNEMANN, Martin; WEN, Lai; FEIL, Robert; JAFFE, Laurinda A. Intercellular signaling via cyclic GMP diffusion through gap junctions restarts meiosis in mouse ovarian follicles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 112, no. 17, p. 5527–5532, 28 Apr. 2015. <https://doi.org/10.1073/pnas.1423598112>.

SIRARD, M. A.; FLORMAN, H. M.; LEIBFRIED-RUTLEDGE, M. L.; BARNES, F. L.; SIMS, M. L.; FIRST, N. L. Timing of Nuclear Progression and Protein Synthesis Necessary for Meiotic Maturation of Bovine Oocytes1. **Biology of Reproduction**, vol. 40, no. 6, p. 1257–1263, 1 Jun. 1989. <https://doi.org/10.1095/biolreprod40.6.1257>.

SIRARD, M. A.; PARRISH, J. J.; WARE, C. B.; LEIBFRIED-RUTLEDGE, M. L.; FIRST, N. L. The Culture of Bovine Oocytes to Obtain Developmentally Competent Embryos1. **Biology of Reproduction**, vol. 39, no. 3, p. 546–552, 1 Oct. 1988. <https://doi.org/10.1095/biolreprod39.3.546>.

SIRARD, M.A. Resumption of meiosis: mechanism involved in meiotic progression and its relation with developmental competence. **Theriogenology**, vol. 55, no. 6, p. 1241–1254, Apr. 2001. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00480-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00480-0).

SIRARD, Marc-André. Folliculogenesis and acquisition of oocyte competence in cows. **Animal Reproduction**, vol. 16, no. 3, p. 449–454, 2019. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0038>.

SIRARD, Marc-André; RICHARD, François; BLONDIN, Patrick; ROBERT, Claude. Contribution of the oocyte to embryo quality. **Theriogenology**, vol. 65, no. 1, p. 126–136, Jan. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.020>.

STAIKU, Florentin-Daniel; CANHA-GOUVEIA, Analuce; SORIANO-ÚBEDA, Cristina; MARTÍNEZ-SOTO, Juan Carlos; ADOAMNEI, Evdochia; CHAVARRO, Jorge E.; MATÁS, Carmen. Nitrite and Nitrate Levels in Follicular Fluid From Human Oocyte Donors Are Related to Ovarian Response and Embryo Quality. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, vol. 9, 14 Apr. 2021. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.647002>.

STRINGER, Jessica M.; WINSHIP, Amy; LIEW, Seng H.; HUTT, Karla. The capacity of oocytes for DNA repair. **Cellular and Molecular Life Sciences**, vol. 75, no. 15, p. 2777–2792, 10 Aug. 2018. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2833-9>.

SU, You-Qiang; SUGIURA, Koji; EPPIG, John. Mouse Oocyte Control of Granulosa Cell Development and Function: Paracrine Regulation of Cumulus Cell Metabolism. **Seminars in Reproductive Medicine**, vol. 27, no. 01, p. 032–042, 5 Jan. 2009. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1108008>.

SUDHAKARAN, Sam; UPPANGALA, Shubhashree; SALIAN, Sujith Raj; HONGUNTIKAR, Sachin D.; NAIR, Ramya; KALTHUR, Guruprasad; ADIGA, Satish Kumar. Oocytes recovered after ovarian tissue slow freezing have impaired H2AX phosphorylation and functional competence. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 27, no. 8, p. 1242, 2015. <https://doi.org/10.1071/RD14048>.

SUGIMURA, Satoshi; YAMANOUCHI, Tadayuki; PALMERINI, Maria Grazia; HASHIYADA, Yutaka; IMAI, Kei; GILCHRIST, Robert B. Effect of pre-*in vitro* maturation with cAMP modulators on the acquisition of oocyte developmental competence in cattle. **Journal of Reproduction and Development**, vol. 64, no. 3, p. 233–241, 2018. <https://doi.org/10.1262/jrd.2018-009>.

SUN, Qing-Yuan; MIAO, Yi-Liang; SCHATTEN, Heide. Towards a new understanding on the regulation of mammalian oocyte meiosis resumption. **Cell Cycle**, vol. 8, no. 17, p. 2741–2747, 28 Sep. 2009. <https://doi.org/10.4161/cc.8.17.9471>.

SUNKARA, Prasad S.; WRIGHT, David A.; NISHIOKA, Kenji. An essential role for putrescine biosynthesis during meiotic maturation of amphibian oocytes. **Developmental Biology**, vol. 87, no. 2, p. 351–355, Oct. 1981. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(81\)90158-5](https://doi.org/10.1016/0012-1606(81)90158-5).

SUTTON, M.L. Effects of in-vivo and in-vitro environments on the metabolism of the cumulus-oocyte complex and its influence on oocyte developmental capacity. **Human Reproduction Update**, vol. 9, no. 1, p. 35–48, 1 Jan. 2003. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmg009>.

TABOR, HERBERT; TABOR, CELIA W. SPERMIDINE, SPERMINE, AND RELATED AMINES. **Pharmacological Reviews**, vol. 16, no. 3, p. 245, 1 Sep. 1964. Available at: <http://pharmrev.aspetjournals.org/content/16/3/245.abstract>.

TAKESUE, Katsuhisa; TABATA, Shoji; SATO, Fuminori; HATTORI, Masa-aki. Expression of Nitric Oxide Synthase-3 in Porcine Oocytes Obtained at Different Follicular Development. **Journal of Reproduction and Development**, vol. 49, no. 2, p. 135–140, 2003. <https://doi.org/10.1262/jrd.49.135>.

TAO, Yong; FU, Zhuo; ZHANG, Meijia; XIA, Guoliang; YANG, Jie; XIE, Huirong. Immunohistochemical localization of inducible and endothelial nitric oxide synthase in porcine ovaries

and effects of NO on antrum formation and oocyte meiotic maturation. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 222, no. 1–2, p. 93–103, Jul. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2004.04.014>.

TAO, Yong; LIU, Dandan; MO, Guolong; WANG, Hongmei; LIU, X. John . Peri-ovulatory putrescine supplementation reduces embryo resorption in older mice. **Human Reproduction**, vol. 30, no. 8, p. 1867–1875, Aug. 2015. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev130>.

TAO, Yong; LIU, X. John . Deficiency of ovarian ornithine decarboxylase contributes to aging-related egg aneuploidy in mice. **Aging Cell**, vol. 12, no. 1, p. 42–49, Feb. 2013. <https://doi.org/10.1111/accel.12016>.

TAO, Yong; XIE, Huirong; HONG, Haiyan; CHEN, Xiufen; JANG, Jie; XIA, Guoliang. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on porcine oocyte meiotic maturation. **Zygote**, vol. 13, no. 1, p. 1–9, 19 Feb. 2005. <https://doi.org/10.1017/S0967199404002953>.

TARAZONA, AM; RODRÍGUEZ, JI; RESTREPO, LF; OLIVERA-ANGEL, M. Mitochondrial Activity, Distribution and Segregation in Bovine Oocytes and in Embryos Produced *in Vitro*. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 41, no. 1, p. 5–11, 12 Feb. 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00615.x>.

TARBASHEVICH, Katsiaryna; ERMLICH, Laura; WEGNER, Julian; PFEIFFER, Jana; RAZ, Erez. The mitochondrial protein Sod2 is important for the migration, maintenance, and fitness of germ cells. **Frontiers in cell and developmental biology**, vol. 11, p. 1250643, 2023. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1250643>.

TAUGOURDEAU, A.; DESQUIRET-DUMAS, V.; HAMEL, J. F.; CHUPIN, S.; BOUCRET, L.; FERR -L'HOTELLIER, V.; BOUET, P. E.; DESCAMPS, P.; PROCACCIO, V.; REYNIER, P.; MAY-PANLOUP, P. The mitochondrial DNA content of cumulus cells may help predict embryo implantation. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 36, no. 2, p. 223–228, 25 Feb. 2019. <https://doi.org/10.1007/s10815-018-1348-5>.

TESFAYE, D; KADANGA, A; RINGS, F; BAUCH, K; JENNEN, D; NGANVONGPANIT, K; H LKER, M; THOLEN, E; PONSUKSILI, S; WIMMERS, K; MONTAG, M; GILLES, M; KIRFEL, G; HERZOG, V; SCHELLANDER, K. The Effect of Nitric Oxide Inhibition and Temporal Expression Patterns of the mRNA and Protein Products of Nitric Oxide Synthase Genes During *In Vitro* Development of Bovine Pre-implantation Embryos. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 41, no. 6, p. 501–509, 15 Dec. 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00701.x>.

THOMAS, Douglas D.; RIDNNOUR, Lisa; DONZELLI, S nia; ESPEY, Michael Graham; MANCARDI, Daniele; ISENBERG, Jeffery S.; FEELISCH, Martin; ROBERTS, David D.; WINK, David A. The chemistry of protein modifications elicited by nitric oxide and related nitrogen oxides. *In: DALLE-DONNE, Isabella; SCALONI; ANDREA; BUTTERFIELD, Allan (eds.). Redox Proteomics: From Protein Modifications to Cellular Dysfunction and Diseases*. 1st ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2006. vol. 1, p. 25–58.

THOMAS, Douglas D.; RIDNOUR, Lisa A.; ESPEY, Michael Graham; DONZELLI, Sonia; AMBS, Stefan; HUSSAIN, S. Perwez; HARRIS, Curtis C.; DEGRAFF, William; ROBERTS, David D.; MITCHELL, James B.; WINK, David A. Superoxide Fluxes Limit Nitric Oxide-induced Signaling. **Journal of Biological Chemistry**, vol. 281, no. 36, p. 25984–25993, Sep. 2006. <https://doi.org/10.1074/jbc.M602242200>.

THOMAS, Rebecca E.; ARMSTRONG, David T.; GILCHRIST, Robert B. Bovine Cumulus Cell-Oocyte Gap Junctional Communication During In Vitro Maturation in Response to Manipulation of Cell-Specific Cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate Levels1. **Biology of Reproduction**, vol. 70, no. 3, p. 548–556, 1 Mar. 2004. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.021204>.

TIAN, Ye; HENG, Dai; XU, Kaili; LIU, Wenbo; WENG, Xuechun; HU, Xusong; ZHANG, Cheng. cGMP/PKG-I Pathway–Mediated GLUT1/4 Regulation by NO in Female Rat Granulosa Cells. **Endocrinology**, vol. 159, no. 2, p. 1147–1158, 1 Feb. 2018. <https://doi.org/10.1210/en.2017-00863>.

TIBURCIO, Antonio F.; ALTABELLA, Teresa; BITRIÁN, Marta; ALCÁZAR, Rubén. The roles of polyamines during the lifespan of plants: from development to stress. **Planta**, vol. 240, no. 1, p. 1–18, 23 Jul. 2014. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2055-9>.

TIMLIN, Claire L.; LYNN, Alexa; WOOLDRIDGE, Lydia K.; UH, Kyungjun; EALY, Alan D.; WHITE, Robin R.; LEE, Kiho; MERCADANTE, Vitor R.G. Physical parameters of bovine activated oocytes and zygotes as predictors of development success. **Zygote**, vol. 29, no. 5, p. 358–364, 19 Oct. 2021. <https://doi.org/10.1017/S0967199421000058>.

TORRES, Natália Ferreira. **Participação do sistema óxido nítrico sintase induzível/óxido nítrico na maturação de oócitos bovinos**. 2015. 1–80 f. Dissertação – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2015.

TOSTI, Elisabetta; BONI, Raffaele; CUOMO, Annunziata. Ca²⁺ current activity decreases during meiotic progression in bovine oocytes. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, vol. 279, no. 6, p. C1795–C1800, 1 Dec. 2000. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2000.279.6.C1795>.

TRANGUCH, Susanne; STEUERWALD, Nury; HUET-HUDSON, Yvette M. Nitric Oxide Synthase Production and Nitric Oxide Regulation of Preimplantation Embryo Development. **Biology of Reproduction**, vol. 68, no. 5, p. 1538–1544, 1 May 2003. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.009282>.

TREMBLAY, Karine; VIGNEAULT, Christian; MCGRAW, Serge; SIRARD, Marc-André. Expression of Cyclin B1 Messenger RNA Isoforms and Initiation of Cytoplasmic Polyadenylation in the Bovine Oocyte1. **Biology of Reproduction**, vol. 72, no. 4, p. 1037–1044, 1 Apr. 2005. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.034793>.

TRENNER, Anika; SARTORI, Alessandro A. Harnessing DNA Double-Strand Break Repair for Cancer Treatment. **Frontiers in Oncology**, vol. 9, 10 Dec. 2019. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01388>.

TRIPATHI, Anima; KHATUN, Sabana; PANDEY, A.N.; MISHRA, S.K.; CHAUBE, Radha; SHRIVASTAV, T.G.; CHAUBE, S.K. Intracellular levels of hydrogen peroxide and nitric oxide in oocytes at various stages of meiotic cell cycle and apoptosis. **Free Radical Research**, vol. 43, no. 3, p. 287–294, 7 Jan. 2009. <https://doi.org/10.1080/10715760802695985>.

TUKUR, Hamed A.; ALJUMAAH, Riyadh S.; SWELUM, Ayman Abdel-Aziz; ALOWAIMER, Abdullah N.; SAADELDIN, Islam M. The Making of a Competent Oocyte – A Review of Oocyte Development and Its Regulation. **Journal of Animal Reproduction and Biotechnology**, vol. 35, no. 1, p. 2–11, 31 Mar. 2020. <https://doi.org/10.12750/JARB.35.1.2>.

TURATHUM, Bongkoch; GAO, Er-Meng; CHIAN, Ri-Cheng. The Function of Cumulus Cells in Oocyte Growth and Maturation and in Subsequent Ovulation and Fertilization. **Cells**, vol. 10, no. 9, p. 2292, 2 Sep. 2021. <https://doi.org/10.3390/cells10092292>.

VAN VOORHIS, B J; MOORE, K; STRIJOS, P J; NELSON, S; BAYLIS, S A; GRZYBICKI, D; WEINER, C P. Expression and localization of inducible and endothelial nitric oxide synthase in the rat ovary. Effects of gonadotropin stimulation in vivo. **Journal of Clinical Investigation**, vol. 96, no. 6, p. 2719–2726, 1 Dec. 1995. <https://doi.org/10.1172/JCI118339>.

VANDAELE, L.; GOOSSENS, K.; PEELMAN, L.; VAN SOOM, A. mRNA expression of Bcl-2, Bax, caspase-3 and -7 cannot be used as a marker for apoptosis in bovine blastocysts. **Animal Reproduction Science**, vol. 106, no. 1–2, p. 168–173, Jun. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.12.016>.

VANDERSICKEL, Veerle; MANCINI, Monica; SLABBERT, Jacobus; MARRAS, Emanuela; THIERENS, Hubert; PERLETTI, Gianpaolo; VRAL, Anne. The radiosensitizing effect of Ku70/80 knockdown in MCF10A cells irradiated with X-rays and p(66)+Be(40) neutrons. **Radiation Oncology**, vol. 5, no. 1, p. 30, 27 Dec. 2010. <https://doi.org/10.1186/1748-717X-5-30>.

VIANA, Kelen Salaroli; CALDAS-BUSSIÈRE, Maria Clara; CARVALHO, Carla Sobrinho Paes de; DIAS, Bruna Lomba; LANES, Verônica R.; QUIRINO, Celia Raquel. Efeito de diferentes formas de cultivo na ação do óxido nítrico na maturação e na integridade da membrana plasmática de complexos cumulus-oócito em bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, vol. 48, no. 2, p. 147, 1 Apr. 2011. <https://doi.org/10.11606/S1413-95962011000200007>.

VIANA, K.S.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; MATTA, S.G.C.; FAES, M.R.; PAES DE CARVALHO, C.S.; QUIRINO, C.R. Effect of sodium nitroprusside, a nitric oxide donor, on the in vitro maturation of bovine oocytes. **Animal Reproduction Science**, vol. 102, no. 3–4, p. 217–227, Dec. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.11.004>.

VINING, Lucy May; ZAK, Louisa J; HARVEY, Simon Crawford; HARVEY, Katie Evelyn. The role of apoptosis in cryopreserved animal oocytes and embryos. **Theriogenology**, vol. 173, p. 93–101, Oct. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.07.017>.

VIVEIROS, Maria M.; DE LA FUENTE, Rabindranath. Regulation of Mammalian Oocyte Maturation. **The Ovary**. [S. l.]: Elsevier, 2019. p. 165–180. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813209-8.00011-X>.

VOSS, Anne K; STRASSER, Andreas. The essentials of developmental apoptosis. **F1000Research**, vol. 9, 2020. <https://doi.org/10.12688/f1000research.21571.1>.

VUJCIC, Slavoljub; LIANG, Ping; DIEGELMAN, Paula; KRAMER, Debora L.; PORTER, Carl W. Genomic identification and biochemical characterization of the mammalian polyamine oxidase involved in polyamine back-conversion. **Biochemical Journal**, vol. 370, no. 1, p. 19–28, 15 Feb. 2003. <https://doi.org/10.1042/bj20021779>.

WALLACE, Heather M.; FRASER, Alison V.; HUGHES, Alun. A perspective of polyamine metabolism. **Biochemical Journal**, vol. 376, no. 1, p. 1–14, 15 Nov. 2003. <https://doi.org/10.1042/bj20031327>.

WANG, Jiangtao; HE, Qingliu; YAN, Xingyu; CAI, Youmei; CHEN, Junyi. Effect of exogenous nitric oxide on sperm motility in vitro. **Biological Research**, vol. 47, no. 1, p. 44, 18 Dec. 2014. <https://doi.org/10.1186/0717-6287-47-44>.

WARD, Irene M.; MINN, Kay; VAN DEURSEN, Jan; CHEN, Junjie. p53 Binding Protein 53BP1 Is Required for DNA Damage Responses and Tumor Suppression in Mice. **Molecular and Cellular Biology**, vol. 23, no. 7, p. 2556–2563, 1 Apr. 2003. <https://doi.org/10.1128/MCB.23.7.2556-2563.2003>.

WATSON, A. J. Oocyte cytoplasmic maturation: A key mediator of oocyte and embryo developmental competence1. **Journal of Animal Science**, vol. 85, no. suppl_13, p. E1–E3, 1 Mar. 2007. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-432>.

WECKMAN, Andrea M; MCDONALD, Chloe R; BAXTER, Jo-Anna B; FAWZI, Wafaie W; CONROY, Andrea L; KAIN, Kevin C. Perspective: L-arginine and L-citrulline Supplementation in Pregnancy: A Potential Strategy to Improve Birth Outcomes in Low-Resource Settings. **Advances in Nutrition**, vol. 10, no. 5, p. 765–777, Sep. 2019. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz015>.

WINTERHAGER, Elke; KIDDER, Gerald M. Gap junction connexins in female reproductive organs: implications for women's reproductive health. **Human Reproduction Update**, vol. 21, no. 3, p. 340–352, 1 May 2015. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv007>.

WU, G.; BAZER, F. W.; DATTA, S.; JOHNSON, G. A.; LI, P.; SATTERFIELD, M. C.; SPENCER, T. E. Proline metabolism in the conceptus: implications for fetal growth and development. **Amino Acids**, vol. 35, no. 4, p. 691–702, 11 Nov. 2008. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0052-7>.

WU, Guoyao; BAZER, Fuller W.; DAVIS, Teresa A.; KIM, Sung Woo; LI, Peng; MARC RHOADS, J.; CAREY SATTERFIELD, M.; SMITH, Stephen B.; SPENCER, Thomas E.; YIN, Yulong. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. **Amino Acids**, vol. 37, no. 1, p. 153–168, 23 May 2009. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0210-y>.

WU, Guoyao; BAZER, Fuller W.; SATTERFIELD, M. Carey; LI, Xilong; WANG, Xiaoqi; JOHNSON, Gregory A.; BURGHARDT, Robert C.; DAI, Zhaolai; WANG, Junjun; WU, Zhenlong. Impacts of arginine nutrition on embryonic and fetal development in mammals. **Amino Acids**, vol. 45, no. 2, p. 241–256, 4 Aug. 2013. <https://doi.org/10.1007/s00726-013-1515-z>.

WU, Guoyao; MEININGER, Cynthia J. R. REGULATION OF NITRIC OXIDE SYNTHESIS BY DIETARY FACTORS. **Annual Review of Nutrition**, vol. 22, no. 1, p. 61–86, Jul. 2002. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.22.110901.145329>.

WU, Guoyao; MORRIS, Sidney M. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. **Biochemical Journal**, vol. 336, no. 1, p. 1–17, 15 Nov. 1998. <https://doi.org/10.1042/bj3360001>.

WU, X.; YIN, Y.L.; LIU, Y.Q.; LIU, X.D.; LIU, Z.Q.; LI, T.J.; HUANG, R.L.; RUAN, Z.; DENG, Z.Y. Effect of dietary arginine and N-carbamoylglutamate supplementation on reproduction and gene expression of eNOS, VEGFA and PIGF1 in placenta in late pregnancy of sows. **Animal Reproduction Science**, vol. 132, no. 3–4, p. 187–192, Jun. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.05.002>.

YAMADA, Masayasu; ISAJI, Yuuki. Structural and functional changes linked to, and factors promoting, cytoplasmic maturation in mammalian oocytes. **Reproductive Medicine and Biology**, vol. 10, no. 2, p. 69–79, 17 Jun. 2011. <https://doi.org/10.1007/s12522-011-0079-4>.

YANG, Ming Yuan; RAJAMAHENDRAN, Rajadurai. Expression of Bcl-2 and Bax proteins in relation to quality of bovine oocytes and embryos produced in vitro. **Animal Reproduction Science**, vol. 70, no. 3–4, p. 159–169, Apr. 2002. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(01\)00186-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00186-5).

YANG, Shen-Hsi; KALKAN, Tüzer; MORISSROE, Claire; MARKS, Hendrik; STUNNENBERG, Hendrik; SMITH, Austin; SHARROCKS, Andrew D. Otx2 and Oct4 Drive Early Enhancer Activation during Embryonic Stem Cell Transition from Naive Pluripotency. **Cell Reports**, vol. 7, no. 6, p. 1968–1981, Jun. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.05.037>.

ZAIDI, Syed Kashif; SHEN, Wen-Jun; CORTEZ, Yuan; BITTNER, Stefanie; BITTNER, Alex; ARSHAD, Sara; HUANG, Ting-Ting; KRAEMER, Fredric B.; AZHAR, Salman. SOD2 deficiency-induced oxidative stress attenuates steroidogenesis in mouse ovarian granulosa cells. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 519, p. 110888, Jan. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110888>.

ZAMBERLAM, Gustavo; PORTELA, Valério; DE OLIVEIRA, João Francisco C.; GONÇALVES, Paulo B.D.; PRICE, Christopher A. Regulation of inducible nitric oxide synthase expression in bovine ovarian granulosa cells. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 335, no. 2, p. 189–194, Mar. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.01.013>.

ZENG, Xiangfang; WANG, Fenglai; FAN, Xia; YANG, Wenjun; ZHOU, Bo; LI, Pengfei; YIN, Yulong; WU, Guoyao; WANG, Junjun. Dietary Arginine Supplementation during Early Pregnancy Enhances Embryonic Survival in Rats. **The Journal of Nutrition**, vol. 138, no. 8, p. 1421–1425, Aug. 2008. <https://doi.org/10.1093/jn/138.8.1421>.

ZHANG, Qing; REN, Jun; WANG, Fangfang; PAN, Manman; CUI, Long; LI, Mingqian; QU, Fan. Mitochondrial and glucose metabolic dysfunctions in granulosa cells induce impaired oocytes of polycystic ovary syndrome through Sirtuin 3. **Free Radical Biology and Medicine**, vol. 187, p. 1–16, Jul. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.05.010>.

ZHANG, Yu; BAI, Jie; CUI, Zhaokang; LI, Yu; GAO, Qian; MIAO, Yilong; XIONG, Bo. Polyamine metabolite spermidine rejuvenates oocyte quality by enhancing mitophagy during female reproductive aging. **Nature Aging**, vol. 3, no. 11, p. 1372–1386, 16 Oct. 2023. <https://doi.org/10.1038/s43587-023-00498-8>.

ZHOU, Yong; MA, Chunqi; KARMOUCH, Jennifer; KATBI, Hadia Arabi; LIU, X. Johné. Antiapoptotic Role for Ornithine Decarboxylase during Oocyte Maturation. **Molecular and Cellular Biology**, vol. 29, no. 7, p. 1786–1795, 1 Apr. 2009. <https://doi.org/10.1128/MCB.01815-08>.

ZIMMERMAN, David L.; BODDY, Craig S.; SCHOENHERR, Christopher S. Oct4/Sox2 Binding Sites Contribute to Maintaining Hypomethylation of the Maternal Igf2/H19 Imprinting Control Region. **PLoS ONE**, vol. 8, no. 12, p. e81962, 6 Dec. 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081962>.

5. Artigo 1: Artigo original assegurando as normas da revista *Theriogenology*, ISSN: 0093-691, qualificada como A1 pelo QUALIS – CAPES.

A L-arginina aumenta a atividade das junções GAP e potencial de membrana mitocondrial de oócitos bovinos maturados *in vitro* em meio de cultivo convencional e melhora a produção e qualidade de blastocistos bovinos

Resumo

A L-arginina (L-arg) é o aminoácido precursor de óxido nítrico (NO), radical livre com importantes funções descritas na reprodução. Objetivou-se avaliar o efeito dose-resposta da suplementação com diferentes concentrações de L-arg (0,625; 1,25; 2,5; 5,0 e 10 mMol) na MIV de complexos *cumulus*-oócitos (CCOs) de bovinos obtidos de abatedouro. A taxa de maturação foi avaliada por coloração com orceína acética. A integridade de membrana das células do *cumulus* (IMP) foi avaliada por marcação com H33342 e iodeto de propídio. O pH do meio foi mensurado utilizando tiras comerciais. A dosagem de nitrito total foi realizada por meio do método colorimétrico de Griess. A atividade de junções GAP e potencial de membrana mitocondrial (MMP) foram determinados por marcação com calceína e JC-1, respectivamente. As taxas de clivagem, blastocisto e eclosão foram avaliadas nos dias 2, 7 e 9 do cultivo, respectivamente. A análise dos transcritos relativos (BAX, Bcl2, AREG, OCT4, SOD2 E iNOS) foram avaliadas por qPCR. A morfometria dos oócitos foi mensurada com auxílio do programa PrimeCam. Concentrações de 5,0 e 10 mMol apresentaram efeitos deletérios à MIV e foram retiradas das etapas seguintes ($p < 0,05$). Concentrações de 1,25 mMol e 2,5 mMol de L-arg apresentou maior tempo de permanência de junções GAP ($p < 0,05$). 2,5 mMol apresentou maior MMP ($p < 0,05$). 0,625 mMol apresentou menor taxa de clivagem ($p < 0,05$). 2,5 mMol apresentou maior taxa de blastocisto e eclosão ($p < 0,05$). Não houve transcrição para Bcl2 e AREG. BAX e SOD2 apresentaram maior expressão em GC quando comparado à 2,5 mMol. Não houve diferença para expressão de OCT4. O GC apresentou maior expressão de iNOS. A suplementação com 2,5 mMol aumentou o diâmetro e área da vesícula germinativa ($p < 0,05$). Conclui-se que a suplementação com 2,5 mMol de L-arg melhora a qualidade de oócitos bovinos MIV, contribuindo para produção de embriões em maior quantidade e qualidade.

Palavras-chave: óxido nítrico; produção *in vitro* de embriões; maturação citoplasmática.

1. Introdução

O processo de maturação dos oócitos é um dos eventos mais impactantes na produção *in vitro* de embriões (PIVE), sendo por meio deste evento que os oócitos tornam-se células competentes para serem fecundadas (PAN; LI, 2019). Ainda durante a vida fetal, os oócitos iniciam a meiose, porém ficam presos no estágio de vesícula germinativa (VG) até que recebam estímulos para a retomada da meiose e posterior ovulação ou atresia (LONERGAN; FAIR, 2016). Com a retomada da meiose e progressão do processo de maturação, estes oócitos

alcançam a metáfase II (M II), que é caracterizada pela extrusão do primeiro corpúsculo polar, permanecendo nessa fase até a sua fertilização (HOLT; JONES, 2009).

Diversas tentativas para melhorar as condições de maturação *in vitro* (MIV) de oócitos vem sendo estudadas (TUKUR *et al.*, 2020). Substâncias que estão presentes nos tecidos reprodutivos e no fluido folicular *in vivo* e com funções reconhecidas na reprodução vem sendo acrescentadas ao meio de MIV para otimizar os resultados (DARMANI; ELBETIEHA; BASHIR, 2019).

Os efeitos do óxido nítrico (NO) vêm sendo estudados no processo de MIV (BU *et al.*, 2003; DARMANI; ELBETIEHA; BASHIR, 2019; DUBEIBE *et al.*, 2013, 2017; VIANA, Kelen Salaroli *et al.*, 2011; VIANA, K.S. *et al.*, 2007). O NO é produzido principalmente pela atividade da enzima óxido nítrico sintase (NOS), que catalisa a reação que converte o aminoácido L-arginina (L-arg) em L-citrulina e NO (IGNARRO, 2000; NATHAN; XIE, 1994), estando envolvido em vários eventos que afetam a MIV dos oócitos bovinos (MATTA *et al.*, 2009; TRIPATHI *et al.*, 2009; VIANA, K.S. *et al.*, 2007). Em concentrações adequadas, o NO melhora a integridade da membrana plasmática das células da granulosa (FAES *et al.*, 2009), células do *cumulus* (MATTA *et al.*, 2009; VIANA, Kelen Salaroli *et al.*, 2011) e oócitos (VIANA, Kelen Salaroli *et al.*, 2011), na migração dos grânulos corticais (MATTA *et al.*, 2009), além de participar da regulação da atividade esteroideogênica das células foliculares (FAES *et al.*, 2009) e alterar o perfil dos nucleotídeos durante a retomada da meiose (TORRES, 2015).

A L-arg é um aminoácido semi-essencial, precursor de importantes metabólitos, como o óxido nítrico e poliaminas, participando da síntese de proteínas, ureia, creatina, agmatina e L-ornitina (AURICH *et al.*, 2019). A disponibilidade de L-arg para a síntese de NO no meio usado para cultivar células é um dos pontos principais no controle da síntese de NO *in vitro* (IGNARRO, 2000; LEAL *et al.*, 2009).

A maioria dos estudos utiliza doadores de NO (SCHWARZ *et al.*, 2010; VIANA, K.S. *et al.*, 2007) para avaliar seu papel na MIV. No entanto, a suplementação do meio com L-arg em vez de doadores de NO pode ter a vantagem de melhor controlar a quantidade de NO sintetizado pelas células em cultura (IGNARRO, 2000). Estudos contendo L-arg em diferentes concentrações no meio de MIV foram conduzidos por Dubeibe *et al.* (2013) (DUBEIBE *et al.*, 2013). No entanto, no referido estudo, a L-arg foi utilizada na presença de hemisseções da parede folicular, o que ocasionou uma inibição parcial da retomada da meiose, o que não ocorre quando CCOs são cultivados em sistemas convencionais de maturação. Além disso, a

suplementação com L-arg pode estar atuando em outras vias, como a via das poliaminas, via da uréia ou, até mesmo, como aminoácido estrutural (IGNARRO, 2000).

Assim, a manutenção das concentrações de NO numa determinada faixa de concentração, garante tanto ao oócito (MATTA *et al.*, 2009) e as células da granulosa (FAES *et al.*, 2009) a manutenção de sua viabilidade.

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o papel da L-arg na MIV de complexos *cumulus*-oócitos (CCOs) bovinos, visando proporcionar melhores condições de maturação aos oócitos, otimizando os resultados na PIVE bovina.

2. Material e Métodos

2.1. Delineamento experimental:

2.1.1 Experimento I: Efeito dose-resposta da L-arg na maturação in vitro de oócitos bovinos

A fim de avaliar o efeito dose-resposta da L-arg durante a MIV e determinar a(s) concentração(ões), diferentes concentrações de L-arg (0,625; 1,25; 2,5; 5,0 e 10,0 mMol) foram adicionadas ao meio verificando sua ação sob a taxa de maturação, integridade de membrana das células do *cumulus* e pH do meio. O experimento foi composto por 6 grupos (um grupo para cada concentração de L-arg, mais um grupo controle), sendo que cada grupo foi composto por 30 COCs distribuídos aleatoriamente, em seis repetições (n=360).

Após transcorridas 22 hrs de MIV, o meio utilizado na realização dos testes descritos acima foi utilizado para dosagem de nitrito total como indicador indireto da concentração de NO.

2.1.2 Experimento II: Efeito da L-arg na maturação citoplasmática de oócitos bovinos e produção de embriões in vitro

Ao final do experimento I, as concentrações de 5,0 e 10 mMol de L-arg apresentaram efeitos deletérios sob a MIV, sendo retiradas das etapas seguintes.

Nesta etapa foi realizada a avaliação da atividade das junções GAP através da marcação com calceína-AM e do potencial de membrana mitocondrial, através da marcação por JC-1. Os grupos foram compostos por 30 CCOs distribuídos aleatoriamente, em 6 repetições (n=300). Além dos grupos GC, 0,625; 1,25 e 2,5 mMol, nesta etapa contou-se ainda com um grupo controle negativo (GC-), composto por oócitos cultivados na presença de carbenoloxona e por

oócitos imaturos, respectivamente. Com o intuito de avaliar os efeitos da L-arg na produção *in vitro* de embriões, foi realizada fertilização *in vitro* e cultivo *in vitro* de oócitos maturados em diferentes concentrações de L-arg (0,625; 1,25 e 2,5 mMol), além do GC. Cada grupo foi composto por 30 CCOs em 6 repetições (n=240).

A fim de avaliar a participação da L-arg na expressão de genes relacionados à qualidade embrionária, a análise de transcritos para BAX, Bcl2, OCT4, AREG, SOD2 e iNOS foram avaliadas em embriões em estágio de blastocisto expandido, sendo que cada amostra foi composta por 3 embriões e as análises foram feitas em triplicatas (n=36).

2.2. Coleta e seleção dos complexos cumulus-oócito

Os ovários foram coletados em abatedouros frigoríficos locais e, imediatamente, transportados para o laboratório em containers com solução salina a 0.9%, estéril, a 38 °C e suplementada com 100 µL de antibiótico (Agrovet® 5.000.000, Elanco, São Paulo, SP, Brasil). No laboratório, foram retirados os tecidos adjacentes aos ovários. Posteriormente, estes foram lavados com solução salina a 0.9% e transferidos para um becker com solução salina a 0.9%, estéril, a 38 °C e suplementada com 100 µL de antibiótico, mantidos a temperatura de 38 °C em banho-maria até o momento da punção.

Para a punção dos folículos ovarianos, foi utilizada uma seringa de 10 mL equipada com agulha 40 × 12. Os CCOs em fluido folicular foram recolhidos em tubo cônico para centrífuga de 50 mL, contendo de 3 a 5 mL de meio de lavagem [meio de cultivo de tecidos (TCM) 199 com HEPES] a 35 °C. Após a decantação dos CCOs, foi feita a seleção e triagem dos mesmos em placa de Petri de 100 mm × 20 mm, quadriculada, sob capela de fluxo laminar horizontal. Os CCOs selecionados [graus I e II, segundo De Loos *et al.* (1989) (DE LOOS *et al.*, 1989a)] foram transferidos para placa de Petri 35 mm x 10 mm com aproximadamente 2 mL de meio de lavagem. Posteriormente, foi feita a lavagem dos oócitos em placa de Petri de 100 mm × 20 mm com 4 a 5 gotas de 150 µL cada com meio de lavagem, sendo a última gota de meio de maturação [TCM 199 sem HEPES suplementado com soro fetal bovino [SFB (Cultilab®, Campinas, SP, Brasil)], hormônio folículo estimulante [FSH (Gonal-F 300 UI®, Merck S.A., Rio de Janeiro, RJ, Brasil)], antibiótico conjugado com antimicótico, piruvato e glutamina].

2.3 Avaliação da maturação nuclear

Após transcorridas 22h de MIV, os oócitos incubados foram retirados da estufa e desnudados por meio de sucessivas pipetagens em solução PP a 1% [solução salina tamponada

de fosfato (PBS) livre de Ca^{+2} e Mg^{+2} + 0,1% de álcool polivinílico (PVA)], colocados entre lâmina e lamínula e fixados em solução etanol-ácido acético (3:1) durante 48 horas para, então, serem corados comorceína acética a 2%. Foi feita a avaliação do estágio de maturação nuclear com auxílio de microscopia ótica (Nikon – Eclipse E200, Melville, NY, USA), sendo os oócitos classificados: em vesícula germinativa (VG), metáfase I (MI) e metáfase II (MII) (BRUNET; MARO, 2005). Após a classificação, foi calculada a taxa de maturação utilizando o número de oócitos em MII em relação ao total de oócitos corados (n=980, sendo controle: n= 180; 0,65 mMol: n=165; 1,25 mMol: n=178; 2,5 mMol: n=158; 5,0 mMol: n=179; 10,0 mMol: n=120).

2.4. Avaliação da integridade da membrana plasmática

Após o desnudamento dos oócitos, o restante da solução foi centrifugada ($2.700 \times g$) por 10 min. O sobrenadante foi retirado e o sedimento (*pellet*) resultante foi ressuspenso em uma solução com os marcadores fluorescentes: hoechst 33342 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e iodeto de propídeo (IP) (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$). As células foram colocadas entre lâmina e lamínula, e levadas ao microscópio de epifluorescência (400x, NIKON – Eclipse TE300, Melville, USA) para contagem (200-250 células de cada tratamento). As células foram classificadas em dois grupos: 1) com membrana plasmática íntegra, emitindo fluorescência azul (marcados com Hoechst) e 2) com membrana plasmática lesada, emitindo fluorescência vermelha (marcados com IP).

O IP se liga ao DNA de células com dano na membrana plasmática e cora o núcleo de vermelho (GRAHAM; KUNZE; HAMMERSTEDT, 1990). O H 33342 consegue atravessar a membrana íntegra das células e cora o DNA de azul (CASEY *et al.*, 1993).

2.5. Mensuração do pH do meio de maturação

O pH do meio foi determinado após transcorridas 22 horas de MIV, imediatamente após a retirada dos oócitos, com o auxílio de tiras comerciais (Merck S.A.®, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) específicas para este fim.

2.6. Mensuração da concentração de nitrito total como indicador da presença de NO

Com o objetivo de avaliar se a adição de L-arginina afeta a produção de NO das células em cultivo, foi realizada a mensuração da concentração de nitrito total como indicador indireto da concentração de NO no meio. O nitrito total corresponde a concentração de nitrato e nitrito, metabólitos estáveis do NO.

Após a aferição do pH, o meio de maturação foi colocado em tubos de microcentrífuga de 1,5 mL e centrifugados a 700 g por 8 min. Após a centrifugação, o sobrenadante foi armazenado a -16 °C até o momento das avaliações.

A concentração de nitrito total no meio de cultivo foi determinada pelo método baseado na reação colorimétrica de Griess, utilizando-se kits comerciais. A curva padrão de NaNO₃ foi diluída em meio de cultivo de tecidos (TCM) 199, variando de 0.5 a 100 µM. A leitura foi feita em espectrofotômetro (leitor de ELISA, Boitek®, Winooski, EUA) a 540 nm. Foi confeccionado um gráfico de dispersão com os valores da absorbância, sendo os resultados expressos em µM/L.

2.7. Avaliação da funcionalidade das junções GAP

Após 4 h de maturação, os CCOs foram transferidos para uma solução de 1 mM de Calceína-AM [Molecular Probes®, Invitrogen, Eugene, OR, EUA, 50 µg diluído em 5 mM de dimetilsulfóxido (DMSO)] + 0,3 mg/mL de PVA por 15 minutos. Após esse período, os CCOs foram transferidos para meio PP a 1% por 25 min. As estruturas foram desnudadas mecanicamente, colocadas em lâmina e avaliadas em microscópio de fluorescência (Nikon – Eclipse 80i, Melville, NY, USA).

A calceína-AM é capaz de chegar ao oócito através das junções GAP (THOMAS, Rebecca E.; ARMSTRONG; GILCHRIST, 2004). No interior do oócito, as esterases removem o radical (AM) da calceína, tornando-a polar e carregada negativamente, impossibilitando a sua passagem de volta para o meio extracelular (NERI *et al.*, 2001).

Os oócitos do GC- foram incubados sob as mesmas condições dos demais grupos, com acréscimo de carbenoxolona (CBX®, bloqueador irreversível das junções GAP) ao meio de MIV na concentração de 243 µM (THOMAS, Rebecca E.; ARMSTRONG; GILCHRIST, 2004).

A atividade das junções GAP foi mensurada com auxílio do programa ImageJ®, quantificando a fluorescência emitida pela calceína presente no citoplasma dos oócitos, onde, quanto maior a presença de calceína, maior a fluorescência emitida.

2.8. Avaliação do potencial de membrana mitocondrial (MMP)

A avaliação do MMP foi realizado conforme descrito por Fujii e Funahashi (2009) (FUJII; FUNAHASHI, 2009), com algumas modificações. Após 22 h de MIV, os oócitos foram desnudados por meio de seguidas pipetagens em meio contendo PP a 1% e diretamente colocados em gotas de 100 µL da solução de JC-1® (Molecular Probes®, Invitrogen, Eugene, OR, EUA) [0,5 µM diluído em dimetilsulfóxido (DMSO)] por 30 min a 37 °C, no escuro. Os oócitos foram lavados em gotas de PBS livre de Ca⁺² e Mg⁺², colocados em lâmina e levados ao microscópio de epifluorescência (Nikon – Eclipse 80i, Melville, NY, USA). O GC- foi composto por oócitos imaturos, sendo avaliados logo após a punção dos folículos ovarianos.

A fluorescência emitida pelas mitocôndrias ativas no citoplasma foi mensurada com o auxílio do programa ImageJ®, sendo realizado uma contagem de pixels da fluorescência emitida pelo oócito, podendo mensurar a intensidade de MMP por meio da fluorescência emitida pelas mesmas, onde, quanto maior a quantidade de pixels detectada, maior a atividade mitocondrial.

2.9. Produção *in vitro* de embriões bovinos

A maturação *in vitro* foi realizada conforme descrito no item 2.4, utilizando-se dos mesmos grupos descritos no item 2.5. O dia da FIV foi considerado o dia 0 (D0) da avaliação dos embriões. Após 22 h de MIV, oócitos maturados foram lavados em 3 gotas de 150 µL de meio Talp-sp [Talp-sp estoque suplementado com BSA (albumina sérica bovina) fração V, piruvato de sódio e antibiótico conjugado com antimicótico] e, depois, em 2 gotas de 150 µL de meio FIV-final (Talp-fec estoque suplementado com BSA livre de ácidos graxos, piruvato de sódio e antibiótico conjugado com antimicótico). Em seguida, foram transferidos para gotas de 75 µL de meio FIV-final sob óleo mineral em placa de Petri 35 mm x 10 mm.

Para inseminação das gotas foi utilizando semên comercial criopreservado (Semex do Brasil®, Bulmenau, Brasil), sendo mantido o mesmo touro durante todo o experimento. O sêmen foi descongelado a 37 °C por 30 seg e submetido ao gradiente de miniPercoll (Percoll 90%/45%) mediante centrifugação a 700 x g por 5 min. O sobrenadante foi descartado, o pellet ressuspenso com 600 µL de FIV-final e, novamente, centrifugado a 300 × g por 1,5 min (AGUIAR *et al.*, 2019). A dose inseminante utilizada foi referente a 2 x 10⁶ espermatozoides/mL. Os espermatozoides foram colocados na gota de FIV juntamente com os CCOs e co-incubados em estufa a 38,5 °C, em atmosfera de 5% de CO₂ por 18 h.

Os prováveis zigotos foram retirados da gota de FIV e lavados em 5 gotas de 150 µL cada de meio SOF [fluido sintético de oviduto (SOF estoque suplementado com SFB, Tri-citrato

de sódio, Myo-inositol, BME essencial AA, MEM non-essencial, penicilina/estreptomicina, piruvato de sódio e glutamina)] para a retirada de células do *cumulus* e espermatozoides. Em seguida, os prováveis zigotos foram transferidos para placas de Petri 35 mm x 10 mm com gotas de 150 µl de meio SOF, cobertas com óleo mineral. A incubação foi feita por 7 dias em estufa a 38,5°C, em atmosfera de 5% de CO₂, 5% de O₂ e 90% de N₂. Foi realizada no dia 2 de cultivo a avaliação da taxa de clivagem, no dia 7 da taxa de blastocisto e no dia 9 a taxa de eclosão.

