

PAPEL DAS VESÍCULAS EXTRACELULARES PARA A PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS: REVISÃO DE LITERATURA

Larissa Mardones¹, Juliano Coelho da Silveira².

¹Universidade Federal do Espírito Santo / Departamento de Medicina Veterinária/CCA/UFES, Alto Universitário, S/N Guararema, Alegre - ES, 29500-00 - Alegre - ES, Brasil, larismardones@gmail.com.

² Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos/USP Pirassununga, Avenida Duque de Caxias Norte, 225, Campus Fernando Costa – 13635-900 – Pirassununga-SP, Brasil, julianodasilveira@usp.br.

Resumo

Este estudo teve como objetivo revisar o papel das vesículas extracelulares (EVs) na reprodução bovina, com foco na produção in vitro de embriões (PIVE). A metodologia consistiu em revisão de literatura nas bases PubMed, Google Scholar e SciELO, abrangendo publicações de 2010 a 2025, utilizando descritores relacionados a EVs, reprodução animal e cultura de embriões. Os resultados mostraram que EVs de diferentes origens reprodutivas transportam moléculas bioativas, como miRNAs, proteínas e lipídios, modulando maturação oocitária, desenvolvimento embrionário, metabolismo energético e criotolerância. Estudos indicaram que a suplementação dos meios utilizados na PIVE com EVs aumentam a taxa de blastocistos e melhoram a qualidade embrionária, evidenciando comunicação bidirecional entre embrião e trato reprodutivo. Conclui-se que as EVs têm grande potencial para otimizar a PIVE, reduzir diferenças entre embriões in vitro e in vivo e contribuir para maior eficiência reprodutiva na pecuária bovina.

Palavras-chave: Vesículas extracelulares. Reprodução animal. Cultura de embriões. Bovinos.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde – Medicina Veterinária.

Introdução

As vesículas extracelulares (EVs) são estruturas nanométricas liberadas por diferentes tipos celulares envoltas por uma bicamada lipídica, desempenhando papel central na comunicação intercelular (Raposo; Stoorvogel, 2013). Elas são formadas por processos de brotamento da membrana plasmática (microvesículas) ou a partir da via endossomal (exossomos), carregando moléculas bioativas como proteínas, lipídios, RNAs e microRNAs (miRNAs), capazes de modular funções celulares específicas (Raposo; Stoorvogel, 2013). Sua origem é variada, podendo ser identificadas em fluidos corporais como sangue, fluido folicular, tuba uterina e útero, locais nos quais participam da regulação de eventos reprodutivos essenciais (Ávila; Silveira, 2019).

No contexto da reprodução, as EVs têm se destacado por influenciarem diretamente a maturação oocitária, o desenvolvimento embrionário inicial e a comunicação entre embrião e ambiente materno (Bridi *et al.*, 2021). A produção *in vitro* de embriões (PIVE), técnica amplamente utilizada na bovinocultura, visa aumentar o número de descendentes geneticamente superiores, impactando diretamente a produtividade e rápido ganho genético (Ávila; Silveira, 2019). Contudo, a ausência de alguns sinais fisiológicos presentes no ambiente reprodutivo de bovinos ainda representa um desafio para a qualidade embrionária obtida *in vitro* (Hamdi *et al.*, 2024).

Nesse cenário, as EVs emergem como potenciais moduladores capazes de aproximar os sistemas de cultivo *in vitro* das condições encontradas *in vivo*, favorecendo a viabilidade embrionária (Leal *et al.*, 2022). Dessa forma, compreender a biogênese, os conteúdos e os efeitos das EVs no desenvolvimento embrionário pode representar um passo importante para otimizar a PIVE e ampliar seu impacto positivo na eficiência produtiva dos rebanhos bovinos (Mazzarella *et al.*, 2024).