2.10 Análise dos transcritos relativos

2.10.1 Extração de RNA

As amostras de RNA das amostras de embriões foram extraídas com o RNA MiniPrep Kit (Zymo Research), de acordo com o protocolo do fabricante, sendo que cada amostra foi composta por 3 embriões em estágio de blastocisto eclodido.

2.10.2 Transcrição reversa e PCR quantitativo (RT-qPCR)

O RNA total extraído foi submetido a ensaio de digestão com DNase I (1U) por 10 minutos a 37°C para eliminação de qualquer resquício de DNA genômico nas amostras. Logo em seguida, foi adicionado EDTA (25mM) por 15 minutos a 75°C para a inativação da DNase I. Por fim, foi adicionado 1 µl de OligoDT por 10 minutos a 65°C. A transcrição reversa foi realizada utilizando High Capacity cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystems®) conforme instruções do fabricante. As condições de ciclagem para a transcrição reversa foram: 25°C por 10 minutos, 37°C por 2 horas e 85°C por 5 segundos.

2.10.3 Reação de Cadeia de Polimerase – PCR

Logo após a transcrição reversa foi feito uma PCR para comprovação de que houve a completa conversão de RNA para cDNA, utilizando o gene *housekeeping* β-actina. As amostras de cDNA foram diluídas na proporção 1:15 (v:v) em ddH₂O, sendo utilizados 2 µL de cDNA por reação. A PCR foi realizada em um volume final de 10 µL [5,85 µL ddH₂O; 1,0 µL 10 x RT-Buffer; 150 mM de cada primer (*sense* e *antisense*); 100 mM dNTP (25 mM cada); 1.5 mM de MgCl₂ 0,05µL AmpliTaq DNA Polimerase Uniscience]; 2,0 µL de cDNA). As condições de ciclagem foram: 94 °C por 10 min, 40 ciclos de 94 °C por 30 seg, 54 °C por 30 seg e 72 °C por 30 seg, com extensão final de 72 °C por 10 minutos.

2.10.4 Real Time PCR – Quantitative PCR (qPCR)

Para a análise da abundância relativa de das amostras de embriões, foi realizado o ensaio de PCR em tempo real, sendo os valores de cada análise calculados segundo a fórmula $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$. Os genes analisados foram: BAX, BCL2, OCT4, SOD2, AREG e iNOS (Tabela 1). Os ensaios de qPCR foram realizados em um volume final de 10 μ L [5,0 μ L PCR SybrGreen-Mastermix, (AppliedBiosystem); 0,7 μ L água; 0,15 μ L – 150 mM de cada primer (*sense* e *antisense*); 4,0 μ L de cada amostra]. As condições de ciclagem foram: 95 °C por 10 min, 40 ciclos de 95 °C por 30 segundos e 60 °C por 1 min. Toda distribuição das alíquotas de mix de qPCR foi realizada utilizando um micropipetador eletrônico monocanal da marca Gilson®. Como amostra calibradora foi utilizada uma amostra contendo cDNA de todas as amostras utilizadas. O gene utilizado como *housekeeping* foi o da β -actina bovino.

Tabela 1: Lista de primers utilizados nas análises qPCR de embriões bovinos.

Genes	Primer sequence	Amplicon (pb)	RefSeq
BAX	F 5'- TGTTTTCTGACGGCAACTTCA-3'	139	NM_173894.1 (chr18:55308684-55312694)
	R 5'- CGAAGGAAGTCCAATGTCCAG-3'		
BCL2	F: 5'-CAACGGAGGCTGGGACG-3'	91	NM_001166486.1 (chr24:63544388-63749849)
	R: 5'- GAGCAGTGCCTTCAGAGACA -3'		
SOD2	F 5'- AGCACGAGCAGGAGACTGGT-3'	171	NM_201527.2 (chr9:100184538-100194450)
	R 5'- GACGTTGAGGTTGTTACGTTAG-3		
AREG	F: 5'- AGGTGTCGCTGAAGAACGAA-3'	95	NM_001099092.1 (chr6:89379645-89391802)
	R: 5'- CCGATCTGATACCCTGCAAT-3'		
OCT4	F: 5'-AAGACGTGGTCCGAGTGT-3'	117	NM_174580.3 (chr23:26884609-26889108)
	R: 5'-CGGGTCCCCCTGTGAAAG-3'		
iNOS	F: 5'- CTATGTCTGTGGGGATGTGC-3'	147	NM_001076799.1 (chr19:19134270-19175089)
	R: 5'- AAGATGTCTTCATGATAGCGC-3'		

2.11 Efeito da suplementação com L-arg na morfometria oocitária

Para essa etapa, utilizou-se dois grupos (GC e 2,5 mMol de L-arg) em seis repetições. Os oócitos foram selecionados conforme descrito no item 2.3 e incubados conforme descrito

no item 2.4. Após transcorridas 3 h de MIV, os oócitos foram preparados conforme descrito no item 2.4.1 e avaliados em microscopia óptica (Nikon – Eclipse E200, Melville, NY, USA) e fotografados com auxílio de câmera digital de alta resolução (PrimeCam Pro, BioLab Brasil®, São Paulo, Brasil). Posteriormente, foi mensurado o diâmetro do oócito (DO), a área do oócito (AO), diâmetro da VG (DVG), área da VG (AVG) e espessura da zona pelúcida (EZP) (SALIMOV *et al.*, 2023), conforme descrito na Figura 1.

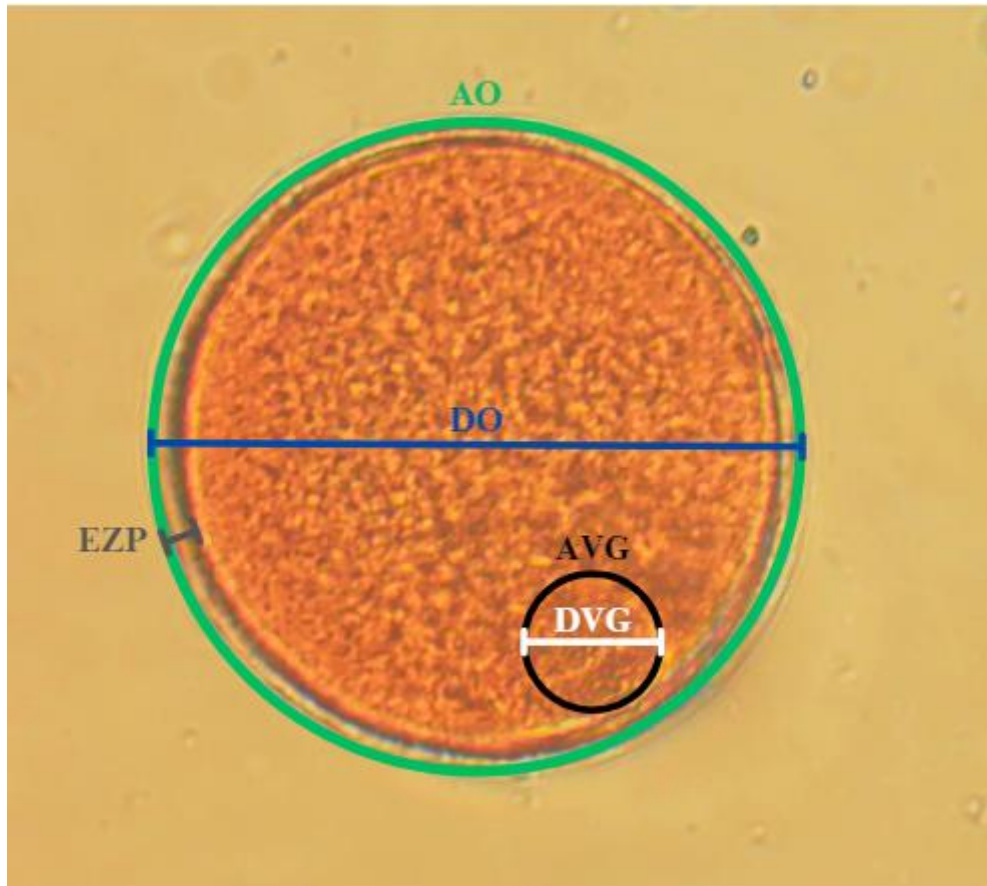


Figura 1.: Análise da morfometria de oócitos bovinos maturados *in vitro* suplementados com L-arg onde: AO: área do oócito; AVG: área da vesícula germinativa; DO: diâmetro do oócito; DVG: diâmetro da vesícula germinativa; EZP: espessura da zona pelúcida.

2.13. Análise estatística

Foi realizada análise de variância testando o efeito de grupo, sendo as médias comparadas com o uso do teste SNK a nível de 5% de probabilidade utilizando o software SAS, versão 9.4. A variação na abundância de mRNA foi analisada por ANOVA e comparações múltiplas entre grupos foram realizadas pelo teste t de Student LSMMeans usando o software JMP (JMP® 7.0, SAS Institute, Inc., Cary, NC, EUA).

3. Resultados

A suplementação com L-arg nas concentrações 5,0 mMol e 10 mMol apresentaram redução na taxa de maturação enquanto concentrações de 2,5 mMol de L-arg ou menor não influenciaram. A concentração de 10 mMol de L-arg também reduziu IMP.

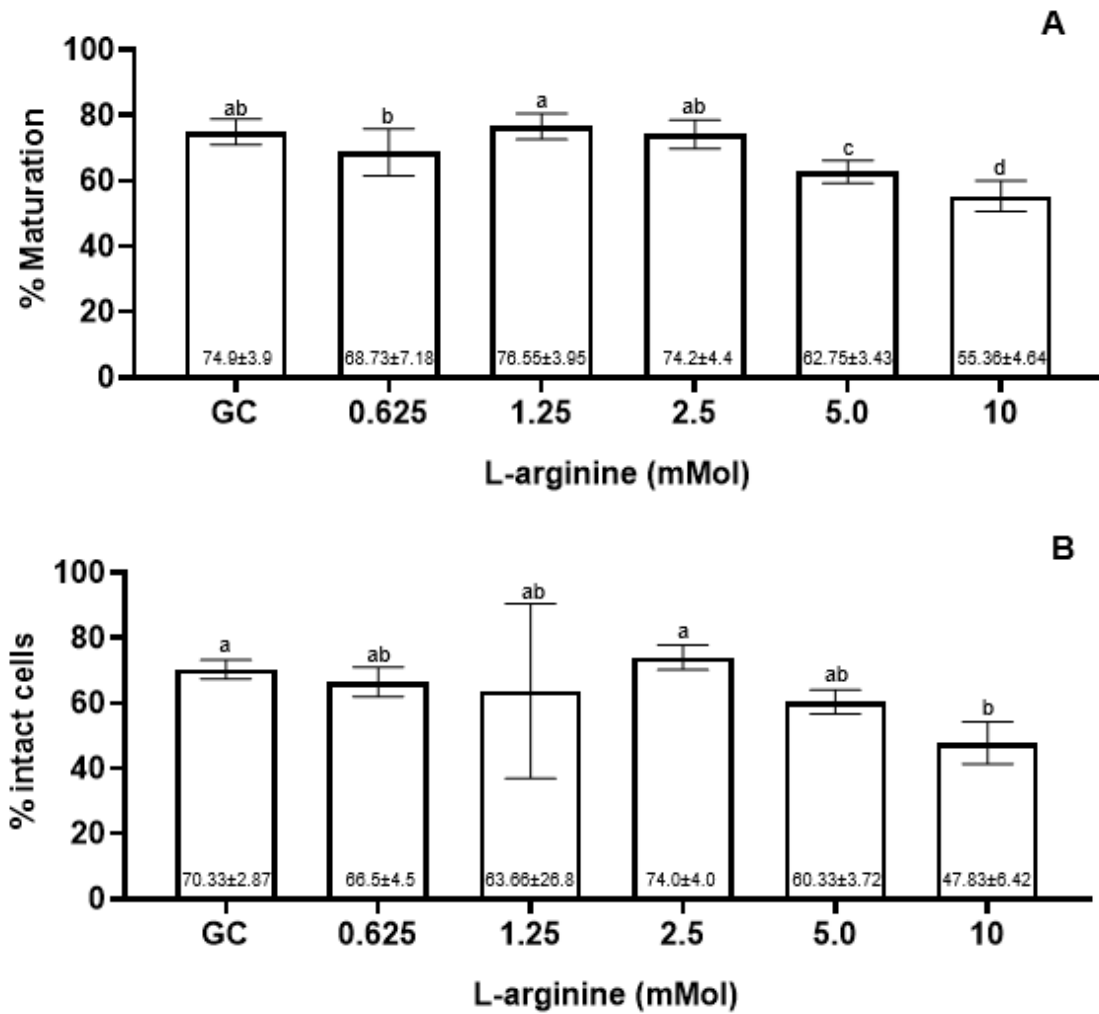


Figura 2: Taxa de maturação (painel A) e integridade de membrana plasmática (IMP – painel B) de células do *cumulus* de oócitos bovinos maturados *in vitro* suplementados com diferentes concentrações de L-arginina. GC: grupo controle.

As concentrações de 1,25 mMol e 2,5 mMol não influenciaram a expansão das células do *cumulus* ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2: Grau de expansão de células do *cumulus* de oócitos bovinos maturados *in vitro* suplementados com diferentes concentrações de L-arginina.

	Grau 0	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
GC	0±0 ^b	0±0 ^b	0±0 ^b	16,66±8,16 ^a	83,33±8,16 ^a
0,625 mMol	0±0 ^b	0±0 ^b	4,66±4,54 ^b	30,16±17,03 ^a	65,16±21,28 ^a
1,25 mMol	0±0 ^b	0±0 ^b	1,0±2,44 ^b	30,0±34,64 ^a	82,33±4,08 ^a
2,5 mMol	0±0 ^b	0±0 ^b	5,0±7,07 ^b	26,0±17,81 ^a	70,4±21,52 ^a
5,0 mMol	0±0 ^b	9,66±6,62 ^b	45,0±24,49 ^a	33,5±21,82 ^a	11,83±24,41 ^b
10 mMol	21,33±10,33 ^a	55,5±21,97 ^a	14,83±20,98 ^b	8,33±16,02 ^a	0±0 ^b

Médias seguidas pela mesma letra não se diferem a 5% de probabilidade dentro da mesma linha. Grau 0: sem expansão de células do *cumulus*; Grau 1: somente a camada de células mais externa apresentam expansão; Grau 2: expansão das camadas externas; Grau 3: somente células da *corona radiata* não apresentam expansão; Grau 4: todas as camadas de células do *cumulus* encontram-se expandidas; GC: grupo controle.

As concentrações 5,0 mMol e 10 mMol aumentaram o pH do meio ($p < 0,05$). A concentração de nitrito foi maior na concentração de 10 mMol ($23,91 \pm 2,29 \mu\text{M/L}$) se diferenciou de todos os grupos ($p < 0,05$) (Tabela 3).

As concentrações de 1,25 mMol e 2,5 mMol de L-arg apresentaram maior potencial de membrana mitocondrial ($p < 0,05$) enquanto a concentração de 2,5 mMol de L-arg apresentou maior potencial de membrana mitocondrial ($p < 0,05$) (Figura 3).

Tabela 3: Mensuração do pH e da concentração de nitrito total no meio de maturação *in vitro* de oócitos bovinos suplementado com diferentes concentrações de L-arginina.

	pH	Nitrito ($\mu\text{M/L}$)
GC	$7,1\pm 0,36^b$	$16,84\pm 2,79^b$
0,625 mMol	$6,83\pm 0,29^b$	--
1,25 mMol	$7,33\pm 0,28^b$	$13,91\pm 0,51^c$
2,5 mMol	$7,5\pm 0,0^b$	$13,93\pm 0,66^c$
5,0 mMol	$8,33\pm 0,57^a$	$14,81\pm 1,01^{ab}$
10 mMol	$9,0\pm 0,0^a$	$23,91\pm 2,29^a$

Médias seguidas pela mesma letra não se diferem a 5% de probabilidade. GC: grupo controle.

A taxa de clivagem foi menor na concentração de 0,625 mMol de L-arg ($p<0,05$). A suplementação com 2,5 mMol de L-arg apresentou maior taxa de blastocisto e eclosão ($p<0,05$) (Figura 4).

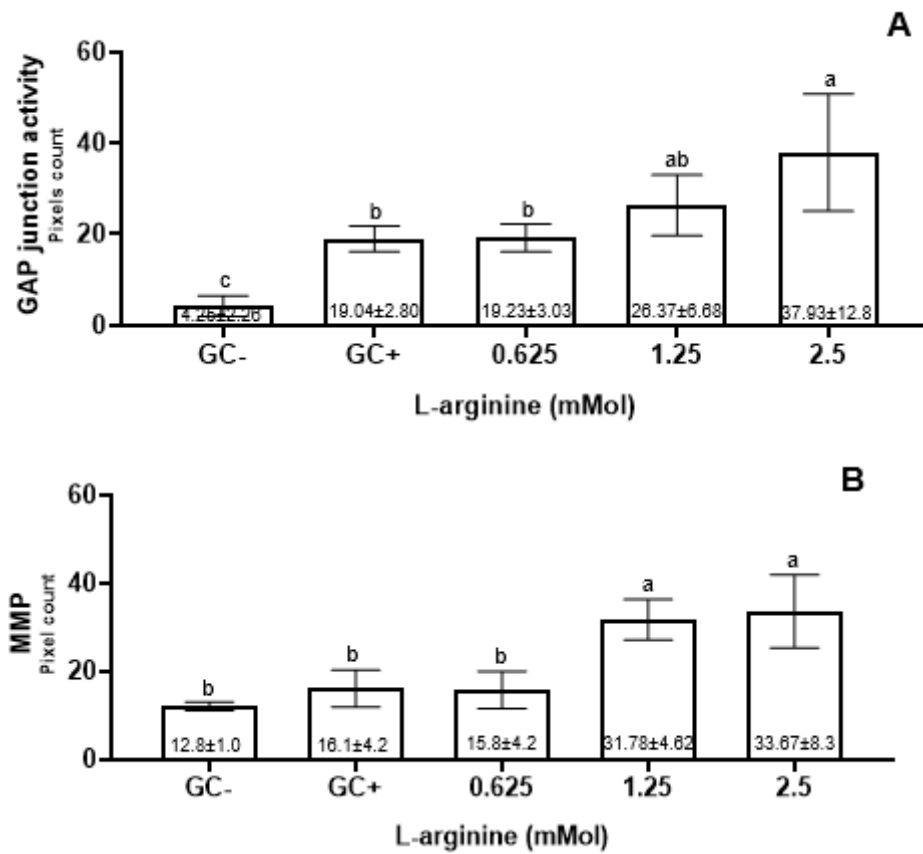


Figura 3.: Contagem de pixels de emissão de epifluorescência de funcionalidade de junções GAP e potencial de membrana mitocondrial de oócitos bovinos maturados *in vitro* suplementados com L-arginina. GC+: grupo controle positivo; GC-: grupo controle negativo.

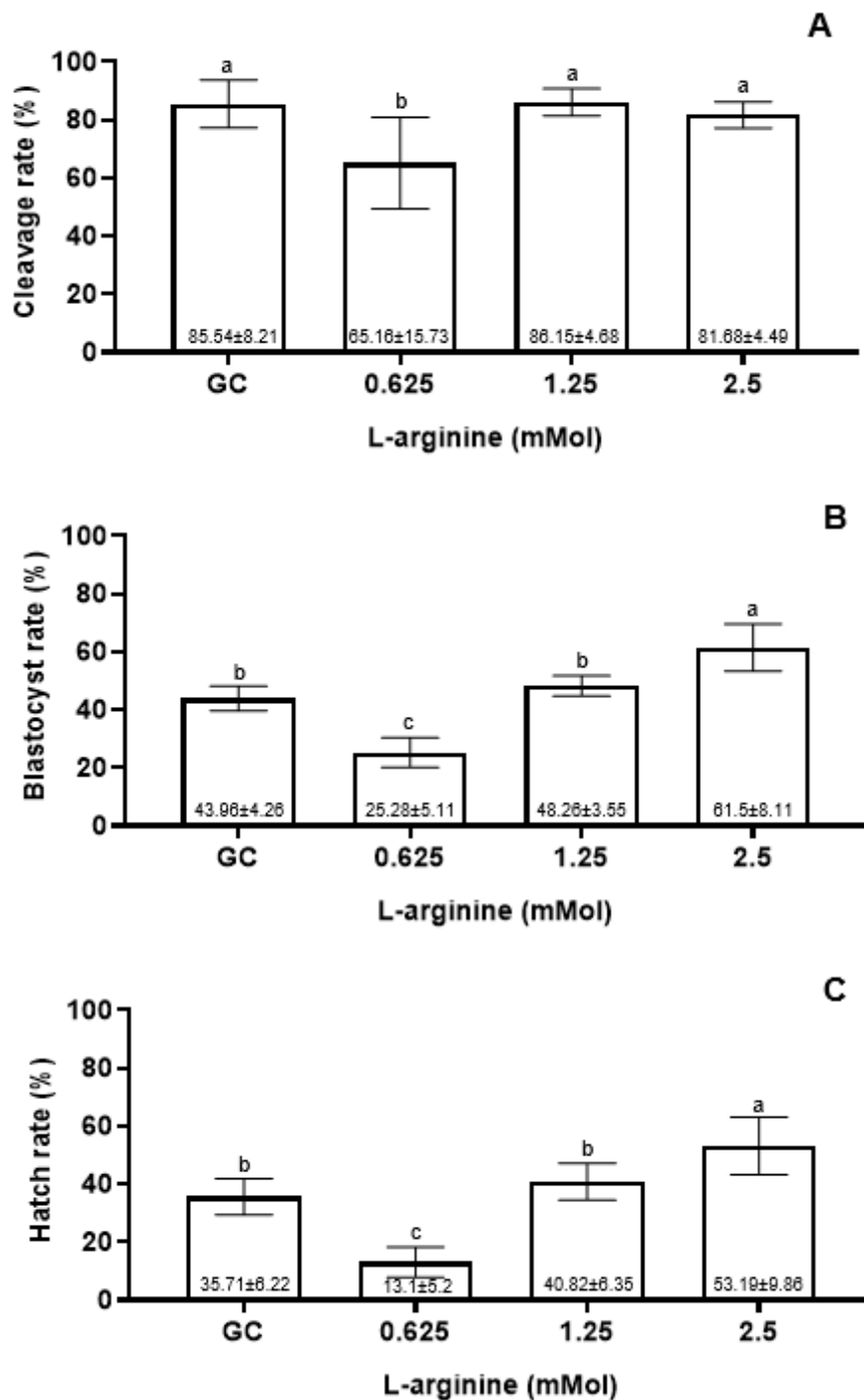


Figura 4.: Taxa de clivagem (painel A), taxa de blastocisto (painel B) e taxa de eclosão (painel C) de embriões bovinos produzidos *in vitro* utilizando oócitos suplementados com diferentes concentrações de L-arginina durante a MIV.

Na análise de transcritos dos embriões, não houve expressão para BCL2 e AREG. Não houve variação significativa na abundância de mRNA para OCT4 ($p \geq 0,05$). Os grupos GC e 0,625 mMol de L-arg apresentaram maior abundância de mRNA para BAX e SOD2 do que 2,5 mMol

de L-arg ($p < 0,05$). Para iNOS, observa-se maior abundância de mRNA em GC quando comparado aos grupos suplementados com L-arg ($p < 0,05$) (Figura 5).

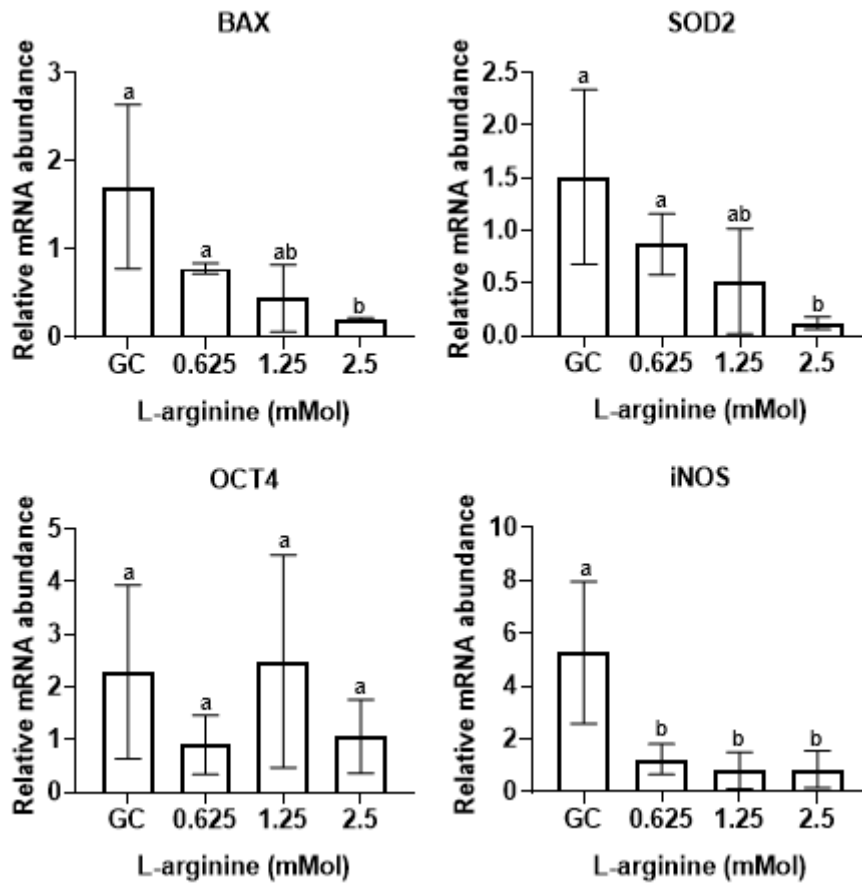


Figura 5.: Análise de abundância relativa de mRNA de BAX, SOD 2, OCT4 e iNOS em embriões bovinos em estágio de blastocisto eclodido aos 9 dias de cultivo *in vitro* advindos de oócitos suplementados com L-arginina durante a MIV.

Na avaliação morfométrica, a suplementação com L-arg aumentou DVG e AVG ($p < 0,05$). Para DO, AO e EZP não foram observadas variações significativas ($p \geq 0,05$) (Tabela 4).

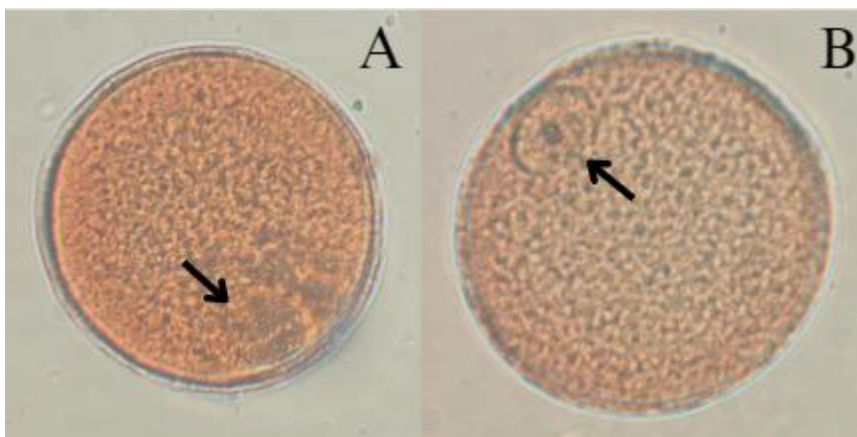


Figura 6: Oócitos bovinos do grupo controle (painel A) e suplementados com 2,5 mMol de L-arg (painel B) após 3 horas de maturação *in vitro* corados com orceína acética 2% para realização de morfometria indicando a vesícula germinativa (seta preta).

Tabela 4: Morfometria de oócitos bovinos após 3 horas de maturação *in vitro* suplementados com L-arginina.

Parâmetro	GC	2,5 mMol
DO (μm)	114.33 \pm 1.49 ^a	116.51 \pm 1.69 ^a
AO (μm^2)	9852.2 \pm 299.2 ^a	10175.86 \pm 255.15 ^a
DVG (μm)	28.84 \pm 1.06 ^b	31.55 \pm 0.98 ^a
AVG (μm^2)	737.32 \pm 77.38 ^b	897.0 \pm 36.57 ^a
EZP (μm)	14.0 \pm 1.38 ^a	13.7 \pm 1.43 ^a

Médias seguidas pela mesma letra não se diferem a 5% de probabilidade. GC: grupo controle; 2,5 mMol: oócitos suplementados com 2.5 mMol de L-arginina. DO: diâmetro do oócito; AO: área do oócito; DVG: diâmetro da vesícula germinativa; AVG: área da vesícula germinativa; EZP: espessura da zona pelúcida.

4. Discussão

O presente estudo é o primeiro a descrever os efeitos da suplementação com L-arg em sistema convencional de MIV de oócitos. Dubeibe *et al.* (2013) (DUBEIBE *et al.*, 2013) utilizou diferentes concentrações de L-arg na presença de hemisseções. No entanto, a presença de hemisseções da parede folicular pode inibir parcialmente a retomada da meiose devido à fatores inibitórios produzidos e secretados por células somáticas foliculares (DA ROSA *et al.*, 2017; RICHARD, 1996; SIRARD, M. A. *et al.*, 1989), além de auxiliarem na manutenção de níveis elevados de cAMP (BEZERRA *et al.*, 2016), o que altera as condições de cultivo entre estudos.

A taxa de maturação foi afetada em concentrações mais altas de L-arg, sendo observado efeitos deletérios nos grupos 5,0 mMol e 10 mMol. O efeito bifásico do NO sob processos reprodutivos é bem descrito (BU *et al.*, 2003; VIANA, Kelen Salaroli *et al.*, 2011; VIANA, K.S. *et al.*, 2007), portanto, encontrar efeitos deletérios em concentrações mais altas de L-arg têm sido descrito (DUBEIBE *et al.*, 2013, 2017). Dubeibe *et al.* (2013) (DUBEIBE *et al.*, 2013) relatam como concentração ideal 5,0 mMol de L-arg. No entanto, a presença de hemisseções de parede folicular no poço de cultivo pode explicar a divergência entre estudos.

Foi observada uma discreta redução na taxa de maturação na concentração 0,625 mMol, porém, a mesma não difere dos grupos GC e 2,5 mMol de L-arg. Além disso, oócitos suplementados com 2,5 mMol de L-arg também não apresentaram diferença dos grupos GC e 1,25 mMol. Um aumento na taxa de maturação em concentrações adequadas de L-arg pode não ter sido observado pelo fato de, quando cultivados em meio adequado, um grande número de oócitos já alcançarem a fase de MII no final do cultivo, o que dificulta determinar efeitos benéficos de qualquer substância nesta fase (SIRARD, M. A. *et al.*, 1988).

Quanto à integridade de membrana das células do *cumulus*, somente a concentração de 10 mMol apresentou efeito deletério. Faes *et al.* (2009) (FAES *et al.*, 2009) relatam um aumento na integridade de membrana das células do *cumulus* utilizando doadores sintéticos de NO, fato não observado nesse estudo. Curiosamente, apesar de já apresentar efeitos sob a taxa de maturação, a concentração de 5,0 mMol de L-arg não interferiu na integridade de membrana, o que nos leva a crer que os resultados apresentados em 10 mMol de L-arg se deve à alterações químicas observadas no meio deste grupo de suplementação com L-arg, principalmente alterações de pH (Tabela 3).

Além de menor taxa de maturação, as concentrações de 5,0 e 10 mMol apresentaram menor taxa de expansão das células do *cumulus* quando comparadas aos demais grupos. Essenciais para a sincronização da maturação nuclear e citoplasmática (TAUGOURDEAU *et al.*, 2019), a integridade e expansão das células do *cumulus* se faz crucial para manutenção da qualidade do oócito (TURATHUM; GAO; CHIAN, 2021). No entanto, para que a expansão da matriz celular ocorra, são necessários fatores secretados pelo oócito (JANG *et al.*, 2015). Portanto, os efeitos deletérios gerados por tais concentrações podem ter prejudicado nessa comunicação oócito-*cumulus* e, conseqüentemente, reduzindo a expansão.

Observa-se pH significativamente alcalinizado nas concentrações 5,0 mMol e 10 mMol quando comparados aos demais grupos. A manutenção do pH em faixas ideais é essencial para homeostase e equilíbrio oxidativo dos oócitos (LIN, Jing; WANG, 2021). No entanto, a alcalinização observada em concentrações mais elevadas de L-arg no meio MIV pode advir de: (i) quantidade excessiva de L-arg no meio, já que a mesma possui pH alcalino (CAO *et al.*, 2022); e/ou (ii) acúmulo excessivo de nitrato no meio, uma vez que nossos resultados demonstram maior produção de nitrato nessas concentrações e o mesmo também possui pH alcalino (DEMARTINO *et al.*, 2019). Além de influenciar o pH, uma maior produção de nitrito pode também contribuir para os efeitos deletérios observados, uma vez que alta concentração de

nitrito no fluido folicular humano correlaciona-se negativamente com a qualidade embrionária (STAIKU *et al.*, 2021).

A concentração de 2,5 mMol de L-arg proporcionou maior atividade/tempo de permanência de junções GAP quando comparada aos demais grupos. Único meio de contato e comunicação direta entre o oócito e as células do *cumulus* (CLARKE, 2018, 2022; RICHANI *et al.*, 2021), essas junções fornecem metabólitos essenciais para o desenvolvimento do oócito (CLARKE, 2022; WINTERHAGER; KIDDER, 2015), além de influenciarem a retomada da meiose, uma vez que são as responsáveis pelo transporte de cGMP do *cumulus* para o oócito (SU; SUGIURA; EPPIG, 2009).

Estudos realizados anteriormente demonstram atuação da via L-arg/NO sobre junções comunicantes em células de Sertoli (ROSTAMZADEH *et al.*, 2020), corroborando com os dados encontrados no presente estudo na concentração de 2,5 mMol de L-arg, proporcionando aos oócitos desse grupo um maior aporte nutricional e metabólico. Além disso, tal resultado pode refletir sob a retomada da meiose onde, possivelmente, o transporte de cGMP para esses oócitos permaneceu estável por mais tempo quando comparado aos demais grupos, possibilitando um melhor sincronismo entre a maturação citoplasmática e a maturação nuclear, essencial para uma maior eficiência oocitária (TUKUR *et al.*, 2020).

A suplementação com L-arg também influenciou positivamente o potencial mitocondrial nas concentrações 1,25 mMol e 2,5 mMol quando comparados ao GC e à 0,625 mMol de L-arg. Considerada uma das mais importantes organelas citoplasmáticas (BOYMAN; KARBOWSKI; LEDERER, 2020; ROSSI; PEKKURNAZ, 2019), as mitocôndrias participam de várias funções celulares, como metabolismo do ferro e do cálcio (KIRILLOVA *et al.*, 2021) e regulação do processo de apoptose (PODEROSO; HELFENBERGER; PODEROSO, 2019). A principal função dessas organelas, no entanto, é o fornecimento de energia para o oócito na forma de adenosina trifosfato (ATP), produzido basicamente a partir da fosforilação oxidativa, sendo atrelado, então, ao consumo de oxigênio (MCKEEGAN *et al.*, 2021; RICHANI *et al.*, 2021) e, conseqüentemente, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (KIRILLOVA *et al.*, 2021; LIN, Jing; WANG, 2021; RICHANI *et al.*, 2021). Estudos demonstram que o NO regula a oferta e o consumo de oxigênio às mitocôndrias, reduzindo a produção de ROS e, assim, atuando indiretamente como antioxidantes (IGNARRO, 2000; PODEROSO; HELFENBERGER; PODEROSO, 2019). Sabe-se que, mesmo em células que possuem estoques intracelulares, toda arginina destinada à produção de NO deve advir exclusivamente

do meio extracelular (CHIN-DUSTING; WILLEMS; KAYE, 2007; HSU; TAIN, 2019). Portanto, acreditamos que as concentrações de 1,25 mMol e 2,5 mMol possam suportar uma produção ótima de NO dentro do oócito, otimizando a respiração celular e reduzindo ROS, o que otimizará a produção energética no oócito.

A taxa de clivagem não diferiu entre GC, 1,25 mMol e 2,5 mMol de L-arg. No entanto, surpreendentemente observamos uma redução significativa na taxa de clivagem no grupo suplementado com 0,625 mMol de L-arg. Nenhum efeito deletério foi observado atuando sobre esse grupo durante as avaliações de maturação nuclear e citoplasmática, sendo revelado esse efeito somente na taxa de clivagem e, conseqüentemente, nas taxas de desenvolvimento embrionário futuras. Estudos relatam que o NO possui um sistema regulador de produção complexo (GANTNER; LAFOND; BONINI, 2020) e que diferentes concentrações de NO podem modular o metabolismo proteico de formas distintas; expressando, fosforilando e nitrosilando diferentes proteínas de acordo com sua concentração (GANTNER; LAFOND; BONINI, 2020; ROMERO-AGUIRREGOMEZCORTA *et al.*, 2014; THOMAS, Douglas D.; RIDNOUR; *et al.*, 2006; THOMAS, Douglas D.; RIDNOUR; *et al.*, 2006). Portanto, acreditamos que a suplementação do meio MIV com 0,625 mMol de L-arg possa gerar uma faixa de concentração intraoocitária de NO que, apesar de não apresentar efeitos deletérios sob a maturação, a concentração de L-arg adicionada promova a síntese de NO e desencadeie reações com proteínas chaves que inibam as primeiras divisões mitóticas do zigoto recém-formado, levando à redução nas taxas de desenvolvimento embrionário.

A suplementação com 2,5 mMol de L-arg apresentou taxa de blastocisto e taxa de eclosão superiores ao grupo controle e à suplementação com 1,25 mMol de L-arg. Conforme já descrito nesse trabalho, a suplementação com 2,5 mMol de L-arg apresentou maior potencial de membrana mitocondrial, o que proporciona não só ao oócito, mas também ao futuro embrião a ser formado um melhor aporte energético, já que as mitocôndrias embrionárias são exclusivamente de origem materna (BOYMAN; KARBOWSKI; LEDERER, 2020; KIRILLOVA *et al.*, 2021). Somado a um maior potencial de membrana mitocondrial, um maior tempo de atividade de junções GAP observado nessa concentração proporcionará um maior aporte de metabólitos ao oócito (WINTERHAGER; KIDDER, 2015). Além disso, vale destacar que é através destas junções que o cGMP produzido nas células do *cumulus* chega até o ambiente intraoocitário (SUN; MIAO; SCHATTEEN, 2009), sendo essencial para a manutenção da parada meiótica, uma vez que o mesmo mantém inibe a atividade da fosfodiesterase 3A, mantendo elevados os níveis de cAMP (SHUHAIBAR *et al.*, 2015) e, possivelmente, retardando a retomada

da meiose (LUCIANO, Alberto M. *et al.*, 2011; SHUHAIBAR *et al.*, 2015), promovendo sincronismo com a maturação citoplasmática e, portanto, gerando oócitos de melhor qualidade (TUKUR *et al.*, 2020) e, conseqüentemente, embriões em maior quantidade e qualidade (SCIORIO; MIRANIAN; SMITH, 2022).

Durante avaliação visual das placas de cultivo para determinação das taxas de blastocisto e eclosão pudemos observar ainda alguns pontos relevantes. Primeiramente, vale destacar a homogeneidade dos resultados não só do grupo 2,5 mMol (que apresentou maior produtividade), mas também do grupo 1,25 mMol que, apesar de não diferir significativamente do GC, apresentou também desvios menores do que se observa rotineiramente, além de apresentar tendência para maior produtividade que GC. E, segundo, observou-se durante avaliações visuais para contabilidade das taxas de blastocisto um maior número de estruturas em estágio de blastocisto expandido já no sétimo dia de cultivo para o grupo suplementado com 2,5 mMol de L-arg. Segundo Demetrio *et al.* (2022) (DEMETRIO *et al.*, 2022), embriões que atingem o estágio de blastocisto expandido ou superior no sétimo dia de cultivo apresentam taxas de prenhez superiores, o que nos permite supor que, além de produzir embriões em maior quantidade, a suplementação com 2,5 mMol de L-arg também produz embriões de melhor qualidade.

Ainda relacionado à maior produtividade e qualidade embrionária, se deve ainda salientar a “polivalência” da L-arg que, além de precursora do NO (IGNARRO, 2000; LEAL *et al.*, 2009), atua como aminoácido estrutural (DAVENPORT; BOLING; SCHILLO, 1995) e como precursora de outras vias (POPOLO *et al.*, 2014). Dentre estas, destacamos a via das poliaminas, moléculas sintetizadas à partir da L-arg dotadas de carga positiva (LENIS *et al.*, 2017) e, portanto, capazes de interagir com DNA e RNA, ambos com carga negativa (WANG *et al.*, 2014). Pesquisas recentes demonstram importantes resultados quando utilizado suplementação com poliaminas, incluindo efeitos sob o genoma e epigenética (SHI; YAN; *et al.*, 2022; SHI; ZHANG; *et al.*, 2022a), sob o estresse oxidativo e função ovariana (JIANG *et al.*, 2023; NIU *et al.*, 2023), sob a inibição da apoptose (NIU *et al.*, 2021), sob a mitofagia e aumento na função mitocondrial (SHI; YAN; *et al.*, 2022; SHI; ZHANG; *et al.*, 2022a). Sabe-se que apenas 1.5% da arginina é destinada à produção de NO (CASTILLO *et al.*, 1996). Portanto, não só devemos considerar como acreditamos fortemente em um efeito somatório de vias de sinalização na qual a L-arg atua como precursor para a obtenção dos resultados positivos observados neste estudo.

A análise de transcritos relativos foi realizada a fim de verificar o acúmulo de mRNA transcritos por genes relacionados à qualidade embrionária. Bcl2, reconhecido como importante fator antiapoptótico (CHOUDHURY, 2019; RUCKER *et al.*, 2000) e de proliferação celular (LEE, J.H. *et al.*, 2009) e AREG, relacionado à retomada da meiose (PEI *et al.*, 2023), curiosamente, não foram expressos em nossa análise. Estudos revelam expressão para Bcl2 em zigotos bovinos (FEAR; HANSEN, 2011) e em embriões bovinos em estágio de blastocisto (PANG *et al.*, 2016; PRETHEEBAN *et al.*, 2009; VANDAELE *et al.*, 2008), enquanto a expressão de AREG foi relatada em oócitos e blastocistos bovinos (ALVARADO RINCÓN *et al.*, 2019; SUGIMURA *et al.*, 2018), estádios diferentes do utilizado neste estudo e podendo, portanto, explicar a não expressão desses dois genes

Observa-se para a abundância relativa do gene BAX diferença entre GC e grupo suplementado com 2,5 mMol de L-arg. Reconhecido por ser um gene pró-apoptótico (VINING *et al.*, 2021) e descrito em estudos utilizando embriões bovinos (FEAR; HANSEN, 2011; PANG *et al.*, 2016; VANDAELE *et al.*, 2008), quando ativado esse gene forma poros na membrana externa mitocondrial, levando à sua permeabilização e liberação do citocromo C dentre outros fatores apoptogênicos (VOSS; STRASSER, 2020). Estudos demonstram que, em concentrações adequadas, o NO pode atuar como fator antiapoptótico por inibir a citocromo C oxidase (PODEROSO; HELFENBERGER; PODEROSO, 2019), o que corrobora com os dados encontrados, já que a suplementação com L-arg reduziu a expressão de BAX.

A abundância de mRNA para SOD2 demonstrou resultado semelhante ao BAX, onde GC e 0,625 mMol de L-arg diferem de 2,5 mMol de L-arg. Considerada um integrante da primeira linha de defesa contra o estresse oxidativo, a superóxido desmutase 2 (SOD2) localiza-se nas mitocôndrias, protegendo a célula contra ROS (TARBASHEVICH *et al.*, 2023). Recentemente, Meulders *et al.* (2023) (MEULDERS *et al.*, 2023) descrevem que o aumento na expressão de SOD2 poderia estar vinculado ao aumento do estresse oxidativo, assim como Marques *et al.* (2018) (MARQUES *et al.*, 2018) relatam uma maior expressão de SOD2 em embriões bovinos suplementados com antioxidantes, fatos que não corroboram com nossos achados, uma vez que embriões advindos do grupo suplementado com 2,5 mMol de L-arg apresentaram melhor qualidade e uma menor transcrição de RNAm para o SOD2. Analisando nossos resultados, cabe-nos sugerir que a diminuição na expressão de SOD2 esteja vinculado à redução do estresse oxidativo, já que o aumento na expressão de SOD2 está vinculado à produção excessiva de peróxido de hidrogênio (DIKALOV, 2011). Com ações pouco compreendidas em estádios iniciais de desenvolvimento embrionário (TARBASHEVICH *et al.*,

2023), podemos sugerir ainda um efeito duplo do SOD2 assim como encontramos para o NO (ROMERO-AGUIRREGOMEZCORTA *et al.*, 2014), onde a mesma pode atuar como antioxidante (TARBASHEVICH *et al.*, 2023; ZAIDI *et al.*, 2021), convertendo radicais superóxidos em peróxido de hidrogênio (considerado menos prejudicial) (TARBASHEVICH *et al.*, 2023). Porém, quando expressa excessivamente, a SOD2 passa a produzir peróxido de hidrogênio de forma excessiva (DIKALOV, 2011), o que também leva ao estresse oxidativo (DIKALOV, 2011; LIN, Jing; WANG, 2021).

O OCT4 desempenha um papel vital no desenvolvimento embrionário (LIVIGNI; BRICKMAN, 2013), sendo um dos principais fatores para manutenção da pluripotência (MASUI, Shinji *et al.*, 2007) e regulando a expressão de genes que levam à reprogramação (MACHADO *et al.*, 2023a) e ao início do processo de diferenciação (YANG, Shen-Hsi *et al.*, 2014). Destacando-se como um dos primeiros genes essenciais para o desenvolvimento embrionário inicial (MITSUI *et al.*, 2003), o OCT4 já foi identificado em embriões bovinos em estudos anteriores (MACHADO *et al.*, 2023b; NADDAFPOUR *et al.*, 2020; RODRÍGUEZ-ALVAREZ; COX; *et al.*, 2010; RODRÍGUEZ-ALVAREZ; SHARBATI; *et al.*, 2010). Em nosso estudo, não houve diferença para sua abundância relativa. No entanto, tendo em vista sua contribuição à hipometilação (ZIMMERMAN; BODDY; SCHOENHERR, 2013) e regulação da expressão gênica (NELISSEN *et al.*, 2014), associado à capacidade do NO de interagir com diferentes proteínas de acordo com sua concentração (ROMERO-AGUIRREGOMEZCORTA *et al.*, 2014), acreditamos que haja alguma interação entre esses fatores, contribuindo para obtenção de melhores resultados na concentração de 2,5 mMol de L-arg.

A iNOS (óxido nítrico sintase induzível) é uma das três isoformas de NOS que sintetizam o NO, sendo ambas relatadas em oócitos e embriões em estádios pré-implantacionais (TRANGUCH; STEUERWALD; HUET-HUDSON, 2003). Recentemente, foi demonstrado que a iNOS apresenta maior expressão em blastocistos induzidos para implantação (GOUGE *et al.*, 1998; SEKI *et al.*, 2023), sugerindo um papel crucial do NO para a embriogênese (GOUGE *et al.*, 1998). Curiosamente, GC apresentou maior atividade de iNOS quando comparado à grupos que receberam a suplementação com L-arg, sugerindo maior produção de NO. Cabe ressaltar um pequeno limiar entre a concentração ideal de NO e a citotoxicidade causada pelo mesmo nesse estágio de desenvolvimento (SENGOKU *et al.*, 2001), o que nos leva a crer que a maior expressão de iNOS em GC pode não ter um efeito benéfico, e sim o contrário. Tranguch *et al.* (2003) (TRANGUCH; STEUERWALD; HUET-HUDSON, 2003) relatam ainda um cessamento transitório à expressão de iNOS, onde embriões não apresentaram expressão de iNOS na manhã

do 4º dia de gestação e voltaram a apresentar expressão para as três isoformas de NOS no final do mesmo dia. Diante disto, cabe-nos sugerir uma variabilidade na expressão de iNOS ao longo do desenvolvimento embrionário e, coincidentemente, no momento de nossa análise, a mesma se encontrava mais expressa em GC do que nos demais tratamentos apenas transitoriamente.

Na avaliação morfológica de oócitos, DO, a AO e a EZP não apresentam diferença entre GC e oócitos suplementados com 2,5 mMol de L-arg apresentando valores semelhantes aos relatados por estudos morfométricos em oócitos bovinos (AGUILA *et al.*, 2020; OTOI *et al.*, 1997; TIMLIN *et al.*, 2021). No entanto, foi observado um maior DVG e AVG em oócitos suplementados com 2,5 mMol de L-arg quando comparados ao GC. Acreditamos que essa diferença seja devido ao estágio de condensação da cromatina, onde um menor grau de condensação da mesma faria com que as dimensões da VG aumentassem. Estudos demonstram que oócitos com estádios intermediários de condensação da cromatina são mais competentes (LODDE *et al.*, 2007, 2008; LUCIANO, Alberto M. *et al.*, 2011), o que corrobora com os melhores resultados apresentados por essa concentração na produção *in vitro* de embriões. No entanto, mais estudos se fazem necessários para melhor entender esse fenômeno.

Em conclusão, o presente estudo demonstrou que a suplementação do meio MIV com 2,5 mMol de L-arg pode melhorar substancialmente a produção *in vitro* de embriões bovinos tanto quantitativa como qualitativamente, aumentando não só a taxa de blastocisto como também melhorando parâmetros de qualidade, como aumento de potencial de membrana mitocondrial e taxa de eclosão, podendo, ainda, impactar positivamente as taxas de prenhez e natalidade de propriedades que empregam a produção *in vitro* de embriões bovinos em seu manejo reprodutivo.

5. Referências

AGUIAR, Gester Breda; CALDAS-BUSSIÈRE, Maria Clara; MACIEL JUNIOR, Valter Luiz; CARVALHO, Carla_Sobrinho Paes de; SOUZA, Cláudio Luiz Melo de. Association of L-arginine with heparin on the sperm capacitation improves in vitro embryo production in bovine. **Animal Reproduction**, vol. 16, no. 4, p. 938–944, 2019. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0022>.

AGUILA, Luis; TREULEN, Favian; THERRIEN, Jacinthe; FELMER, Ricardo; VALDIVIA, Martha; SMITH, Lawrence C. Oocyte Selection for In Vitro Embryo Production in Bovine Species: Noninvasive Approaches for New Challenges of Oocyte Competence. **Animals**, vol. 10, no. 12, p. 2196, 24 Nov. 2020. <https://doi.org/10.3390/ani10122196>.

AJDUK, Anna; MAŁAGOCKI, Antoni; MALESZEWSKI, Marek. Cytoplasmic maturation of mammalian oocytes: development of a mechanism responsible for sperm-induced Ca²⁺ oscillations. **Reproductive Biology**, vol. 8, no. 1, p. 3–22, Mar. 2008. [https://doi.org/10.1016/S1642-431X\(12\)60001-1](https://doi.org/10.1016/S1642-431X(12)60001-1).

ALI, Atef; SIRARD, Marc-André. The effects of 17β-estradiol and protein supplement on the response to purified and recombinant follicle stimulating hormone in bovine oocytes. **Zygote**, vol. 10, no. 1, p. 65–71, 9 Feb. 2002. <https://doi.org/10.1017/S0967199402002095>.

ALM, Kersti; OREDSSON, Stina. Cells and polyamines do it cyclically. **Essays in Biochemistry**, vol. 46, p. 63–76, 30 Oct. 2009. <https://doi.org/10.1042/bse0460005>.

ALVARADO RINCÓN, Joao Alveiro; GINDRI, Patricia Carvalho; MION, Bruna; GIULIANA DE ÁVILA, Ferronato; BARBOSA, Antônio Amaral; MAFFI, Andressa Stein; PRADIEÉ, Jorgea; MONDADORI, Rafael Gianella; CORRÊA, Marcio Nunes; LIGIA MARGARETH CANTARELLI, Pegoraro; SCHNEIDER, Augusto. Early embryonic development of bovine oocytes challenged with LPS in vitro or in vivo. **Reproduction**, vol. 158, no. 5, p. 453–463, Nov. 2019. <https://doi.org/10.1530/REP-19-0316>.

AQUILA, Saveria; GIORDANO, Francesca; GUIDO, Carmela; RAGO, Vittoria; CARPINO, Amalia. Nitric oxide involvement in the acrosome reaction triggered by leptin in pig sperm. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 9, no. 1, p. 133, 4 Dec. 2011. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-133>.

AURICH, Jörg; KÖHNE, Martin; WULF, Manuela; NAGEL, Christina; BEYTHIEN, Elisabeth; GAUTIER, Camille; ZENTEK, Jürgen; AURICH, Christine. Effects of dietary L-arginine supplementation to early pregnant mares on conceptus diameter—Preliminary findings. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 54, no. 5, p. 772–778, 8 May 2019. <https://doi.org/10.1111/rda.13422>.

BARDOCZ, S. The role of dietary polyamines. **European journal of clinical nutrition**, vol. 47, no. 10, p. 683–90, Oct. 1993. .

BARNES, Deborah E.; LINDAHL, Tomas. Repair and Genetic Consequences of Endogenous DNA Base Damage in Mammalian Cells. **Annual Review of Genetics**, vol. 38, no. 1, p. 445–476, 1 Dec. 2004. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.38.072902.092448>.

BARROSO, R. Nitric oxide inhibits development of embryos and implantation in mice. **Molecular Human Reproduction**, vol. 4, no. 5, p. 503–507, 1 May 1998. <https://doi.org/10.1093/molehr/4.5.503>.

- BARTEK, Jiri; LUKAS, Jiri. Chk1 and Chk2 kinases in checkpoint control and cancer. **Cancer Cell**, vol. 3, no. 5, p. 421–429, May 2003. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(03\)00110-7](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(03)00110-7).
- BASINI, G.; BARATTA, M.; PONDERATO, N.; BUSSOLATI, S.; TAMANINI, C. Is nitric oxide an autocrine modulator of bovine granulosa cell function? **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 10, no. 6, p. 471, 1998. <https://doi.org/10.1071/RD98114>.
- BASINI, Giuseppina; GRASSELLI, Francesca. Nitric oxide in follicle development and oocyte competence. **REPRODUCTION**, vol. 150, no. 1, p. R1–R9, Jul. 2015. <https://doi.org/10.1530/REP-14-0524>.
- BÉRARD, J.; BEE, G. Effects of dietary l-arginine supplementation to gilts during early gestation on foetal survival, growth and myofiber formation. **Animal**, vol. 4, no. 10, p. 1680–1687, 2010. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000881>.
- BEZERRA, F.T.G.; SILVA, A.W.B.; RISSI, V.B.; ROSA, P.A.; CESARO, M.P.; COSTA, J.J.N.; GONÇALVES, P.B.D.; SILVA, J.R.V. Cilostamide and follicular hemisections inhibit oocyte meiosis resumption and regulate gene expression and cAMP levels in bovine cumulus-oocyte complexes. **Livestock Science**, vol. 184, p. 112–118, Feb. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.12.014>.
- BISTULFI, G.; DIEGELMAN, P.; FOSTER, B. A.; KRAMER, D. L.; PORTER, C. W.; SMIRAGLIA, D. J. Polyamine biosynthesis impacts cellular folate requirements necessary to maintain S -adenosylmethionine and nucleotide pools. **The FASEB Journal**, vol. 23, no. 9, p. 2888–2897, 5 Sep. 2009. <https://doi.org/10.1096/fj.09-130708>.
- BÖGER, Rainer H; BODE-BÖGER, Stefanie M. The Clinical Pharmacology of L-Arginine. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, vol. 41, no. 1, p. 79–99, Apr. 2001. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.41.1.79>.
- BOHRER, Rodrigo Camponogara; COUTINHO, Ana Rita S.; DUGGAVATHI, Raj; BORDIGNON, Vilceu. The Incidence of DNA Double-Strand Breaks Is Higher in Late-Cleaving and Less Developmentally Competent Porcine Embryos1. **Biology of Reproduction**, vol. 93, no. 3, 1 Sep. 2015. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.130542>.
- BOTIGELLI, Ramon Cesar; SCHWARZ, Katia Lancellotti; ZAFFALON, Fabiane Gilli; DEL COLLADO, Maite; CASTRO, Fernanda Cavallari; FERNANDES, Hugo; LEAL, Claudia Lima Verde. Influence of nitric oxide and phosphodiesterases during *in vitro* maturation of bovine oocytes on meiotic resumption and embryo production. **Zygote**, vol. 25, no. 3, p. 321–330, 27 Jun. 2017. <https://doi.org/10.1017/S096719941700017X>.
- BOYMAN, Liron; KARBOWSKI, Mariusz; LEDERER, W. Jonathan. Regulation of Mitochondrial ATP Production: Ca²⁺ Signaling and Quality Control. **Trends in Molecular Medicine**, vol. 26, no. 1, p. 21–39, Jan. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2019.10.007>.
- BRADSHAW, J.; JUNG, T.; FULKA, J.; MOOR, R. M. UV irradiation of chromosomal DNA and its effect upon MPF and meiosis in mammalian oocytes. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 41, no. 4, p. 503–512, 4 Aug. 1995. <https://doi.org/10.1002/mrd.1080410413>.
- BREVINI GANDOLFI, T.A.L.; GANDOLFI, Fulvio. The maternal legacy to the embryo: cytoplasmic components and their effects on early development. **Theriogenology**, vol. 55, no. 6, p. 1255–1276, Apr. 2001. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00481-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00481-2).

BRUNET, Stephane; MARO, Bernard. Cytoskeleton and cell cycle control during meiotic maturation of the mouse oocyte: integrating time and space. **Reproduction**, vol. 130, no. 6, p. 801–811, Dec. 2005. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00364>.

BU, Shumin; XIA, Guoliang; TAO, Yong; LEI, Lei; ZHOU, Bo. Dual effects of nitric oxide on meiotic maturation of mouse cumulus cell-enclosed oocytes in vitro. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 207, no. 1–2, p. 21–30, Sep. 2003. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(03\)00213-2](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(03)00213-2).

BULBARELA-GARCÍA, Gerónimo; PRO-MARTÍNEZ, Arturo; BECERRIL PÉREZ, Carlos Miguel; PABLO, Díaz-Rivera; ROSENDO-PONCE, Adalberto; SÁNCHEZ, Jaime. Effect of L-arginine and fish oil on the reproductive performance of hair sheep synchronization with a progestagen. **Agrociencia**, vol. 43, p. 371–377, Jan. 2009. .

CAI, Xuebi; STRINGER, Jessica M.; ZERAFA, Nadeen; CARROLL, John; HUTT, Karla J. Xrcc5/Ku80 is required for the repair of DNA damage in fully grown meiotically arrested mammalian oocytes. **Cell Death & Disease**, vol. 14, no. 7, p. 397, 5 Jul. 2023. <https://doi.org/10.1038/s41419-023-05886-x>.

CAO, Chuanai; XU, Yining; LIU, Meiyue; KONG, Baohua; ZHANG, Fengxue; ZHANG, Hongwei; LIU, Qian; ZHAO, Jinhai. Additive Effects of L-Arginine with Potassium Carbonate on the Quality Profile Promotion of Phosphate-Free Frankfurters. **Foods**, vol. 11, no. 22, p. 3581, 10 Nov. 2022. <https://doi.org/10.3390/foods11223581>.

CASEY, P J; HILLMAN, R B; ROBERTSON, K R; YUDIN, A I; LIU, I K; DROBNIS, E Z. Validation of an acrosomal stain for equine sperm that differentiates between living and dead sperm. **Journal of andrology**, vol. 14, no. 4, p. 289–97, 1993. .

CASTILLO, L; BEAUMIER, L; AJAMI, A M; YOUNG, V R. Whole body nitric oxide synthesis in healthy men determined from [15N] arginine-to-[15N]citrulline labeling. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 93, no. 21, p. 11460–11465, 15 Oct. 1996. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.21.11460>.

CHANG, Haoya; CHEN, Huanhuan; ZHANG, Lei; WANG, Yile; XIE, Xiaogang; ZHANG, Yong; QUAN, Fusheng. Effect of oocyte vitrification on DNA damage in metaphase II oocytes and the resulting preimplantation embryos. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 86, no. 11, p. 1603–1614, 13 Nov. 2019. <https://doi.org/10.1002/mrd.23247>.

CHE, Dongsheng; ADAMS, Seidu; ZHAO, Bao; QIN, Guixin; JIANG, Hailong. Effects of Dietary L-arginine Supplementation from Conception to Post- Weaning in Piglets. **Current Protein & Peptide Science**, vol. 20, no. 7, p. 736–749, 27 Jun. 2019. <https://doi.org/10.2174/1389203720666190125104959>.

CHIN-DUSTING, J.P.F.; WILLEMS, L.; KAYE, D.M. l-Arginine transporters in cardiovascular disease: A novel therapeutic target. **Pharmacology & Therapeutics**, vol. 116, no. 3, p. 428–436, Dec. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.08.001>.

CHOUDHURY, Shouhartha. A comparative analysis of BCL-2 family. **Bioinformatics**, vol. 15, no. 4, p. 299–306, 15 Apr. 2019. <https://doi.org/10.6026/97320630015299>.

CICCIA, Alberto; ELLEDGE, Stephen J. The DNA Damage Response: Making It Safe to Play with Knives. **Molecular Cell**, vol. 40, no. 2, p. 179–204, Oct. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.09.019>.

CLARKE, Hugh J. Regulation of germ cell development by intercellular signaling in the mammalian ovarian follicle. **WIREs Developmental Biology**, vol. 7, no. 1, 11 Jan. 2018. <https://doi.org/10.1002/wdev.294>.

CLARKE, Hugh J. Transzonal projections: Essential structures mediating intercellular communication in the mammalian ovarian follicle. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 89, no. 11, p. 509–525, 16 Nov. 2022. <https://doi.org/10.1002/mrd.23645>.

COBURN, Ronald F. Polyamine effects on cell function: Possible central role of plasma membrane PI(4,5)P₂. **Journal of Cellular Physiology**, vol. 221, no. 3, p. 544–551, 25 Dec. 2009. <https://doi.org/10.1002/jcp.21899>.

COFFINO, Philip. Regulation of cellular polyamines by antizyme. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, vol. 2, no. 3, p. 188–194, Mar. 2001. <https://doi.org/10.1038/35056508>.

CONTI, Marco; ANDERSEN, Carsten Bo; RICHARD, Francois; MEHATS, Celine; CHUN, Sang-Young; HORNER, Kathleen; JIN, Catherine; TSAFRIRI, Alex. Role of cyclic nucleotide signaling in oocyte maturation. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 187, no. 1–2, p. 153–159, Feb. 2002. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(01\)00686-4](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(01)00686-4).

CONTI, Marco; FRANCIOSI, Federica. Acquisition of oocyte competence to develop as an embryo: integrated nuclear and cytoplasmic events. **Human Reproduction Update**, vol. 24, no. 3, p. 245–266, 1 May 2018. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmx040>.

COTTERILL, Matthew; HARRIS, Sarah E.; COLLADO FERNANDEZ, Esther; LU, Jianping; HUNTRISS, John D.; CAMPBELL, Bruce K.; PICTON, Helen M. The activity and copy number of mitochondrial DNA in ovine oocytes throughout oogenesis in vivo and during oocyte maturation in vitro. **MHR: Basic science of reproductive medicine**, vol. 19, no. 7, p. 444–450, Jul. 2013. <https://doi.org/10.1093/molehr/gat013>.

DA ROSA, Paulo Roberto Antunes; DE CESARO, Matheus Pedrotti; PEREIRA DAU, Andressa Minussi; DUGGAVATHI, Raj; BORDIGNON, Vilceu; GONÇALVES, Paulo Bayard Dias. Reversible meiotic arrest of bovine oocytes by EGFR inhibition and follicular hemisections. **Theriogenology**, vol. 99, p. 53–62, Sep. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.05.014>.

DARMANI, Homa; ELBETIEHA, Ahmed M; BASHIR, Nabil. Effects of L-Arginine and L-Omega-Nitro-L-Arginine Methyl Ester on Fertility of Female Rats. **Journal of Applied Biological Sciences**, vol. 13, no. 1, p. 29–32, 23 Sep. 2019. Available at: <https://jabsonline.org/index.php/jabs/article/view/590>.

DAVENPORT, G.M.; BOLING, J.A.; SCHILLO, K.K. Growth and endocrine responses of lambs fed rumen-protected ornithine and arginine. **Small Ruminant Research**, vol. 17, no. 3, p. 229–236, Aug. 1995. [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(95\)00685-E](https://doi.org/10.1016/0921-4488(95)00685-E).

DE BEM, THC; ADONA, PR; BRESSAN, FF; MESQUITA, LG; CHIARATTI, MR; MEIRELLES, FV; LEAL, CLV. The Influence of Morphology, Follicle Size and Bcl-2 and Bax Transcripts on the

Developmental Competence of Bovine Oocytes. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 49, no. 4, p. 576–583, 30 Aug. 2014. <https://doi.org/10.1111/rda.12325>.

DE LOOS, F.; VAN VLIET, C.; VAN MAURIK, P.; KRUIP, Th. A. M. Morphology of immature bovine oocytes. **Gamete Research**, vol. 24, no. 2, p. 197–204, 17 Oct. 1989a. <https://doi.org/10.1002/mrd.1120240207>.

DE LOOS, F.; VAN VLIET, C.; VAN MAURIK, P.; KRUIP, Th. A. M. Morphology of immature bovine oocytes. **Gamete Research**, vol. 24, no. 2, p. 197–204, 17 Oct. 1989b. <https://doi.org/10.1002/mrd.1120240207>.

DEMARTINO, Anthony W; KIM-SHAPIRO, Daniel B.; PATEL, Rakesh P; GLADWIN, Mark T. Nitrite and nitrate chemical biology and signalling. **British Journal of Pharmacology**, vol. 176, no. 2, p. 228–245, 3 Jan. 2019. <https://doi.org/10.1111/bph.14484>.

DEMETRIO, Daniela; DEMETRIO, Clarice; OLIVEIRA, Mayara; REIS, Roberta; SANTOS, Ricarda. From oocyte to calf: practical aspects of bovine in vitro embryo production. **Clinical Theriogenology**, vol. 14, p. 193–201, 2022. .

DIKALOV, Sergey. Cross talk between mitochondria and NADPH oxidases. **Free Radical Biology and Medicine**, vol. 51, no. 7, p. 1289–1301, Oct. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.033>.

DUBEIBE, D. F.; CALDAS, M. C.; MACIEL, V. L.; QUIRINO, C. R.; GONÇALVES, P. B. 260 THE EFFECTS OF L-ARGININE ON CUMULUS CELL INTEGRITY AND MEIOTIC RESUMPTION DURING IN VITRO MATURATION OF BOVINE OOCYTES IN THE PRESENCE OF OVARIAN FOLLICLE HEMI-SECTIONS. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 25, no. 1, p. 278, 2013. <https://doi.org/10.1071/RDv25n1Ab260>.

DUBEIBE, D.F.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; MACIEL, V.L.; SAMPAIO, W.V.; QUIRINO, C.R.; GONÇALVES, P.B.D.; DE CESARO, M.P.; FAES, M.R.; PAES DE CARVALHO, C.S. L-arginine affects the IVM of cattle cumulus-oocyte complexes. **Theriogenology**, vol. 88, p. 134–144, Jan. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.09.017>.

DUBEY, Pawan K.; TRIPATHI, Vrajesh; SINGH, Ram Pratap; SAIKUMAR, G.; NATH, Amar; PRATHEESH; GADE, Nitin; SHARMA, G. Taru. Expression of nitric oxide synthase isoforms in different stages of buffalo (*Bubalus bubalis*) ovarian follicles: Effect of nitric oxide on in vitro development of preantral follicle. **Theriogenology**, vol. 77, no. 2, p. 280–291, Jan. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.08.002>.

ELAHI, Fazle; SHIN, Hyeji; LEE, Joohyeong; LEE, Eunsong. Endoplasmic Stress Inhibition during Oocyte Maturation Improves Preimplantation Development of Cloned Pig Embryos. **Journal of Animal Reproduction and Biotechnology**, vol. 32, no. 4, p. 287–295, 29 Dec. 2017. <https://doi.org/10.12750/JET.2017.32.4.287>.

EL-SHEIKH, Marwa; MESALAM, Ahmed Atef; KANG, Seon-Min; JOO, Myeong-Don; SOLIMAN, Seham Samir; KHALIL, Atif Ali Khan; AHN, Mi-Jeong; KONG, Il-Keun. Modulation of Apoptosis and Autophagy by Melatonin in Juglone-Exposed Bovine Oocytes. **Animals**, vol. 13, no. 9, p. 1475, 26 Apr. 2023. <https://doi.org/10.3390/ani13091475>.

FAES, M.R.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; VIANA, K.S.; DIAS, B.L.; COSTA, F.R.; ESCOCARD, R.M. Nitric oxide regulates steroid synthesis by bovine antral granulosa cells in a chemically defined medium. **Animal Reproduction Science**, vol. 110, no. 3–4, p. 222–236, Feb. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.01.018>.

FAIR, T; LONERGAN, P. The Role of Progesterone in Oocyte Acquisition of Developmental Competence. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 47, no. s4, p. 142–147, 25 Aug. 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02068.x>.

FEAR, Justin M.; HANSEN, Peter J. Developmental Changes in Expression of Genes Involved in Regulation of Apoptosis in the Bovine Preimplantation Embryo1. **Biology of Reproduction**, vol. 84, no. 1, p. 43–51, 1 Jan. 2011. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.086249>.

FERREIRA, E.M.; VIREQUE, A.A.; ADONA, P.R.; MEIRELLES, F.V.; FERRIANI, R.A.; NAVARRO, P.A.A.S. Cytoplasmic maturation of bovine oocytes: Structural and biochemical modifications and acquisition of developmental competence. **Theriogenology**, vol. 71, no. 5, p. 836–848, Mar. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.10.023>.

FIRSANOV, Denis V.; SOLOVJEVA, Liudmila V.; SVETLOVA, Maria P. H2AX phosphorylation at the sites of DNA double-strand breaks in cultivated mammalian cells and tissues. **Clinical Epigenetics**, vol. 2, no. 2, p. 283–297, 25 Aug. 2011. <https://doi.org/10.1007/s13148-011-0044-4>.

FRANCIS, Sharron H.; BUSCH, Jennifer L.; CORBIN, Jackie D. cGMP-Dependent Protein Kinases and cGMP Phosphodiesterases in Nitric Oxide and cGMP Action. **Pharmacological Reviews**, vol. 62, no. 3, p. 525–563, Sep. 2010. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002907>.

FUJII, Junichi; IUCHI, Yoshihito; OKADA, Futoshi. Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 3, no. 1, p. 43, 2 Dec. 2005. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-3-43>.

FUJII, Wataru; FUNAHASHI, Hiroaki. Exogenous Adenosine Reduces the Mitochondrial Membrane Potential of Murine Oocytes During the Latter Half of In Vitro Maturation and Pronuclear Formation Following Chemical Activation. **Journal of Reproduction and Development**, vol. 55, no. 2, p. 187–193, 2009. <https://doi.org/10.1262/jrd.20122>.

GANTNER, Benjamin N.; LAFOND, Katy M.; BONINI, Marcelo G. Nitric oxide in cellular adaptation and disease. **Redox Biology**, vol. 34, p. 101550, Jul. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101550>.

GAO, Kaiguo; JIANG, Zongyong; LIN, Yingcai; ZHENG, Chuntian; ZHOU, Guilian; CHEN, Fang; YANG, Lin; WU, Guoyao. Dietary l-arginine supplementation enhances placental growth and reproductive performance in sows. **Amino Acids**, vol. 42, no. 6, p. 2207–2214, 21 Jun. 2012. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0960-9>.

GOETTEN, André Lucio Fontana; KOCH, Júlia; ROCHA, Cecília Constantino; MEZZALIRA, Alceu; PRICE, Christopher Allan; PORTELA, Valério Marques; BARRETA, Marcos Henrique. Expression profile of key genes involved in DNA repair mechanisms in bovine cumulus cells cultured with bovine serum albumin or fetal calf serum. **Reproductive Biology**, vol. 23, no. 1, p. 100709, Mar. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2022.100709>.

GOTTARDI, F. P.; MINGOTI, G. Z. Maturação de oócitos bovinos e influência na aquisição da competência para o desenvolvimento do embrião. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, vol. 33, p. 82–94, 2009. .

GOUD, Pravin T.; GOUD, Anuradha P.; DIAMOND, Michael P.; GONIK, Bernard; ABU-SOUD, Husam M. Nitric oxide extends the oocyte temporal window for optimal fertilization. **Free Radical Biology and Medicine**, vol. 45, no. 4, p. 453–459, 15 Aug. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.04.035>.

GOUGE, R. C.; MARSHBURN, P; GORDON, B E; NUNLEY, W; HUET-HUDSON, Y M. Nitric Oxide as a Regulator of Embryonic Development. **Biology of Reproduction**, vol. 58, no. 4, p. 875–879, 1 Apr. 1998. <https://doi.org/10.1095/biolreprod58.4.875>.

GRAHAM, J. K.; KUNZE, E.; HAMMERSTEDT, R H. Analysis of Sperm Cell Viability, Acrosomal Integrity, and Mitochondrial Function Using Flow Cytometry1. **Biology of Reproduction**, vol. 43, no. 1, p. 55–64, 1 Jul. 1990. <https://doi.org/10.1095/biolreprod43.1.55>.

GRASSELLI, F; PONDERATO, N; BASINI, G; TAMANINI, C. Nitric oxide synthase expression and nitric oxide/cyclic GMP pathway in swine granulosa cells. **Domestic animal endocrinology**, vol. 20, no. 4, p. 241–52, May 2001. [https://doi.org/10.1016/s0739-7240\(01\)00096-0](https://doi.org/10.1016/s0739-7240(01)00096-0).

GRILLO, M. A.; COLOMBATTO, S. Arginine revisited: Minireview article. **Amino Acids**, vol. 26, no. 4, 8 Jul. 2004. <https://doi.org/10.1007/s00726-004-0081-9>.

HA, Hyo Chol; SIRISOMA, Nilantha S.; KUPPUSAMY, Periannan; ZWEIER, Jay L.; WOSTER, Patrick M.; CASERO, Robert A. The natural polyamine spermine functions directly as a free radical scavenger. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 95, no. 19, p. 11140–11145, 15 Sep. 1998. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.19.11140>.

HARVEY, Alexandra J. Mitochondria in early development: linking the microenvironment, metabolism and the epigenome. **Reproduction**, vol. 157, no. 5, p. R159–R179, May 2019. <https://doi.org/10.1530/REP-18-0431>.

HE, Meina; ZHANG, Tuo; YANG, Yi; WANG, Chao. Mechanisms of Oocyte Maturation and Related Epigenetic Regulation. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, vol. 9, 19 Mar. 2021. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.654028>.

HEIMLICH, Gerd; MCKINNON, Alastair D.; BERNARDO, Katussevani; BRDICZKA, Dieter; REED, John C.; KAIN, Renate; KRÖNKE, Martin; JÜRGENSMEIER, Juliane M. Bax-induced cytochrome c release from mitochondria depends on alpha-helices-5 and -6. **Biochemical Journal**, vol. 378, no. 1, p. 247–255, 15 Feb. 2004. <https://doi.org/10.1042/bj20031152>.

HENRIQUE BARRETA, Marcos; GARZIERA GASPERIN, Bernardo; BRAGA RISSI, Vitor; CESARO, Matheus Pedrotti de; FERREIRA, Rogério; OLIVEIRA, João Francisco de; GONÇALVES, Paulo Bayard Dias; BORDIGNON, Vilceu. Homologous recombination and non-homologous end-joining repair pathways in bovine embryos with different developmental competence. **Experimental Cell Research**, vol. 318, no. 16, p. 2049–2058, Oct. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2012.06.003>.

HERRERO, MB; VIGGIANO, JM; PEREZ, Martinez S; DE, Gimeno MF. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on the outcome of in vitro fertilization in the mouse. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 8, no. 2, p. 301, 1996. <https://doi.org/10.1071/RD9960301>.

HESSELS, J.; KINGMA, A. W.; FERWERDA, H.; KEU, J.; VAN DEN BERG, G. A.; MUSKIET, F. A. J. Microbial flora in the gastrointestinal tract abolishes cytostatic effects of α -difluoromethylornithine *in vivo*. **International Journal of Cancer**, vol. 43, no. 6, p. 1155–1164, 15 Jun. 1989. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910430632>.

HIOM, K. Dna repair: Rad52 - the means to an end. **Current biology : CB**, vol. 9, no. 12, p. R446-8, 17 Jun. 1999. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(99\)80278-4](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(99)80278-4).

HOLT, J. E.; JONES, K. T. Control of homologous chromosome division in the mammalian oocyte. **Molecular Human Reproduction**, vol. 15, no. 3, p. 139–147, 1 Mar. 2009. <https://doi.org/10.1093/molehr/gap007>.

HOSOE, M.; SHIOYA, Y. Distribution of cortical granules in bovine oocytes classified by cumulus complex. **Zygote**, vol. 5, no. 4, p. 371–376, 26 Nov. 1997. <https://doi.org/10.1017/S0967199400003956>.

HOSSEINI, Nasrin; KOUROSH-ARAMI, Masoumeh; NADJAFI, Shabnam; ASHTARI, Behnaz. Structure, Distribution, Regulation, and Function of Splice Variant Isoforms of Nitric Oxide Synthase Family in the Nervous System. **Current Protein & Peptide Science**, vol. 23, no. 8, p. 510–534, Aug. 2022. <https://doi.org/10.2174/1389203723666220823151326>.

HSU, Chien-Ning; TAIN, You-Lin. Impact of Arginine Nutrition and Metabolism during Pregnancy on Offspring Outcomes. **Nutrients**, vol. 11, no. 7, p. 1452, 27 Jun. 2019. <https://doi.org/10.3390/nu11071452>.

HUANG, Yi; MARTON, Laurence J; WOSTER, Patrick M; CASERO, Robert A. Polyamine analogues targeting epigenetic gene regulation. **Essays in biochemistry**, vol. 46, p. 95–110, 4 Nov. 2009. <https://doi.org/10.1042/bse0460007>.

HYTTEL, P.; FAIR, T.; CALLESEN, H.; GREVE, T. Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle. **Theriogenology**, vol. 47, no. 1, p. 23–32, Jan. 1997. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(96\)00336-6](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(96)00336-6).

IGARASHI, Kazuei; KASHIWAGI, Keiko. Modulation of cellular function by polyamines. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, vol. 42, no. 1, p. 39–51, Jan. 2010a. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.07.009>.

IGARASHI, Kazuei; KASHIWAGI, Keiko. Modulation of cellular function by polyamines. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, vol. 42, no. 1, p. 39–51, Jan. 2010b. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.07.009>.

IGNARRO, Louis J. **Nitric oxide: biology and pathobiology**. 1st ed. California: Academic Press, 2000.

JABLONKA-SHARIFF, A; OLSON, L M. Nitric oxide is essential for optimal meiotic maturation of murine cumulus-oocyte complexes *in vitro*. **Molecular reproduction and development**, vol. 55, no. 4, p. 412–21, Apr. 2000. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2795\(200004\)55:4<412::AID-MRD9>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2795(200004)55:4<412::AID-MRD9>3.0.CO;2-W).

JABLONKA-SHARIFF, Albina; OLSON, Lisa M. The Role of Nitric Oxide in Oocyte Meiotic Maturation and Ovulation: Meiotic Abnormalities of Endothelial Nitric Oxide Synthase Knock-Out Mouse Oocytes ¹. **Endocrinology**, vol. 139, no. 6, p. 2944–2954, Jun. 1998. <https://doi.org/10.1210/endo.139.6.6054>.

JACKSON, Stephen P.; BARTEK, Jiri. The DNA-damage response in human biology and disease. **Nature**, vol. 461, no. 7267, p. 1071–1078, 22 Oct. 2009. <https://doi.org/10.1038/nature08467>.

JANG, You-Jee; PARK, Jae-Il; MOON, Won-Jin; DAM, Phuong T.M.; CHO, Moon-Kyoung; CHUN, Sang-Young. Cumulus Cell-Expressed Type I Interferons Induce Cumulus Expansion in Mice1. **Biology of Reproduction**, vol. 92, no. 1, 1 Jan. 2015. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.122770>.

JIANG, Dongmei; GUO, Yongni; NIU, Chunyang; LONG, Shiyun; JIANG, Yilong; WANG, Zelong; WANG, Xin; SUN, Qian; LING, Weikang; AN, Xiaoguang; JI, Chengweng; ZHAO, Hua; KANG, Bo. Exploration of the Antioxidant Effect of Spermidine on the Ovary and Screening and Identification of Differentially Expressed Proteins. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 24, no. 6, p. 5793, 17 Mar. 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms24065793>.

JIN, J. X.; LEE, S.; KHOIRINAYA, C.; OH, A.; KIM, G. A.; LEE, B. C. Supplementation with spermine during in vitro maturation of porcine oocytes improves early embryonic development after parthenogenetic activation and somatic cell nuclear transfer1. **Journal of Animal Science**, vol. 94, no. 3, p. 963–970, 1 Mar. 2016. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9761>.

JIN, Zhe-Long; KIM, Nam-Hyung. RAD51 maintains chromosome integrity and mitochondrial distribution during porcine oocyte maturation &in vitro; **Journal of Reproduction and Development**, vol. 63, no. 5, p. 489–496, 2017. <https://doi.org/10.1262/jrd.2017-078>.

JIN, Zhe-Long; SUK, Namgoong; KIM, Nam-Hyung. TP53BP1 regulates chromosome alignment and spindle bipolarity in mouse oocytes. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 86, no. 9, p. 1126–1137, 2 Sep. 2019. <https://doi.org/10.1002/mrd.23228>.

JONES, K. T. Turning it on and off: M-phase promoting factor during meiotic maturation and fertilization. **Molecular Human Reproduction**, vol. 10, no. 1, p. 1–5, 1 Jan. 2004. <https://doi.org/10.1093/molehr/gah009>.

KESHET, Rom; EREZ, Ayelet. Arginine and the metabolic regulation of nitric oxide synthesis in cancer. **Disease Models & Mechanisms**, vol. 11, no. 8, 1 Aug. 2018. <https://doi.org/10.1242/dmm.033332>.

KHAN, FA; CHENIER, TS; FOSTER, RA; HEWSON, J; SCHOLTZ, EL. Endometrial nitric oxide synthase activity in mares susceptible or resistant to persistent breeding-induced endometritis and the effect of a specific *iNOS* inhibitor in vitro. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 53, no. 3, p. 718–724, 14 Jun. 2018. <https://doi.org/10.1111/rda.13162>.

KIRILLOVA, Anastasia; SMITZ, Johan E. J.; SUKHIKH, Gennady T.; MAZUNIN, Ilya. The Role of Mitochondria in Oocyte Maturation. **Cells**, vol. 10, no. 9, p. 2484, 19 Sep. 2021. <https://doi.org/10.3390/cells10092484>.

KRISCHEK, Carsten; MEINECKE, Burkhard. In vitro maturation of bovine oocytes requires polyadenylation of mRNAs coding proteins for chromatin condensation, spindle assembly, MPF and MAP kinase activation. **Animal Reproduction Science**, vol. 73, no. 3–4, p. 129–140, Oct. 2002. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(02\)00131-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00131-8).

KUO, Richard C.; BAXTER, Gregory T.; THOMPSON, Stuart H.; STRICKER, Stephen A.; PATTON, Chris; BONAVENTURA, Joseph; EPEL, David. NO is necessary and sufficient for egg activation at fertilization. **Nature**, vol. 406, no. 6796, p. 633–636, Aug. 2000. <https://doi.org/10.1038/35020577>.

KUSANO, T.; BERBERICH, T.; TATEDA, C.; TAKAHASHI, Y. Polyamines: essential factors for growth and survival. **Planta**, vol. 228, no. 3, p. 367–381, 2 Aug. 2008a. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0772-7>.

KUSANO, T.; BERBERICH, T.; TATEDA, C.; TAKAHASHI, Y. Polyamines: essential factors for growth and survival. **Planta**, vol. 228, no. 3, p. 367–381, 2 Aug. 2008b. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0772-7>.

KWON, Hyukjung; WU, Guoyao; BAZER, Fuller W.; SPENCER, Thomas E. Developmental Changes in Polyamine Levels and Synthesis in the Ovine Conceptus1. **Biology of Reproduction**, vol. 69, no. 5, p. 1626–1634, 1 Nov. 2003. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.019067>.

KWON, N.S.; NATHAN, C.F.; GILKER, C.; GRIFFITH, O.W.; MATTHEWS, D.E.; STUEHR, D.J. L-citrulline production from L-arginine by macrophage nitric oxide synthase. The ureido oxygen derives from dioxygen. **Journal of Biological Chemistry**, vol. 265, no. 23, p. 13442–13445, Aug. 1990. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)77366-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)77366-3).

LAMAS, S; MARSDEN, P A; LI, G K; TEMPST, P; MICHEL, T. Endothelial nitric oxide synthase: molecular cloning and characterization of a distinct constitutive enzyme isoform. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 89, no. 14, p. 6348–6352, 15 Jul. 1992. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.14.6348>.

LANCELLOTTI SCHWARZ, Kátia R.; LISBOA PIRES, Pedro R.; MESQUITA, Ligia Garcia; CHIARATTI, Marcos R.; VERDE LEAL, Cláudia Lima. Effect of nitric oxide on the cyclic guanosine monophosphate (cGMP) pathway during meiosis resumption in bovine oocytes. **Theriogenology**, vol. 81, no. 4, p. 556–564, Mar. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.11.008>.

LANE, Simon I. R.; MORGAN, Stephanie L.; WU, Tianyu; COLLINS, Josie K.; MERRIMAN, Julie A.; ELINATI, Elias; TURNER, James M.; JONES, Keith T. DNA damage induces a kinetochore-based ATM/ATR-independent SAC arrest unique to the first meiotic division in mouse oocytes. **Development**, 1 Jan. 2017. <https://doi.org/10.1242/dev.153965>.

LARQUÉ, Elvira; SABATER-MOLINA, María; ZAMORA, Salvador. Biological significance of dietary polyamines. **Nutrition**, vol. 23, no. 1, p. 87–95, Jan. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2006.09.006>.

LASSALA, Arantzazu; BAZER, Fuller W.; CUDD, Timothy A.; DATTA, Sujay; KEISLER, Duane H.; SATTERFIELD, M. Carey; SPENCER, Thomas E.; WU, Guoyao. Parenteral Administration of L-Arginine Enhances Fetal Survival and Growth in Sheep Carrying Multiple Fetuses1–3. **The Journal of Nutrition**, vol. 141, no. 5, p. 849–855, May 2011. <https://doi.org/10.3945/jn.111.138172>.

LEAL, A.C.M.S.; CALDAS-BUSSIÉRE, M.C.; CARVALHO, C.S. Paes de; VIANA, K.S.; QUIRINO, C.R. Role of nitric oxide on quality of freshly ejaculated bull spermatozoa during heparin-induced in vitro capacitation. **Animal Reproduction Science**, vol. 116, no. 1–2, p. 38–49, Nov. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.12.020>.

LEE, Chih-Ying; SU, Guan-Chin; HUANG, Wen-Yen; KO, Min-Yu; YEH, Hsin-Yi; CHANG, Geen-Dong; LIN, Sung-Jan; CHI, Peter. Promotion of homology-directed DNA repair by polyamines. **Nature Communications**, vol. 10, no. 1, p. 65, 8 Jan. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-08011-1>.

LEE, J.H.; LEE, E.; BISWAS, D.; JEUNG, C.S.; LEE, G.S.; HYUN, S.H.; JEUNG, E.B. Amphiregulin promotes the proliferation of trophoblast cells during preimplantation development of porcine embryos. **Theriogenology**, vol. 72, no. 8, p. 1023–1031, Nov. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.05.021>.