Metodologia

Realizou-se revisão de literatura sobre o papel de vesículas extracelulares na reprodução de bovinos, especificamente na produção in vitro de embriões. As buscas foram realizadas nas bases

PubMed, Google Scholar e SciELO, considerando publicações entre 2010 e 2025. Utilizaram-se como descritores, em português e inglês, as combinações conjugadas ou não: Vesículas extracelulares/Extracellular vesicles, Reprodução animal/Animal reproduction, Cultura de embriões/Embryo culture, Bovinos/Bovines. Dessa forma, a coleta de dados foi realizada considerando como critérios de inclusão artigos incluídos nas bases de dados mencionadas, disponíveis na íntegra, e que apresentassem maior relevância para o objetivo do estudo e resultados consistente

Resultados

A busca bibliográfica resultou em 16.823 publicações relacionadas às EVs na reprodução bovina. Dentre estes, sete estudos provenientes de diferentes revistas especializadas, foram selecionados como base para a análise detalhada dos resultados apresentados nesta revisão, devido à sua relevância e consistência metodológica. Esses trabalhos são destacados na Tabela 1 e forneceram as principais evidências sobre o impacto das EVs na maturação oocitária, desenvolvimento embrionário e viabilidade embrionária *in vitro*.

Tabela 1 – Efeitos relatados das vesículas extracelulares na produção *in vitro* de embriões

Referências	Principais efeitos relatados das EVs
Ávila; Silveira, 2019	EVs de diferentes origens reprodutivas carregam moléculas reguladoras (miRNAs, proteínas, lipídios) que influenciam maturação oocitária e desenvolvimento embrionário inicial.
Bridi <i>et al.</i> , 2021	sEVs secretadas por blastocistos <i>in vivo</i> vs <i>in vitro</i> têm cargas miRNA diferentes; foi detectado ~210 miRNAs nos embriões e ~106 miRNAs nos sEVs. Nos sEVs, 14 miRNAs foram significativamente mais abundantes em embriões <i>in vivo</i> e 2 miRNAs mais abundantes em sEVs <i>in vitro</i>
Sidrat <i>et al.</i> , 2022	Embriões produzidos <i>in vitro</i> e expostos a EVs durante o cultivo apresentaram maior taxa de reexpansão após congelamento e descongelamento (76%) em relação ao grupo sem EVs (58%; $p < 0,05$). O efeito foi atribuído à manutenção das tight junctions no blastocisto.
Leal <i>et al.</i> , 2022	A suplementação com EVs de fluido uterino e tubárico ao longo do cultivo <i>in vitro</i> resultou em maior taxa de blastocisto (40,5%) em comparação ao grupo controle sem suplementação (32,1%; $p < 0,05$). Os embriões tratados também tiveram melhor qualidade morfológica.
Mazzarella <i>et al.</i> , 2024	Embriões cultivados com EVs do útero e tuba uterina apresentaram maior taxa de blastocisto (44,2%) quando comparados ao grupo controle sem suplementação (35,6%; $p < 0,05$). Houve também regulação de genes ligados ao metabolismo lipídico.
Hamdi <i>et al.</i> , 2024	O conteúdo de miRNAs das EVs do oviduto em presença de embriões de alta qualidade foi diferente do observado nas EVs em contato com embriões de baixa qualidade ou sem embriões. Foram detectadas diferenças significativas em 27 miRNAs ($p < 0,01$), mostrando comunicação bidirecional.
Lipińska <i>et al.</i> , 2025	Oócitos suplementados com EVs do fluido folicular geraram mais blastocistos (36,8%) em comparação ao grupo sem EVs (27,5%; $p < 0,05$). Além disso, os

embriões tratados tiveram maior número de células totais.

sEVs = microvesículas; tight junctions = junções estreitas.

Discussão

As EVs têm se mostrado elementos-chave na reprodução bovina, especialmente no contexto da PIVE, consolidando-se como um tema de grande relevância tanto científica quanto aplicada. Estudos demonstram que essas estruturas nanométricas, originadas de diversos compartimentos do sistema reprodutivo, desempenham papel central na comunicação intercelular, transportando moléculas bioativas, como miRNAs, proteínas e lipídios, que influenciam diretamente o desenvolvimento embrionário (Raposo; Stoorvogel, 2013; Pavani *et al.*, 2016; Ávila; Silveira, 2019).