LEE, Tsung-Hsien; LEE, Maw-Sheng; HUANG, Chun-Chia; TSAO, Hui-Mei; LIN, Pi-Mei; HO, Hong-Nerng; SHEW, Jin-Yuh; YANG, Yu-Shih. Nitric oxide modulates mitochondrial activity and apoptosis through protein S-nitrosylation for preimplantation embryo development. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 30, no. 8, p. 1063–1072, 6 Aug. 2013. <https://doi.org/10.1007/s10815-013-0045-7>.

LEFÈVRE, Pavine L. C.; PALIN, Marie-France; MURPHY, Bruce D. Polyamines on the Reproductive Landscape. **Endocrine Reviews**, vol. 32, no. 5, p. 694–712, 1 Oct. 2011. <https://doi.org/10.1210/er.2011-0012>.

LEI, Tiantian; DU, Suyu; PENG, Zhe; CHEN, Lin. Multifaceted regulation and functions of 53BP1 in NHEJ-mediated DSB repair (Review). **International Journal of Molecular Medicine**, vol. 50, no. 1, p. 90, 16 May 2022. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2022.5145>.

LENIS, Yasser Y.; ELMETWALLY, Mohammed A.; MALDONADO-ESTRADA, Juan G.; BAZER, Fuller W. Physiological importance of polyamines. **Zygote**, vol. 25, no. 3, p. 244–255, 7 Jun. 2017. <https://doi.org/10.1017/S0967199417000120>.

LERIN, Joviana; ARAGÃO, Victor Paulo Mesquita; REIS, Ricardo Souza; SILVEIRA, Vanildo; SANTA-CATARINA, Claudete. Proteomic profile and polyamine contents are modulated by light source to promote in vitro shoot development in *Cariniana legalis* (Martius) O. Kuntze (Lecythidaceae). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, vol. 137, no. 2, p. 329–342, 12 May 2019. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01574-x>.

LI, H.J.; LIU, D.J.; CANG, M.; WANG, L.M.; JIN, M.Z.; MA, Y.Z.; SHORGAN, B. Early apoptosis is associated with improved developmental potential in bovine oocytes. **Animal Reproduction Science**, vol. 114, no. 1–3, p. 89–98, Aug. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.09.018>.

LI, H.-J.; WANG, C.-Y.; MI, Y.; DU, C.-G.; CAO, G.-F.; SUN, X.-C.; LIU, D.-J.; SHORGAN, B. FasL-induced apoptosis in bovine oocytes via the Bax signal. **Theriogenology**, vol. 80, no. 3, p. 248–255, Aug. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.04.002>.

LI, Xilong; BAZER, Fuller W.; JOHNSON, Gregory A.; BURGHARDT, Robert C.; ERIKSON, David W.; FRANK, James W.; SPENCER, Thomas E.; SHINZATO, Izuru; WU, Guoyao. Dietary Supplementation with 0.8% L-Arginine between Days 0 and 25 of Gestation Reduces Litter Size in Gilts. **The Journal of Nutrition**, vol. 140, no. 6, p. 1111–1116, Jun. 2010. <https://doi.org/10.3945/jn.110.121350>.

LI, Xilong; BAZER, Fuller W.; JOHNSON, Gregory A.; BURGHARDT, Robert C.; FRANK, James W.; DAI, Zhaolai; WANG, Junjun; WU, Zhenlong; SHINZATO, Izuru; WU, Guoyao. Dietary supplementation with l-arginine between days 14 and 25 of gestation enhances embryonic development and survival in gilts. **Amino Acids**, vol. 46, no. 2, p. 375–384, 13 Feb. 2014. <https://doi.org/10.1007/s00726-013-1626-6>.

LIN, Jing; WANG, Ling. Oxidative Stress in Oocytes and Embryo Development: Implications for *In Vitro* Systems. **Antioxidants & Redox Signaling**, vol. 34, no. 17, p. 1394–1406, 10 Jun. 2021. <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8209>.

LIN, Tao; SUN, Ling; LEE, Jae Eun; KIM, So Yeon; JIN, Dong Il. DNA damage repair is suppressed in porcine aged oocytes. **Journal of animal science and technology**, vol. 63, no. 5, p. 984–997, Sep. 2021. <https://doi.org/10.5187/jast.2021.e90>.

LIND, Maggie; HAYES, Alan; CAPRNDA, Martin; PETROVIC, Daniel; RODRIGO, Luis; KRUZLIAK, Peter; ZULLI, Anthony. Inducible nitric oxide synthase: Good or bad? **Biomedicine & Pharmacotherapy**, vol. 93, p. 370–375, Sep. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.06.036>.

LINDAHL, T.; BARNES, D.E. Repair of Endogenous DNA Damage. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, vol. 65, no. 0, p. 127–134, 1 Jan. 2000. <https://doi.org/10.1101/sqb.2000.65.127>.

LIU, Dandan; MO, Guolong; TAO, Yong; WANG, Hongmei; LIU, X. John . Putrescine supplementation during in vitro maturation of aged mouse oocytes improves the quality of blastocysts. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 29, no. 7, p. 1392, 2017. <https://doi.org/10.1071/RD16061>.

LIU, Min. The biology and dynamics of mammalian cortical granules. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 9, no. 1, p. 149, 2011. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-149>.

LIVIGNI, Alessandra; BRICKMAN, Joshua M. Oct4: The Final Frontier, Differentiation Defining Pluripotency. **Developmental Cell**, vol. 25, no. 6, p. 547–548, Jun. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.06.002>.

LODDE, Valentina; FRANCIOSI, Federica; TESSARO, Irene; MODINA, Silvia C.; LUCIANO, Alberto M. Role of gap junction-mediated communications in regulating large-scale chromatin configuration remodeling and embryonic developmental competence acquisition in fully grown bovine oocyte. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 30, no. 9, p. 1219–1226, 24 Sep. 2013. <https://doi.org/10.1007/s10815-013-0061-7>.

LODDE, Valentina; MODINA, Silvia; GALBUSERA, Cristina; FRANCIOSI, Federica; LUCIANO, Alberto M. Large-scale chromatin remodeling in germinal vesicle bovine oocytes: Interplay with gap junction functionality and developmental competence. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 74, no. 6, p. 740–749, 30 Jun. 2007. <https://doi.org/10.1002/mrd.20639>.

LODDE, Valentina; MODINA, Silvia; MADDOX-HYTTEL, Poul; FRANCIOSI, Federica; LAURIA, Antonio; LUCIANO, Alberto M. Oocyte morphology and transcriptional silencing in relation to chromatin remodeling during the final phases of bovine oocyte growth. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 75, no. 5, p. 915–924, 18 May 2008. <https://doi.org/10.1002/mrd.20824>.

LONERGAN, Patrick; FAIR, Trudee. Maturation of Oocytes in Vitro. **Annual Review of Animal Biosciences**, vol. 4, no. 1, p. 255–268, 15 Feb. 2016. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022114-110822>.

LUCIANO, Alberto M.; FRANCIOSI, Federica; MODINA, Silvia C.; LODDE, Valentina. Gap Junction-Mediated Communications Regulate Chromatin Remodeling During Bovine Oocyte Growth

and Differentiation Through cAMP-Dependent Mechanism(s)1. **Biology of Reproduction**, vol. 85, no. 6, p. 1252–1259, 1 Dec. 2011. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.111.092858>.

LUCIANO, Alberto Maria; SIRARD, Marc-André. Successful in vitro maturation of oocytes: a matter of follicular differentiation. **Biology of Reproduction**, vol. 98, no. 2, p. 162–169, 1 Feb. 2018. <https://doi.org/10.1093/biolre/iox149>.

MACAULAY, Angus D.; GILBERT, Isabelle; CABALLERO, Julieta; BARRETO, Rodrigo; FOURNIER, Eric; TOSSOU, Prudencio; SIRARD, Marc-André; CLARKE, Hugh J.; KHANDJIAN, Édouard W.; RICHARD, Francois J.; HYTTEL, Poul; ROBERT, Claude. The Gametic Synapse: RNA Transfer to the Bovine Oocyte1. **Biology of Reproduction**, vol. 91, no. 4, 1 Oct. 2014. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.119867>.

MACHADO, Lucas Simões; BORGES, Camila Martins; DE LIMA, Marina Amaro; SANGALLI, Juliano Rodrigues; THERRIEN, Jacinthe; PESSÔA, Laís Vicari de Figueiredo; FANTINATO NETO, Paulo; PERECIN, Felipe; SMITH, Lawrence Charles; MEIRELLES, Flavio Vieira; BRESSAN, Fabiana Fernandes. Exogenous OCT4 and SOX2 Contribution to In Vitro Reprogramming in Cattle. **Biomedicines**, vol. 11, no. 9, p. 2577, 19 Sep. 2023a. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11092577>.

MACHADO, Lucas Simões; BORGES, Camila Martins; DE LIMA, Marina Amaro; SANGALLI, Juliano Rodrigues; THERRIEN, Jacinthe; PESSÔA, Laís Vicari de Figueiredo; FANTINATO NETO, Paulo; PERECIN, Felipe; SMITH, Lawrence Charles; MEIRELLES, Flavio Vieira; BRESSAN, Fabiana Fernandes. Exogenous OCT4 and SOX2 Contribution to In Vitro Reprogramming in Cattle. **Biomedicines**, vol. 11, no. 9, p. 2577, 19 Sep. 2023b. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11092577>.

MACIEL, V.L.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; SILVEIRA, V.; REIS, R.S.; RIOS, A.F.L.; PAES DE CARVALHO, C.S. l-arginine alters the proteome of frozen-thawed bovine sperm during in vitro capacitation. **Theriogenology**, vol. 119, p. 1–9, Oct. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.06.018>.

MADDOX, Amy Shaub; AZOURY, Jessica; DUMONT, Julien. Polar body cytokinesis. **Cytoskeleton**, vol. 69, no. 11, p. 855–868, Nov. 2012. <https://doi.org/10.1002/cm.21064>.

MALACARIA, Eva; HONDA, Masayoshi; FRANCHITTO, Annapaola; SPIES, Maria; PICHIERRI, Pietro. Physiological and Pathological Roles of RAD52 at DNA Replication Forks. **Cancers**, vol. 12, no. 2, p. 402, 10 Feb. 2020. <https://doi.org/10.3390/cancers12020402>.

MAO, Luna; LOU, Hangying; LOU, Yiyun; WANG, Ning; JIN, Fan. Behaviour of cytoplasmic organelles and cytoskeleton during oocyte maturation. **Reproductive BioMedicine Online**, vol. 28, no. 3, p. 284–299, Mar. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.10.016>.

MARANGOS, Petros; CARROLL, John. Oocytes Progress beyond Prophase in the Presence of DNA Damage. **Current Biology**, vol. 22, no. 11, p. 989–994, Jun. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.03.063>.

MARQUES, TC; DA SILVA SANTOS, EC; DIESEL, TO; LEME, LO; MARTINS, CF; DODE, MAN; ALVES, BG; COSTA, FPH; DE OLIVEIRA, EB; GAMBARINI, ML. Melatonin reduces apoptotic cells, <scp>SOD</scp> 2 and <scp>HSPB</scp> 1 and improves the in vitro production and quality of bovine blastocysts. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 53, no. 1, p. 226–236, 3 Feb. 2018. <https://doi.org/10.1111/rda.13097>.

MARTIN, Jacinta H.; BROMFIELD, Elizabeth G.; AITKEN, R. John; LORD, Tessa; NIXON, Brett. Double Strand Break DNA Repair occurs via Non-Homologous End-Joining in Mouse MII Oocytes. **Scientific Reports**, vol. 8, no. 1, p. 9685, 26 Jun. 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27892-2>.

MASUI, Shinji; NAKATAKE, Yuhki; TOYOOKA, Yayoi; SHIMOSATO, Daisuke; YAGI, Rika; TAKAHASHI, Kazue; OKOCHI, Hitoshi; OKUDA, Akihiko; MATOBA, Ryo; SHAROV, Alexei A.; KO, Minoru S. H.; NIWA, Hitoshi. Pluripotency governed by Sox2 via regulation of Oct3/4 expression in mouse embryonic stem cells. **Nature Cell Biology**, vol. 9, no. 6, p. 625–635, 21 Jun. 2007. <https://doi.org/10.1038/ncb1589>.

MASUI, Yoshio; CLARKE, Hugh J. Oocyte Maturation. [*S. l.: s. n.*], 1979. p. 185–282. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)61464-3](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)61464-3).

MATEO, Ronaldo D.; WU, Guoyao; BAZER, Fuller W.; PARK, Jun C.; SHINZATO, Izuru; KIM, Sung Woo. Dietary l-Arginine Supplementation Enhances the Reproductive Performance of Gilts. **The Journal of Nutrition**, vol. 137, no. 3, p. 652–656, Mar. 2007. <https://doi.org/10.1093/jn/137.3.652>.

MATTA, S.G.C.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; VIANA, K.S.; FAES, M.R.; PAES DE CARVALHO, C.S.; DIAS, B.L.; QUIRINO, C.R. Effect of inhibition of synthesis of inducible nitric oxide synthase-derived nitric oxide by aminoguanidine on the in vitro maturation of oocyte–cumulus complexes of cattle. **Animal Reproduction Science**, vol. 111, no. 2–4, p. 189–201, Apr. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.03.002>.

MCKEEGAN, Paul J.; BOARDMAN, Selina F.; WANLESS, Amy A.; BOYD, Grace; WARWICK, Laura J.; LU, Jianping; GNANAPRABHA, Keerthi; PICTON, Helen M. Intracellular oxygen metabolism during bovine oocyte and preimplantation embryo development. **Scientific Reports**, vol. 11, no. 1, p. 21245, 28 Oct. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99512-5>.

MCKNIGHT, Jason R.; SATTERFIELD, M. Carey; JOBGEN, Wenjuan S.; SMITH, Stephen B.; SPENCER, Thomas E.; MEININGER, Cynthia J.; MCNEAL, Catherine J.; WU, Guoyao. Beneficial effects of l-arginine on reducing obesity: potential mechanisms and important implications for human health. **Amino Acids**, vol. 39, no. 2, p. 349–357, 1 Jul. 2010. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0598-z>.

MEHLMANN, Lisa M. Stops and starts in mammalian oocytes: recent advances in understanding the regulation of meiotic arrest and oocyte maturation. **Reproduction**, vol. 130, no. 6, p. 791–799, Dec. 2005. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00793>.

MEULDERS, Ben; MAREI, Waleed F. A.; XHONNEUX, Inne; BOLS, Peter E. J.; LEROY, Jo L. M. R. Effect of lipotoxicity on mitochondrial function and epigenetic programming during bovine in vitro embryo production. **Scientific Reports**, vol. 13, no. 1, p. 21664, 8 Dec. 2023. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49184-0>.

MITCHELL, L. M. Expression of nitric oxide synthase and effect of substrate manipulation of the nitric oxide pathway in mouse ovarian follicles. **Human Reproduction**, vol. 19, no. 1, p. 30–40, 1 Jan. 2004. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh032>.

MITRA, Jayashree; SCHULTZ, Richard M. Regulation of the acquisition of meiotic competence in the mouse: Changes in the subcellular localization of cdc2, cyclin B1, cdc25C and weel, and in the concentration of these proteins and their transcripts. **Journal of Cell Science**, vol. 109, no. 9, p. 2407–2415, 1 Sep. 1996. <https://doi.org/10.1242/jcs.109.9.2407>.

MITSUI, Kaoru; TOKUZAWA, Yoshimi; ITOH, Hiroaki; SEGAWA, Kohichi; MURAKAMI, Mirei; TAKAHASHI, Kazutoshi; MARUYAMA, Masayoshi; MAEDA, Mitsuyo; YAMANAKA, Shinya. The Homeoprotein Nanog Is Required for Maintenance of Pluripotency in Mouse Epiblast and ES Cells. *Cell*, vol. 113, no. 5, p. 631–642, May 2003. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00393-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00393-3).

MOGHADAM, Ali Reza Eftekhari; MOGHADAM, Mahin Taheri; HEMADI, Masoud; SAKI, Ghasem. Oocyte quality and aging. *JBRA Assisted Reproduction*, 2021. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20210026>.

MOINARD, C; CYNOBER, L; DEBANDT, J. Polyamines: metabolism and implications in human diseases. *Clinical Nutrition*, vol. 24, no. 2, p. 184–197, Apr. 2005. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.11.001>.

MONCADA, S; PALMER, R M; HIGGS, E A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological reviews*, vol. 43, no. 2, p. 109–42, Jun. 1991. .

MUNGRUE, I. N.; BREDT, D. S.; STEWART, D. J.; HUSAIN, M. From molecules to mammals: what's NOS got to do with it? *Acta Physiologica Scandinavica*, vol. 179, no. 2, p. 123–135, 19 Oct. 2003. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2003.01182.x>.

NADDAPPOUR, Azadeh; GHAZVINI ZADEGAN, Faezeh; HAJIAN, Mehdi; HOSSEINI, Sayyed Morteza; JAFARPOUR, Farnoosh; RAHIMI, Mohsen; HABIBI, Razieh; NASR ESFAHANI, Mohammad Hossein. Effects of abundances of OCT-4 mRNA transcript on goat pre-implantation embryonic development. *Animal Reproduction Science*, vol. 215, p. 106286, Apr. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106286>.

NASHUN, Buhe; YUKAWA, Masashi; LIU, Honglin; AKIYAMA, Tomohiko; AOKI, Fugaku. Changes in the nuclear deposition of histone H2A variants during pre-implantation development in mice. *Development*, vol. 137, no. 22, p. 3785–3794, 15 Nov. 2010. <https://doi.org/10.1242/dev.051805>.

NATHAN, Carl; XIE, Qiao-wen. Nitric oxide synthases: Roles, tolls, and controls. *Cell*, vol. 78, no. 6, p. 915–918, Sep. 1994. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90266-6](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90266-6).

NELISSEN, Ewka C.M.; DUMOULIN, John C.M.; BUSATO, Florence; PONGER, Loïc; EIJSSEN, Lars M.; EVERS, Johannes L.H.; TOST, Jörg; VAN MONTFOORT, Aafke P.A. Altered gene expression in human placentas after IVF/ICSI. *Human Reproduction*, vol. 29, no. 12, p. 2821–2831, Dec. 2014. <https://doi.org/10.1093/humrep/deu241>.

NERI, Simona; MARIANI, Erminia; MENEGHETTI, Alessandra; CATTINI, Luca; FACCHINI, Andrea. Calcein-Acetyoxymethyl Cytotoxicity Assay: Standardization of a Method Allowing Additional Analyses on Recovered Effector Cells and Supernatants. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*, vol. 8, no. 6, p. 1131–1135, Nov. 2001. <https://doi.org/10.1128/CDLI.8.6.1131-1135.2001>.

NIIDA, Hiroyuki; NAKANISHI, Makoto. DNA damage checkpoints in mammals. *Mutagenesis*, vol. 21, no. 1, p. 3–9, 1 Jan. 2006. <https://doi.org/10.1093/mutage/gei063>.

NIU, Chunyang; JIANG, Dongmei; GUO, Yongni; WANG, Zelong; SUN, Qian; WANG, Xin; LING, Weikang; AN, Xiaoguang; JI, Chengweng; LI, Shuo; ZHAO, Hua; KANG, Bo. Spermidine suppresses oxidative stress and ferroptosis by Nrf2/HO-1/GPX4 and Akt/FHC/ACSL4 pathway to alleviate ovarian damage. *Life Sciences*, vol. 332, p. 122109, Nov. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.122109>.

NIU, Chunyang; ZHANG, Sujuan; MO, Guilin; JIANG, Yilong; LI, Liang; XU, Hengyong; HAN, Chunchun; ZHAO, Hua; YAN, Yanhong; HU, Shenqiang; HU, Jiwei; KANG, Bo; JIANG, Dongmei. Effects of ODC on polyamine metabolism, hormone levels, cell proliferation and apoptosis in goose ovarian granulosa cells. **Poultry Science**, vol. 100, no. 8, p. 101226, Aug. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101226>.

OFLAHERTY, C; RODRIGUEZ, P; SRIVASTAVA, S. -Arginine promotes capacitation and acrosome reaction in cryopreserved bovine spermatozoa. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, vol. 1674, no. 2, p. 215–221, 24 Sep. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2004.06.020>.

OSBORNE, H. Beverley; MULNER-LORILLON, Odile; MAROT, Jean; BELLE, Robert. Polyamine levels during *Xenopus laevis* oogenesis: A role in oocyte competence to meiotic resumption. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, vol. 158, no. 2, p. 520–526, Jan. 1989. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(89\)80080-4](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(89)80080-4).

OTOI, T.; YAMAMOTO, K.; KOYAMA, N.; TACHIKAWA, S.; SUZUKI, T. Bovine oocyte diameter in relation to developmental competence. **Theriogenology**, vol. 48, no. 5, p. 769–774, Oct. 1997. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(97\)00300-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00300-2).

PAILAS, Alexandros; NIAKA, Konstantina; ZORZOMPOKOU, Chrysoula; MARANGOS, Petros. The DNA Damage Response in Fully Grown Mammalian Oocytes. **Cells**, vol. 11, no. 5, p. 798, 24 Feb. 2022. <https://doi.org/10.3390/cells11050798>.

PAN, Bo; LI, Julang. The art of oocyte meiotic arrest regulation. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 17, no. 1, p. 8, 5 Dec. 2019. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0445-8>.

PANG, Yun-Wei; SUN, Ye-Qing; SUN, Wei-Jun; DU, Wei-Hua; HAO, Hai-Sheng; ZHAO, Shan-Jiang; ZHU, Hua-Bin. Melatonin inhibits paraquat-induced cell death in bovine preimplantation embryos. **Journal of Pineal Research**, vol. 60, no. 2, p. 155–166, Mar. 2016. <https://doi.org/10.1111/jpi.12297>.

PAULL, Tanya T; ROGAKOU, Emmy P; YAMAZAKI, Vikky; KIRCHGESSNER, Cordula U; GELLERT, Martin; BONNER, William M. A critical role for histone H2AX in recruitment of repair factors to nuclear foci after DNA damage. **Current Biology**, vol. 10, no. 15, p. 886–895, Aug. 2000. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(00\)00610-2](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(00)00610-2).

PEI, Zhenle; DENG, Ke; XU, Congjian; ZHANG, Shuo. The molecular regulatory mechanisms of meiotic arrest and resumption in Oocyte development and maturation. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 21, no. 1, p. 90, 2 Oct. 2023. <https://doi.org/10.1186/s12958-023-01143-0>.

PIRES, P.R.L.; SANTOS, N.P.; ADONA, P.R.; NATORI, M.M.; SCHWARZ, K.R.L.; DE BEM, T.H.C.; LEAL, C.L.V. Endothelial and inducible nitric oxide synthases in oocytes of cattle. **Animal Reproduction Science**, vol. 116, no. 3–4, p. 233–243, Dec. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.02.019>.

PODEROSO, Juan José; HELFENBERGER, Katia; PODEROSO, Cecilia. The effect of nitric oxide on mitochondrial respiration. **Nitric Oxide**, vol. 88, p. 61–72, Jul. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.04.005>.

POPOLO, Ada; ADESSO, Simona; PINTO, Aldo; AUTORE, Giuseppina; MARZOCCO, Stefania. l-Arginine and its metabolites in kidney and cardiovascular disease. **Amino Acids**, vol. 46, no. 10, p. 2271–2286, 27 Oct. 2014. <https://doi.org/10.1007/s00726-014-1825-9>.

PRETHEEBAN, T.; GORDON, M.; SINGH, R.; PERERA, R.; RAJAMAHENDRAN, R. Differential mRNA expression in in vivo produced pre-implantation embryos of dairy heifers and mature cows. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 76, no. 12, p. 1165–1172, 31 Dec. 2009. <https://doi.org/10.1002/mrd.21084>.

RAPPOLD, Irene; IWABUCHI, Kuniyoshi; DATE, Takayasu; CHEN, Junjie. Tumor Suppressor P53 Binding Protein 1 (53bp1) Is Involved in DNA Damage–Signaling Pathways. **The Journal of Cell Biology**, vol. 153, no. 3, p. 613–620, 30 Apr. 2001a. <https://doi.org/10.1083/jcb.153.3.613>.

RAPPOLD, Irene; IWABUCHI, Kuniyoshi; DATE, Takayasu; CHEN, Junjie. Tumor Suppressor P53 Binding Protein 1 (53bp1) Is Involved in DNA Damage–Signaling Pathways. **The Journal of Cell Biology**, vol. 153, no. 3, p. 613–620, 30 Apr. 2001b. <https://doi.org/10.1083/jcb.153.3.613>.

REINHARDT, H. Christian; YAFFE, Michael B. Phospho-Ser/Thr-binding domains: navigating the cell cycle and DNA damage response. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, vol. 14, no. 9, p. 563–580, 23 Sep. 2013. <https://doi.org/10.1038/nrm3640>.

RICHANI, Dulama; DUNNING, Kylie R; THOMPSON, Jeremy G; GILCHRIST, Robert B. Metabolic co-dependence of the oocyte and cumulus cells: essential role in determining oocyte developmental competence. **Human Reproduction Update**, vol. 27, no. 1, p. 27–47, 4 Jan. 2021. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa043>.

RICHARD, F. J. Effects of follicular cells on oocyte maturation. I: Effects of follicular hemisections on bovine oocyte maturation in vitro. **Biology of Reproduction**, vol. 54, no. 1, p. 16–21, 1 Jan. 1996. <https://doi.org/10.1095/biolreprod54.1.16>.

RODRIGUES-KRAUSE, Josianne; KRAUSE, Mauricio; ROCHA, Ilanna; UMPIERRE, Daniel; FAYH, Ana. Association of l-Arginine Supplementation with Markers of Endothelial Function in Patients with Cardiovascular or Metabolic Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, vol. 11, no. 1, p. 15, 20 Dec. 2018. <https://doi.org/10.3390/nu11010015>.

RODRIGUEZ, Karina F; FARIN, Charlotte E. Gene transcription and regulation of oocyte maturation. **Reproduction, fertility, and development**, vol. 16, no. 1–2, p. 55–67, 2004. <https://doi.org/10.10371/RD03078>.

RODRIGUEZ, P.C.; O'FLAHERTY, C.M.; BECONI, M.T.; BEORLEGUI, N.B. Nitric oxide-induced capacitation of cryopreserved bull spermatozoa and assessment of participating regulatory pathways. **Animal Reproduction Science**, vol. 85, no. 3–4, p. 231–242, Feb. 2005. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.05.018>.

RODRÍGUEZ-ALVAREZ, Lleretny; COX, José; TOVAR, Heribelt; EINSPANIER, Ralf; CASTRO, Fidel Ovidio. Changes in the expression of pluripotency-associated genes during preimplantation and peri-implantation stages in bovine cloned and *in vitro* produced embryos. **Zygote**, vol. 18, no. 3, p. 269–279, 30 Aug. 2010. <https://doi.org/10.1017/S0967199409990323>.

RODRÍGUEZ-ALVAREZ, Lleretny; SHARBATI, Jutta; SHARBATI, Soroush; COX, José Francisco; EINSPANIER, Ralf; CASTRO, Fidel Ovidio. Differential gene expression in bovine elongated (Day

17) embryos produced by somatic cell nucleus transfer and in vitro fertilization. **Theriogenology**, vol. 74, no. 1, p. 45–59, Jul. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.12.018>.

RODRÍGUEZ-PÁEZ, Lorena; AGUIRRE-ALVARADO, Charmina; CHAMORRO-CEVALLOS, Germán; VERONICA, Alcántara-Farfán; SANDRA IREL, Calderón-Espinosa; HUGO, Castillo-Pérez; GARCÍA-PÉREZ, Carlos Armando; JIMÉNEZ-GUTIÉRREZ, Guadalupe Elizabeth; CORDERO-MARTÍNEZ, Joaquín. Polyamines modulate mouse sperm motility. **Systems Biology in Reproductive Medicine**, vol. 69, no. 6, p. 435–449, 2 Nov. 2023. <https://doi.org/10.1080/19396368.2023.2262714>.

RODRÍGUEZ-PÁEZ, Lorena; AGUIRRE-ALVARADO, Charmina; OVIEDO, Norma; ALCÁNTARA-FARFÁN, Verónica; LARA-RAMÍREZ, Edgar E.; JIMENEZ-GUTIERREZ, Guadalupe Elizabeth; CORDERO-MARTÍNEZ, Joaquín. Polyamines Influence Mouse Sperm Channels Activity. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 22, no. 1, p. 441, 4 Jan. 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22010441>.

ROELES, Johannes; TSIAVALIARIS, Georgios. Actin-microtubule interplay coordinates spindle assembly in human oocytes. **Nature Communications**, vol. 10, no. 1, p. 4651, 11 Oct. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12674-9>.

ROMERO-AGUIRREGOMEZCORTA, Jon; SANTA, Ángela Patricia; GARCÍA-VÁZQUEZ, Francisco Alberto; COY, Pilar; MATÁS, Carmen. Nitric Oxide Synthase (NOS) Inhibition during Porcine In Vitro Maturation Modifies Oocyte Protein S-Nitrosylation and In Vitro Fertilization. **PLoS ONE**, vol. 9, no. 12, p. e115044, 26 Dec. 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115044>.

ROSSI, Meghan J; PEKKURNAZ, Gulcin. Powerhouse of the mind: mitochondrial plasticity at the synapse. **Current Opinion in Neurobiology**, vol. 57, p. 149–155, Aug. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2019.02.001>.

ROSTAMZADEH, Ayoob; AHMADI, Reza; HEYDARI, Mahdi; RAOOFI, Amir. Effects of nitric oxide on reproductive organs and related physiological processes. **Asian Pacific Journal of Reproduction**, vol. 9, no. 4, p. 159, 2020. <https://doi.org/10.4103/2305-0500.288583>.

ROVANI, Bruno Tomazele; RISSI, Vitor Braga; ROVANI, Monique Tomazele; GASPERIN, Bernardo Garziera; BAUMHARDT, Tadeu; BORDIGNON, Vilceu; BAUERMANN, Liliane de Freitas; MISSIO, Daniele; GONÇALVES, Paulo Bayard Dias. Analysis of nuclear maturation, DNA damage and repair gene expression of bovine oocyte and cumulus cells submitted to ionizing radiation. **Animal Reproduction**, vol. 20, no. 2, 2023. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-ar2023-0021>.

ROY, S. C.; ATREJA, S. K. Tyrosine phosphorylation of a 38-kDa capacitation-associated buffalo (*Bubalus bubalis*) sperm protein is induced by L-arginine and regulated through a cAMP/PKA-independent pathway. **International Journal of Andrology**, vol. 31, no. 1, p. 12–24, 9 Feb. 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2007.00745.x>.

RUCKER, Edmund B.; DIERISSEAU, Patricia; WAGNER, Kay-Uwe; GARRETT, Lisa; WYNshaw-BORIS, Anthony; FLAWS, Jodi A.; HENNIGHAUSEN, Lothar. Bcl-x and Bax Regulate Mouse Primordial Germ Cell Survival and Apoptosis during Embryogenesis. **Molecular Endocrinology**, vol. 14, no. 7, p. 1038–1052, 1 Jul. 2000. <https://doi.org/10.1210/mend.14.7.0465>.

RUIZ DE CHÁVEZ, Julio Agustín; GUZMÁN, Adrian; ZAMORA-GUTIÉRREZ, Diana; MENDOZA, Germán David; MELGOZA, Luz María; MONTES, Sergio; ROSALES-TORRES, Ana María. Supplementation with rumen-protected L-arginine-HCl increased fertility in sheep with synchronized

estrus. **Tropical Animal Health and Production**, vol. 47, no. 6, p. 1067–1073, 20 Aug. 2015. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0833-4>.

RUIZ-HERRERA, Aurora; GARCIA, Francisca; GARCIA-CALDÉS, Montserrat. Radiobiology and Reproduction—What Can We Learn from Mammalian Females? **Genes**, vol. 3, no. 3, p. 521–544, 27 Aug. 2012. <https://doi.org/10.3390/genes3030521>.

SALIMOV, Daniil; LISOVSKAYA, Tatiana; OTSUKI, Junko; GZGZYAN, Alexandre; BOGOLYUBOVA, Irina; BOGOLYUBOV, Dmitry. Chromatin Morphology in Human Germinal Vesicle Oocytes and Their Competence to Mature in Stimulated Cycles. **Cells**, vol. 12, no. 15, p. 1976, 31 Jul. 2023. <https://doi.org/10.3390/cells12151976>.

SANCAR, Aziz; LINDSEY-BOLTZ, Laura A.; ÜNSAL-KAÇMAZ, Keziban; LINN, Stuart. Molecular Mechanisms of Mammalian DNA Repair and the DNA Damage Checkpoints. **Annual Review of Biochemistry**, vol. 73, no. 1, p. 39–85, Jun. 2004. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.73.011303.073723>.

SANTA-CATARINA, Claudete; SILVEIRA, Vanildo; BALBUENA, Tiago S.; VIANA, Ana Maria; ESTELITA, Maria Emilia M.; HANDRO, Walter; FLOH, Eny I. S. IAA, ABA, polyamines and free amino acids associated with zygotic embryo development of *Ocotea catharinensis*. **Plant Growth Regulation**, vol. 49, no. 2–3, p. 237–247, 20 Nov. 2006. <https://doi.org/10.1007/s10725-006-9129-z>.

SANTANA, Priscila P.B.; DA SILVA, Bruno B.; SILVA, Thiago V.G.; COSTA, Nathalia N.; CORDEIRO, Marcela S.; SANTOS, Simone S.D.; OHASHI, Otávio M.; MIRANDA, Moysés S. Addition of L-arginine to the fertilization medium enhances subsequent bovine embryo development rates. **Theriogenology**, vol. 85, no. 6, p. 1132–1138, Apr. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.11.027>.

SAVA, Irina G.; BATTAGLIA, Valentina; ROSSI, Carlo A.; SALVI, Mauro; TONINELLO, Antonio. Free radical scavenging action of the natural polyamine spermine in rat liver mitochondria. **Free Radical Biology and Medicine**, vol. 41, no. 8, p. 1272–1281, Oct. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.07.008>.

SCHMIDT, Harald H.H.W.; WALTER, Ulrich. NO at work. **Cell**, vol. 78, no. 6, p. 919–925, Sep. 1994. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90267-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90267-4).

SCHULTZ, Linda B.; CHEHAB, Nabil H.; MALIKZAY, Asra; HALAZONETIS, Thanos D. P53 Binding Protein 1 (53bp1) Is an Early Participant in the Cellular Response to DNA Double-Strand Breaks. **The Journal of Cell Biology**, vol. 151, no. 7, p. 1381–1390, 25 Dec. 2000. <https://doi.org/10.1083/jcb.151.7.1381>.

SCHWARZ, KRL; PIRES, PRL; DE BEM, THC; ADONA, PR; LEAL, CLV. Consequences of Nitric Oxide Synthase Inhibition During Bovine Oocyte Maturation on Meiosis and Embryo Development. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 45, no. 1, p. 75–80, 20 Feb. 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01242.x>.

SCIORIO, Romualdo; MIRANIAN, Daniel; SMITH, Gary D. Non-invasive oocyte quality assessment. **Biology of Reproduction**, vol. 106, no. 2, p. 274–290, 22 Feb. 2022. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioac009>.

SEILER, Nikolaus; RAUL, Francis. Polyamines and apoptosis. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, vol. 9, no. 3, p. 623–642, Jul. 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2005.tb00493.x>.

SEKI, Misato; TAKEUCHI, Eisaku; FUKUI, Emiko; MATSUMOTO, Hiromichi. Upregulation of iNOS and phosphorylated eNOS in the implantation-induced blastocysts of mice. **Reproductive Medicine and Biology**, vol. 22, no. 1, 11 Jan. 2023. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12545>.

SENGOKU, K; TAKUMA, N; HORIKAWA, M; TSUCHIYA, K; KOMORI, H; SHARIFA, D; TAMATE, K; ISHIKAWA, M. Requirement of nitric oxide for murine oocyte maturation, embryo development, and trophoblast outgrowth in vitro. **Molecular reproduction and development**, vol. 58, no. 3, p. 262–8, Mar. 2001. [https://doi.org/10.1002/1098-2795\(200103\)58:3<262::AID-MRD3>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1098-2795(200103)58:3<262::AID-MRD3>3.0.CO;2-8).

SHI, Chennan; YAN, Zhengjie; ZHANG, Yuexin; QIN, Lianju; WU, Wei; GAO, Chao; GAO, Li; LIU, Jiayin; CUI, Yugui. Effects of putrescine on the quality and epigenetic modification of mouse oocytes during. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 34, no. 15, p. 957–970, 29 Aug. 2022. <https://doi.org/10.1071/RD22064>.

SHI, Chennan; ZHANG, Jingyi; YAN, Zhengjie; GAO, Li; GAO, Chao; WU, Wei; LIU, Jiayin; CUI, Yugui. Epigenetic effect of putrescine supplementation during in vitro maturation of oocytes on offspring in mice. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 39, no. 3, p. 681–694, 7 Mar. 2022a. <https://doi.org/10.1007/s10815-022-02448-6>.

SHI, Chennan; ZHANG, Jingyi; YAN, Zhengjie; GAO, Li; GAO, Chao; WU, Wei; LIU, Jiayin; CUI, Yugui. Epigenetic effect of putrescine supplementation during in vitro maturation of oocytes on offspring in mice. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 39, no. 3, p. 681–694, 7 Mar. 2022b. <https://doi.org/10.1007/s10815-022-02448-6>.

SHUHAIBAR, Leia C.; EGBERT, Jeremy R.; NORRIS, Rachael P.; LAMPE, Paul D.; NIKOLAEV, Viacheslav O.; THUNEMANN, Martin; WEN, Lai; FEIL, Robert; JAFFE, Laurinda A. Intercellular signaling via cyclic GMP diffusion through gap junctions restarts meiosis in mouse ovarian follicles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 112, no. 17, p. 5527–5532, 28 Apr. 2015. <https://doi.org/10.1073/pnas.1423598112>.

SIRARD, M. A.; FLORMAN, H. M.; LEIBFRIED-RUTLEDGE, M. L.; BARNES, F. L.; SIMS, M. L.; FIRST, N. L. Timing of Nuclear Progression and Protein Synthesis Necessary for Meiotic Maturation of Bovine Oocytes1. **Biology of Reproduction**, vol. 40, no. 6, p. 1257–1263, 1 Jun. 1989. <https://doi.org/10.1095/biolreprod40.6.1257>.

SIRARD, M. A.; PARRISH, J. J.; WARE, C. B.; LEIBFRIED-RUTLEDGE, M. L.; FIRST, N. L. The Culture of Bovine Oocytes to Obtain Developmentally Competent Embryos1. **Biology of Reproduction**, vol. 39, no. 3, p. 546–552, 1 Oct. 1988. <https://doi.org/10.1095/biolreprod39.3.546>.

SIRARD, M.A. Resumption of meiosis: mechanism involved in meiotic progression and its relation with developmental competence. **Theriogenology**, vol. 55, no. 6, p. 1241–1254, Apr. 2001. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00480-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00480-0).

SIRARD, Marc-André. Folliculogenesis and acquisition of oocyte competence in cows. **Animal Reproduction**, vol. 16, no. 3, p. 449–454, 2019. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0038>.

SIRARD, Marc-André; RICHARD, François; BLONDIN, Patrick; ROBERT, Claude. Contribution of the oocyte to embryo quality. **Theriogenology**, vol. 65, no. 1, p. 126–136, Jan. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.020>.

STAIKU, Florentin-Daniel; CANHA-GOUVEIA, Analuce; SORIANO-ÚBEDA, Cristina; MARTÍNEZ-SOTO, Juan Carlos; ADOAMNEI, Evdochia; CHAVARRO, Jorge E.; MATÁS, Carmen. Nitrite and Nitrate Levels in Follicular Fluid From Human Oocyte Donors Are Related to Ovarian Response and Embryo Quality. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, vol. 9, 14 Apr. 2021. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.647002>.

STRINGER, Jessica M.; WINSHIP, Amy; LIEW, Seng H.; HUTT, Karla. The capacity of oocytes for DNA repair. **Cellular and Molecular Life Sciences**, vol. 75, no. 15, p. 2777–2792, 10 Aug. 2018. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2833-9>.

SU, You-Qiang; SUGIURA, Koji; EPPIG, John. Mouse Oocyte Control of Granulosa Cell Development and Function: Paracrine Regulation of Cumulus Cell Metabolism. **Seminars in Reproductive Medicine**, vol. 27, no. 01, p. 032–042, 5 Jan. 2009. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1108008>.

SUDHAKARAN, Sam; UPPANGALA, Shubhashree; SALIAN, Sujith Raj; HONGUNTIKAR, Sachin D.; NAIR, Ramya; KALTHUR, Guruprasad; ADIGA, Satish Kumar. Oocytes recovered after ovarian tissue slow freezing have impaired H2AX phosphorylation and functional competence. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 27, no. 8, p. 1242, 2015. <https://doi.org/10.1071/RD14048>.

SUGIMURA, Satoshi; YAMANOUCHI, Tadayuki; PALMERINI, Maria Grazia; HASHIYADA, Yutaka; IMAI, Kei; GILCHRIST, Robert B. Effect of pre-*in vitro* maturation with cAMP modulators on the acquisition of oocyte developmental competence in cattle. **Journal of Reproduction and Development**, vol. 64, no. 3, p. 233–241, 2018. <https://doi.org/10.1262/jrd.2018-009>.

SUN, Qing-Yuan; MIAO, Yi-Liang; SCHATTEN, Heide. Towards a new understanding on the regulation of mammalian oocyte meiosis resumption. **Cell Cycle**, vol. 8, no. 17, p. 2741–2747, 28 Sep. 2009. <https://doi.org/10.4161/cc.8.17.9471>.

SUNKARA, Prasad S.; WRIGHT, David A.; NISHIOKA, Kenji. An essential role for putrescine biosynthesis during meiotic maturation of amphibian oocytes. **Developmental Biology**, vol. 87, no. 2, p. 351–355, Oct. 1981. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(81\)90158-5](https://doi.org/10.1016/0012-1606(81)90158-5).

SUTTON, M.L. Effects of in-vivo and in-vitro environments on the metabolism of the cumulus-oocyte complex and its influence on oocyte developmental capacity. **Human Reproduction Update**, vol. 9, no. 1, p. 35–48, 1 Jan. 2003. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmg009>.

TABOR, HERBERT; TABOR, CELIA W. SPERMIDINE, SPERMINE, AND RELATED AMINES. **Pharmacological Reviews**, vol. 16, no. 3, p. 245, 1 Sep. 1964. Available at: <http://pharmrev.aspetjournals.org/content/16/3/245.abstract>.

TAKESUE, Katsuhisa; TABATA, Shoji; SATO, Fuminori; HATTORI, Masa-aki. Expression of Nitric Oxide Synthase-3 in Porcine Oocytes Obtained at Different Follicular Development. **Journal of Reproduction and Development**, vol. 49, no. 2, p. 135–140, 2003. <https://doi.org/10.1262/jrd.49.135>.

TAO, Yong; FU, Zhuo; ZHANG, Meijia; XIA, Guoliang; YANG, Jie; XIE, Huirong. Immunohistochemical localization of inducible and endothelial nitric oxide synthase in porcine ovaries

and effects of NO on antrum formation and oocyte meiotic maturation. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 222, no. 1–2, p. 93–103, Jul. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2004.04.014>.

TAO, Yong; LIU, Dandan; MO, Guolong; WANG, Hongmei; LIU, X. John . Peri-ovulatory putrescine supplementation reduces embryo resorption in older mice. **Human Reproduction**, vol. 30, no. 8, p. 1867–1875, Aug. 2015. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev130>.

TAO, Yong; LIU, X. John . Deficiency of ovarian ornithine decarboxylase contributes to aging-related egg aneuploidy in mice. **Aging Cell**, vol. 12, no. 1, p. 42–49, Feb. 2013. <https://doi.org/10.1111/accel.12016>.

TAO, Yong; XIE, Huirong; HONG, Haiyan; CHEN, Xiufen; JANG, Jie; XIA, Guoliang. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on porcine oocyte meiotic maturation. **Zygote**, vol. 13, no. 1, p. 1–9, 19 Feb. 2005. <https://doi.org/10.1017/S0967199404002953>.

TARAZONA, AM; RODRÍGUEZ, JI; RESTREPO, LF; OLIVERA-ANGEL, M. Mitochondrial Activity, Distribution and Segregation in Bovine Oocytes and in Embryos Produced *in Vitro*. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 41, no. 1, p. 5–11, 12 Feb. 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00615.x>.

TARBASHEVICH, Katsiaryna; ERMLICH, Laura; WEGNER, Julian; PFEIFFER, Jana; RAZ, Erez. The mitochondrial protein Sod2 is important for the migration, maintenance, and fitness of germ cells. **Frontiers in cell and developmental biology**, vol. 11, p. 1250643, 2023. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1250643>.

TAUGOURDEAU, A.; DESQUIRET-DUMAS, V.; HAMEL, J. F.; CHUPIN, S.; BOUCRET, L.; FERR -L'HOTELLIER, V.; BOUET, P. E.; DESCAMPS, P.; PROCACCIO, V.; REYNIER, P.; MAY-PANLOUP, P. The mitochondrial DNA content of cumulus cells may help predict embryo implantation. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 36, no. 2, p. 223–228, 25 Feb. 2019. <https://doi.org/10.1007/s10815-018-1348-5>.

TESFAYE, D; KADANGA, A; RINGS, F; BAUCH, K; JENNEN, D; NGANVONGPANIT, K; H LKER, M; THOLEN, E; PONSUKSILI, S; WIMMERS, K; MONTAG, M; GILLES, M; KIRFEL, G; HERZOG, V; SCHELLANDER, K. The Effect of Nitric Oxide Inhibition and Temporal Expression Patterns of the mRNA and Protein Products of Nitric Oxide Synthase Genes During *In Vitro* Development of Bovine Pre-implantation Embryos. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 41, no. 6, p. 501–509, 15 Dec. 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00701.x>.

THOMAS, Douglas D.; RIDNNOUR, Lisa; DONZELLI, S nia; ESPEY, Michael Graham; MANCARDI, Daniele; ISENBERG, Jeffery S.; FEELISCH, Martin; ROBERTS, David D.; WINK, David A. The chemistry of protein modifications elicited by nitric oxide and related nitrogen oxides. *In: DALLE-DONNE, Isabella; SCALONI; ANDREA; BUTTERFIELD, Allan (eds.). Redox Proteomics: From Protein Modifications to Cellular Dysfunction and Diseases*. 1st ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2006. vol. 1, p. 25–58.

THOMAS, Douglas D.; RIDNOUR, Lisa A.; ESPEY, Michael Graham; DONZELLI, Sonia; AMBS, Stefan; HUSSAIN, S. Perwez; HARRIS, Curtis C.; DEGRAFF, William; ROBERTS, David D.; MITCHELL, James B.; WINK, David A. Superoxide Fluxes Limit Nitric Oxide-induced Signaling. **Journal of Biological Chemistry**, vol. 281, no. 36, p. 25984–25993, Sep. 2006. <https://doi.org/10.1074/jbc.M602242200>.

THOMAS, Rebecca E.; ARMSTRONG, David T.; GILCHRIST, Robert B. Bovine Cumulus Cell-Oocyte Gap Junctional Communication During In Vitro Maturation in Response to Manipulation of Cell-Specific Cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate Levels1. **Biology of Reproduction**, vol. 70, no. 3, p. 548–556, 1 Mar. 2004. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.021204>.

TIAN, Ye; HENG, Dai; XU, Kaili; LIU, Wenbo; WENG, Xuechun; HU, Xusong; ZHANG, Cheng. cGMP/PKG-I Pathway-Mediated GLUT1/4 Regulation by NO in Female Rat Granulosa Cells. **Endocrinology**, vol. 159, no. 2, p. 1147–1158, 1 Feb. 2018. <https://doi.org/10.1210/en.2017-00863>.

TIBURCIO, Antonio F.; ALTABELLA, Teresa; BITRIÁN, Marta; ALCÁZAR, Rubén. The roles of polyamines during the lifespan of plants: from development to stress. **Planta**, vol. 240, no. 1, p. 1–18, 23 Jul. 2014. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2055-9>.

TIMLIN, Claire L.; LYNN, Alexa; WOOLDRIDGE, Lydia K.; UH, Kyungjun; EALY, Alan D.; WHITE, Robin R.; LEE, Kiho; MERCADANTE, Vitor R.G. Physical parameters of bovine activated oocytes and zygotes as predictors of development success. **Zygote**, vol. 29, no. 5, p. 358–364, 19 Oct. 2021. <https://doi.org/10.1017/S0967199421000058>.

TORRES, Natália Ferreira. **Participação do sistema óxido nítrico sintase induzível/óxido nítrico na maturação de oócitos bovinos**. 2015. 1–80 f. Dissertação – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2015.

TOSTI, Elisabetta; BONI, Raffaele; CUOMO, Annunziata. Ca²⁺ current activity decreases during meiotic progression in bovine oocytes. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, vol. 279, no. 6, p. C1795–C1800, 1 Dec. 2000. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2000.279.6.C1795>.

TRANGUCH, Susanne; STEUERWALD, Nury; HUET-HUDSON, Yvette M. Nitric Oxide Synthase Production and Nitric Oxide Regulation of Preimplantation Embryo Development. **Biology of Reproduction**, vol. 68, no. 5, p. 1538–1544, 1 May 2003. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.009282>.

TREMBLAY, Karine; VIGNEAULT, Christian; MCGRAW, Serge; SIRARD, Marc-André. Expression of Cyclin B1 Messenger RNA Isoforms and Initiation of Cytoplasmic Polyadenylation in the Bovine Oocyte1. **Biology of Reproduction**, vol. 72, no. 4, p. 1037–1044, 1 Apr. 2005. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.034793>.

TRENNER, Anika; SARTORI, Alessandro A. Harnessing DNA Double-Strand Break Repair for Cancer Treatment. **Frontiers in Oncology**, vol. 9, 10 Dec. 2019. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01388>.

TRIPATHI, Anima; KHATUN, Sabana; PANDEY, A.N.; MISHRA, S.K.; CHAUBE, Radha; SHRIVASTAV, T.G.; CHAUBE, S.K. Intracellular levels of hydrogen peroxide and nitric oxide in oocytes at various stages of meiotic cell cycle and apoptosis. **Free Radical Research**, vol. 43, no. 3, p. 287–294, 7 Jan. 2009. <https://doi.org/10.1080/10715760802695985>.

TUKUR, Hamed A.; ALJUMAAH, Riyadh S.; SWELUM, Ayman Abdel-Aziz; ALOWAIMER, Abdullah N.; SAADELDIN, Islam M. The Making of a Competent Oocyte – A Review of Oocyte Development and Its Regulation. **Journal of Animal Reproduction and Biotechnology**, vol. 35, no. 1, p. 2–11, 31 Mar. 2020. <https://doi.org/10.12750/JARB.35.1.2>.

TURATHUM, Bongkoch; GAO, Er-Meng; CHIAN, Ri-Cheng. The Function of Cumulus Cells in Oocyte Growth and Maturation and in Subsequent Ovulation and Fertilization. **Cells**, vol. 10, no. 9, p. 2292, 2 Sep. 2021. <https://doi.org/10.3390/cells10092292>.

VAN VOORHIS, B J; MOORE, K; STRIJOS, P J; NELSON, S; BAYLIS, S A; GRZYBICKI, D; WEINER, C P. Expression and localization of inducible and endothelial nitric oxide synthase in the rat ovary. Effects of gonadotropin stimulation in vivo. **Journal of Clinical Investigation**, vol. 96, no. 6, p. 2719–2726, 1 Dec. 1995. <https://doi.org/10.1172/JCI118339>.

VANDAELE, L.; GOOSSENS, K.; PEELMAN, L.; VAN SOOM, A. mRNA expression of Bcl-2, Bax, caspase-3 and -7 cannot be used as a marker for apoptosis in bovine blastocysts. **Animal Reproduction Science**, vol. 106, no. 1–2, p. 168–173, Jun. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.12.016>.

VANDERSICKEL, Veerle; MANCINI, Monica; SLABBERT, Jacobus; MARRAS, Emanuela; THIERENS, Hubert; PERLETTI, Gianpaolo; VRAL, Anne. The radiosensitizing effect of Ku70/80 knockdown in MCF10A cells irradiated with X-rays and p(66)+Be(40) neutrons. **Radiation Oncology**, vol. 5, no. 1, p. 30, 27 Dec. 2010. <https://doi.org/10.1186/1748-717X-5-30>.

VIANA, Kelen Salaroli; CALDAS-BUSSIÈRE, Maria Clara; CARVALHO, Carla Sobrinho Paes de; DIAS, Bruna Lomba; LANES, Verônica R.; QUIRINO, Celia Raquel. Efeito de diferentes formas de cultivo na ação do óxido nítrico na maturação e na integridade da membrana plasmática de complexos cumulus-oócito em bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, vol. 48, no. 2, p. 147, 1 Apr. 2011. <https://doi.org/10.11606/S1413-95962011000200007>.

VIANA, K.S.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; MATTA, S.G.C.; FAES, M.R.; PAES DE CARVALHO, C.S.; QUIRINO, C.R. Effect of sodium nitroprusside, a nitric oxide donor, on the in vitro maturation of bovine oocytes. **Animal Reproduction Science**, vol. 102, no. 3–4, p. 217–227, Dec. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.11.004>.

VINING, Lucy May; ZAK, Louisa J; HARVEY, Simon Crawford; HARVEY, Katie Evelyn. The role of apoptosis in cryopreserved animal oocytes and embryos. **Theriogenology**, vol. 173, p. 93–101, Oct. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.07.017>.

VIVEIROS, Maria M.; DE LA FUENTE, Rabindranath. Regulation of Mammalian Oocyte Maturation. **The Ovary**. [S. l.]: Elsevier, 2019. p. 165–180. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813209-8.00011-X>.

VOSS, Anne K; STRASSER, Andreas. The essentials of developmental apoptosis. **F1000Research**, vol. 9, 2020. <https://doi.org/10.12688/f1000research.21571.1>.

VUJCIC, Slavoljub; LIANG, Ping; DIEGELMAN, Paula; KRAMER, Debora L.; PORTER, Carl W. Genomic identification and biochemical characterization of the mammalian polyamine oxidase involved in polyamine back-conversion. **Biochemical Journal**, vol. 370, no. 1, p. 19–28, 15 Feb. 2003. <https://doi.org/10.1042/bj20021779>.

WALLACE, Heather M.; FRASER, Alison V.; HUGHES, Alun. A perspective of polyamine metabolism. **Biochemical Journal**, vol. 376, no. 1, p. 1–14, 15 Nov. 2003. <https://doi.org/10.1042/bj20031327>.

WANG, Jiangtao; HE, Qingliu; YAN, Xingyu; CAI, Youmei; CHEN, Junyi. Effect of exogenous nitric oxide on sperm motility in vitro. **Biological Research**, vol. 47, no. 1, p. 44, 18 Dec. 2014. <https://doi.org/10.1186/0717-6287-47-44>.

WARD, Irene M.; MINN, Kay; VAN DEURSEN, Jan; CHEN, Junjie. p53 Binding Protein 53BP1 Is Required for DNA Damage Responses and Tumor Suppression in Mice. **Molecular and Cellular Biology**, vol. 23, no. 7, p. 2556–2563, 1 Apr. 2003. <https://doi.org/10.1128/MCB.23.7.2556-2563.2003>.

WATSON, A. J. Oocyte cytoplasmic maturation: A key mediator of oocyte and embryo developmental competence1. **Journal of Animal Science**, vol. 85, no. suppl_13, p. E1–E3, 1 Mar. 2007. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-432>.

WECKMAN, Andrea M; MCDONALD, Chloe R; BAXTER, Jo-Anna B; FAWZI, Wafaie W; CONROY, Andrea L; KAIN, Kevin C. Perspective: L-arginine and L-citrulline Supplementation in Pregnancy: A Potential Strategy to Improve Birth Outcomes in Low-Resource Settings. **Advances in Nutrition**, vol. 10, no. 5, p. 765–777, Sep. 2019. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz015>.

WINTERHAGER, Elke; KIDDER, Gerald M. Gap junction connexins in female reproductive organs: implications for women's reproductive health. **Human Reproduction Update**, vol. 21, no. 3, p. 340–352, 1 May 2015. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv007>.

WU, G.; BAZER, F. W.; DATTA, S.; JOHNSON, G. A.; LI, P.; SATTERFIELD, M. C.; SPENCER, T. E. Proline metabolism in the conceptus: implications for fetal growth and development. **Amino Acids**, vol. 35, no. 4, p. 691–702, 11 Nov. 2008. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0052-7>.

WU, Guoyao; BAZER, Fuller W.; DAVIS, Teresa A.; KIM, Sung Woo; LI, Peng; MARC RHOADS, J.; CAREY SATTERFIELD, M.; SMITH, Stephen B.; SPENCER, Thomas E.; YIN, Yulong. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. **Amino Acids**, vol. 37, no. 1, p. 153–168, 23 May 2009. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0210-y>.

WU, Guoyao; BAZER, Fuller W.; SATTERFIELD, M. Carey; LI, Xilong; WANG, Xiaoqi; JOHNSON, Gregory A.; BURGHARDT, Robert C.; DAI, Zhaolai; WANG, Junjun; WU, Zhenlong. Impacts of arginine nutrition on embryonic and fetal development in mammals. **Amino Acids**, vol. 45, no. 2, p. 241–256, 4 Aug. 2013. <https://doi.org/10.1007/s00726-013-1515-z>.

WU, Guoyao; MEININGER, Cynthia J. R <sc>EGULATION OF</sc> N <sc>ITRIC</sc> O <sc>XIDE</sc> S <sc>YNTHESES BY</sc> D <sc>IETARY</sc> F <sc>ACTORS</sc>. **Annual Review of Nutrition**, vol. 22, no. 1, p. 61–86, Jul. 2002. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.22.110901.145329>.

WU, Guoyao; MORRIS, Sidney M. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. **Biochemical Journal**, vol. 336, no. 1, p. 1–17, 15 Nov. 1998. <https://doi.org/10.1042/bj3360001>.

WU, X.; YIN, Y.L.; LIU, Y.Q.; LIU, X.D.; LIU, Z.Q.; LI, T.J.; HUANG, R.L.; RUAN, Z.; DENG, Z.Y. Effect of dietary arginine and N-carbamoylglutamate supplementation on reproduction and gene expression of eNOS, VEGFA and PIGF1 in placenta in late pregnancy of sows. **Animal Reproduction Science**, vol. 132, no. 3–4, p. 187–192, Jun. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.05.002>.

YAMADA, Masayasu; ISAJI, Yuuki. Structural and functional changes linked to, and factors promoting, cytoplasmic maturation in mammalian oocytes. **Reproductive Medicine and Biology**, vol. 10, no. 2, p. 69–79, 17 Jun. 2011. <https://doi.org/10.1007/s12522-011-0079-4>.

YANG, Ming Yuan; RAJAMAHENDRAN, Rajadurai. Expression of Bcl-2 and Bax proteins in relation to quality of bovine oocytes and embryos produced in vitro. **Animal Reproduction Science**, vol. 70, no. 3–4, p. 159–169, Apr. 2002. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(01\)00186-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00186-5).

YANG, Shen-Hsi; KALKAN, Tüzer; MORISSROE, Claire; MARKS, Hendrik; STUNNENBERG, Hendrik; SMITH, Austin; SHARROCKS, Andrew D. Otx2 and Oct4 Drive Early Enhancer Activation during Embryonic Stem Cell Transition from Naive Pluripotency. **Cell Reports**, vol. 7, no. 6, p. 1968–1981, Jun. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.05.037>.

ZAIDI, Syed Kashif; SHEN, Wen-Jun; CORTEZ, Yuan; BITTNER, Stefanie; BITTNER, Alex; ARSHAD, Sara; HUANG, Ting-Ting; KRAEMER, Fredric B.; AZHAR, Salman. SOD2 deficiency-induced oxidative stress attenuates steroidogenesis in mouse ovarian granulosa cells. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 519, p. 110888, Jan. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110888>.

ZAMBERLAM, Gustavo; PORTELA, Valério; DE OLIVEIRA, João Francisco C.; GONÇALVES, Paulo B.D.; PRICE, Christopher A. Regulation of inducible nitric oxide synthase expression in bovine ovarian granulosa cells. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 335, no. 2, p. 189–194, Mar. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.01.013>.

ZENG, Xiangfang; WANG, Fenglai; FAN, Xia; YANG, Wenjun; ZHOU, Bo; LI, Pengfei; YIN, Yulong; WU, Guoyao; WANG, Junjun. Dietary Arginine Supplementation during Early Pregnancy Enhances Embryonic Survival in Rats. **The Journal of Nutrition**, vol. 138, no. 8, p. 1421–1425, Aug. 2008. <https://doi.org/10.1093/jn/138.8.1421>.

ZHANG, Qing; REN, Jun; WANG, Fangfang; PAN, Manman; CUI, Long; LI, Mingqian; QU, Fan. Mitochondrial and glucose metabolic dysfunctions in granulosa cells induce impaired oocytes of polycystic ovary syndrome through Sirtuin 3. **Free Radical Biology and Medicine**, vol. 187, p. 1–16, Jul. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.05.010>.

ZHANG, Yu; BAI, Jie; CUI, Zhaokang; LI, Yu; GAO, Qian; MIAO, Yilong; XIONG, Bo. Polyamine metabolite spermidine rejuvenates oocyte quality by enhancing mitophagy during female reproductive aging. **Nature Aging**, vol. 3, no. 11, p. 1372–1386, 16 Oct. 2023. <https://doi.org/10.1038/s43587-023-00498-8>.

ZHOU, Yong; MA, Chunqi; KARMOUCH, Jennifer; KATBI, Hadia Arabi; LIU, X. Johné. Antiapoptotic Role for Ornithine Decarboxylase during Oocyte Maturation. **Molecular and Cellular Biology**, vol. 29, no. 7, p. 1786–1795, 1 Apr. 2009. <https://doi.org/10.1128/MCB.01815-08>.

ZIMMERMAN, David L.; BODDY, Craig S.; SCHOENHERR, Christopher S. Oct4/Sox2 Binding Sites Contribute to Maintaining Hypomethylation of the Maternal Igf2/H19 Imprinting Control Region. **PLoS ONE**, vol. 8, no. 12, p. e81962, 6 Dec. 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081962>.

6. Artigo 2: Artigo original assegurando as normas da revista *Theriogenology*, ISSN: 0093-691, qualificada como A1 pelo QUALIS – CAPES.

A L-arginina retarda a retomada da meiose, o pico de putrescina e aumenta a expressão de genes relacionados ao reparo de DNA durante a maturação *in vitro* em oócitos bovinos

Resumo

As poliaminas (PAs) são um grupo de moléculas onipresentes em células procarióticas e eucarióticas, sendo a putrescina (PUT), espermina (SPM), espermidina (SPD) e cadaverina (CAD) as PAs de interesse científico. Importantes funções reprodutivas são atribuídas a elas, porém, a concentração intraoocitária de PAs em mamíferos permanece desconhecida. Objetivou-se mensurar a concentração intraoocitária de PAs durante a MIV de oócitos bovinos e associá-la à maturação nuclear. Os oócitos foram obtidos de ovários de abatedouro, sendo divididos em dois tratamentos (GC: grupo controle e; GT: meio de maturação suplementado com 2,5 mMol de L-arginina) e maturados em placas de quatro poços contendo 30 COCs por poço. Os oócitos foram retirados da MIV nos tempos 0 h (imaturo), 3 h, 6 h, 9 h, 12 h, 15 h e 22 h. A avaliação do estágio de maturação foi realizada por coloração com orceína acética. PAs livres foram analisadas por dansilação, identificadas e quantificadas por HPLC. A análise dos transcritos relativos (Histona H2A, TP53BP1, ATM, RAD52, BAX, XRCC5 e XRCC6) foram avaliadas por qPCR. A análise estatística foi realizada por análise de variância, sendo as médias comparadas por meio do teste SNK a nível de 5% de probabilidade utilizando o software SAS versão 9.4. Observou-se um retardo na retomada da meiose em oócitos tratados com L-arg ($p < 0,05$), não sendo observada diferença no estágio de maturação a partir da hora 15 ($p \geq 0,05$) entre os grupos. PUT apresentou retardo no pico de concentração no grupo L-arg, acompanhando o retardo meiótico ($p < 0,05$). SPM apresentou pico de concentração na hora 9 (GC) e 12 (L-arg) ($p < 0,05$). SPD e CAD apresentaram acentuada redução na sua concentração após o início da MIV ($p < 0,05$), mantendo-se estáveis durante a mesma. Identificamos pela primeira vez a concentração de poliaminas intraoocitária em mamíferos. A sincronia entre RVG e picos de PUT sugerem a participação da mesma durante a MIV, assim como a suplementação com L-arg pode alterar a concentração de SPD. Na análise de transcritos relativos, a abundância para Histona H2A foi menor em GC na hora 3 de MIV ($p < 0,05$). A expressão de TP53BP1 e RAD52 foi menor nas horas 3 e 6 de MIV do GC ($p < 0,05$). BAX apresentou maior abundância para GC e menor abundância para L-arg na hora 3 de MIV ($p < 0,05$). XRCC5 apresentou menor abundância na hora 6 de MIV em L-arg ($p < 0,05$) enquanto XRCC6 apresentou menor

abundância nas horas 3 para GC e 6 para L-arg ($p < 0,05$). Não houve diferença na expressão de ATM ($p > 0,05$). Mais estudos são necessários para verificar a importância das poliaminas na cinética e qualidade dos oócitos maturados *in vitro* e seu impacto na produção de blastocistos.

Palavras-chave: poliaminas; qualidade oocitária; produção *in vitro* de embriões.

1. Introdução

Ainda durante a vida embrionária, os oócitos das fêmeas de mamíferos são formados a partir de um grupo de células germinativas que entram no processo de meiose, sendo este processo paralisado na prófase I (MITRA; SCHULTZ, 1996). Após o aumento na concentração de LH, os oócitos são estimulados a retomarem a meiose, ocorrendo o rompimento da vesícula germinativa e formação do primeiro fuso meiótico e, posteriormente, ocorre a segregação dos cromossomos homólogos e extrusão do primeiro corpo polar (JONES, 2004). Após esta fase, o oócito entra imediatamente na segunda meiose (MII), sendo paralisado nesta fase até que ocorra a fertilização (PAILAS *et al.*, 2022).

Estudo sobre danos causados ao DNA oocitário são realizados desde a década de 1990 em bactérias e leveduras cultivados *in vitro* (BRADSHAW *et al.*, 1995). Estando sob constatação de agente nocivos, sejam eles endógenos ou exógenos (BARNES; LINDAHL, 2004; CICCIA; ELLEDGE, 2010; LINDAHL; BARNES, 2000), a capacidade de reparo do DNA lesado torna-se vital para a sobrevivência celular e, sobretudo, para a gametogênese e embriogênese (STRINGER *et al.*, 2018).

O conhecimento acerca de compostos que interajam com o DNA e os mecanismos pelos quais estes compostos podem repará-lo ainda é limitado. Moléculas que se ligam e tem a capacidade de estabilizar a estrutura do DNA ganham importância nesse sentido, promovendo a reparação de danos e dando estabilidade ao material genético celular (LEE, Chih-Ying *et al.*, 2019).

As poliaminas (PAs), moléculas policatiônicas onipresentes e que contém 2 ou mais grupos amina ($-NH_3^+$) (COFFINO, 2001; TIBURCIO *et al.*, 2014) possuem carga positiva em pH fisiológico (LENIS *et al.*, 2017), o que lhes permite interagir tanto com o DNA como com o RNA, uma vez que estes possuem carga negativa (WANG *et al.*, 2014). Nos mamíferos, a síntese de poliaminas ocorre por meio das ações da arginase e da ornitina decarboxilase1 (ODC1). A arginase é uma metaloenzima com três subunidades que hidrolisam a arginina para produzir

dois produtos importantes: ornitina e ureia (GRILLO; COLOMBATTO, 2004; WANG *et al.*, 2014). Uma vez gerada a ornitina, esta é descarboxilada pela ODC1 para produzir putrescina que, por sua vez, é o substrato da espermidina sintase (ES) para gerar espermidina. Esta última torna-se espermina por ação da espermina sintase (ESPS) (LEFÈVRE; PALIN; MURPHY, 2011; LENIS *et al.*, 2017; VUJCIC *et al.*, 2003) (Figura 1).

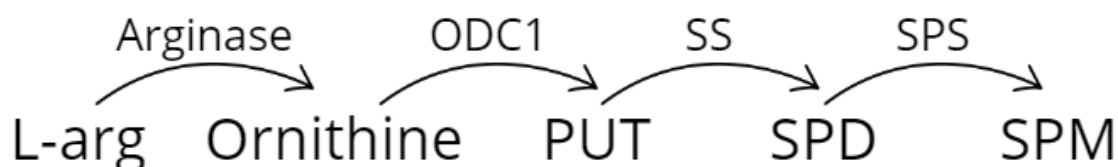


Figura 1.: Representação esquemática da via de síntese de poliaminas. L-arg: L-arginina; ODC1: ornitina descarboxilase 1; PUT: putrescina; SPD: espermidina; SPM: espermina; SS: espermidina sintase; SPS: espermina sintase.

As poliaminas desempenham diversos papéis a nível celular. Por meio de interações moleculares, as PAs atuam estabilizando a estrutura do DNA, induzindo a remodelação da cromatina, e, desta forma, regulam a expressão gênica em células procarióticas e eucarióticas (IGARASHI; KASHIWAGI, 2010b; WALLACE; FRASER; HUGHES, 2003). Além disto, essas moléculas parecem desempenhar papéis essenciais na proliferação celular (ALM; OREDSSON, 2009), morte celular programada (SEILER; RAUL, 2005) de células somáticas e reparação do DNA em culturas celulares (LEE, Chih-Ying *et al.*, 2019).

A habilidade das poliaminas interagirem com anions celulares depende principalmente do número de cargas positivas associadas com cada poliamina. A espermina é a poliamina mais ativa em gerar interação com anions e a putrescina, sendo a menos ativa, pois tem um menor número de cargas positivas (MOINARD; CYNOBER; DEBANDT, 2005). Em mamíferos, as principais poliaminas de interesse científico são putrescina, espermidina e espermina (KUSANO *et al.*, 2008b; LENIS *et al.*, 2017; TABOR; TABOR, 1964).

As poliaminas têm efeitos no sistema reprodutivo tanto dos machos (LEFÈVRE; PALIN; MURPHY, 2011; RODRÍGUEZ-PÁEZ *et al.*, 2021, 2023; WANG *et al.*, 2014) como de fêmeas (KWON, N.S. *et al.*, 1990; LEFÈVRE; PALIN; MURPHY, 2011). A nível oocitário, sabe-se que a maturação é simultaneamente precedida e acompanhada por aumento da atividade da ODC1 em oócitos de *Xenopus laevis* (ZHOU *et al.*, 2009). Estudos mais recentes relatam ainda que as poliaminas melhoram a qualidade de oócitos e embriões de roedores (LIU, Dandan *et al.*, 2017;

TAO *et al.*, 2015) e suínos (JIN, J. X. *et al.*, 2016). Quando utilizada em animais senis, a suplementação *in vitro* poliaminas melhora o desenvolvimento folicular, a maturação oocitária e o desenvolvimento embrionário inicial (SHI; YAN; *et al.*, 2022; SHI; ZHANG; *et al.*, 2022b; ZHANG, Yu *et al.*, 2023), além de aumentar a mitofagia (ZHANG, Yu *et al.*, 2023), o potencial de membrana mitocondrial (SHI; YAN; *et al.*, 2022; ZHANG, Qing *et al.*, 2022), reduzir a aneuploidia e produção de espécies reativas de oxigênio (SHI; YAN; *et al.*, 2022).

Apesar dos importantes papéis atribuídos às poliaminas, sua via de sinalização permanece pouco estudada em oócitos e a concentração intraoocitária de poliaminas permanece desconhecida. Assim sendo, o objetivo do presente estudo foi de determinar a concentração de poliaminas durante a maturação *in vitro* (MIV) de oócitos bovinos e avaliar sua correlação com os diferentes estádios da maturação nuclear, além de avaliar genes relacionados ao reparo de DNA em oócitos.

2. Material e métodos

1.1 Delineamento experimental

1.1.1 Experimento I: influência da L-arg sob a morfologia e reparo de DNA oocitário

Após as primeiras etapas, reconheceu-se a concentração de 2,5 mMol de L-arg como ideal. Objetivou-se então avaliar a influência da suplementação com L-arg na morfologia de oócitos bovinos maturados *in vitro*. Portanto, os oócitos foram divididos aleatoriamente em GC e 2,5 mMol compostos por 30 CCOs em 6 repetições (n= 360). Após 3 h de incubação, os oócitos foram retirados da MIV e corados com orceína acética a 2%, sendo classificados em vesícula germinativa (VG), vesícula germinativa condensada (VCG), rompimento da vesícula germinativa (RVG), metáfase I (MI) e metáfase II (MII).

Para avaliar a participação da L-arg em vias de reparo de DNA em oócitos os mesmos foram divididos em GC e 2,5 mMol, sendo cada grupo subdividido em hora 3 e 6, sendo cada amostra contendo 20 oócitos em triplicatas (n= 240). Foram avaliados genes relacionados às vias de reparo de DNA por recombinação homóloga (Histona H2A, TP53BP1, ATM e RAD52), genes relacionados à via de junção de extremidades não homólogas (XRCC5 e XRCC6), além do gene pró-apoptótico BAX.

2.1.2 Experimento II: determinação da concentração de poliaminas durante a MIV

Apesar de importantes funções atribuídas à elas, a concentração intraoocitária de PAs ainda não é conhecida em mamíferos. Com o objetivo então de reconhecer a concentração intraoocitária de PAs e avaliar a participação da L-arg nesta via durante a MIV foi realizado uma cinética de maturação com oócitos divididos em GC e 2,5 mMol de L-arg, sendo os oócitos retirados da incubadora nas horas 0 (imaturo), 3, 6, 9, 12, 15 e 22, sendo que cada amostra foi composta por 200 oócitos e armazenadas em triplicatas (n=3000). A concentração de PAs foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

2.1 Coleta dos ovários

Os ovários foram coletados em matadouros frigoríficos locais e, imediatamente, transportados para o laboratório em containers com solução salina a 0.9%, estéril, a 38°C e suplementada com 100µL de antibiótico (Agrovet® 5.000.000, Elanco, São Paulo, SP, Brasil). No laboratório, foram retirados os tecidos adjacentes aos ovários. Posteriormente, estes foram lavados com solução salina a 0.9% e transferidos para um *becker* com solução salina a 0.9%, estéril, a 38°C e suplementada com 100µL de antibiótico, mantidos a temperatura de 38°C em banho-maria até o momento da punção.

2.2 Coleta e seleção dos complexos cumulus-oócito

Para a punção dos folículos ovarianos, foi utilizada uma seringa de 10mL equipada com agulha 40 × 12. Os CCOs em fluido folicular foram recolhidos em tubo cônico para centrífuga de 50 mL, contendo de 3 a 5mL de meio de lavagem [meio de cultivo de tecidos (TCM) 199 com Hapes, antibiótico conjugado com antimicótico e glutamina] a 35 °C. Após a decantação dos CCOs, foi realizada a seleção e triagem dos mesmos em placa de Petri de 100 mm × 20 mm, quadriculada, sob capela de fluxo laminar horizontal. Os CCOs selecionados (graus I e II), segundo De Loos *et al.* (1989) (DE LOOS *et al.*, 1989b) foram transferidos para placa de Petri 35 mm × 10 mm com aproximadamente 2 mL de meio de lavagem. Posteriormente, foi feita a lavagem dos oócitos em placa de Petri de 100 mm × 20 mm com 4 a 5 gotas de 100 µL cada com meio de lavagem, sendo a última gota de meio de maturação [TCM 199 sem Hapes suplementado com soro fetal bovino [SFB (Cultilab, Campinas, SP, Brasil)], hormônio folículo estimulante [FSH (Gonal-F 300 UI®, Merck S.A., Rio de Janeiro, RJ, Brasil)], antibiótico conjugado com antimicótico, piruvato e glutamina.

2.3 Maturação *in vitro*

Após a seleção e lavagem, os CCOs foram divididos em dois grupos: GC (grupo controle) e L-arg, onde o meio de maturação foi suplementado com 2,5 mMol de L-arginina

(dados não publicados), precursor da via de poliaminas. Após esta divisão, os CCOs foram transferidos para uma placa de cultivo celular com 4 poços preenchida com 500 μL de meio de maturação (VIANA, Kelen Salaroli *et al.*, 2011), previamente estabilizados por 1 a 3 h em estufa a 38.5°C, em atmosfera de 5% de CO_2 em ar.

A fim de avaliar o perfil de produção de poliaminas durante a maturação oocitária e identificar possíveis picos de produção durante este processo, assim como verificar uma relação temporal com os diferentes estádios de maturação, os oócitos foram retirados da incubação nas horas 0 (imaturado), 3, 6, 9, 12, 15 e 22 h.

2.4 Avaliação da cinética de maturação

Os oócitos foram retirados da estufa e desnudados por meio de sucessivas pipetagens em solução PP a 1% [solução salina tamponada de fosfato (PBS) livre de Ca^{+2} e Mg^{+2} + 0,1% de álcool polivinílico (PVA)] e, então, colocados entre lâmina e lamínula e fixados em solução etanol-ácido acético (3:1) durante 48 horas para, então, serem corados com orceína acética a 2%. Foi feita a avaliação do estágio de maturação nuclear com auxílio de microscopia ótica (Nikon – Eclipse E200, Melville, NY, USA), sendo os oócitos classificados: em vesícula germinativa (VG), vesícula germinativa condensada (VGC), rompimento da vesícula germinativa (RVG), metáfase I (MI) e metáfase II (MII) (DUBEIBE *et al.*, 2013). Após a classificação, foi calculada a taxa de cada estágio de maturação nas diferentes horas de acordo com o número de oócitos visualizados de determinado estágio em relação ao total de oócitos corados (n=1192, sendo hora 3: n=224; hora 6: n=193; hora 9: n=195; hora 12: n=183; hora 15: n=201; hora 22: n=196).

2.5 Concentração de poliaminas

A mensuração da concentração de poliaminas foi realizada conforme descrito por Santa-Catarina *et al.* (2006) (SANTA-CATARINA *et al.*, 2006) e Lerin *et al.* (2019) (LERIN *et al.*, 2019) com algumas modificações. As amostras foram mergulhadas três vezes em nitrogênio líquido, sendo maceradas entre os ciclos. Após a maceração, as amostras foram levadas então a um sonicador ultrassônico realizando cinco ciclos de 20 segundos com um minuto de intervalo, para então serem novamente maceradas em 100 μL de ácido perclórico. Após 1 h de incubação a 4 °C, as amostras foram centrifugadas por 20 min a 20.000 $\times g$ a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e as PAs livres foram analisados a partir do sobrenadante por dansilação com cloreto de dansila. Em seguida, as PAs foram identificadas e quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) usando uma coluna C18 de fase reversa. O gradiente da coluna de HPLC foi criado adicionando volumes crescentes de acetonitrila absoluta a uma solução aquosa

de acetonitrila a 10%. O gradiente absoluto de acetonitrila foi programado para 65% nos primeiros 10 min, aumentando de 65 para 100% entre 10 e 13 min e mantido em 100% entre 13 e 21 min a uma taxa de fluxo de 1 mL/min a 40 ° C. Um detector de fluorescência em 340 nm (excitação) e 510 nm (emissão) foi usado para detectar picos de PAs. Áreas de pico e tempos de retenção de PAs foram medidos por comparação com PAs padrão Put, Spd e Spm. As mensurações de cada tempo de MIV foram realizadas em triplicata (n=39).

2.7 *Análise dos transcritos relativos*

2.7.1 *Extração de RNA*

As amostras de RNA das amostras de embriões foram extraídas com o RNA MiniPrep Kit (Zymo Research), de acordo com o protocolo do fabricante, sendo que cada amostra foi composta por 20 oócitos desnudados mecanicamente por sucessivas pipetagens.

2.7.2 *Transcrição reversa e PCR quantitativo (RT-qPCR)*

O RNA total extraído foi submetido a ensaio de digestão com DNase I (1U) por 10 minutos a 37°C para eliminação de qualquer resquício de DNA genômico nas amostras. Logo em seguida, foi adicionado EDTA (25mM) por 15 minutos a 75°C para a inativação da DNase I. Por fim, foi adicionado 1 µl de OligoDT por 10 minutos a 65°C. A transcrição reversa foi realizada utilizando High Capacity cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystems®) conforme instruções do fabricante. As condições de ciclagem para a transcrição reversa foram: 25°C por 10 minutos, 37°C por 2 horas e 85°C por 5 segundos.

2.7.3 *Reação de Cadeia de Polimerase – PCR*

Logo após a transcrição reversa foi feito uma PCR para comprovação de que houve a completa conversão de RNA para cDNA, utilizando o gene housekeeping β-actina. As amostras de cDNA foram diluídas na proporção 1:15 (v:v) em ddH₂O, sendo utilizados 2 µL de cDNA por reação. A PCR foi realizada em um volume final de 10 µL [5,85 µL ddH₂O; 1,0 µL 10 x RT-Buffer; 150 mM de cada primer (*sense* e *antisense*); 100 mM dNTP (25 mM cada); 1.5 mM de MgCl₂ 0,05µL AmpliTaq DNA Polimerase Uniscience]; 2,0 µL de cDNA). As condições de ciclagem foram: 94 °C por 10 min, 40 ciclos de 94 °C por 30 seg, 54 °C por 30 seg e 72 °C por 30 seg, com extensão final de 72 °C por 10 minutos.

2.7.4 *Real Time PCR – Quantitative PCR (qPCR)*

Para a análise da abundância relativa de das amostras de oócitos, foi realizado o ensaio de PCR em tempo real, sendo os valores de cada análise calculados segundo a fórmula $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Os genes analisados foram: Histona H2A, TP53BP1, PPIB, ATM, RAD52, BAX, XRCC5 e XRCC6 (Tabela 1). Os ensaios de qPCR foram realizados em um volume final de 10 μL [5,0 μL PCR SybrGreen-Mastermix, (AppliedBiosystem); 0,7 μL água; 0,15 μL – 150 mM de cada primer (sense e antisense); 4,0 μL de cada amostra]. As condições de ciclagem foram: 95 °C por 10 min, 40 ciclos de 95 °C por 30 segundos e 60 °C por 1 min. Toda distribuição das alíquotas de mix de qPCR foi realizada utilizando um micropipetador eletrônico monocanal da marca Gilson®. Como amostra calibradora foi utilizada uma amostra contendo cDNA de todas as amostras utilizadas. O gene utilizado como housekeeping foi o da β -actina bovino.

Tabela 1: Lista de primers utilizados nas análises qPCR.

Genes	Primer sequence	Amplicon (pb)	RefSeq
Histona H2A	F: GAGGAGCTGAACAAGCTGTTG R: TTGTGGTGGCTCTCAGTCTTC	200	NC_037350.1
TP53BP1	F: ATCAGACCAACAGCAGAATTTCC R: CACCACGTCAAACACCCCTAA	130	NM_001206397.2
ATM	F: CTTAGGAGGAGCTTGGGCCT R: CCGCTGTGTGGCAAACC	149	NM_001205935.1
RAD52	F: GGCCAGGAAGGAGGCAGTA R: TGACCTCAGATAGTCTTTGTCCAGAA	100	NM_001024525.1
BAX	F 5'-TGTTTTCTGACGGCAACTTCA-3' R 5'-CGAAGGAAGTCCAATGTCCAG-3'	139	NM_173894.1
XRCC6	F: AATTGACTCCTTTTGACATGAGCAT R: CCATAGAACACCACTGCCAAGA	100	NM_001192246.1
XRCC5	F: TGGCATCTCCCTGCAGTTCT R: AGGCCCATGGTGGTCTGA	100	NM_001102141.1

2.8 Análise estatística

Foi realizada análise de variância testando o efeito de grupo, sendo as médias comparadas através do teste SNK a nível de 5% de probabilidade utilizando o software SAS,

versão 9.4 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, EUA). A variação na abundância de mRNA foi analisada por ANOVA e comparações múltiplas entre grupos foram realizadas pelo teste t de Student LSMMeans usando o software JMP (JMP® 7.0, SAS Institute, Inc., Cary, NC, EUA).

3. Resultados

Os dados referentes à cinética de maturação estão descritos na Tabela 1. A suplementação com L-arg retardou a retomada da meiose, observando-se oócitos suplementados em estágio de maturação inferior ao controles nas horas 3, 6, 9, 12 e 15 ($p < 0,05$).

Os dados referentes à dosagem de PUT, SPD, SPM e CAD estão demonstradas na Figura 1. A concentração de putrescina foi maior em GC nas hora 3 em oócitos suplementados com L-arg na hora 9 ($p < 0,05$).

A suplementação com L-arg aumentou a concentração de espermina na hora 12. ($p < 0,05$) (Figura 1B). Para espermidina e cadaverina, a suplementação com L-arg influenciou seus níveis intraocitários ($p > 0,05$), sendo, em ambos os grupos, maior em oócitos imaturos (hora 0), decaindo significativamente durante a maturação ($p < 0,05$) (Figura1C e Figura1D).

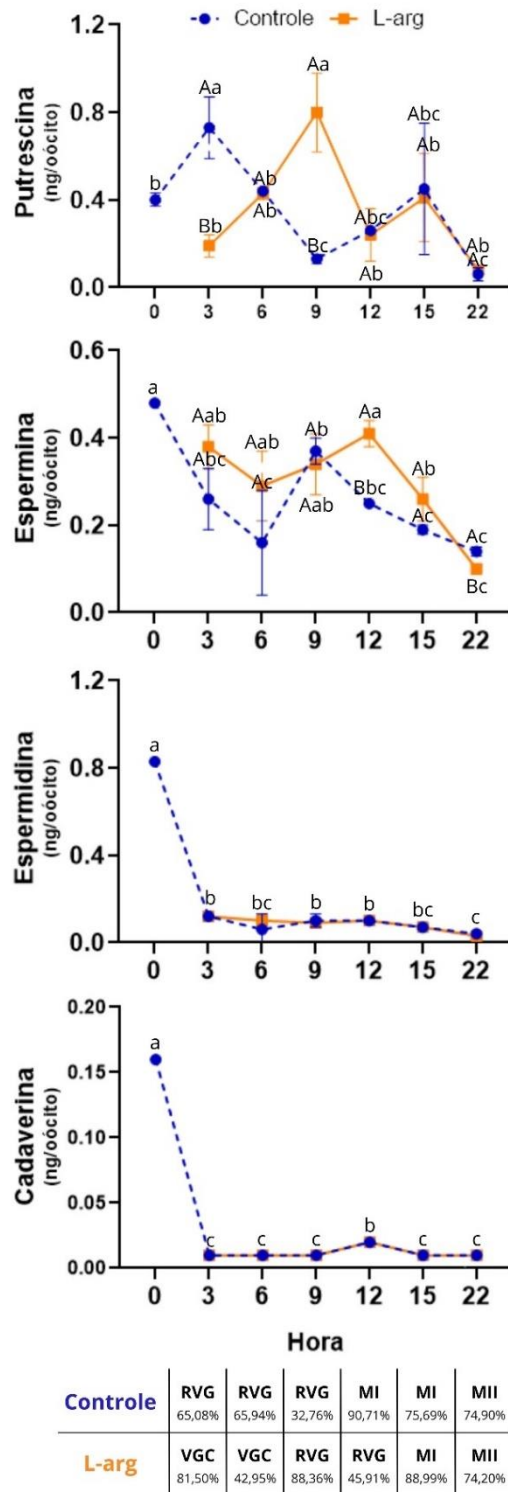
1 **Tabela 2.** Cinética de maturação de oócitos bovinos maturados *in vitro* e suplementados com L-arginina.