Um ponto amplamente discutido diz respeito à origem das EVs e ao seu impacto direto no desenvolvimento dos embriões. Estudos clássicos, como o de Lopera-vasquez *et al.*, (2017), já haviam demonstrado que Evs derivadas da tuba uterina são capazes de aumentar a taxa de blastocistos e melhorar parâmetros de qualidade embrionária, resultado posteriormente reforçado por Leal *et al.*, (2022), que mostraram benefícios adicionais quando o fluido uterino também é incluído em sistemas sequenciais de cultivo. Esses achados reforçam a hipótese de que o ambiente reprodutivo *in vivo* fornece um conjunto de sinais regulatórios dinâmicos que dificilmente são replicados nas condições da PIVE.

Outro aspecto relevante se refere à carga molecular das EVs, em especial os miRNAs. Nesse sentido, Bridi *et al.*, (2021) trouxeram uma contribuição importante ao demonstrar diferenças nos perfis de miRNAs de pequenas EVs derivadas de blastocistos produzidos *in vivo* e *in vitro*, implicando diretamente na capacidade de reconhecimento materno. Posteriormente, Mazzarella *et al.*, (2024) e Hamdi *et al.*, (2024) evidenciaram que o perfil de miRNAs das EVs tubáricas e uterinas não é estático, mas responde à presença e à qualidade dos embriões. Essa plasticidade sugere um mecanismo ativo de comunicação bidirecional, no qual o embrião não apenas recebe, mas também influencia o conteúdo secretado pelo trato reprodutivo. Essa distinção tem aplicação prática, pois embriões derivados de PIVE podem apresentar assinaturas moleculares distintas, que podem comprometer sua implantação e manutenção da gestação.

Ademais, a função metabólica das EVs também merece destaque. Silveira *et al.* (2017) evidenciaram que as EVs presentes no fluido folicular exercem influência direta sobre o desenvolvimento embrionário, reforçando a ideia de que gametas e embriões em estágios iniciais dependem desses sinais para alcançar seu pleno potencial. Em consonância, Lipińska *et al.* (2025) demonstraram que tais EVs também desempenham um papel fundamental na regulação do metabolismo energético dos oócitos, favorecendo a formação de blastocistos e a obtenção de embriões de maior qualidade. Essa conexão entre metabolismo do oócito e desenvolvimento embrionário assume especial relevância diante das limitações observadas na PIVE, em especial durante a etapa de maturação do oócito (MIV).

Do ponto de vista aplicado, a criotolerância embrionária é também um desafio na reprodução assistida bovina. Sidrat *et al.*, (2022) demonstraram que a suplementação com EVs preserva a integridade das junções estreitas (tight junctions) durante a re-expansão do blastocisto, resultando em maior sobrevivência pós-descongelamento. Esse achado tem implicações econômicas diretas para a pecuária, pois embriões mais tolerantes à criopreservação apresentam maior taxa de prenhez após a transferência, reduzindo perdas e custos de produção.

Apesar dos avanços, os estudos ainda apresentam limitações que precisam ser criticamente avaliadas. A maioria dos trabalhos se concentra em sistemas experimentais específicos, com variações metodológicas na obtenção e caracterização das EVs. Há também uma lacuna em relação à padronização das doses ideais e do momento exato de suplementação durante a PIVE, aspectos fundamentais para a translação prática desses achados. Tesfaye, Menjivar e Gebremedhn (2021) já apontavam a necessidade de protocolos robustos e replicáveis para que as EVs saiam do campo experimental e se tornem ferramentas efetivas na rotina comercial.

Por fim, deve-se ressaltar a perspectiva integradora apresentada por Tanetta *et al.*, (2014) e posteriormente por Cajas *et al.*, (2021), que definem as EVs não apenas como moduladoras locais, mas como peças-chave no diálogo materno-embrionário que assegura o sucesso reprodutivo. Essa visão

sistêmica abre espaço para novas estratégias na reprodução assistida, nas quais a suplementação com EVs específicas poderia minimizar as diferenças entre embriões produzidos *in vitro* e seus equivalentes *in vivo*, elevando a eficiência da PIVE e, conseqüentemente, a produtividade do rebanho.