		3 h					6 h						
		VG (%)	VGC (%)	RVG (%)	MI (%)	MII (%)			VG (%)	VGC (%)	RVG (%)	MI (%)	MII (%)
GC		11.9±10.5Aa	25.95±24.12Ba	65.08±18.52Aa	0.00±0.00Af	0.0±0.0Ac	GC		4.01±7.01Aa	10.15±14.85Ab	65.94±10.91Aa	18.74±10.74Ad	0.00±0.00Ac
L-arg		9.03±6.67Aa	81.50±14.04Aa	10.04±10.03Bc	0.00±0.00Ac	0.0±0.0Ac	L-arg		5.25±2.63Aa	42.95±43.86Ab	51.79±42.27Ab	0.00±0.00Bc	0.00±0.00Ac
		9 h					12 h						
		VG (%)	VGC (%)	RVG (%)	MI (%)	MII (%)			VG (%)	VGC (%)	RVG (%)	MI (%)	MII (%)
GC		3.61±5.69Aa	3.09±4.79Ab	32.76±17.44Bb	60.59±21.69Ac	0.0±0.0Ac	GC		9.28±5.44Aa	1.85±4.53Ab	0.00±0.00Bc	90.71±5.44Aa	0.0±0.0Ac
L-arg		2.58±4.67Aa	3.82±6.52Ac	88.36±12.49Aa	5.62±6.65Bc	0.0±0.0Ac	L-arg		1.81±2.82Ba	0.0±0.0Ac	45.91±24.07Ab	52.27±24.25Bb	0.0±0.0Ac
		15 h					22 h						
		VG (%)	VGC (%)	RVG (%)	MI (%)	MII (%)			VG (%)	VGC (%)	RVG (%)	MI (%)	MII (%)
GC		7.52±2.68Aa	0.0±0.0Ab	3.05±5.32Ac	75.69±7.7Bb	13.73±8.93Ab	GC		2.92±3.15Aa	0.00±0.00Ac	0.00±0.00Ac	22.18±0.13d	74.9±3.85Aa
L-arg		6.26±6.14Aa	1.75±4.29Ac	0.00±0.00Ac	88.99±10.76Aa	2.99±3.41Bb	L-arg		2.65±2.97Aa	0.00±0.00Ac	0.00±0.00Ac	23.15±2.45c	74.2±4.37Aa

2 GC: grupo controle; L-arg: oócitos maturados em meio suplementado com 2,5 mMol de L-arg; VG: vesícula germinativa; VGC: vesícula germinativa
3 condensada; RVG: rompimento da vesícula germinativa; MI: metáfase I; MII: metáfase II. Letras maiúsculas: médias diferem entre tratamentos, dentro
4 da mesma hora ($p < 0,05$). Letras minúsculas: médias diferem entre horas, dentro do mesmo tratamento ($p < 0,05$). Médias acompanhadas pela mesma letra
5 não diferem entre si pelo teste SNK a 5% de probabilidade.

6

7



8

9 Figura 2.: Concentração de putrescina (painel A), espermina (painel B), espermidina (painel C)
 10 e cadaverina (painel D) em oócitos bovinos ao longo da maturação *in vitro* (0, 3, 6, 9, 12, 15 e
 11 22 h). Grupo Controle: oócitos maturados em meio MIV; Grupo L-arg: oócitos maturados em
 12 meio MIV suplementado com 2,5 mMol de L-arg. Letras maiúsculas diferem entre tratamentos,
 13 letras minúsculas difere entre horas ($p < 0,05$). A mensuração de poliaminas foi realizada em
 14 triplicata, sendo que cada amostra representa 200 oócitos (n total=4.200 oócitos).

Na análise de transcritos relativos, a suplementação com L-arg aumentou a expressão de mRNA para Histona H2A na hora 3 de MIV ($p < 0,05$), aumentou a expressão de TP53BP1 e RAD52 nas horas 3 e 6 de MIV ($p < 0,05$) e reduziu a abundância de mRNA para BAX ($p < 0,05$). Para os genes XRCC5 e XRCC6, a suplementação com L-arg aumentou a expressão na hora 3 de MIV ($p < 0,05$). (Figura 3).

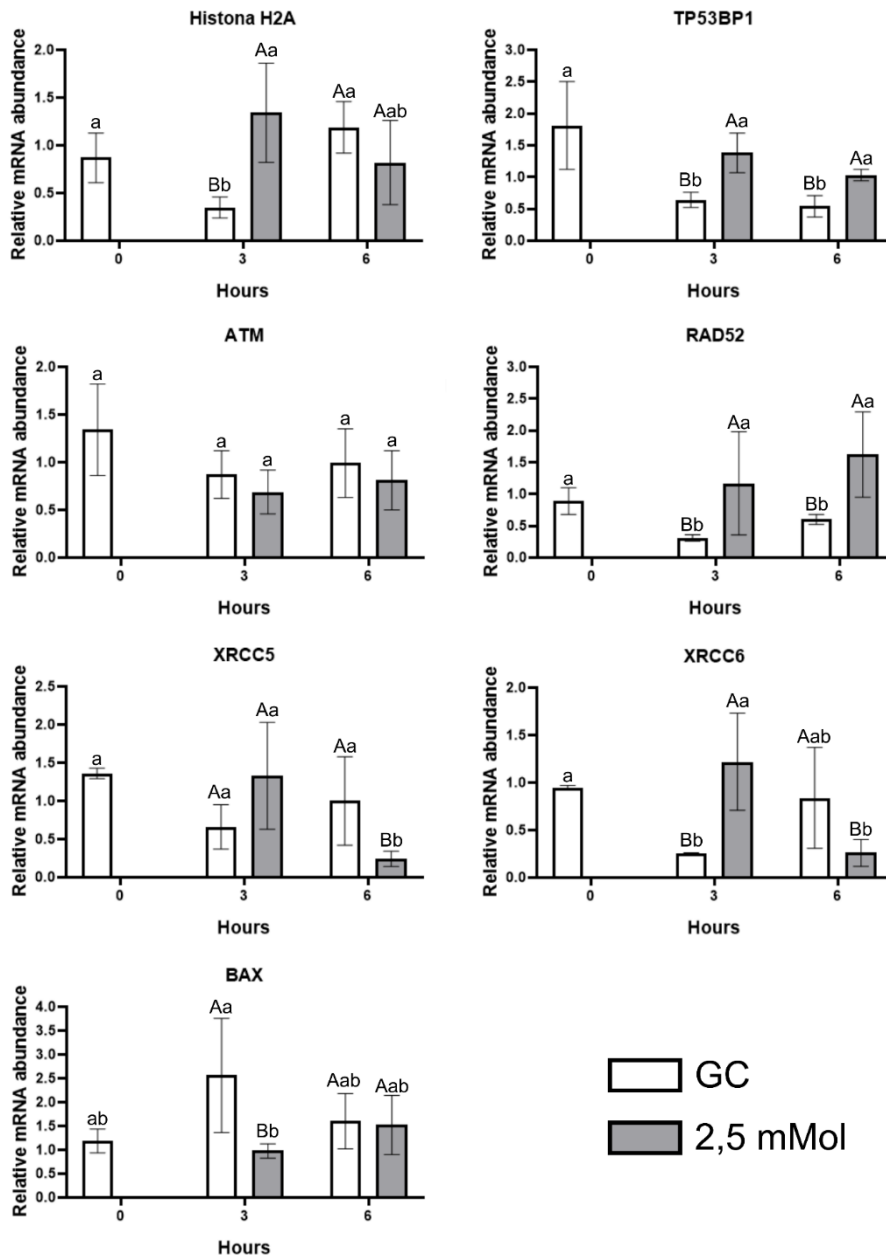


Figura 3: Análise de abundância relativa de mRNA de Histona H2A, TP53PB1, PPIB, ATM, RAD52, BAX, XRCC5 e XRCC6 em oócitos bovinos suplementados com L-arginina durante as horas 3 e 6 da maturação *in vitro* de oócitos bovinos.

1. Discussão

Neste trabalho avaliamos pela primeira vez em mamíferos a concentração de poliaminas ao longo da maturação *in vitro* de oócitos bovinos, uma vez que a concentração intraoocitária de poliaminas havia sido estudada somente em *Xenopus laevis* (OSBORNE *et al.*, 1989; SUNKARA; WRIGHT; NISHIOKA, 1981). Além disso, os estudos conduzidos por Sunkara *et al.* (1981) (SUNKARA; WRIGHT; NISHIOKA, 1981) e Osborne *et al.* (1989) (OSBORNE *et al.*, 1989) avaliaram somente a concentração de PUT, SPM e SPD sendo este, portanto, o primeiro relato que determina a concentração de cadaverina em oócitos.

Surpreendentemente, foi observado um retardo na retomada da meiose no grupo de oócitos tratados com L-arg, uma vez que no GC na hora 3 de MIV 65,08±18,52% dos oócitos já se encontravam em RVG, enquanto no grupo L-arg, 81,50±14,04% dos oócitos ainda se encontravam em VGC e somente as 9 horas de MIV, 88,36±12,49% alcançaram o estágio RVG.

Acreditamos esses resultados possam advir de dois fatores. Primeiramente, a L-arg pode influenciar a retomada da meiose por meio de um de seus metabólitos, o óxido nítrico (NO) (IGNARRO, 2000). O NO ativa a guanilato ciclase solúvel (sGC), enzima responsável pela síntese de cGMP (BOTIGELLI *et al.*, 2017). Além disso, o cGMP é sintetizado nas células do *cumulus* (SHUHAIBAR *et al.*, 2015), sendo transportado para o oócito através de junções comunicantes (junções GAP) (SUN; MIAO; SCHATTEEN, 2009). *In vivo*, após o pico de LH, essas junções são desintegradas e a comunicação entre as células da granulosa e o oócito é interrompida, reduzindo a concentração de cGMP e, conseqüentemente, levando à retomada da meiose (WINTERHAGER; KIDDER, 2015). Rostamzadeh *et al.* (2020) (ROSTAMZADEH *et al.*, 2020) demonstram uma estreita relação do sistema L-arg/NO na dinâmica de junções comunicantes entre as células de Sertoli e as espermatídes. Além disto, estudos conduzidos por nosso grupo demonstram um maior tempo de permanência de junções GAP em oócitos MIV suplementados com L-arg (dados não publicados).

No entanto, apesar de retardar a retomada meiótica, a suplementação com L-arg não apresentou efeito sob a progressão da meiose a partir das 15 h de maturação, uma vez que os oócitos se encontravam, em sua maioria, no mesmo estágio de maturação do que àqueles do GC (88,99±10,76% *vs* 75,69±7,7% dos oócitos em MI, respectivamente).

A concentração de PUT apresentou picos nas horas 3 (GC), 9 (L-arg) e 15 (em ambos os grupos). Curiosamente, os picos observados coincidem com estádios críticos para o progresso da maturação nuclear. Primeiro, nos picos observados nas horas 3 para GC e 9 para

L-arg, há uma similaridade com o momento na qual observou-se o rompimento da VG em ambos os grupos. Apesar de não haver estudos anteriores que determinaram a concentração de PUT durante a MIV, há relatos sobre um aumento na atividade da ODC1 próximo ao momento do rompimento da vesícula germinativa (SUNKARA; WRIGHT; NISHIOKA, 1981; TAO; LIU, 2013; ZHOU *et al.*, 2009). Por ser uma enzima limitante para a via (LEFÈVRE; PALIN; MURPHY, 2011; LENIS *et al.*, 2017; VUJCIC *et al.*, 2003), acreditamos que este aumento de atividade corresponda a um aumento nas concentrações de PUT, assim como observamos em nosso estudo. Por fim, o pico observado na hora 15 coincide com os oócitos atingindo o estágio MI em ambos os grupos, momento na qual se inicia a segunda divisão meiótica (MII) (HE *et al.*, 2021).

Estudos que trabalharam com atividade da ODC1 relatam somente um pico na atividade desta enzima (SUNKARA; WRIGHT; NISHIOKA, 1981; TAO; LIU, 2013; ZHOU *et al.*, 2009), no entanto, acompanharam somente as primeiras 9 horas de MIV. Em nosso estudo, observamos não um, mas dois picos de PUT durante a MIV, já que acompanhamos todo o processo de maturação nuclear.

Vale destacar ainda o momento crucial da progressão meiótica na qual ocorrem ambos os picos. Diversos estudos apontam funções importantes das PAs ligadas ao DNA (SHI; YAN; *et al.*, 2022; SHI; ZHANG; *et al.*, 2022b), como a manutenção da integridade do genoma (HA *et al.*, 1998; LEE, Chih-Ying *et al.*, 2019; SAVA *et al.*, 2006), inibição da apoptose (NIU *et al.*, 2021), sob a mitofagia (ZHANG, Yu *et al.*, 2023) e correção de modificações epigenéticas (SHI; YAN; *et al.*, 2022), além de estarem comumente relacionada à melhora na qualidade de oócitos de fêmeas senís (LIU, Dandan *et al.*, 2017; SHI; ZHANG; *et al.*, 2022b; TAO *et al.*, 2015; TAO; LIU, 2013). Assim como observado por Sunkara *et al.* (1981) (SUNKARA; WRIGHT; NISHIOKA, 1981), a via das PAs não parece ser limitante para a retomada da meiose, já que não houve diferença na taxa de maturação entre os grupos. No entanto, principalmente PUT parece ser essencial para a manutenção da homeostase e, principalmente, da integridade do material genético do oócito, já que é possível visualizar um íntimo sincronismo entre picos de PUT e momentos na qual o material genético oocitário encontra-se mais exposto e, portanto, mais susceptível a danos e à reparos (LEE, Chih-Ying *et al.*, 2019).

Alguns autores relatam um aumento na concentração de PUT durante a maturação em oócitos de *X. laevis* (OSBORNE *et al.*, 1989; SUNKARA; WRIGHT; NISHIOKA, 1981), fato não observado em nosso estudo. Apesar de apresentar picos durante a MIV, a concentração final de

PUT após transcorridas 22 horas de MIV foi inferior à concentração encontrada em oócitos imaturos. Porém, além de trabalhar com espécies muito distintas, a sensibilidade das técnicas utilizadas nas análises pode ter contribuído para essa divergência de resultados.

Assim como a PUT, a SPD apresentou acentuada queda em sua concentração durante a MIV ($0,5 \pm 0,05$ ng/oócito imaturo vs $0,18 \pm 0,01$ ng/oócito e $0,19 \pm 0,01$ ng/oócito às 22 horas de MIV em GC e L-arg, respectivamente) ($p < 0,05$), discordando de estudos realizados anteriormente que apontam para concentração estável de SPD durante a maturação (OSBORNE *et al.*, 1989; SUNKARA; WRIGHT; NISHIOKA, 1981). Observamos ainda um pico da concentração às 9 horas de MIV em ambos os grupos e, no grupo L-arg, esse pico se estende até as 12 horas de MIV. Esse dado nos permite pensar que: (i) o oócito possui capacidade de sintetizar SPD e; (ii) oócitos suplementados com L-arg possuem maior aporte de substrato para a via, possibilitando um pico maior e mais prolongado de produção de SPD. No entanto, mais estudos se fazem necessários para elucidar o controle de produção não só de SPD, mas das demais PAs no interior do oócito. Estudos anteriores relatam uma concentração distinta de PAs do oócito até mesmo para o fluido folicular (OSBORNE *et al.*, 1989), mas não se sabe como o oócito sintetiza e/ou por qual via recebe PAs.

Assim como SPD, estudos anteriores indicavam uma estabilidade na concentração de SPM durante a maturação (OSBORNE *et al.*, 1989; SUNKARA; WRIGHT; NISHIOKA, 1981), fato não observado em nosso estudo, uma vez que a concentração de SPM apresentou acentuada queda durante a MIV de oócitos bovinos ($0,8 \pm 0,0$ ng/oócito imaturo vs $0,1 \pm 0,0$ ng/oócito após 22 horas de MIV, respectivamente) em ambos os grupos. Esses dados nos permitem supor que: (i) toda SPM produzida pelo oócito foi rapidamente metabolizada à SPD pela espermidina sintase (LEFÈVRE; PALIN; MURPHY, 2011; LENIS *et al.*, 2017; VUJCIC *et al.*, 2003) ou (ii) toda SPM foi revertida à PUT, uma vez que a retroalimentação é possível nesta via (LEFÈVRE; PALIN; MURPHY, 2011), sendo utilizada como substrato para produzir PAs mais participativas na via. No entanto, mais estudos são necessários para elucidar o metabolismo desta PA em oócitos.

A CAD, dosada pela primeira vez não só em oócitos, mas em células de mamíferos de maneira geral, seguiu um perfil muito semelhante ao apresentado pela espermina, apresentando uma acentuada queda em sua concentração às 3h, decaindo de $0,16 \pm 0,01$ ng/oócito para concentrações quase indetectáveis e permanecendo assim, ao longo da MIV. Apesar de um discreto aumento em sua concentração às 12 horas de maturação em ambos os grupos ($P < 0,05$),

tais resultados nos sugerem que a mesma não é sintetizada pelo COC. Mais estudos são necessários para confirmar tal suposição e elucidar se esta elevação está associada a algum evento fisiológico ou não.

Nossos dados sugerem que PUT e SPD, a menor (e com menor capacidade de interação) e a maior (e com maior capacidade de interação) (MOINARD; CYNOBER; DEBANDT, 2005) da via são as mais ativas durante o processo de MIV de oócitos bovinos visto a diferença não só entre a concentração de PUT e SPD quando comparadas à SPM e CAD, mas também pelo dinamismo durante a MIV, já que SPM e CAD decaem sua concentração rapidamente e se mantêm praticamente a níveis basais. Há poucos estudos que descrevem a utilização da suplementação de PAs na reprodução, sendo a PUT utilizada em roedores tanto *in vivo* (TAO *et al.*, 2015) como *in vitro* (LIU, Dandan *et al.*, 2017; SHI; ZHANG; *et al.*, 2022b), SPD sendo utilizada em roedores (ZHANG, Yu *et al.*, 2023) e SPM em suínos (JIN, J. X. *et al.*, 2016), sendo demonstrado efeitos sob, principalmente, o desenvolvimento embrionário (JIN, J. X. *et al.*, 2016; LIU, Dandan *et al.*, 2017; TAO *et al.*, 2015) e, mais recentemente, sob genoma e epigenética (SHI; YAN; *et al.*, 2022; SHI; ZHANG; *et al.*, 2022b), sob a manutenção da integridade do genoma (HA *et al.*, 1998; LEE, Chih-Ying *et al.*, 2019; SAVA *et al.*, 2006), sob o estresse oxidativo e função ovariana (JIANG *et al.*, 2023; NIU *et al.*, 2023), sob a inibição da apoptose (NIU *et al.*, 2021), sob a mitofagia e aumento na função mitocondrial (SHI; ZHANG; *et al.*, 2022b; ZHANG, Yu *et al.*, 2023).

A análise de transcritos relativos foi realizada com o objetivo de avaliar mRNA transcritos por genes relacionados ao reparo do DNA durante a retomada da meiose. Utilizamos em nosso estudo as horas 3 e 6 por coincidirem com o rompimento da vesícula germinativa no GC e em oócitos suplementados com 2,5 mMol de L-arg, respectivamente. Geralmente, oócitos que apresentam danos no DNA, principalmente quebras de fita dupla, podem ser reparados por recombinação homóloga ou por junção de extremidades não homólogas (ROVANI *et al.*, 2023; RUIZ-HERRERA; GARCIA; GARCIA-CALDÉS, 2012; TRENNER; SARTORI, 2019). Avaliamos, portanto, genes relacionados às duas vias, sendo Histona H2A, TP53BP1, ATM e RAD52 associados à recombinação homóloga enquanto XRCC 5 e XRCC6 relacionados à junção de extremidades não homólogas (LIN, Tao *et al.*, 2021), além do gene pró-apoptótico BAX (VINING *et al.*, 2021).

A abundância relativa para transcritos de Histona H2A foi menor em oócitos do grupo controle na hora 3 de MIV. A fosforilação da histona H2A pode ser considerada a primeira

linha de defesa contra quebras de fita dupla (FIRSANOV; SOLOVJEVA; SVETLOVA, 2011; MARANGOS; CARROLL, 2012; ROVANI *et al.*, 2023). Essa proteína atua como um sinalizador, possibilitando a identificação de danos ao DNA e promovendo seu reparo, uma vez que permite o acesso de proteínas reparadoras (NASHUN *et al.*, 2010; SUDHAKARAN *et al.*, 2015). Estudos recentes relacionam o aumento na detecção de Histona H2A fosforilada por imunodeteção ao surgimento de danos ao DNA (CHANG *et al.*, 2019; ROVANI *et al.*, 2023). Até o momento, a abundância de transcritos para Histona H2A não se encontra descrito para oócitos bovinos, sendo esta relatada somente como primer de controle interno (ROVANI *et al.*, 2023), o que torna este estudo o primeiro a descrevê-la durante as primeiras horas de MIV. Estudos anteriores de nosso grupo demonstraram uma melhora substancial na qualidade de oócitos suplementados com L-arg durante a MIV (dados não publicados). Com base nestes dados, acreditamos então que essa redução na abundância de Histona H2A observada em GC na hora 3 de MIV possa estar vinculado a um maior índice de dano ao DNA, uma vez que esta estaria sendo fosforilada (PAULL *et al.*, 2000) e, portanto, menos transcritos seriam observados.

A abundância relativa de TP53BP1 foi menor em oócitos do GC nas horas 3 e 6 de MIV. Reconhecida como uma proteína nuclear que localiza rapidamente os locais de quebra de fita dupla (LEI *et al.*, 2022; RAPPOLD *et al.*, 2001a; SCHULTZ *et al.*, 2000; WARD *et al.*, 2003), a TP53BP1 regula alinhamento cromossômico e bipolaridade do fuso em oócitos de camundongos (JIN, Zhe-Long; SUK; KIM, 2019), além de interagir com diversas outras proteínas (GOETTEN *et al.*, 2023). Estudos anteriores indicam um aumento na expressão de TP53BP1 à medida em que se aumentava a exposição de oócitos bovinos à radiação ionizante (ROVANI *et al.*, 2023), indicando que, quanto maior o dano induzido ao DNA, maior seria a expressão de transcritos para esta proteína. Contudo, deferentemente do estudo conduzido por Rovani *et al.* (2023) (ROVANI *et al.*, 2023), não induzimos danos ao DNA. Novamente, baseado em resultados de estudos anteriores que apontam para uma melhor qualidade de oócitos suplementados com L-arg (dados não publicados), cabe-nos sugerir que o aumento da abundância de TP53BP1 não esteja vinculado ao aumento de danos ao DNA e sim a um aumento na capacidade de reparo do material genético oocitário, ação na qual TP53BP1 está fortemente associada (LEI *et al.*, 2022; RAPPOLD *et al.*, 2001a; SCHULTZ *et al.*, 2000; WARD *et al.*, 2003).

A abundância relativa de transcritos para ATM não apresentou diferença entre os grupos e horas, dados semelhantes aos encontrados em oócitos bovinos por Rovani *et al.* (2023) (ROVANI *et al.*, 2023). A ativação da ATM pode ser considerada o primeiro passo na formação

do ponto de verificação após o surgimento de danos ao DNA (FIRSANOV; SOLOVJEVA; SVETLOVA, 2011; MARANGOS; CARROLL, 2012; ROVANI *et al.*, 2023), sendo a responsável por fosforilar a Histona H2A (PAULL *et al.*, 2000) e regular a atividade da TP53BP1 (JACKSON; BARTEK, 2009; NIIDA; NAKANISHI, 2006; RAPPOLD *et al.*, 2001b; SANCAR *et al.*, 2004), induzindo a resposta celular e reparo do DNA (PAILAS *et al.*, 2022; ROVANI *et al.*, 2023). Sabe-se ainda que a ATM ativa as quinases do ponto de verificação do ciclo celular em resposta a danos no DNA, levando à parada do ciclo celular e dando à célula tempo suficiente para realizar os reparos necessários (BARTEK; LUKAS, 2003; BOHRER *et al.*, 2015; REINHARDT; YAFFE, 2013). Acreditamos que a estabilidade para a abundância relativa de ATM em nosso trabalho se deve a baixos índices de dano ao DNA em ambos os grupos, uma vez que esta via é ativada somente em níveis elevados de quebra de fita dupla (LANE *et al.*, 2017; MARANGOS; CARROLL, 2012).

A suplementação com 2,5 mMol aumentou a abundância relativa de RAD52 em oócitos suplementados com L-arg nas horas 3 e 6 de MIV. Integrante da via de reparação homóloga, essa proteína participa da etapa inicial da reparação, se ligando às extremidades da molécula de DNA e impedindo sua digestão por exonucleases (HIOM, 1999), sendo fundamental para a manutenção da integridade genômica (PAILAS *et al.*, 2022; ROVANI *et al.*, 2023) seja em condições fisiológicas ou patológicas (MALACARIA *et al.*, 2020). Estudos sugerem a existência de mecanismos dependentes de RAD52 para a reparação de DNA em oócitos e embriões bovinos (GOETTEN *et al.*, 2023; HENRIQUE BARRETA *et al.*, 2012; PAILAS *et al.*, 2022), sendo observado uma redução em sua abundância relativa quando danos ao DNA são gerados por radiação ionizante (ROVANI *et al.*, 2023). Além disso, estudos relatam que a RAD51, proteína pertencente à mesma via, auxilia na manutenção da integridade dos cromossomos e na distribuição mitocondrial durante a MIV de oócitos suínos (JIN; KIM, 2017), corroborando com nossos resultados onde sugerimos que a suplementação com 2,5 mMol de L-arg proporcionou maior abundância de RAD52, promovendo o reparo de DNA e auxiliando na melhoria da qualidade dos oócitos.

Curiosamente, esperávamos uma interação entre a concentração de PAs e abundância relativa de RAD52, uma vez que estudos apontam para uma regulação da via RAD por parte das PAs em cultura de células somáticas (LEE, Chih-Ying *et al.*, 2019), dados que não corroboram com nossos achados. Sugerimos que tal divergência venha do tipo de células utilizadas em cada estudo, reforçando a necessidade de novos estudos específicos em oócitos.

Participantes da via de junção de extremidades não homólogas, XRCC5 e XRCC6 apresentaram diferença em sua abundância relativa em nosso estudo. Codificadores das proteínas Ku80 e Ku70, respectivamente (ROVANI *et al.*, 2023), proteínas limitantes para a via de junção de extremidades não homólogas (VANDERSICKEL *et al.*, 2010).

O XRCC5 apresentou menor abundância em oócitos suplementados com 2,5 mMol de L-arg na hora 6 de MIV. Estudos demonstram que XRCC5, através de Ku80, possui ação importante durante a retomada da meiose, sendo vitais para o controle de qualidade de oócitos VG, sendo a via de escolha para reparo de DNA em oócitos parados meioticamente (CAI *et al.*, 2023). Corroborando com os dados descritos, observamos uma tendência de maior acúmulo de mRNA para XRCC5 em oócitos imaturos e na hora 3 de MIV para oócitos suplementados com L-arg, uma vez que estes ainda se encontravam na fase de VGC neste horário. No entanto, o acúmulo de mRNA para XRCC5 foi menor em oócitos suplementados com L-arg na hora 6 de MIV. Apesar de não haver diferença em GC, acreditamos que a retomada da meiose possa ter influenciado a expressão de XRCC5, já que a abundância de mRNA pode ser reduzida após a retomada da meiose (CAI *et al.*, 2023; MARTIN *et al.*, 2018). No entanto, mais estudos são necessários para melhor entendimento da via em oócitos.

O XRCC6 apresentou menor abundância na hora 3 para GC e na hora 6 para oócitos suplementados com L-arg. Através da proteína Ku70, este gene está envolvido na detecção de quebras de fita dupla e recrutamento de fatores de reparo (dentre eles, a RAD52) (STRINGER *et al.*, 2018). Observamos em nosso estudo menor abundância para o XRCC6 próximo ao rompimento da VG em ambos os tratamentos (hora 3 para GC e hora 6 para L-arg), indicando uma possível relação entre o rompimento da VG e uma menor expressão para este gene.

A abundância relativa de transcritos para o BAX foi maior em oócitos do GC na hora 3 de MIV do que oócitos suplementados com L-arg nesse mesmo horário. Reconhecido como um gene pro-apoptótico (VINING *et al.*, 2021) e descrito tanto em embriões (FEAR; HANSEN, 2011; PANG *et al.*, 2016; VANDAELE *et al.*, 2008) como em oócitos bovinos (DE BEM *et al.*, 2014; EL-SHEIKH *et al.*, 2023; LI, H.J. *et al.*, 2009; LI, H.-J. *et al.*, 2013; YANG, Ming Yuan; RAJAMAHENDRAN, 2002), este gene pode ser usado como fator determinante para a sobrevivência ou apoptose de oócitos e embriões (LI, H.J. *et al.*, 2009; YANG, Ming Yuan; RAJAMAHENDRAN, 2002). Localizado principalmente no citosol mitocondrial, quando ativado, o BAX regula a liberação do citocromo C para o citosol (HEIMLICH *et al.*, 2004). Estudos demonstram que, em concentrações adequadas, o NO pode atuar como fator

antiapoptótico por inibir a citocromo C oxidase (PODEROSO; HELFENBERGER; PODEROSO, 2019). A L-arg atua como precursor do NO (AURICH *et al.*, 2019) e, apesar de estoques substanciais de L-arg nas células, sua concentração no meio extracelular é quem determina a taxa de produção do NO (CHIN-DUSTING; WILLEMS; KAYE, 2007; HSU; TAIN, 2019). Portanto, sugerimos que a suplementação com L-arg foi determinante para uma menor expressão de BAX em oócitos bovinos na hora 3 de MIV, reduzindo os índices de apoptose e, conseqüentemente, contribuindo para uma melhor qualidade oocitária.

Com a crescente demanda por técnicas de reprodução assistida por mulheres em idade avançada e, conseqüentemente, com oócitos de pior qualidade (MOGHADAM *et al.*, 2021), essa interessante via merece maiores estudos, a fim de otimizar não somente a reprodução de animais de interesse zootécnico, mas também na conservação de recursos genéticos e reprodução humana. Além disso, a natureza catiônica das PAs (LENIS *et al.*, 2017) e sua capacidade de se ligar à moléculas de carga negativa como o DNA (WANG *et al.*, 2014) pode proporcionar importantes avanços no conhecimento sobre a modulação do material genético oocitário, uma vez que as PAs estabilizam a estrutura do DNA, possibilitando a regulação da expressão gênica (IGARASHI; KASHIWAGI, 2010b; WALLACE; FRASER; HUGHES, 2003), reparação de danos (LEE, Chih-Ying *et al.*, 2019) e redução dos índices de aneuploidia (NIU *et al.*, 2021, 2023; ZHOU *et al.*, 2009) sem causar alterações epigenéticas nas gerações seguintes (SHI; ZHANG; *et al.*, 2022b). Surpreendentemente, não encontramos similaridades entre a concentração intraoocitária de PAs e a abundância relativa dos primers avaliados durante a retomada da meiose. Sendo assim, mais estudos se fazem necessários para entender melhor como ocorre a interação das PAs com o DNA do oócito uma vez que, apesar de funções descritas, os mecanismos pelo qual as PAs às desenvolve ainda é pouco descrito (LENIS *et al.*, 2017). Além disso, estudos futuros podem avaliar a ação desses primers em outras etapas da MIV ou utilizar outros primers a fim de verificar a interação das PAs com outros genes ou, até mesmo, com outras vias.

Reconhecer a concentração intraoocitária de poliaminas torna-se crucial, uma vez que o oócito apresenta concentração de poliaminas distinta até mesmo do fluido folicular (OSBORNE *et al.*, 1989). Portanto, em posse dos dados relacionados à concentração de poliaminas durante a maturação e sabendo qual (e quando) cada poliamina possui alteração da concentração, podemos traçar com maior confiança o delineamento dos próximos passos de estudos referentes à via. Apesar de não apresentar efeitos citotóxicos (TAO *et al.*, 2015), saber a concentração

intraocitária de poliaminas nos permite otimizar a suplementação de meios de maturação, evitando assim um excesso de substâncias no meio e otimizando custos.

2. Conclusão

Identificamos 4 poliaminas no oócito de bovinos ao longo da maturação *in vitro* pela primeira vez em mamíferos, sendo que o perfil da concentração de putrescina apresentou similaridade com perfil da cinética da maturação nuclear em ambos os grupos. Os resultados do presente estudo reforçam a participação e importância da via no processo de maturação dos oócitos bovinos *in vitro*. No entanto, mais estudos sobre a via L-arg/PAs fazem-se necessários para melhor entendimento de sua ação.

Identificamos ainda efeitos da L-arg na retomada da meiose e na expressão de genes envolvidos no reparo de DNA, reforçando ainda mais os efeitos desta via sob a qualidade dos oócitos.

A via das poliaminas desponta como importante candidata para estudos voltados à área de reprodução, tanto animal como humana.

3. Referências

AGUIAR, Gester Breda; CALDAS-BUSSIÈRE, Maria Clara; MACIEL JUNIOR, Valter Luiz; CARVALHO, Carla_Sobrinho Paes de; SOUZA, Cláudio Luiz Melo de. Association of L-arginine with heparin on the sperm capacitation improves in vitro embryo production in bovine. **Animal Reproduction**, vol. 16, no. 4, p. 938–944, 2019. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0022>.

AGUILA, Luis; TREULEN, Favian; THERRIEN, Jacinthe; FELMER, Ricardo; VALDIVIA, Martha; SMITH, Lawrence C. Oocyte Selection for In Vitro Embryo Production in Bovine Species: Noninvasive Approaches for New Challenges of Oocyte Competence. **Animals**, vol. 10, no. 12, p. 2196, 24 Nov. 2020. <https://doi.org/10.3390/ani10122196>.

AJDUK, Anna; MAŁAGOCKI, Antoni; MALESZEWSKI, Marek. Cytoplasmic maturation of mammalian oocytes: development of a mechanism responsible for sperm-induced Ca²⁺ oscillations. **Reproductive Biology**, vol. 8, no. 1, p. 3–22, Mar. 2008. [https://doi.org/10.1016/S1642-431X\(12\)60001-1](https://doi.org/10.1016/S1642-431X(12)60001-1).

ALI, Atef; SIRARD, Marc-André. The effects of 17β-estradiol and protein supplement on the response to purified and recombinant follicle stimulating hormone in bovine oocytes. **Zygote**, vol. 10, no. 1, p. 65–71, 9 Feb. 2002. <https://doi.org/10.1017/S0967199402002095>.

ALM, Kersti; OREDSSON, Stina. Cells and polyamines do it cyclically. **Essays in Biochemistry**, vol. 46, p. 63–76, 30 Oct. 2009. <https://doi.org/10.1042/bse0460005>.

ALVARADO RINCÓN, Joao Alveiro; GINDRI, Patricia Carvalho; MION, Bruna; GIULIANA DE ÁVILA, Ferronato; BARBOSA, Antônio Amaral; MAFFI, Andressa Stein; PRADIEÉ, Jorgea; MONDADORI, Rafael Gianella; CORRÊA, Marcio Nunes; LIGIA MARGARETH CANTARELLI, Pegoraro; SCHNEIDER, Augusto. Early embryonic development of bovine oocytes challenged with LPS in vitro or in vivo. **Reproduction**, vol. 158, no. 5, p. 453–463, Nov. 2019. <https://doi.org/10.1530/REP-19-0316>.

AQUILA, Saveria; GIORDANO, Francesca; GUIDO, Carmela; RAGO, Vittoria; CARPINO, Amalia. Nitric oxide involvement in the acrosome reaction triggered by leptin in pig sperm. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 9, no. 1, p. 133, 4 Dec. 2011. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-133>.

AURICH, Jörg; KÖHNE, Martin; WULF, Manuela; NAGEL, Christina; BEYTHIEN, Elisabeth; GAUTIER, Camille; ZENTEK, Jürgen; AURICH, Christine. Effects of dietary L-arginine supplementation to early pregnant mares on conceptus diameter—Preliminary findings. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 54, no. 5, p. 772–778, 8 May 2019. <https://doi.org/10.1111/rda.13422>.

BARDOCZ, S. The role of dietary polyamines. **European journal of clinical nutrition**, vol. 47, no. 10, p. 683–90, Oct. 1993. .

BARNES, Deborah E.; LINDAHL, Tomas. Repair and Genetic Consequences of Endogenous DNA Base Damage in Mammalian Cells. **Annual Review of Genetics**, vol. 38, no. 1, p. 445–476, 1 Dec. 2004. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.38.072902.092448>.

BARROSO, R. Nitric oxide inhibits development of embryos and implantation in mice. **Molecular Human Reproduction**, vol. 4, no. 5, p. 503–507, 1 May 1998. <https://doi.org/10.1093/molehr/4.5.503>.

BARTEK, Jiri; LUKAS, Jiri. Chk1 and Chk2 kinases in checkpoint control and cancer. **Cancer Cell**, vol. 3, no. 5, p. 421–429, May 2003. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(03\)00110-7](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(03)00110-7).

BASINI, G.; BARATTA, M.; PONDERATO, N.; BUSSOLATI, S.; TAMANINI, C. Is nitric oxide an autocrine modulator of bovine granulosa cell function? **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 10, no. 6, p. 471, 1998. <https://doi.org/10.1071/RD98114>.

BASINI, Giuseppina; GRASSELLI, Francesca. Nitric oxide in follicle development and oocyte competence. **REPRODUCTION**, vol. 150, no. 1, p. R1–R9, Jul. 2015. <https://doi.org/10.1530/REP-14-0524>.

BÉRARD, J.; BEE, G. Effects of dietary l-arginine supplementation to gilts during early gestation on foetal survival, growth and myofiber formation. **Animal**, vol. 4, no. 10, p. 1680–1687, 2010. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000881>.

BEZERRA, F.T.G.; SILVA, A.W.B.; RISSI, V.B.; ROSA, P.A.; CESARO, M.P.; COSTA, J.J.N.; GONÇALVES, P.B.D.; SILVA, J.R.V. Cilostamide and follicular hemisections inhibit oocyte meiosis resumption and regulate gene expression and cAMP levels in bovine cumulus-oocyte complexes. **Livestock Science**, vol. 184, p. 112–118, Feb. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.12.014>.

BISTULFI, G.; DIEGELMAN, P.; FOSTER, B. A.; KRAMER, D. L.; PORTER, C. W.; SMIRAGLIA, D. J. Polyamine biosynthesis impacts cellular folate requirements necessary to maintain S -adenosylmethionine and nucleotide pools. **The FASEB Journal**, vol. 23, no. 9, p. 2888–2897, 5 Sep. 2009. <https://doi.org/10.1096/fj.09-130708>.

BÖGER, Rainer H; BODE-BÖGER, Stefanie M. The Clinical Pharmacology of L-Arginine. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, vol. 41, no. 1, p. 79–99, Apr. 2001. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.41.1.79>.

BOHRER, Rodrigo Camponogara; COUTINHO, Ana Rita S.; DUGGAVATHI, Raj; BORDIGNON, Vilceu. The Incidence of DNA Double-Strand Breaks Is Higher in Late-Cleaving and Less Developmentally Competent Porcine Embryos1. **Biology of Reproduction**, vol. 93, no. 3, 1 Sep. 2015. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.130542>.

BOTIGELLI, Ramon Cesar; SCHWARZ, Katia Lancellotti; ZAFFALON, Fabiane Gilli; DEL COLLADO, Maite; CASTRO, Fernanda Cavallari; FERNANDES, Hugo; LEAL, Claudia Lima Verde. Influence of nitric oxide and phosphodiesterases during *in vitro* maturation of bovine oocytes on meiotic resumption and embryo production. **Zygote**, vol. 25, no. 3, p. 321–330, 27 Jun. 2017. <https://doi.org/10.1017/S096719941700017X>.

BOYMAN, Liron; KARBOWSKI, Mariusz; LEDERER, W. Jonathan. Regulation of Mitochondrial ATP Production: Ca²⁺ Signaling and Quality Control. **Trends in Molecular Medicine**, vol. 26, no. 1, p. 21–39, Jan. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2019.10.007>.

BRADSHAW, J.; JUNG, T.; FULKA, J.; MOOR, R. M. UV irradiation of chromosomal DNA and its effect upon MPF and meiosis in mammalian oocytes. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 41, no. 4, p. 503–512, 4 Aug. 1995. <https://doi.org/10.1002/mrd.1080410413>.

BREVINI GANDOLFI, T.A.L.; GANDOLFI, Fulvio. The maternal legacy to the embryo: cytoplasmic components and their effects on early development. **Theriogenology**, vol. 55, no. 6, p. 1255–1276, Apr. 2001. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00481-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00481-2).

BRUNET, Stephane; MARO, Bernard. Cytoskeleton and cell cycle control during meiotic maturation of the mouse oocyte: integrating time and space. **Reproduction**, vol. 130, no. 6, p. 801–811, Dec. 2005. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00364>.

BU, Shumin; XIA, Guoliang; TAO, Yong; LEI, Lei; ZHOU, Bo. Dual effects of nitric oxide on meiotic maturation of mouse cumulus cell-enclosed oocytes in vitro. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 207, no. 1–2, p. 21–30, Sep. 2003. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(03\)00213-2](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(03)00213-2).

BULBARELA-GARCÍA, Gerónimo; PRO-MARTÍNEZ, Arturo; BECERRIL PÉREZ, Carlos Miguel; PABLO, Díaz-Rivera; ROSENDO-PONCE, Adalberto; SÁNCHEZ, Jaime. Effect of L-arginine and fish oil on the reproductive performance of hair sheep synchronization with a progestagen. **Agrociencia**, vol. 43, p. 371–377, Jan. 2009. .

CAI, Xuebi; STRINGER, Jessica M.; ZERAFA, Nadeen; CARROLL, John; HUTT, Karla J. Xrcc5/Ku80 is required for the repair of DNA damage in fully grown meiotically arrested mammalian oocytes. **Cell Death & Disease**, vol. 14, no. 7, p. 397, 5 Jul. 2023. <https://doi.org/10.1038/s41419-023-05886-x>.

CAO, Chuanai; XU, Yining; LIU, Meiyue; KONG, Baohua; ZHANG, Fengxue; ZHANG, Hongwei; LIU, Qian; ZHAO, Jinhai. Additive Effects of L-Arginine with Potassium Carbonate on the Quality Profile Promotion of Phosphate-Free Frankfurters. **Foods**, vol. 11, no. 22, p. 3581, 10 Nov. 2022. <https://doi.org/10.3390/foods11223581>.

CASEY, P J; HILLMAN, R B; ROBERTSON, K R; YUDIN, A I; LIU, I K; DROBNIS, E Z. Validation of an acrosomal stain for equine sperm that differentiates between living and dead sperm. **Journal of andrology**, vol. 14, no. 4, p. 289–97, 1993. .

CASTILLO, L; BEAUMIER, L; AJAMI, A M; YOUNG, V R. Whole body nitric oxide synthesis in healthy men determined from [15N] arginine-to-[15N]citrulline labeling. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 93, no. 21, p. 11460–11465, 15 Oct. 1996. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.21.11460>.

CHANG, Haoya; CHEN, Huanhuan; ZHANG, Lei; WANG, Yile; XIE, Xiaogang; ZHANG, Yong; QUAN, Fusheng. Effect of oocyte vitrification on DNA damage in metaphase II oocytes and the resulting preimplantation embryos. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 86, no. 11, p. 1603–1614, 13 Nov. 2019. <https://doi.org/10.1002/mrd.23247>.

CHE, Dongsheng; ADAMS, Seidu; ZHAO, Bao; QIN, Guixin; JIANG, Hailong. Effects of Dietary L-arginine Supplementation from Conception to Post- Weaning in Piglets. **Current Protein & Peptide Science**, vol. 20, no. 7, p. 736–749, 27 Jun. 2019. <https://doi.org/10.2174/1389203720666190125104959>.

CHIN-DUSTING, J.P.F.; WILLEMS, L.; KAYE, D.M. L-Arginine transporters in cardiovascular disease: A novel therapeutic target. **Pharmacology & Therapeutics**, vol. 116, no. 3, p. 428–436, Dec. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.08.001>.

CHOUDHURY, Shouhartha. A comparative analysis of BCL-2 family. **Bioinformatics**, vol. 15, no. 4, p. 299–306, 15 Apr. 2019. <https://doi.org/10.6026/97320630015299>.

CICCIA, Alberto; ELLEDGE, Stephen J. The DNA Damage Response: Making It Safe to Play with Knives. **Molecular Cell**, vol. 40, no. 2, p. 179–204, Oct. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.09.019>.

CLARKE, Hugh J. Regulation of germ cell development by intercellular signaling in the mammalian ovarian follicle. **WIREs Developmental Biology**, vol. 7, no. 1, 11 Jan. 2018. <https://doi.org/10.1002/wdev.294>.

CLARKE, Hugh J. Transzonal projections: Essential structures mediating intercellular communication in the mammalian ovarian follicle. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 89, no. 11, p. 509–525, 16 Nov. 2022. <https://doi.org/10.1002/mrd.23645>.

COBURN, Ronald F. Polyamine effects on cell function: Possible central role of plasma membrane PI(4,5)P₂. **Journal of Cellular Physiology**, vol. 221, no. 3, p. 544–551, 25 Dec. 2009. <https://doi.org/10.1002/jcp.21899>.

COFFINO, Philip. Regulation of cellular polyamines by antizyme. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, vol. 2, no. 3, p. 188–194, Mar. 2001. <https://doi.org/10.1038/35056508>.

CONTI, Marco; ANDERSEN, Carsten Bo; RICHARD, Francois; MEHATS, Celine; CHUN, Sang-Young; HORNER, Kathleen; JIN, Catherine; TSAFRIRI, Alex. Role of cyclic nucleotide signaling in oocyte maturation. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 187, no. 1–2, p. 153–159, Feb. 2002. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(01\)00686-4](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(01)00686-4).

CONTI, Marco; FRANCIOSI, Federica. Acquisition of oocyte competence to develop as an embryo: integrated nuclear and cytoplasmic events. **Human Reproduction Update**, vol. 24, no. 3, p. 245–266, 1 May 2018. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmx040>.

COTTERILL, Matthew; HARRIS, Sarah E.; COLLADO FERNANDEZ, Esther; LU, Jianping; HUNTRISS, John D.; CAMPBELL, Bruce K.; PICTON, Helen M. The activity and copy number of mitochondrial DNA in ovine oocytes throughout oogenesis in vivo and during oocyte maturation in vitro. **MHR: Basic science of reproductive medicine**, vol. 19, no. 7, p. 444–450, Jul. 2013. <https://doi.org/10.1093/molehr/gat013>.

DA ROSA, Paulo Roberto Antunes; DE CESARO, Matheus Pedrotti; PEREIRA DAU, Andressa Minussi; DUGGAVATHI, Raj; BORDIGNON, Vilceu; GONÇALVES, Paulo Bayard Dias. Reversible meiotic arrest of bovine oocytes by EGFR inhibition and follicular hemisections. **Theriogenology**, vol. 99, p. 53–62, Sep. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.05.014>.

DARMANI, Homa; ELBETIEHA, Ahmed M; BASHIR, Nabil. Effects of L-Arginine and L-Omega-Nitro-L-Arginine Methyl Ester on Fertility of Female Rats. **Journal of Applied Biological Sciences**, vol. 13, no. 1, p. 29–32, 23 Sep. 2019. Available at: <https://jabsonline.org/index.php/jabs/article/view/590>.

DAVENPORT, G.M.; BOLING, J.A.; SCHILLO, K.K. Growth and endocrine responses of lambs fed rumen-protected ornithine and arginine. **Small Ruminant Research**, vol. 17, no. 3, p. 229–236, Aug. 1995. [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(95\)00685-E](https://doi.org/10.1016/0921-4488(95)00685-E).

DE BEM, THC; ADONA, PR; BRESSAN, FF; MESQUITA, LG; CHIARATTI, MR; MEIRELLES, FV; LEAL, CLV. The Influence of Morphology, Follicle Size and Bcl-2 and Bax Transcripts on the

Developmental Competence of Bovine Oocytes. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 49, no. 4, p. 576–583, 30 Aug. 2014. <https://doi.org/10.1111/rda.12325>.

DE LOOS, F.; VAN VLIET, C.; VAN MAURIK, P.; KRUIP, Th. A. M. Morphology of immature bovine oocytes. **Gamete Research**, vol. 24, no. 2, p. 197–204, 17 Oct. 1989a. <https://doi.org/10.1002/mrd.1120240207>.

DE LOOS, F.; VAN VLIET, C.; VAN MAURIK, P.; KRUIP, Th. A. M. Morphology of immature bovine oocytes. **Gamete Research**, vol. 24, no. 2, p. 197–204, 17 Oct. 1989b. <https://doi.org/10.1002/mrd.1120240207>.

DEMARTINO, Anthony W; KIM-SHAPIRO, Daniel B.; PATEL, Rakesh P; GLADWIN, Mark T. Nitrite and nitrate chemical biology and signalling. **British Journal of Pharmacology**, vol. 176, no. 2, p. 228–245, 3 Jan. 2019. <https://doi.org/10.1111/bph.14484>.

DEMETRIO, Daniela; DEMETRIO, Clarice; OLIVEIRA, Mayara; REIS, Roberta; SANTOS, Ricarda. From oocyte to calf: practical aspects of bovine in vitro embryo production. **Clinical Theriogenology**, vol. 14, p. 193–201, 2022. .

DIKALOV, Sergey. Cross talk between mitochondria and NADPH oxidases. **Free Radical Biology and Medicine**, vol. 51, no. 7, p. 1289–1301, Oct. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.033>.

DUBEIBE, D. F.; CALDAS, M. C.; MACIEL, V. L.; QUIRINO, C. R.; GONÇALVES, P. B. 260 THE EFFECTS OF L-ARGININE ON CUMULUS CELL INTEGRITY AND MEIOTIC RESUMPTION DURING IN VITRO MATURATION OF BOVINE OOCYTES IN THE PRESENCE OF OVARIAN FOLLICLE HEMI-SECTIONS. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 25, no. 1, p. 278, 2013. <https://doi.org/10.1071/RDv25n1Ab260>.

DUBEIBE, D.F.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; MACIEL, V.L.; SAMPAIO, W.V.; QUIRINO, C.R.; GONÇALVES, P.B.D.; DE CESARO, M.P.; FAES, M.R.; PAES DE CARVALHO, C.S. L-arginine affects the IVM of cattle cumulus-oocyte complexes. **Theriogenology**, vol. 88, p. 134–144, Jan. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.09.017>.

DUBEY, Pawan K.; TRIPATHI, Vrajesh; SINGH, Ram Pratap; SAIKUMAR, G.; NATH, Amar; PRATHEESH; GADE, Nitin; SHARMA, G. Taru. Expression of nitric oxide synthase isoforms in different stages of buffalo (*Bubalus bubalis*) ovarian follicles: Effect of nitric oxide on in vitro development of preantral follicle. **Theriogenology**, vol. 77, no. 2, p. 280–291, Jan. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.08.002>.

ELAHI, Fazle; SHIN, Hyeji; LEE, Joohyeong; LEE, Eunsong. Endoplasmic Stress Inhibition during Oocyte Maturation Improves Preimplantation Development of Cloned Pig Embryos. **Journal of Animal Reproduction and Biotechnology**, vol. 32, no. 4, p. 287–295, 29 Dec. 2017. <https://doi.org/10.12750/JET.2017.32.4.287>.

EL-SHEIKH, Marwa; MESALAM, Ahmed Atef; KANG, Seon-Min; JOO, Myeong-Don; SOLIMAN, Seham Samir; KHALIL, Atif Ali Khan; AHN, Mi-Jeong; KONG, Il-Keun. Modulation of Apoptosis and Autophagy by Melatonin in Juglone-Exposed Bovine Oocytes. **Animals**, vol. 13, no. 9, p. 1475, 26 Apr. 2023. <https://doi.org/10.3390/ani13091475>.

FAES, M.R.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; VIANA, K.S.; DIAS, B.L.; COSTA, F.R.; ESCOCARD, R.M. Nitric oxide regulates steroid synthesis by bovine antral granulosa cells in a chemically defined medium. **Animal Reproduction Science**, vol. 110, no. 3–4, p. 222–236, Feb. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.01.018>.

FAIR, T; LONERGAN, P. The Role of Progesterone in Oocyte Acquisition of Developmental Competence. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 47, no. s4, p. 142–147, 25 Aug. 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02068.x>.

FEAR, Justin M.; HANSEN, Peter J. Developmental Changes in Expression of Genes Involved in Regulation of Apoptosis in the Bovine Preimplantation Embryo1. **Biology of Reproduction**, vol. 84, no. 1, p. 43–51, 1 Jan. 2011. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.086249>.

FERREIRA, E.M.; VIREQUE, A.A.; ADONA, P.R.; MEIRELLES, F.V.; FERRIANI, R.A.; NAVARRO, P.A.A.S. Cytoplasmic maturation of bovine oocytes: Structural and biochemical modifications and acquisition of developmental competence. **Theriogenology**, vol. 71, no. 5, p. 836–848, Mar. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.10.023>.

FIRSANOV, Denis V.; SOLOVJEVA, Liudmila V.; SVETLOVA, Maria P. H2AX phosphorylation at the sites of DNA double-strand breaks in cultivated mammalian cells and tissues. **Clinical Epigenetics**, vol. 2, no. 2, p. 283–297, 25 Aug. 2011. <https://doi.org/10.1007/s13148-011-0044-4>.

FRANCIS, Sharron H.; BUSCH, Jennifer L.; CORBIN, Jackie D. cGMP-Dependent Protein Kinases and cGMP Phosphodiesterases in Nitric Oxide and cGMP Action. **Pharmacological Reviews**, vol. 62, no. 3, p. 525–563, Sep. 2010. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002907>.

FUJII, Junichi; IUCHI, Yoshihito; OKADA, Futoshi. Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 3, no. 1, p. 43, 2 Dec. 2005. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-3-43>.

FUJII, Wataru; FUNAHASHI, Hiroaki. Exogenous Adenosine Reduces the Mitochondrial Membrane Potential of Murine Oocytes During the Latter Half of In Vitro Maturation and Pronuclear Formation Following Chemical Activation. **Journal of Reproduction and Development**, vol. 55, no. 2, p. 187–193, 2009. <https://doi.org/10.1262/jrd.20122>.

GANTNER, Benjamin N.; LAFOND, Katy M.; BONINI, Marcelo G. Nitric oxide in cellular adaptation and disease. **Redox Biology**, vol. 34, p. 101550, Jul. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101550>.

GAO, Kaiguo; JIANG, Zongyong; LIN, Yingcai; ZHENG, Chuntian; ZHOU, Guilian; CHEN, Fang; YANG, Lin; WU, Guoyao. Dietary l-arginine supplementation enhances placental growth and reproductive performance in sows. **Amino Acids**, vol. 42, no. 6, p. 2207–2214, 21 Jun. 2012. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0960-9>.

GOETTEN, André Lucio Fontana; KOCH, Júlia; ROCHA, Cecília Constantino; MEZZALIRA, Alceu; PRICE, Christopher Allan; PORTELA, Valério Marques; BARRETA, Marcos Henrique. Expression profile of key genes involved in DNA repair mechanisms in bovine cumulus cells cultured with bovine serum albumin or fetal calf serum. **Reproductive Biology**, vol. 23, no. 1, p. 100709, Mar. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2022.100709>.

GOTTARDI, F. P.; MINGOTI, G. Z. Maturação de oócitos bovinos e influência na aquisição da competência para o desenvolvimento do embrião. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, vol. 33, p. 82–94, 2009. .

GOUD, Pravin T.; GOUD, Anuradha P.; DIAMOND, Michael P.; GONIK, Bernard; ABU-SOUD, Husam M. Nitric oxide extends the oocyte temporal window for optimal fertilization. **Free Radical Biology and Medicine**, vol. 45, no. 4, p. 453–459, 15 Aug. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.04.035>.

GOUGE, R. C.; MARSHBURN, P; GORDON, B E; NUNLEY, W; HUET-HUDSON, Y M. Nitric Oxide as a Regulator of Embryonic Development. **Biology of Reproduction**, vol. 58, no. 4, p. 875–879, 1 Apr. 1998. <https://doi.org/10.1095/biolreprod58.4.875>.

GRAHAM, J. K.; KUNZE, E.; HAMMERSTEDT, R H. Analysis of Sperm Cell Viability, Acrosomal Integrity, and Mitochondrial Function Using Flow Cytometry1. **Biology of Reproduction**, vol. 43, no. 1, p. 55–64, 1 Jul. 1990. <https://doi.org/10.1095/biolreprod43.1.55>.

GRASSELLI, F; PONDERATO, N; BASINI, G; TAMANINI, C. Nitric oxide synthase expression and nitric oxide/cyclic GMP pathway in swine granulosa cells. **Domestic animal endocrinology**, vol. 20, no. 4, p. 241–52, May 2001. [https://doi.org/10.1016/s0739-7240\(01\)00096-0](https://doi.org/10.1016/s0739-7240(01)00096-0).

GRILLO, M. A.; COLOMBATTO, S. Arginine revisited: Minireview article. **Amino Acids**, vol. 26, no. 4, 8 Jul. 2004. <https://doi.org/10.1007/s00726-004-0081-9>.

HA, Hyo Chol; SIRISOMA, Nilantha S.; KUPPUSAMY, Periannan; ZWEIER, Jay L.; WOSTER, Patrick M.; CASERO, Robert A. The natural polyamine spermine functions directly as a free radical scavenger. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 95, no. 19, p. 11140–11145, 15 Sep. 1998. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.19.11140>.

HARVEY, Alexandra J. Mitochondria in early development: linking the microenvironment, metabolism and the epigenome. **Reproduction**, vol. 157, no. 5, p. R159–R179, May 2019. <https://doi.org/10.1530/REP-18-0431>.

HE, Meina; ZHANG, Tuo; YANG, Yi; WANG, Chao. Mechanisms of Oocyte Maturation and Related Epigenetic Regulation. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, vol. 9, 19 Mar. 2021. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.654028>.

HEIMLICH, Gerd; MCKINNON, Alastair D.; BERNARDO, Katussevani; BRDICZKA, Dieter; REED, John C.; KAIN, Renate; KRÖNKE, Martin; JÜRGENSMEIER, Juliane M. Bax-induced cytochrome c release from mitochondria depends on alpha-helices-5 and -6. **Biochemical Journal**, vol. 378, no. 1, p. 247–255, 15 Feb. 2004. <https://doi.org/10.1042/bj20031152>.

HENRIQUE BARRETA, Marcos; GARZIERA GASPERIN, Bernardo; BRAGA RISSI, Vitor; CESARO, Matheus Pedrotti de; FERREIRA, Rogério; OLIVEIRA, João Francisco de; GONÇALVES, Paulo Bayard Dias; BORDIGNON, Vilceu. Homologous recombination and non-homologous end-joining repair pathways in bovine embryos with different developmental competence. **Experimental Cell Research**, vol. 318, no. 16, p. 2049–2058, Oct. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2012.06.003>.

HERRERO, MB; VIGGIANO, JM; PEREZ, Martinez S; DE, Gimeno MF. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on the outcome of in vitro fertilization in the mouse. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 8, no. 2, p. 301, 1996. <https://doi.org/10.1071/RD9960301>.

HESSELS, J.; KINGMA, A. W.; FERWERDA, H.; KEU, J.; VAN DEN BERG, G. A.; MUSKIET, F. A. J. Microbial flora in the gastrointestinal tract abolishes cytostatic effects of α -difluoromethylornithine *in vivo*. **International Journal of Cancer**, vol. 43, no. 6, p. 1155–1164, 15 Jun. 1989. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910430632>.

HIOM, K. Dna repair: Rad52 - the means to an end. **Current biology : CB**, vol. 9, no. 12, p. R446-8, 17 Jun. 1999. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(99\)80278-4](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(99)80278-4).

HOLT, J. E.; JONES, K. T. Control of homologous chromosome division in the mammalian oocyte. **Molecular Human Reproduction**, vol. 15, no. 3, p. 139–147, 1 Mar. 2009. <https://doi.org/10.1093/molehr/gap007>.

HOSOE, M.; SHIOYA, Y. Distribution of cortical granules in bovine oocytes classified by cumulus complex. **Zygote**, vol. 5, no. 4, p. 371–376, 26 Nov. 1997. <https://doi.org/10.1017/S0967199400003956>.

HOSSEINI, Nasrin; KOUROSH-ARAMI, Masoumeh; NADJAFI, Shabnam; ASHTARI, Behnaz. Structure, Distribution, Regulation, and Function of Splice Variant Isoforms of Nitric Oxide Synthase Family in the Nervous System. **Current Protein & Peptide Science**, vol. 23, no. 8, p. 510–534, Aug. 2022. <https://doi.org/10.2174/1389203723666220823151326>.

HSU, Chien-Ning; TAIN, You-Lin. Impact of Arginine Nutrition and Metabolism during Pregnancy on Offspring Outcomes. **Nutrients**, vol. 11, no. 7, p. 1452, 27 Jun. 2019. <https://doi.org/10.3390/nu11071452>.

HUANG, Yi; MARTON, Laurence J; WOSTER, Patrick M; CASERO, Robert A. Polyamine analogues targeting epigenetic gene regulation. **Essays in biochemistry**, vol. 46, p. 95–110, 4 Nov. 2009. <https://doi.org/10.1042/bse0460007>.

HYTTEL, P.; FAIR, T.; CALLESEN, H.; GREVE, T. Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle. **Theriogenology**, vol. 47, no. 1, p. 23–32, Jan. 1997. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(96\)00336-6](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(96)00336-6).

IGARASHI, Kazuei; KASHIWAGI, Keiko. Modulation of cellular function by polyamines. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, vol. 42, no. 1, p. 39–51, Jan. 2010a. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.07.009>.

IGARASHI, Kazuei; KASHIWAGI, Keiko. Modulation of cellular function by polyamines. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, vol. 42, no. 1, p. 39–51, Jan. 2010b. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.07.009>.

IGNARRO, Louis J. **Nitric oxide: biology and pathobiology**. 1st ed. California: Academic Press, 2000.

JABLONKA-SHARIFF, A; OLSON, L M. Nitric oxide is essential for optimal meiotic maturation of murine cumulus-oocyte complexes *in vitro*. **Molecular reproduction and development**, vol. 55, no. 4, p. 412–21, Apr. 2000. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2795\(200004\)55:4<412::AID-MRD9>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2795(200004)55:4<412::AID-MRD9>3.0.CO;2-W).

JABLONKA-SHARIFF, Albina; OLSON, Lisa M. The Role of Nitric Oxide in Oocyte Meiotic Maturation and Ovulation: Meiotic Abnormalities of Endothelial Nitric Oxide Synthase Knock-Out Mouse Oocytes ¹. **Endocrinology**, vol. 139, no. 6, p. 2944–2954, Jun. 1998. <https://doi.org/10.1210/endo.139.6.6054>.

JACKSON, Stephen P.; BARTEK, Jiri. The DNA-damage response in human biology and disease. **Nature**, vol. 461, no. 7267, p. 1071–1078, 22 Oct. 2009. <https://doi.org/10.1038/nature08467>.

JANG, You-Jee; PARK, Jae-Il; MOON, Won-Jin; DAM, Phuong T.M.; CHO, Moon-Kyoung; CHUN, Sang-Young. Cumulus Cell-Expressed Type I Interferons Induce Cumulus Expansion in Mice1. **Biology of Reproduction**, vol. 92, no. 1, 1 Jan. 2015. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.122770>.

JIANG, Dongmei; GUO, Yongni; NIU, Chunyang; LONG, Shiyun; JIANG, Yilong; WANG, Zelong; WANG, Xin; SUN, Qian; LING, Weikang; AN, Xiaoguang; JI, Chengweng; ZHAO, Hua; KANG, Bo. Exploration of the Antioxidant Effect of Spermidine on the Ovary and Screening and Identification of Differentially Expressed Proteins. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 24, no. 6, p. 5793, 17 Mar. 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms24065793>.

JIN, J. X.; LEE, S.; KHOIRINAYA, C.; OH, A.; KIM, G. A.; LEE, B. C. Supplementation with spermine during in vitro maturation of porcine oocytes improves early embryonic development after parthenogenetic activation and somatic cell nuclear transfer1. **Journal of Animal Science**, vol. 94, no. 3, p. 963–970, 1 Mar. 2016. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9761>.

JIN, Zhe-Long; KIM, Nam-Hyung. RAD51 maintains chromosome integrity and mitochondrial distribution during porcine oocyte maturation &in vitro</i>. **Journal of Reproduction and Development**, vol. 63, no. 5, p. 489–496, 2017. <https://doi.org/10.1262/jrd.2017-078>.

JIN, Zhe-Long; SUK, Namgoong; KIM, Nam-Hyung. TP53BP1 regulates chromosome alignment and spindle bipolarity in mouse oocytes. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 86, no. 9, p. 1126–1137, 2 Sep. 2019. <https://doi.org/10.1002/mrd.23228>.

JONES, K. T. Turning it on and off: M-phase promoting factor during meiotic maturation and fertilization. **Molecular Human Reproduction**, vol. 10, no. 1, p. 1–5, 1 Jan. 2004. <https://doi.org/10.1093/molehr/gah009>.

KESHET, Rom; EREZ, Ayelet. Arginine and the metabolic regulation of nitric oxide synthesis in cancer. **Disease Models & Mechanisms**, vol. 11, no. 8, 1 Aug. 2018. <https://doi.org/10.1242/dmm.033332>.

KHAN, FA; CHENIER, TS; FOSTER, RA; HEWSON, J; SCHOLTZ, EL. Endometrial nitric oxide synthase activity in mares susceptible or resistant to persistent breeding-induced endometritis and the effect of a specific *iNOS* inhibitor in vitro. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 53, no. 3, p. 718–724, 14 Jun. 2018. <https://doi.org/10.1111/rda.13162>.

KIRILLOVA, Anastasia; SMITZ, Johan E. J.; SUKHIKH, Gennady T.; MAZUNIN, Ilya. The Role of Mitochondria in Oocyte Maturation. **Cells**, vol. 10, no. 9, p. 2484, 19 Sep. 2021. <https://doi.org/10.3390/cells10092484>.

KRISCHEK, Carsten; MEINECKE, Burkhard. In vitro maturation of bovine oocytes requires polyadenylation of mRNAs coding proteins for chromatin condensation, spindle assembly, MPF and MAP kinase activation. **Animal Reproduction Science**, vol. 73, no. 3–4, p. 129–140, Oct. 2002. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(02\)00131-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00131-8).

KUO, Richard C.; BAXTER, Gregory T.; THOMPSON, Stuart H.; STRICKER, Stephen A.; PATTON, Chris; BONAVENTURA, Joseph; EPEL, David. NO is necessary and sufficient for egg activation at fertilization. **Nature**, vol. 406, no. 6796, p. 633–636, Aug. 2000. <https://doi.org/10.1038/35020577>.

KUSANO, T.; BERBERICH, T.; TATEDA, C.; TAKAHASHI, Y. Polyamines: essential factors for growth and survival. **Planta**, vol. 228, no. 3, p. 367–381, 2 Aug. 2008a. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0772-7>.

KUSANO, T.; BERBERICH, T.; TATEDA, C.; TAKAHASHI, Y. Polyamines: essential factors for growth and survival. **Planta**, vol. 228, no. 3, p. 367–381, 2 Aug. 2008b. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0772-7>.

KWON, Hyukjung; WU, Guoyao; BAZER, Fuller W.; SPENCER, Thomas E. Developmental Changes in Polyamine Levels and Synthesis in the Ovine Conceptus1. **Biology of Reproduction**, vol. 69, no. 5, p. 1626–1634, 1 Nov. 2003. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.019067>.

KWON, N.S.; NATHAN, C.F.; GILKER, C.; GRIFFITH, O.W.; MATTHEWS, D.E.; STUEHR, D.J. L-citrulline production from L-arginine by macrophage nitric oxide synthase. The ureido oxygen derives from dioxygen. **Journal of Biological Chemistry**, vol. 265, no. 23, p. 13442–13445, Aug. 1990. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)77366-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)77366-3).

LAMAS, S; MARSDEN, P A; LI, G K; TEMPST, P; MICHEL, T. Endothelial nitric oxide synthase: molecular cloning and characterization of a distinct constitutive enzyme isoform. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 89, no. 14, p. 6348–6352, 15 Jul. 1992. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.14.6348>.

LANCELLOTTI SCHWARZ, Kátia R.; LISBOA PIRES, Pedro R.; MESQUITA, Ligia Garcia; CHIARATTI, Marcos R.; VERDE LEAL, Cláudia Lima. Effect of nitric oxide on the cyclic guanosine monophosphate (cGMP) pathway during meiosis resumption in bovine oocytes. **Theriogenology**, vol. 81, no. 4, p. 556–564, Mar. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.11.008>.

LANE, Simon I. R.; MORGAN, Stephanie L.; WU, Tianyu; COLLINS, Josie K.; MERRIMAN, Julie A.; ELINATI, Elias; TURNER, James M.; JONES, Keith T. DNA damage induces a kinetochore-based ATM/ATR-independent SAC arrest unique to the first meiotic division in mouse oocytes. **Development**, 1 Jan. 2017. <https://doi.org/10.1242/dev.153965>.

LARQUÉ, Elvira; SABATER-MOLINA, María; ZAMORA, Salvador. Biological significance of dietary polyamines. **Nutrition**, vol. 23, no. 1, p. 87–95, Jan. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2006.09.006>.

LASSALA, Arantzazu; BAZER, Fuller W.; CUDD, Timothy A.; DATTA, Sujay; KEISLER, Duane H.; SATTERFIELD, M. Carey; SPENCER, Thomas E.; WU, Guoyao. Parenteral Administration of L-Arginine Enhances Fetal Survival and Growth in Sheep Carrying Multiple Fetuses1–3. **The Journal of Nutrition**, vol. 141, no. 5, p. 849–855, May 2011. <https://doi.org/10.3945/jn.111.138172>.

LEAL, A.C.M.S.; CALDAS-BUSSIÉRE, M.C.; CARVALHO, C.S. Paes de; VIANA, K.S.; QUIRINO, C.R. Role of nitric oxide on quality of freshly ejaculated bull spermatozoa during heparin-induced in vitro capacitation. **Animal Reproduction Science**, vol. 116, no. 1–2, p. 38–49, Nov. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.12.020>.

LEE, Chih-Ying; SU, Guan-Chin; HUANG, Wen-Yen; KO, Min-Yu; YEH, Hsin-Yi; CHANG, Geen-Dong; LIN, Sung-Jan; CHI, Peter. Promotion of homology-directed DNA repair by polyamines. **Nature Communications**, vol. 10, no. 1, p. 65, 8 Jan. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-08011-1>.

LEE, J.H.; LEE, E.; BISWAS, D.; JEUNG, C.S.; LEE, G.S.; HYUN, S.H.; JEUNG, E.B. Amphiregulin promotes the proliferation of trophoblast cells during preimplantation development of porcine embryos. **Theriogenology**, vol. 72, no. 8, p. 1023–1031, Nov. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.05.021>.

LEE, Tsung-Hsien; LEE, Maw-Sheng; HUANG, Chun-Chia; TSAO, Hui-Mei; LIN, Pi-Mei; HO, Hong-Nerng; SHEW, Jin-Yuh; YANG, Yu-Shih. Nitric oxide modulates mitochondrial activity and apoptosis through protein S-nitrosylation for preimplantation embryo development. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 30, no. 8, p. 1063–1072, 6 Aug. 2013. <https://doi.org/10.1007/s10815-013-0045-7>.

LEFÈVRE, Pavine L. C.; PALIN, Marie-France; MURPHY, Bruce D. Polyamines on the Reproductive Landscape. **Endocrine Reviews**, vol. 32, no. 5, p. 694–712, 1 Oct. 2011. <https://doi.org/10.1210/er.2011-0012>.

LEI, Tiantian; DU, Suyu; PENG, Zhe; CHEN, Lin. Multifaceted regulation and functions of 53BP1 in NHEJ-mediated DSB repair (Review). **International Journal of Molecular Medicine**, vol. 50, no. 1, p. 90, 16 May 2022. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2022.5145>.

LENIS, Yasser Y.; ELMETWALLY, Mohammed A.; MALDONADO-ESTRADA, Juan G.; BAZER, Fuller W. Physiological importance of polyamines. **Zygote**, vol. 25, no. 3, p. 244–255, 7 Jun. 2017. <https://doi.org/10.1017/S0967199417000120>.

LERIN, Joviana; ARAGÃO, Victor Paulo Mesquita; REIS, Ricardo Souza; SILVEIRA, Vanildo; SANTA-CATARINA, Claudete. Proteomic profile and polyamine contents are modulated by light source to promote in vitro shoot development in *Cariniana legalis* (Martius) O. Kuntze (Lecythidaceae). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, vol. 137, no. 2, p. 329–342, 12 May 2019. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01574-x>.

LI, H.J.; LIU, D.J.; CANG, M.; WANG, L.M.; JIN, M.Z.; MA, Y.Z.; SHORGAN, B. Early apoptosis is associated with improved developmental potential in bovine oocytes. **Animal Reproduction Science**, vol. 114, no. 1–3, p. 89–98, Aug. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.09.018>.

LI, H.-J.; WANG, C.-Y.; MI, Y.; DU, C.-G.; CAO, G.-F.; SUN, X.-C.; LIU, D.-J.; SHORGAN, B. FasL-induced apoptosis in bovine oocytes via the Bax signal. **Theriogenology**, vol. 80, no. 3, p. 248–255, Aug. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.04.002>.

LI, Xilong; BAZER, Fuller W.; JOHNSON, Gregory A.; BURGHARDT, Robert C.; ERIKSON, David W.; FRANK, James W.; SPENCER, Thomas E.; SHINZATO, Izuru; WU, Guoyao. Dietary Supplementation with 0.8% L-Arginine between Days 0 and 25 of Gestation Reduces Litter Size in Gilts. **The Journal of Nutrition**, vol. 140, no. 6, p. 1111–1116, Jun. 2010. <https://doi.org/10.3945/jn.110.121350>.

LI, Xilong; BAZER, Fuller W.; JOHNSON, Gregory A.; BURGHARDT, Robert C.; FRANK, James W.; DAI, Zhaolai; WANG, Junjun; WU, Zhenlong; SHINZATO, Izuru; WU, Guoyao. Dietary supplementation with l-arginine between days 14 and 25 of gestation enhances embryonic development and survival in gilts. **Amino Acids**, vol. 46, no. 2, p. 375–384, 13 Feb. 2014. <https://doi.org/10.1007/s00726-013-1626-6>.

LIN, Jing; WANG, Ling. Oxidative Stress in Oocytes and Embryo Development: Implications for *In Vitro* Systems. **Antioxidants & Redox Signaling**, vol. 34, no. 17, p. 1394–1406, 10 Jun. 2021. <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8209>.

LIN, Tao; SUN, Ling; LEE, Jae Eun; KIM, So Yeon; JIN, Dong Il. DNA damage repair is suppressed in porcine aged oocytes. **Journal of animal science and technology**, vol. 63, no. 5, p. 984–997, Sep. 2021. <https://doi.org/10.5187/jast.2021.e90>.

LIND, Maggie; HAYES, Alan; CAPRNDA, Martin; PETROVIC, Daniel; RODRIGO, Luis; KRUZLIAK, Peter; ZULLI, Anthony. Inducible nitric oxide synthase: Good or bad? **Biomedicine & Pharmacotherapy**, vol. 93, p. 370–375, Sep. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.06.036>.

LINDAHL, T.; BARNES, D.E. Repair of Endogenous DNA Damage. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, vol. 65, no. 0, p. 127–134, 1 Jan. 2000. <https://doi.org/10.1101/sqb.2000.65.127>.

LIU, Dandan; MO, Guolong; TAO, Yong; WANG, Hongmei; LIU, X. John . Putrescine supplementation during in vitro maturation of aged mouse oocytes improves the quality of blastocysts. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 29, no. 7, p. 1392, 2017. <https://doi.org/10.1071/RD16061>.

LIU, Min. The biology and dynamics of mammalian cortical granules. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 9, no. 1, p. 149, 2011. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-149>.

LIVIGNI, Alessandra; BRICKMAN, Joshua M. Oct4: The Final Frontier, Differentiation Defining Pluripotency. **Developmental Cell**, vol. 25, no. 6, p. 547–548, Jun. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.06.002>.

LODDE, Valentina; FRANCIOSI, Federica; TESSARO, Irene; MODINA, Silvia C.; LUCIANO, Alberto M. Role of gap junction-mediated communications in regulating large-scale chromatin configuration remodeling and embryonic developmental competence acquisition in fully grown bovine oocyte. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 30, no. 9, p. 1219–1226, 24 Sep. 2013. <https://doi.org/10.1007/s10815-013-0061-7>.

LODDE, Valentina; MODINA, Silvia; GALBUSERA, Cristina; FRANCIOSI, Federica; LUCIANO, Alberto M. Large-scale chromatin remodeling in germinal vesicle bovine oocytes: Interplay with gap junction functionality and developmental competence. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 74, no. 6, p. 740–749, 30 Jun. 2007. <https://doi.org/10.1002/mrd.20639>.

LODDE, Valentina; MODINA, Silvia; MADDOX-HYTTEL, Poul; FRANCIOSI, Federica; LAURIA, Antonio; LUCIANO, Alberto M. Oocyte morphology and transcriptional silencing in relation to chromatin remodeling during the final phases of bovine oocyte growth. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 75, no. 5, p. 915–924, 18 May 2008. <https://doi.org/10.1002/mrd.20824>.

LONERGAN, Patrick; FAIR, Trudee. Maturation of Oocytes in Vitro. **Annual Review of Animal Biosciences**, vol. 4, no. 1, p. 255–268, 15 Feb. 2016. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022114-110822>.

LUCIANO, Alberto M.; FRANCIOSI, Federica; MODINA, Silvia C.; LODDE, Valentina. Gap Junction-Mediated Communications Regulate Chromatin Remodeling During Bovine Oocyte Growth

and Differentiation Through cAMP-Dependent Mechanism(s)1. **Biology of Reproduction**, vol. 85, no. 6, p. 1252–1259, 1 Dec. 2011. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.111.092858>.

LUCIANO, Alberto Maria; SIRARD, Marc-André. Successful in vitro maturation of oocytes: a matter of follicular differentiation. **Biology of Reproduction**, vol. 98, no. 2, p. 162–169, 1 Feb. 2018. <https://doi.org/10.1093/biolre/iox149>.

MACAULAY, Angus D.; GILBERT, Isabelle; CABALLERO, Julieta; BARRETO, Rodrigo; FOURNIER, Eric; TOSSOU, Prudencio; SIRARD, Marc-André; CLARKE, Hugh J.; KHANDJIAN, Édouard W.; RICHARD, Francois J.; HYTTEL, Poul; ROBERT, Claude. The Gametic Synapse: RNA Transfer to the Bovine Oocyte1. **Biology of Reproduction**, vol. 91, no. 4, 1 Oct. 2014. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.119867>.

MACHADO, Lucas Simões; BORGES, Camila Martins; DE LIMA, Marina Amaro; SANGALLI, Juliano Rodrigues; THERRIEN, Jacinthe; PESSÔA, Laís Vicari de Figueiredo; FANTINATO NETO, Paulo; PERECIN, Felipe; SMITH, Lawrence Charles; MEIRELLES, Flavio Vieira; BRESSAN, Fabiana Fernandes. Exogenous OCT4 and SOX2 Contribution to In Vitro Reprogramming in Cattle. **Biomedicines**, vol. 11, no. 9, p. 2577, 19 Sep. 2023a. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11092577>.

MACHADO, Lucas Simões; BORGES, Camila Martins; DE LIMA, Marina Amaro; SANGALLI, Juliano Rodrigues; THERRIEN, Jacinthe; PESSÔA, Laís Vicari de Figueiredo; FANTINATO NETO, Paulo; PERECIN, Felipe; SMITH, Lawrence Charles; MEIRELLES, Flavio Vieira; BRESSAN, Fabiana Fernandes. Exogenous OCT4 and SOX2 Contribution to In Vitro Reprogramming in Cattle. **Biomedicines**, vol. 11, no. 9, p. 2577, 19 Sep. 2023b. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11092577>.

MACIEL, V.L.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; SILVEIRA, V.; REIS, R.S.; RIOS, A.F.L.; PAES DE CARVALHO, C.S. l-arginine alters the proteome of frozen-thawed bovine sperm during in vitro capacitation. **Theriogenology**, vol. 119, p. 1–9, Oct. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.06.018>.

MADDOX, Amy Shaub; AZOURY, Jessica; DUMONT, Julien. Polar body cytokinesis. **Cytoskeleton**, vol. 69, no. 11, p. 855–868, Nov. 2012. <https://doi.org/10.1002/cm.21064>.

MALACARIA, Eva; HONDA, Masayoshi; FRANCHITTO, Anna Paola; SPIES, Maria; PICHIERRI, Pietro. Physiological and Pathological Roles of RAD52 at DNA Replication Forks. **Cancers**, vol. 12, no. 2, p. 402, 10 Feb. 2020. <https://doi.org/10.3390/cancers12020402>.

MAO, Luna; LOU, Hangying; LOU, Yiyun; WANG, Ning; JIN, Fan. Behaviour of cytoplasmic organelles and cytoskeleton during oocyte maturation. **Reproductive BioMedicine Online**, vol. 28, no. 3, p. 284–299, Mar. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.10.016>.

MARANGOS, Petros; CARROLL, John. Oocytes Progress beyond Prophase in the Presence of DNA Damage. **Current Biology**, vol. 22, no. 11, p. 989–994, Jun. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.03.063>.

MARQUES, TC; DA SILVA SANTOS, EC; DIESEL, TO; LEME, LO; MARTINS, CF; DODE, MAN; ALVES, BG; COSTA, FPH; DE OLIVEIRA, EB; GAMBARINI, ML. Melatonin reduces apoptotic cells, <scp>SOD</scp> 2 and <scp>HSPB</scp> 1 and improves the in vitro production and quality of bovine blastocysts. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 53, no. 1, p. 226–236, 3 Feb. 2018. <https://doi.org/10.1111/rda.13097>.

MARTIN, Jacinta H.; BROMFIELD, Elizabeth G.; AITKEN, R. John; LORD, Tessa; NIXON, Brett. Double Strand Break DNA Repair occurs via Non-Homologous End-Joining in Mouse MII Oocytes. **Scientific Reports**, vol. 8, no. 1, p. 9685, 26 Jun. 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27892-2>.

MASUI, Shinji; NAKATAKE, Yuhki; TOYOOKA, Yayoi; SHIMOSATO, Daisuke; YAGI, Rika; TAKAHASHI, Kazue; OKOCHI, Hitoshi; OKUDA, Akihiko; MATOBA, Ryo; SHAROV, Alexei A.; KO, Minoru S. H.; NIWA, Hitoshi. Pluripotency governed by Sox2 via regulation of Oct3/4 expression in mouse embryonic stem cells. **Nature Cell Biology**, vol. 9, no. 6, p. 625–635, 21 Jun. 2007. <https://doi.org/10.1038/ncb1589>.

MASUI, Yoshio; CLARKE, Hugh J. Oocyte Maturation. [*S. l.: s. n.*], 1979. p. 185–282. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)61464-3](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)61464-3).

MATEO, Ronaldo D.; WU, Guoyao; BAZER, Fuller W.; PARK, Jun C.; SHINZATO, Izuru; KIM, Sung Woo. Dietary l-Arginine Supplementation Enhances the Reproductive Performance of Gilts. **The Journal of Nutrition**, vol. 137, no. 3, p. 652–656, Mar. 2007. <https://doi.org/10.1093/jn/137.3.652>.

MATTA, S.G.C.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; VIANA, K.S.; FAES, M.R.; PAES DE CARVALHO, C.S.; DIAS, B.L.; QUIRINO, C.R. Effect of inhibition of synthesis of inducible nitric oxide synthase-derived nitric oxide by aminoguanidine on the in vitro maturation of oocyte–cumulus complexes of cattle. **Animal Reproduction Science**, vol. 111, no. 2–4, p. 189–201, Apr. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.03.002>.

MCKEEGAN, Paul J.; BOARDMAN, Selina F.; WANLESS, Amy A.; BOYD, Grace; WARWICK, Laura J.; LU, Jianping; GNANAPRABHA, Keerthi; PICTON, Helen M. Intracellular oxygen metabolism during bovine oocyte and preimplantation embryo development. **Scientific Reports**, vol. 11, no. 1, p. 21245, 28 Oct. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99512-5>.

MCKNIGHT, Jason R.; SATTERFIELD, M. Carey; JOBGEN, Wenjuan S.; SMITH, Stephen B.; SPENCER, Thomas E.; MEININGER, Cynthia J.; MCNEAL, Catherine J.; WU, Guoyao. Beneficial effects of l-arginine on reducing obesity: potential mechanisms and important implications for human health. **Amino Acids**, vol. 39, no. 2, p. 349–357, 1 Jul. 2010. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0598-z>.

MEHLMANN, Lisa M. Stops and starts in mammalian oocytes: recent advances in understanding the regulation of meiotic arrest and oocyte maturation. **Reproduction**, vol. 130, no. 6, p. 791–799, Dec. 2005. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00793>.

MEULDERS, Ben; MAREI, Waleed F. A.; XHONNEUX, Inne; BOLS, Peter E. J.; LEROY, Jo L. M. R. Effect of lipotoxicity on mitochondrial function and epigenetic programming during bovine in vitro embryo production. **Scientific Reports**, vol. 13, no. 1, p. 21664, 8 Dec. 2023. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49184-0>.

MITCHELL, L. M. Expression of nitric oxide synthase and effect of substrate manipulation of the nitric oxide pathway in mouse ovarian follicles. **Human Reproduction**, vol. 19, no. 1, p. 30–40, 1 Jan. 2004. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh032>.

MITRA, Jayashree; SCHULTZ, Richard M. Regulation of the acquisition of meiotic competence in the mouse: Changes in the subcellular localization of cdc2, cyclin B1, cdc25C and weel, and in the concentration of these proteins and their transcripts. **Journal of Cell Science**, vol. 109, no. 9, p. 2407–2415, 1 Sep. 1996. <https://doi.org/10.1242/jcs.109.9.2407>.

MITSUI, Kaoru; TOKUZAWA, Yoshimi; ITOH, Hiroaki; SEGAWA, Kohichi; MURAKAMI, Mirei; TAKAHASHI, Kazutoshi; MARUYAMA, Masayoshi; MAEDA, Mitsuyo; YAMANAKA, Shinya. The Homeoprotein Nanog Is Required for Maintenance of Pluripotency in Mouse Epiblast and ES Cells. *Cell*, vol. 113, no. 5, p. 631–642, May 2003. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00393-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00393-3).

MOGHADAM, Ali Reza Eftekhari; MOGHADAM, Mahin Taheri; HEMADI, Masoud; SAKI, Ghasem. Oocyte quality and aging. *JBRA Assisted Reproduction*, 2021. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20210026>.

MOINARD, C; CYNOBER, L; DEBANDT, J. Polyamines: metabolism and implications in human diseases. *Clinical Nutrition*, vol. 24, no. 2, p. 184–197, Apr. 2005. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.11.001>.

MONCADA, S; PALMER, R M; HIGGS, E A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological reviews*, vol. 43, no. 2, p. 109–42, Jun. 1991. .

MUNGRUE, I. N.; BREDT, D. S.; STEWART, D. J.; HUSAIN, M. From molecules to mammals: what's NOS got to do with it? *Acta Physiologica Scandinavica*, vol. 179, no. 2, p. 123–135, 19 Oct. 2003. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2003.01182.x>.

NADDAPPOUR, Azadeh; GHAZVINI ZADEGAN, Faezeh; HAJIAN, Mehdi; HOSSEINI, Sayyed Morteza; JAFARPOUR, Farnoosh; RAHIMI, Mohsen; HABIBI, Razieh; NASR ESFAHANI, Mohammad Hossein. Effects of abundances of OCT-4 mRNA transcript on goat pre-implantation embryonic development. *Animal Reproduction Science*, vol. 215, p. 106286, Apr. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106286>.

NASHUN, Buhe; YUKAWA, Masashi; LIU, Honglin; AKIYAMA, Tomohiko; AOKI, Fugaku. Changes in the nuclear deposition of histone H2A variants during pre-implantation development in mice. *Development*, vol. 137, no. 22, p. 3785–3794, 15 Nov. 2010. <https://doi.org/10.1242/dev.051805>.

NATHAN, Carl; XIE, Qiao-wen. Nitric oxide synthases: Roles, tolls, and controls. *Cell*, vol. 78, no. 6, p. 915–918, Sep. 1994. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90266-6](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90266-6).

NELISSEN, Ewka C.M.; DUMOULIN, John C.M.; BUSATO, Florence; PONGER, Loïc; EIJSSEN, Lars M.; EVERS, Johannes L.H.; TOST, Jörg; VAN MONTFOORT, Aafke P.A. Altered gene expression in human placentas after IVF/ICSI. *Human Reproduction*, vol. 29, no. 12, p. 2821–2831, Dec. 2014. <https://doi.org/10.1093/humrep/deu241>.