Conclusão

As vesículas extracelulares mostram-se fundamentais na reprodução bovina e na PIVE, modulando comunicação celular, metabolismo do oócito e qualidade embrionária, incluindo criotolerância. Seu conteúdo molecular, especialmente miRNAs, reflete a interação dinâmica entre embrião e trato reprodutivo, essencial para o sucesso do desenvolvimento embrionário. Apesar das limitações metodológicas e da necessidade de padronização na suplementação, as EVs apresentam grande potencial como ferramenta para otimizar a PIVE e aumentar a eficiência reprodutiva do rebanho.

Referências

- ÁVILA, A. C. F. C. M. de; SILVEIRA, J. C. da. Role of extracellular vesicles during oocyte maturation and early embryo development. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 32, n. 2, p. 56–64, 2019.
- BRIDI, A. et al. Small extracellular vesicles derived from *in vivo*- or *in vitro*-produced bovine blastocysts have different miRNAs profiles – Implications for embryo-maternal recognition. **Molecular Reproduction and Development**, v. 88, n. 9, p. 628–643, 2021.
- CAJAS, Y. N. et al. Role of reproductive fluids and extracellular vesicles in embryo–maternal interaction during early pregnancy in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 34, n. 2, p. 117–138, 2021.
- HAMDI, M. et al. Oviductal extracellular vesicles miRNA cargo varies in response to embryos and their quality. **BMC Genomics**, v. 25, article 520, 2024.
- LEAL, C. L. V. et al. Extracellular vesicles from oviductal and uterine fluids supplementation in sequential *in vitro* culture improves bovine embryo quality. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 13, n. 92, p. 1–14, 2022.
- LIPÍŃSKA, P. et al. Follicular-fluid extracellular vesicles support energy metabolism of bovine oocytes, improving blastocyst development and quality. **Biology of Reproduction**, v. 113, n. 1, p. 109–126, 2025.
- LOPERA-VASQUEZ, R. et al. Effect of bovine oviductal extracellular vesicles on embryo development and quality *in vitro*. **Reproduction**, v. 153, n. 4, p. 461–470, 2017.
- MAZZARELLA, R. et al. Extracellular vesicles-coupled miRNAs from oviduct and uterus modulate signaling pathways related to lipid metabolism and bovine early embryo development. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 15, article 51, 2024.
- PAVANI, K. C. et al. Emerging role of extracellular vesicles in communication of preimplantation embryos *in vitro*. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 29, n. 1, p. 66–83, 2016.
- RAPOSO, G.; STOORVOGEL, W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. **Journal of Cell Biology**, v. 200, p. 373–383, 2013.
- SIDRAT, T. et al. Extracellular vesicles improve embryo cryotolerance by maintaining the tight junction integrity during blastocoel re-expansion. **Reproduction**, v. 163, n. 4, p. 219–232, 2022.
- Silveira J. C. da; Andrade G. M.; Simas R. C.; Martins-Júnior H. A.; Eberlin M. N.; Smith L. C.; Perecin F.; Meirelles F. V. (2021) — Lipid profile of extracellular vesicles and their relationship with bovine

oocyte developmental competence: new players in intra-follicular cell communication.

Theriogenology 174:1–8.

SILVEIRA, J. C. da et al. Supplementation with small-extracellular vesicles from ovarian follicular fluid during in vitro production modulates bovine embryo development. *PLoS ONE*, 15 jun. 2017.

TANNETTA, D. et al. Extracellular vesicles and reproduction-promotion of successful pregnancy. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 11, p. 548–563, 2014.

TESFAYE, D.; MENJIVAR, N.; GEBREMEDHN, S. Current knowledge and the future potential of extracellular vesicles in mammalian reproduction. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 34, n. 2, p. 174–189, 2021.

UZBEKOVA, S.; ALMIÑANA, C.; LABAS, V.; TEIXEIRA-GOMES, A.-P.; COMBES-SOIA, L.; TSIKIS, G.; et al. Protein cargo of extracellular vesicles from bovine follicular fluid and analysis of their origin from different ovarian cells. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, art. 584948, 2020.