NERI, Simona; MARIANI, Erminia; MENEGHETTI, Alessandra; CATTINI, Luca; FACCHINI, Andrea. Calcein-Acetyoxymethyl Cytotoxicity Assay: Standardization of a Method Allowing Additional Analyses on Recovered Effector Cells and Supernatants. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*, vol. 8, no. 6, p. 1131–1135, Nov. 2001. <https://doi.org/10.1128/CDLI.8.6.1131-1135.2001>.

NIIDA, Hiroyuki; NAKANISHI, Makoto. DNA damage checkpoints in mammals. *Mutagenesis*, vol. 21, no. 1, p. 3–9, 1 Jan. 2006. <https://doi.org/10.1093/mutage/pei063>.

NIU, Chunyang; JIANG, Dongmei; GUO, Yongni; WANG, Zelong; SUN, Qian; WANG, Xin; LING, Weikang; AN, Xiaoguang; JI, Chengweng; LI, Shuo; ZHAO, Hua; KANG, Bo. Spermidine suppresses oxidative stress and ferroptosis by Nrf2/HO-1/GPX4 and Akt/FHC/ACSL4 pathway to alleviate ovarian damage. *Life Sciences*, vol. 332, p. 122109, Nov. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.122109>.

NIU, Chunyang; ZHANG, Sujuan; MO, Guilin; JIANG, Yilong; LI, Liang; XU, Hengyong; HAN, Chunchun; ZHAO, Hua; YAN, Yanhong; HU, Shenqiang; HU, Jiwei; KANG, Bo; JIANG, Dongmei. Effects of ODC on polyamine metabolism, hormone levels, cell proliferation and apoptosis in goose ovarian granulosa cells. **Poultry Science**, vol. 100, no. 8, p. 101226, Aug. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101226>.

OFLAHERTY, C; RODRIGUEZ, P; SRIVASTAVA, S. -Arginine promotes capacitation and acrosome reaction in cryopreserved bovine spermatozoa. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, vol. 1674, no. 2, p. 215–221, 24 Sep. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2004.06.020>.

OSBORNE, H. Beverley; MULNER-LORILLON, Odile; MAROT, Jean; BELLE, Robert. Polyamine levels during *Xenopus laevis* oogenesis: A role in oocyte competence to meiotic resumption. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, vol. 158, no. 2, p. 520–526, Jan. 1989. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(89\)80080-4](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(89)80080-4).

OTOI, T.; YAMAMOTO, K.; KOYAMA, N.; TACHIKAWA, S.; SUZUKI, T. Bovine oocyte diameter in relation to developmental competence. **Theriogenology**, vol. 48, no. 5, p. 769–774, Oct. 1997. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(97\)00300-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00300-2).

PAILAS, Alexandros; NIAKA, Konstantina; ZORZOMPOKOU, Chrysoula; MARANGOS, Petros. The DNA Damage Response in Fully Grown Mammalian Oocytes. **Cells**, vol. 11, no. 5, p. 798, 24 Feb. 2022. <https://doi.org/10.3390/cells11050798>.

PAN, Bo; LI, Julang. The art of oocyte meiotic arrest regulation. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 17, no. 1, p. 8, 5 Dec. 2019. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0445-8>.

PANG, Yun-Wei; SUN, Ye-Qing; SUN, Wei-Jun; DU, Wei-Hua; HAO, Hai-Sheng; ZHAO, Shan-Jiang; ZHU, Hua-Bin. Melatonin inhibits paraquat-induced cell death in bovine preimplantation embryos. **Journal of Pineal Research**, vol. 60, no. 2, p. 155–166, Mar. 2016. <https://doi.org/10.1111/jpi.12297>.

PAULL, Tanya T; ROGAKOU, Emmy P; YAMAZAKI, Vikky; KIRCHGESSNER, Cordula U; GELLERT, Martin; BONNER, William M. A critical role for histone H2AX in recruitment of repair factors to nuclear foci after DNA damage. **Current Biology**, vol. 10, no. 15, p. 886–895, Aug. 2000. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(00\)00610-2](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(00)00610-2).

PEI, Zhenle; DENG, Ke; XU, Congjian; ZHANG, Shuo. The molecular regulatory mechanisms of meiotic arrest and resumption in Oocyte development and maturation. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 21, no. 1, p. 90, 2 Oct. 2023. <https://doi.org/10.1186/s12958-023-01143-0>.

PIRES, P.R.L.; SANTOS, N.P.; ADONA, P.R.; NATORI, M.M.; SCHWARZ, K.R.L.; DE BEM, T.H.C.; LEAL, C.L.V. Endothelial and inducible nitric oxide synthases in oocytes of cattle. **Animal Reproduction Science**, vol. 116, no. 3–4, p. 233–243, Dec. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.02.019>.

PODEROSO, Juan José; HELFENBERGER, Katia; PODEROSO, Cecilia. The effect of nitric oxide on mitochondrial respiration. **Nitric Oxide**, vol. 88, p. 61–72, Jul. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.04.005>.

POPOLO, Ada; ADESSO, Simona; PINTO, Aldo; AUTORE, Giuseppina; MARZOCCO, Stefania. l-Arginine and its metabolites in kidney and cardiovascular disease. **Amino Acids**, vol. 46, no. 10, p. 2271–2286, 27 Oct. 2014. <https://doi.org/10.1007/s00726-014-1825-9>.

PRETHEEBAN, T.; GORDON, M.; SINGH, R.; PERERA, R.; RAJAMAHENDRAN, R. Differential mRNA expression in in vivo produced pre-implantation embryos of dairy heifers and mature cows. **Molecular Reproduction and Development**, vol. 76, no. 12, p. 1165–1172, 31 Dec. 2009. <https://doi.org/10.1002/mrd.21084>.

RAPPOLD, Irene; IWABUCHI, Kuniyoshi; DATE, Takayasu; CHEN, Junjie. Tumor Suppressor P53 Binding Protein 1 (53bp1) Is Involved in DNA Damage–Signaling Pathways. **The Journal of Cell Biology**, vol. 153, no. 3, p. 613–620, 30 Apr. 2001a. <https://doi.org/10.1083/jcb.153.3.613>.

RAPPOLD, Irene; IWABUCHI, Kuniyoshi; DATE, Takayasu; CHEN, Junjie. Tumor Suppressor P53 Binding Protein 1 (53bp1) Is Involved in DNA Damage–Signaling Pathways. **The Journal of Cell Biology**, vol. 153, no. 3, p. 613–620, 30 Apr. 2001b. <https://doi.org/10.1083/jcb.153.3.613>.

REINHARDT, H. Christian; YAFFE, Michael B. Phospho-Ser/Thr-binding domains: navigating the cell cycle and DNA damage response. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, vol. 14, no. 9, p. 563–580, 23 Sep. 2013. <https://doi.org/10.1038/nrm3640>.

RICHANI, Dulama; DUNNING, Kylie R; THOMPSON, Jeremy G; GILCHRIST, Robert B. Metabolic co-dependence of the oocyte and cumulus cells: essential role in determining oocyte developmental competence. **Human Reproduction Update**, vol. 27, no. 1, p. 27–47, 4 Jan. 2021. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa043>.

RICHARD, F. J. Effects of follicular cells on oocyte maturation. I: Effects of follicular hemisections on bovine oocyte maturation in vitro. **Biology of Reproduction**, vol. 54, no. 1, p. 16–21, 1 Jan. 1996. <https://doi.org/10.1095/biolreprod54.1.16>.

RODRIGUES-KRAUSE, Josianne; KRAUSE, Mauricio; ROCHA, Ilanna; UMPIERRE, Daniel; FAYH, Ana. Association of l-Arginine Supplementation with Markers of Endothelial Function in Patients with Cardiovascular or Metabolic Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, vol. 11, no. 1, p. 15, 20 Dec. 2018. <https://doi.org/10.3390/nu11010015>.

RODRIGUEZ, Karina F; FARIN, Charlotte E. Gene transcription and regulation of oocyte maturation. **Reproduction, fertility, and development**, vol. 16, no. 1–2, p. 55–67, 2004. <https://doi.org/10.10371/RD03078>.

RODRIGUEZ, P.C.; O'FLAHERTY, C.M.; BECONI, M.T.; BEORLEGUI, N.B. Nitric oxide-induced capacitation of cryopreserved bull spermatozoa and assessment of participating regulatory pathways. **Animal Reproduction Science**, vol. 85, no. 3–4, p. 231–242, Feb. 2005. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.05.018>.

RODRÍGUEZ-ALVAREZ, Lleretny; COX, José; TOVAR, Heribelt; EINSPANIER, Ralf; CASTRO, Fidel Ovidio. Changes in the expression of pluripotency-associated genes during preimplantation and peri-implantation stages in bovine cloned and *in vitro* produced embryos. **Zygote**, vol. 18, no. 3, p. 269–279, 30 Aug. 2010. <https://doi.org/10.1017/S0967199409990323>.

RODRÍGUEZ-ALVAREZ, Lleretny; SHARBATI, Jutta; SHARBATI, Soroush; COX, José Francisco; EINSPANIER, Ralf; CASTRO, Fidel Ovidio. Differential gene expression in bovine elongated (Day

17) embryos produced by somatic cell nucleus transfer and in vitro fertilization. **Theriogenology**, vol. 74, no. 1, p. 45–59, Jul. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.12.018>.

RODRÍGUEZ-PÁEZ, Lorena; AGUIRRE-ALVARADO, Charmina; CHAMORRO-CEVALLOS, Germán; VERONICA, Alcántara-Farfán; SANDRA IREL, Calderón-Espinosa; HUGO, Castillo-Pérez; GARCÍA-PÉREZ, Carlos Armando; JIMÉNEZ-GUTIÉRREZ, Guadalupe Elizabeth; CORDERO-MARTÍNEZ, Joaquín. Polyamines modulate mouse sperm motility. **Systems Biology in Reproductive Medicine**, vol. 69, no. 6, p. 435–449, 2 Nov. 2023. <https://doi.org/10.1080/19396368.2023.2262714>.

RODRÍGUEZ-PÁEZ, Lorena; AGUIRRE-ALVARADO, Charmina; OVIEDO, Norma; ALCÁNTARA-FARFÁN, Verónica; LARA-RAMÍREZ, Edgar E.; JIMENEZ-GUTIERREZ, Guadalupe Elizabeth; CORDERO-MARTÍNEZ, Joaquín. Polyamines Influence Mouse Sperm Channels Activity. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 22, no. 1, p. 441, 4 Jan. 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22010441>.

ROELES, Johannes; TSIAVALIARIS, Georgios. Actin-microtubule interplay coordinates spindle assembly in human oocytes. **Nature Communications**, vol. 10, no. 1, p. 4651, 11 Oct. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12674-9>.

ROMERO-AGUIRREGOMEZCORTA, Jon; SANTA, Ángela Patricia; GARCÍA-VÁZQUEZ, Francisco Alberto; COY, Pilar; MATÁS, Carmen. Nitric Oxide Synthase (NOS) Inhibition during Porcine In Vitro Maturation Modifies Oocyte Protein S-Nitrosylation and In Vitro Fertilization. **PLoS ONE**, vol. 9, no. 12, p. e115044, 26 Dec. 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115044>.

ROSSI, Meghan J; PEKKURNAZ, Gulcin. Powerhouse of the mind: mitochondrial plasticity at the synapse. **Current Opinion in Neurobiology**, vol. 57, p. 149–155, Aug. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2019.02.001>.

ROSTAMZADEH, Ayoob; AHMADI, Reza; HEYDARI, Mahdi; RAOOFI, Amir. Effects of nitric oxide on reproductive organs and related physiological processes. **Asian Pacific Journal of Reproduction**, vol. 9, no. 4, p. 159, 2020. <https://doi.org/10.4103/2305-0500.288583>.

ROVANI, Bruno Tomazele; RISSI, Vitor Braga; ROVANI, Monique Tomazele; GASPERIN, Bernardo Garziera; BAUMHARDT, Tadeu; BORDIGNON, Vilceu; BAUERMAN, Liliane de Freitas; MISSIO, Daniele; GONÇALVES, Paulo Bayard Dias. Analysis of nuclear maturation, DNA damage and repair gene expression of bovine oocyte and cumulus cells submitted to ionizing radiation. **Animal Reproduction**, vol. 20, no. 2, 2023. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-ar2023-0021>.

ROY, S. C.; ATREJA, S. K. Tyrosine phosphorylation of a 38-kDa capacitation-associated buffalo (*Bubalus bubalis*) sperm protein is induced by L-arginine and regulated through a cAMP/PKA-independent pathway. **International Journal of Andrology**, vol. 31, no. 1, p. 12–24, 9 Feb. 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2007.00745.x>.

RUCKER, Edmund B.; DIERISSEAU, Patricia; WAGNER, Kay-Uwe; GARRETT, Lisa; WYNshaw-BORIS, Anthony; FLAWS, Jodi A.; HENNIGHAUSEN, Lothar. Bcl-x and Bax Regulate Mouse Primordial Germ Cell Survival and Apoptosis during Embryogenesis. **Molecular Endocrinology**, vol. 14, no. 7, p. 1038–1052, 1 Jul. 2000. <https://doi.org/10.1210/mend.14.7.0465>.

RUIZ DE CHÁVEZ, Julio Agustín; GUZMÁN, Adrian; ZAMORA-GUTIÉRREZ, Diana; MENDOZA, Germán David; MELGOZA, Luz María; MONTES, Sergio; ROSALES-TORRES, Ana María. Supplementation with rumen-protected L-arginine-HCl increased fertility in sheep with synchronized

estrus. **Tropical Animal Health and Production**, vol. 47, no. 6, p. 1067–1073, 20 Aug. 2015. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0833-4>.

RUIZ-HERRERA, Aurora; GARCIA, Francisca; GARCIA-CALDÉS, Montserrat. Radiobiology and Reproduction—What Can We Learn from Mammalian Females? **Genes**, vol. 3, no. 3, p. 521–544, 27 Aug. 2012. <https://doi.org/10.3390/genes3030521>.

SALIMOV, Daniil; LISOVSKAYA, Tatiana; OTSUKI, Junko; GZGZYAN, Alexandre; BOGOLYUBOVA, Irina; BOGOLYUBOV, Dmitry. Chromatin Morphology in Human Germinal Vesicle Oocytes and Their Competence to Mature in Stimulated Cycles. **Cells**, vol. 12, no. 15, p. 1976, 31 Jul. 2023. <https://doi.org/10.3390/cells12151976>.

SANCAR, Aziz; LINDSEY-BOLTZ, Laura A.; ÜNSAL-KAÇMAZ, Keziban; LINN, Stuart. Molecular Mechanisms of Mammalian DNA Repair and the DNA Damage Checkpoints. **Annual Review of Biochemistry**, vol. 73, no. 1, p. 39–85, Jun. 2004. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.73.011303.073723>.

SANTA-CATARINA, Claudete; SILVEIRA, Vanildo; BALBUENA, Tiago S.; VIANA, Ana Maria; ESTELITA, Maria Emilia M.; HANDRO, Walter; FLOH, Eny I. S. IAA, ABA, polyamines and free amino acids associated with zygotic embryo development of *Ocotea catharinensis*. **Plant Growth Regulation**, vol. 49, no. 2–3, p. 237–247, 20 Nov. 2006. <https://doi.org/10.1007/s10725-006-9129-z>.

SANTANA, Priscila P.B.; DA SILVA, Bruno B.; SILVA, Thiago V.G.; COSTA, Nathalia N.; CORDEIRO, Marcela S.; SANTOS, Simone S.D.; OHASHI, Otávio M.; MIRANDA, Moysés S. Addition of L-arginine to the fertilization medium enhances subsequent bovine embryo development rates. **Theriogenology**, vol. 85, no. 6, p. 1132–1138, Apr. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.11.027>.

SAVA, Irina G.; BATTAGLIA, Valentina; ROSSI, Carlo A.; SALVI, Mauro; TONINELLO, Antonio. Free radical scavenging action of the natural polyamine spermine in rat liver mitochondria. **Free Radical Biology and Medicine**, vol. 41, no. 8, p. 1272–1281, Oct. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.07.008>.

SCHMIDT, Harald H.H.W.; WALTER, Ulrich. NO at work. **Cell**, vol. 78, no. 6, p. 919–925, Sep. 1994. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90267-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90267-4).

SCHULTZ, Linda B.; CHEHAB, Nabil H.; MALIKZAY, Asra; HALAZONETIS, Thanos D. P53 Binding Protein 1 (53bp1) Is an Early Participant in the Cellular Response to DNA Double-Strand Breaks. **The Journal of Cell Biology**, vol. 151, no. 7, p. 1381–1390, 25 Dec. 2000. <https://doi.org/10.1083/jcb.151.7.1381>.

SCHWARZ, KRL; PIRES, PRL; DE BEM, THC; ADONA, PR; LEAL, CLV. Consequences of Nitric Oxide Synthase Inhibition During Bovine Oocyte Maturation on Meiosis and Embryo Development. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 45, no. 1, p. 75–80, 20 Feb. 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01242.x>.

SCIORIO, Romualdo; MIRANIAN, Daniel; SMITH, Gary D. Non-invasive oocyte quality assessment. **Biology of Reproduction**, vol. 106, no. 2, p. 274–290, 22 Feb. 2022. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioac009>.

SEILER, Nikolaus; RAUL, Francis. Polyamines and apoptosis. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, vol. 9, no. 3, p. 623–642, Jul. 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2005.tb00493.x>.

SEKI, Misato; TAKEUCHI, Eisaku; FUKUI, Emiko; MATSUMOTO, Hiromichi. Upregulation of iNOS and phosphorylated eNOS in the implantation-induced blastocysts of mice. **Reproductive Medicine and Biology**, vol. 22, no. 1, 11 Jan. 2023. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12545>.

SENGOKU, K; TAKUMA, N; HORIKAWA, M; TSUCHIYA, K; KOMORI, H; SHARIFA, D; TAMATE, K; ISHIKAWA, M. Requirement of nitric oxide for murine oocyte maturation, embryo development, and trophoblast outgrowth in vitro. **Molecular reproduction and development**, vol. 58, no. 3, p. 262–8, Mar. 2001. [https://doi.org/10.1002/1098-2795\(200103\)58:3<262::AID-MRD3>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1098-2795(200103)58:3<262::AID-MRD3>3.0.CO;2-8).

SHI, Chennan; YAN, Zhengjie; ZHANG, Yuexin; QIN, Lianju; WU, Wei; GAO, Chao; GAO, Li; LIU, Jiayin; CUI, Yugui. Effects of putrescine on the quality and epigenetic modification of mouse oocytes during. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 34, no. 15, p. 957–970, 29 Aug. 2022. <https://doi.org/10.1071/RD22064>.

SHI, Chennan; ZHANG, Jingyi; YAN, Zhengjie; GAO, Li; GAO, Chao; WU, Wei; LIU, Jiayin; CUI, Yugui. Epigenetic effect of putrescine supplementation during in vitro maturation of oocytes on offspring in mice. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 39, no. 3, p. 681–694, 7 Mar. 2022a. <https://doi.org/10.1007/s10815-022-02448-6>.

SHI, Chennan; ZHANG, Jingyi; YAN, Zhengjie; GAO, Li; GAO, Chao; WU, Wei; LIU, Jiayin; CUI, Yugui. Epigenetic effect of putrescine supplementation during in vitro maturation of oocytes on offspring in mice. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 39, no. 3, p. 681–694, 7 Mar. 2022b. <https://doi.org/10.1007/s10815-022-02448-6>.

SHUHAIBAR, Leia C.; EGBERT, Jeremy R.; NORRIS, Rachael P.; LAMPE, Paul D.; NIKOLAEV, Viacheslav O.; THUNEMANN, Martin; WEN, Lai; FEIL, Robert; JAFFE, Laurinda A. Intercellular signaling via cyclic GMP diffusion through gap junctions restarts meiosis in mouse ovarian follicles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 112, no. 17, p. 5527–5532, 28 Apr. 2015. <https://doi.org/10.1073/pnas.1423598112>.

SIRARD, M. A.; FLORMAN, H. M.; LEIBFRIED-RUTLEDGE, M. L.; BARNES, F. L.; SIMS, M. L.; FIRST, N. L. Timing of Nuclear Progression and Protein Synthesis Necessary for Meiotic Maturation of Bovine Oocytes1. **Biology of Reproduction**, vol. 40, no. 6, p. 1257–1263, 1 Jun. 1989. <https://doi.org/10.1095/biolreprod40.6.1257>.

SIRARD, M. A.; PARRISH, J. J.; WARE, C. B.; LEIBFRIED-RUTLEDGE, M. L.; FIRST, N. L. The Culture of Bovine Oocytes to Obtain Developmentally Competent Embryos1. **Biology of Reproduction**, vol. 39, no. 3, p. 546–552, 1 Oct. 1988. <https://doi.org/10.1095/biolreprod39.3.546>.

SIRARD, M.A. Resumption of meiosis: mechanism involved in meiotic progression and its relation with developmental competence. **Theriogenology**, vol. 55, no. 6, p. 1241–1254, Apr. 2001. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00480-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00480-0).

SIRARD, Marc-André. Folliculogenesis and acquisition of oocyte competence in cows. **Animal Reproduction**, vol. 16, no. 3, p. 449–454, 2019. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0038>.

SIRARD, Marc-André; RICHARD, François; BLONDIN, Patrick; ROBERT, Claude. Contribution of the oocyte to embryo quality. **Theriogenology**, vol. 65, no. 1, p. 126–136, Jan. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.020>.

STAIKU, Florentin-Daniel; CANHA-GOUVEIA, Analuce; SORIANO-ÚBEDA, Cristina; MARTÍNEZ-SOTO, Juan Carlos; ADOAMNEI, Evdochia; CHAVARRO, Jorge E.; MATÁS, Carmen. Nitrite and Nitrate Levels in Follicular Fluid From Human Oocyte Donors Are Related to Ovarian Response and Embryo Quality. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, vol. 9, 14 Apr. 2021. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.647002>.

STRINGER, Jessica M.; WINSHIP, Amy; LIEW, Seng H.; HUTT, Karla. The capacity of oocytes for DNA repair. **Cellular and Molecular Life Sciences**, vol. 75, no. 15, p. 2777–2792, 10 Aug. 2018. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2833-9>.

SU, You-Qiang; SUGIURA, Koji; EPPIG, John. Mouse Oocyte Control of Granulosa Cell Development and Function: Paracrine Regulation of Cumulus Cell Metabolism. **Seminars in Reproductive Medicine**, vol. 27, no. 01, p. 032–042, 5 Jan. 2009. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1108008>.

SUDHAKARAN, Sam; UPPANGALA, Shubhashree; SALIAN, Sujith Raj; HONGUNTIKAR, Sachin D.; NAIR, Ramya; KALTHUR, Guruprasad; ADIGA, Satish Kumar. Oocytes recovered after ovarian tissue slow freezing have impaired H2AX phosphorylation and functional competence. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 27, no. 8, p. 1242, 2015. <https://doi.org/10.1071/RD14048>.

SUGIMURA, Satoshi; YAMANOUCHI, Tadayuki; PALMERINI, Maria Grazia; HASHIYADA, Yutaka; IMAI, Kei; GILCHRIST, Robert B. Effect of pre-*in vitro* maturation with cAMP modulators on the acquisition of oocyte developmental competence in cattle. **Journal of Reproduction and Development**, vol. 64, no. 3, p. 233–241, 2018. <https://doi.org/10.1262/jrd.2018-009>.

SUN, Qing-Yuan; MIAO, Yi-Liang; SCHATTEN, Heide. Towards a new understanding on the regulation of mammalian oocyte meiosis resumption. **Cell Cycle**, vol. 8, no. 17, p. 2741–2747, 28 Sep. 2009. <https://doi.org/10.4161/cc.8.17.9471>.

SUNKARA, Prasad S.; WRIGHT, David A.; NISHIOKA, Kenji. An essential role for putrescine biosynthesis during meiotic maturation of amphibian oocytes. **Developmental Biology**, vol. 87, no. 2, p. 351–355, Oct. 1981. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(81\)90158-5](https://doi.org/10.1016/0012-1606(81)90158-5).

SUTTON, M.L. Effects of in-vivo and in-vitro environments on the metabolism of the cumulus-oocyte complex and its influence on oocyte developmental capacity. **Human Reproduction Update**, vol. 9, no. 1, p. 35–48, 1 Jan. 2003. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmg009>.

TABOR, HERBERT; TABOR, CELIA W. SPERMIDINE, SPERMINE, AND RELATED AMINES. **Pharmacological Reviews**, vol. 16, no. 3, p. 245, 1 Sep. 1964. Available at: <http://pharmrev.aspetjournals.org/content/16/3/245.abstract>.

TAKESUE, Katsuhisa; TABATA, Shoji; SATO, Fuminori; HATTORI, Masa-aki. Expression of Nitric Oxide Synthase-3 in Porcine Oocytes Obtained at Different Follicular Development. **Journal of Reproduction and Development**, vol. 49, no. 2, p. 135–140, 2003. <https://doi.org/10.1262/jrd.49.135>.

TAO, Yong; FU, Zhuo; ZHANG, Meijia; XIA, Guoliang; YANG, Jie; XIE, Huirong. Immunohistochemical localization of inducible and endothelial nitric oxide synthase in porcine ovaries

and effects of NO on antrum formation and oocyte meiotic maturation. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 222, no. 1–2, p. 93–103, Jul. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2004.04.014>.

TAO, Yong; LIU, Dandan; MO, Guolong; WANG, Hongmei; LIU, X. John . Peri-ovulatory putrescine supplementation reduces embryo resorption in older mice. **Human Reproduction**, vol. 30, no. 8, p. 1867–1875, Aug. 2015. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev130>.

TAO, Yong; LIU, X. John . Deficiency of ovarian ornithine decarboxylase contributes to aging-related egg aneuploidy in mice. **Aging Cell**, vol. 12, no. 1, p. 42–49, Feb. 2013. <https://doi.org/10.1111/accel.12016>.

TAO, Yong; XIE, Huirong; HONG, Haiyan; CHEN, Xiufen; JANG, Jie; XIA, Guoliang. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on porcine oocyte meiotic maturation. **Zygote**, vol. 13, no. 1, p. 1–9, 19 Feb. 2005. <https://doi.org/10.1017/S0967199404002953>.

TARAZONA, AM; RODRÍGUEZ, JI; RESTREPO, LF; OLIVERA-ANGEL, M. Mitochondrial Activity, Distribution and Segregation in Bovine Oocytes and in Embryos Produced *in Vitro*. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 41, no. 1, p. 5–11, 12 Feb. 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00615.x>.

TARBASHEVICH, Katsiaryna; ERMLICH, Laura; WEGNER, Julian; PFEIFFER, Jana; RAZ, Erez. The mitochondrial protein Sod2 is important for the migration, maintenance, and fitness of germ cells. **Frontiers in cell and developmental biology**, vol. 11, p. 1250643, 2023. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1250643>.

TAUGOURDEAU, A.; DESQUIRET-DUMAS, V.; HAMEL, J. F.; CHUPIN, S.; BOUCRET, L.; FERR -L'HOTELLIER, V.; BOUET, P. E.; DESCAMPS, P.; PROCACCIO, V.; REYNIER, P.; MAY-PANLOUP, P. The mitochondrial DNA content of cumulus cells may help predict embryo implantation. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, vol. 36, no. 2, p. 223–228, 25 Feb. 2019. <https://doi.org/10.1007/s10815-018-1348-5>.

TESFAYE, D; KADANGA, A; RINGS, F; BAUCH, K; JENNEN, D; NGANVONGPANIT, K; H LKER, M; THOLEN, E; PONSUKSILI, S; WIMMERS, K; MONTAG, M; GILLES, M; KIRFEL, G; HERZOG, V; SCHELLANDER, K. The Effect of Nitric Oxide Inhibition and Temporal Expression Patterns of the mRNA and Protein Products of Nitric Oxide Synthase Genes During *In Vitro* Development of Bovine Pre-implantation Embryos. **Reproduction in Domestic Animals**, vol. 41, no. 6, p. 501–509, 15 Dec. 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00701.x>.

THOMAS, Douglas D.; RIDNNOUR, Lisa; DONZELLI, S nia; ESPEY, Michael Graham; MANCARDI, Daniele; ISENBERG, Jeffery S.; FEELISCH, Martin; ROBERTS, David D.; WINK, David A. The chemistry of protein modifications elicited by nitric oxide and related nitrogen oxides. *In*: DALLE-DONNE, Isabella; SCALONI; ANDREA; BUTTERFIELD, Allan (eds.). **Redox Proteomics: From Protein Modifications to Cellular Dysfunction and Diseases**. 1st ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2006. vol. 1, p. 25–58.

THOMAS, Douglas D.; RIDNOUR, Lisa A.; ESPEY, Michael Graham; DONZELLI, Sonia; AMBS, Stefan; HUSSAIN, S. Perwez; HARRIS, Curtis C.; DEGRAFF, William; ROBERTS, David D.; MITCHELL, James B.; WINK, David A. Superoxide Fluxes Limit Nitric Oxide-induced Signaling. **Journal of Biological Chemistry**, vol. 281, no. 36, p. 25984–25993, Sep. 2006. <https://doi.org/10.1074/jbc.M602242200>.

THOMAS, Rebecca E.; ARMSTRONG, David T.; GILCHRIST, Robert B. Bovine Cumulus Cell-Oocyte Gap Junctional Communication During In Vitro Maturation in Response to Manipulation of Cell-Specific Cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate Levels1. **Biology of Reproduction**, vol. 70, no. 3, p. 548–556, 1 Mar. 2004. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.021204>.

TIAN, Ye; HENG, Dai; XU, Kaili; LIU, Wenbo; WENG, Xuechun; HU, Xusong; ZHANG, Cheng. cGMP/PKG-I Pathway-Mediated GLUT1/4 Regulation by NO in Female Rat Granulosa Cells. **Endocrinology**, vol. 159, no. 2, p. 1147–1158, 1 Feb. 2018. <https://doi.org/10.1210/en.2017-00863>.

TIBURCIO, Antonio F.; ALTABELLA, Teresa; BITRIÁN, Marta; ALCÁZAR, Rubén. The roles of polyamines during the lifespan of plants: from development to stress. **Planta**, vol. 240, no. 1, p. 1–18, 23 Jul. 2014. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2055-9>.

TIMLIN, Claire L.; LYNN, Alexa; WOOLDRIDGE, Lydia K.; UH, Kyungjun; EALY, Alan D.; WHITE, Robin R.; LEE, Kiho; MERCADANTE, Vitor R.G. Physical parameters of bovine activated oocytes and zygotes as predictors of development success. **Zygote**, vol. 29, no. 5, p. 358–364, 19 Oct. 2021. <https://doi.org/10.1017/S0967199421000058>.

TORRES, Natália Ferreira. **Participação do sistema óxido nítrico sintase induzível/óxido nítrico na maturação de oócitos bovinos**. 2015. 1–80 f. Dissertação – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2015.

TOSTI, Elisabetta; BONI, Raffaele; CUOMO, Annunziata. Ca²⁺ current activity decreases during meiotic progression in bovine oocytes. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, vol. 279, no. 6, p. C1795–C1800, 1 Dec. 2000. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2000.279.6.C1795>.

TRANGUCH, Susanne; STEUERWALD, Nury; HUET-HUDSON, Yvette M. Nitric Oxide Synthase Production and Nitric Oxide Regulation of Preimplantation Embryo Development. **Biology of Reproduction**, vol. 68, no. 5, p. 1538–1544, 1 May 2003. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.009282>.

TREMBLAY, Karine; VIGNEAULT, Christian; MCGRAW, Serge; SIRARD, Marc-André. Expression of Cyclin B1 Messenger RNA Isoforms and Initiation of Cytoplasmic Polyadenylation in the Bovine Oocyte1. **Biology of Reproduction**, vol. 72, no. 4, p. 1037–1044, 1 Apr. 2005. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.034793>.

TRENNER, Anika; SARTORI, Alessandro A. Harnessing DNA Double-Strand Break Repair for Cancer Treatment. **Frontiers in Oncology**, vol. 9, 10 Dec. 2019. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01388>.

TRIPATHI, Anima; KHATUN, Sabana; PANDEY, A.N.; MISHRA, S.K.; CHAUBE, Radha; SHRIVASTAV, T.G.; CHAUBE, S.K. Intracellular levels of hydrogen peroxide and nitric oxide in oocytes at various stages of meiotic cell cycle and apoptosis. **Free Radical Research**, vol. 43, no. 3, p. 287–294, 7 Jan. 2009. <https://doi.org/10.1080/10715760802695985>.

TUKUR, Hamed A.; ALJUMAAH, Riyadh S.; SWELUM, Ayman Abdel-Aziz; ALOWAIMER, Abdullah N.; SAADELDIN, Islam M. The Making of a Competent Oocyte – A Review of Oocyte Development and Its Regulation. **Journal of Animal Reproduction and Biotechnology**, vol. 35, no. 1, p. 2–11, 31 Mar. 2020. <https://doi.org/10.12750/JARB.35.1.2>.

TURATHUM, Bongkoch; GAO, Er-Meng; CHIAN, Ri-Cheng. The Function of Cumulus Cells in Oocyte Growth and Maturation and in Subsequent Ovulation and Fertilization. **Cells**, vol. 10, no. 9, p. 2292, 2 Sep. 2021. <https://doi.org/10.3390/cells10092292>.

VAN VOORHIS, B J; MOORE, K; STRIJOS, P J; NELSON, S; BAYLIS, S A; GRZYBICKI, D; WEINER, C P. Expression and localization of inducible and endothelial nitric oxide synthase in the rat ovary. Effects of gonadotropin stimulation in vivo. **Journal of Clinical Investigation**, vol. 96, no. 6, p. 2719–2726, 1 Dec. 1995. <https://doi.org/10.1172/JCI118339>.

VANDAELE, L.; GOOSSENS, K.; PEELMAN, L.; VAN SOOM, A. mRNA expression of Bcl-2, Bax, caspase-3 and -7 cannot be used as a marker for apoptosis in bovine blastocysts. **Animal Reproduction Science**, vol. 106, no. 1–2, p. 168–173, Jun. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.12.016>.

VANDERSICKEL, Veerle; MANCINI, Monica; SLABBERT, Jacobus; MARRAS, Emanuela; THIERENS, Hubert; PERLETTI, Gianpaolo; VRAL, Anne. The radiosensitizing effect of Ku70/80 knockdown in MCF10A cells irradiated with X-rays and p(66)+Be(40) neutrons. **Radiation Oncology**, vol. 5, no. 1, p. 30, 27 Dec. 2010. <https://doi.org/10.1186/1748-717X-5-30>.

VIANA, Kelen Salaroli; CALDAS-BUSSIÈRE, Maria Clara; CARVALHO, Carla Sobrinho Paes de; DIAS, Bruna Lomba; LANES, Verônica R.; QUIRINO, Celia Raquel. Efeito de diferentes formas de cultivo na ação do óxido nítrico na maturação e na integridade da membrana plasmática de complexos cumulus-oócito em bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, vol. 48, no. 2, p. 147, 1 Apr. 2011. <https://doi.org/10.11606/S1413-95962011000200007>.

VIANA, K.S.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; MATTA, S.G.C.; FAES, M.R.; PAES DE CARVALHO, C.S.; QUIRINO, C.R. Effect of sodium nitroprusside, a nitric oxide donor, on the in vitro maturation of bovine oocytes. **Animal Reproduction Science**, vol. 102, no. 3–4, p. 217–227, Dec. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.11.004>.

VINING, Lucy May; ZAK, Louisa J; HARVEY, Simon Crawford; HARVEY, Katie Evelyn. The role of apoptosis in cryopreserved animal oocytes and embryos. **Theriogenology**, vol. 173, p. 93–101, Oct. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.07.017>.

VIVEIROS, Maria M.; DE LA FUENTE, Rabindranath. Regulation of Mammalian Oocyte Maturation. **The Ovary**. [S. l.]: Elsevier, 2019. p. 165–180. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813209-8.00011-X>.

VOSS, Anne K; STRASSER, Andreas. The essentials of developmental apoptosis. **F1000Research**, vol. 9, 2020. <https://doi.org/10.12688/f1000research.21571.1>.

VUJCIC, Slavoljub; LIANG, Ping; DIEGELMAN, Paula; KRAMER, Debora L.; PORTER, Carl W. Genomic identification and biochemical characterization of the mammalian polyamine oxidase involved in polyamine back-conversion. **Biochemical Journal**, vol. 370, no. 1, p. 19–28, 15 Feb. 2003. <https://doi.org/10.1042/bj20021779>.

WALLACE, Heather M.; FRASER, Alison V.; HUGHES, Alun. A perspective of polyamine metabolism. **Biochemical Journal**, vol. 376, no. 1, p. 1–14, 15 Nov. 2003. <https://doi.org/10.1042/bj20031327>.

WANG, Jiangtao; HE, Qingliu; YAN, Xingyu; CAI, Youmei; CHEN, Junyi. Effect of exogenous nitric oxide on sperm motility in vitro. **Biological Research**, vol. 47, no. 1, p. 44, 18 Dec. 2014. <https://doi.org/10.1186/0717-6287-47-44>.

WARD, Irene M.; MINN, Kay; VAN DEURSEN, Jan; CHEN, Junjie. p53 Binding Protein 53BP1 Is Required for DNA Damage Responses and Tumor Suppression in Mice. **Molecular and Cellular Biology**, vol. 23, no. 7, p. 2556–2563, 1 Apr. 2003. <https://doi.org/10.1128/MCB.23.7.2556-2563.2003>.

WATSON, A. J. Oocyte cytoplasmic maturation: A key mediator of oocyte and embryo developmental competence1. **Journal of Animal Science**, vol. 85, no. suppl_13, p. E1–E3, 1 Mar. 2007. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-432>.

WECKMAN, Andrea M; MCDONALD, Chloe R; BAXTER, Jo-Anna B; FAWZI, Wafaie W; CONROY, Andrea L; KAIN, Kevin C. Perspective: L-arginine and L-citrulline Supplementation in Pregnancy: A Potential Strategy to Improve Birth Outcomes in Low-Resource Settings. **Advances in Nutrition**, vol. 10, no. 5, p. 765–777, Sep. 2019. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz015>.

WINTERHAGER, Elke; KIDDER, Gerald M. Gap junction connexins in female reproductive organs: implications for women's reproductive health. **Human Reproduction Update**, vol. 21, no. 3, p. 340–352, 1 May 2015. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv007>.

WU, G.; BAZER, F. W.; DATTA, S.; JOHNSON, G. A.; LI, P.; SATTERFIELD, M. C.; SPENCER, T. E. Proline metabolism in the conceptus: implications for fetal growth and development. **Amino Acids**, vol. 35, no. 4, p. 691–702, 11 Nov. 2008. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0052-7>.

WU, Guoyao; BAZER, Fuller W.; DAVIS, Teresa A.; KIM, Sung Woo; LI, Peng; MARC RHOADS, J.; CAREY SATTERFIELD, M.; SMITH, Stephen B.; SPENCER, Thomas E.; YIN, Yulong. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. **Amino Acids**, vol. 37, no. 1, p. 153–168, 23 May 2009. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0210-y>.

WU, Guoyao; BAZER, Fuller W.; SATTERFIELD, M. Carey; LI, Xilong; WANG, Xiaoqi; JOHNSON, Gregory A.; BURGHARDT, Robert C.; DAI, Zhaolai; WANG, Junjun; WU, Zhenlong. Impacts of arginine nutrition on embryonic and fetal development in mammals. **Amino Acids**, vol. 45, no. 2, p. 241–256, 4 Aug. 2013. <https://doi.org/10.1007/s00726-013-1515-z>.

WU, Guoyao; MEININGER, Cynthia J. R <sc>EGULATION OF</sc> N <sc>ITRIC</sc> O <sc>XIDE</sc> S <sc>YNTHESES BY</sc> D <sc>IETARY</sc> F <sc>ACTORS</sc>. **Annual Review of Nutrition**, vol. 22, no. 1, p. 61–86, Jul. 2002. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.22.110901.145329>.

WU, Guoyao; MORRIS, Sidney M. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. **Biochemical Journal**, vol. 336, no. 1, p. 1–17, 15 Nov. 1998. <https://doi.org/10.1042/bj3360001>.

WU, X.; YIN, Y.L.; LIU, Y.Q.; LIU, X.D.; LIU, Z.Q.; LI, T.J.; HUANG, R.L.; RUAN, Z.; DENG, Z.Y. Effect of dietary arginine and N-carbamoylglutamate supplementation on reproduction and gene expression of eNOS, VEGFA and PIGF1 in placenta in late pregnancy of sows. **Animal Reproduction Science**, vol. 132, no. 3–4, p. 187–192, Jun. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.05.002>.

YAMADA, Masayasu; ISAJI, Yuuki. Structural and functional changes linked to, and factors promoting, cytoplasmic maturation in mammalian oocytes. **Reproductive Medicine and Biology**, vol. 10, no. 2, p. 69–79, 17 Jun. 2011. <https://doi.org/10.1007/s12522-011-0079-4>.

YANG, Ming Yuan; RAJAMAHENDRAN, Rajadurai. Expression of Bcl-2 and Bax proteins in relation to quality of bovine oocytes and embryos produced in vitro. **Animal Reproduction Science**, vol. 70, no. 3–4, p. 159–169, Apr. 2002. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(01\)00186-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00186-5).

YANG, Shen-Hsi; KALKAN, Tüzer; MORISSROE, Claire; MARKS, Hendrik; STUNNENBERG, Hendrik; SMITH, Austin; SHARROCKS, Andrew D. Otx2 and Oct4 Drive Early Enhancer Activation during Embryonic Stem Cell Transition from Naive Pluripotency. **Cell Reports**, vol. 7, no. 6, p. 1968–1981, Jun. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.05.037>.

ZAIDI, Syed Kashif; SHEN, Wen-Jun; CORTEZ, Yuan; BITTNER, Stefanie; BITTNER, Alex; ARSHAD, Sara; HUANG, Ting-Ting; KRAEMER, Fredric B.; AZHAR, Salman. SOD2 deficiency-induced oxidative stress attenuates steroidogenesis in mouse ovarian granulosa cells. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 519, p. 110888, Jan. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110888>.

ZAMBERLAM, Gustavo; PORTELA, Valério; DE OLIVEIRA, João Francisco C.; GONÇALVES, Paulo B.D.; PRICE, Christopher A. Regulation of inducible nitric oxide synthase expression in bovine ovarian granulosa cells. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 335, no. 2, p. 189–194, Mar. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.01.013>.

ZENG, Xiangfang; WANG, Fenglai; FAN, Xia; YANG, Wenjun; ZHOU, Bo; LI, Pengfei; YIN, Yulong; WU, Guoyao; WANG, Junjun. Dietary Arginine Supplementation during Early Pregnancy Enhances Embryonic Survival in Rats. **The Journal of Nutrition**, vol. 138, no. 8, p. 1421–1425, Aug. 2008. <https://doi.org/10.1093/jn/138.8.1421>.

ZHANG, Qing; REN, Jun; WANG, Fangfang; PAN, Manman; CUI, Long; LI, Mingqian; QU, Fan. Mitochondrial and glucose metabolic dysfunctions in granulosa cells induce impaired oocytes of polycystic ovary syndrome through Sirtuin 3. **Free Radical Biology and Medicine**, vol. 187, p. 1–16, Jul. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.05.010>.

ZHANG, Yu; BAI, Jie; CUI, Zhaokang; LI, Yu; GAO, Qian; MIAO, Yilong; XIONG, Bo. Polyamine metabolite spermidine rejuvenates oocyte quality by enhancing mitophagy during female reproductive aging. **Nature Aging**, vol. 3, no. 11, p. 1372–1386, 16 Oct. 2023. <https://doi.org/10.1038/s43587-023-00498-8>.

ZHOU, Yong; MA, Chunqi; KARMOUCH, Jennifer; KATBI, Hadia Arabi; LIU, X. Johné. Antiapoptotic Role for Ornithine Decarboxylase during Oocyte Maturation. **Molecular and Cellular Biology**, vol. 29, no. 7, p. 1786–1795, 1 Apr. 2009. <https://doi.org/10.1128/MCB.01815-08>.

ZIMMERMAN, David L.; BODDY, Craig S.; SCHOENHERR, Christopher S. Oct4/Sox2 Binding Sites Contribute to Maintaining Hypomethylation of the Maternal Igf2/H19 Imprinting Control Region. **PLoS ONE**, vol. 8, no. 12, p. e81962, 6 Dec. 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081962>.