

---

## In vitro maturation of bovine oocytes: The role of ROS, oxidative stress, and the impact of natural antioxidant supplementation

### Maturação *in vitro* de oócitos bovinos: O papel das EROs, estresse oxidativo e as suplementação com antioxidantes naturais

Received: 30-08-2024 | Accepted: 01-10-2024 | Published: 05-10-2024

---

#### **Mylena Martins Coelho-Vinhais**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1771-8153>

Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos - Universidade de Uberaba, Brasil  
E-mail: mylenamartins97@gmail.com

#### **Anderson Vinhais Alves Filho**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-2154-1718>

Médico Veterinário Autônomo, Brasil  
E-mail: andersonvinhais@gmail.com

#### **Isabel Rodrigues Rosado**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7819-4253>

Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos - Universidade de Uberaba, Brasil  
E-mail: isabel.rosado@uniube.br

#### **Joely Ferreira Figueiredo Bittar**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1813-9006>

Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos - Universidade de Uberaba, Brasil  
E-mail: joely.bittar@uniube.br

#### **Eustáquio Resende Bittar**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7176-9920>

Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos - Universidade de Uberaba, Brasil  
E-mail: eustaquio.bittar@uniube.br

#### **Endrigo Gabellini Leonel Alves**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8524-3949>

Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos - Universidade de Uberaba, Brasil  
E-mail: endrigoglalves@gmail.com

#### **Ian Martin**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6934-8257>

Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos - Universidade de Uberaba, Brasil  
E-mail: ian.martin@uniube.br

---

### ABSTRACT

According to available data in the literature, Brazil has one of the largest cattle herds in the world and is one of the leading embryo producers, with a clear predominance of embryos produced *in vitro*. These data influence the ongoing pursuit of optimizing the results obtained in IVEP (*in vitro* embryo production). In this technique, *in vitro* maturation (IVM) is such a crucial stage that it justifies studies involving components that, when added to the media, can lead to improved cleavage rates and blastocyst development. It is well known that oocyte quality is influenced by oxidative stress, and in this context, the inclusion of antioxidants in the IVM medium may enhance these outcomes. Thus, the present study aimed to review oocyte maturation, the impact of oxidative stress, and the addition of antioxidants, such as *Moringa oleifera*, to the IVM media.

**Keywords:** Reactive Oxygen Species; *In vitro* embryo production; Oocyte nuclear maturation; Oocyte cytoplasmic maturation; *Moringa oleifera*.

---

## RESUMO

De acordo com os dados disponíveis na literatura, o Brasil possui um dos maiores rebanhos bovinos do mundo e é um dos principais produtores de embrião, com uma clara predominância dos embriões produzidos *in vitro*. Tais dados influenciam a constante busca pela otimização dos resultados obtidos na PIVE (produção *in vitro* de embriões). Nesta técnica, a maturação *in vitro* (MIV) é uma etapa de tamanha relevância que justifica estudos com componentes que quando adicionados aos meios possam levar ao incremento na taxa de clivagem e na obtenção de blastocistos. Sabidamente a qualidade oocitária é influenciada pelo estresse oxidativo e, neste sentido, a inclusão de antioxidantes ao meio de MIV pode resultar em tal incremento. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo revisar a maturação oocitária, o impacto do estresse oxidativo e a adição de antioxidantes, como a *Moringa oleífera*, nos meios de MIV.

**Palavras-chave:** Espécies reativas ao oxigênio; produção *in vitro* de embriões; Maturação nuclear do oócito; Maturação citoplasmática do oócito; *Moringa oleífera*.

---

## INTRODUÇÃO

Em 1978, na Inglaterra, após o nascimento do primeiro bebê concebido por meio de fertilização *in vitro* (FIV), intensificaram-se as pesquisas para o desenvolvimento e aprimoramento de técnicas *in vitro*, voltadas para sua aplicação em bovinos (Stephoe & Edwards, 1978; Van Wagtendonk-de Leeuw, 2006).

Em 1981, nos Estados Unidos, nasceu o primeiro bezerro de FIV. Para este feito, os oócitos maduros foram cirurgicamente obtidos dos ovários ou ovidutos de vacas. Esses oócitos foram então fertilizados e cultivados *in vitro*, sendo posteriormente transferidos com sucesso. Esse marco representou avanços significativos, impulsionando pesquisas mais aprofundadas e contribuindo para notáveis progressos na área (Brackett et al., 1982).

No Brasil, marcos significativos na reprodução *in vitro* incluem o primeiro bezerro produzido *in vitro* pelo Laboratório de Reprodução Animal da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) em 1994 (Dode & Rumpf, 2002) e o estabelecimento do primeiro laboratório de produção *in vitro* de embriões (PIVE) em 1998 (Viana, 2008).

Durante as últimas décadas, o Brasil vivenciou um aumento notável no tamanho do rebanho bovino, sendo o segundo maior rebanho mundial de bovinos, contando com 234,3 milhões de cabeças (IBGE, 2022). A quantidade de animais e a importância dos mesmos para a economia do país exige uma grande demanda de biotecnologias reprodutivas e uma dessas biotecnologias em ascensão é a PIVE e, desde então, esta técnica tem experimentado uma crescente implementação por parte dos pecuaristas, tornando-se uma prática cada vez mais corriqueira na reprodução de bovinos (Varago et al., 2008; Ferré et al., 2020).

A PIVE possui potencial significativo para aprimorar consideravelmente o desempenho reprodutivo dos rebanhos bovinos, resultando na geração de animais zootecnicamente superiores. Além disso, contribui para acelerar o progresso genético e reduzir os intervalos entre as gerações (Varago et al., 2008; Baruselli et al., 2019; Magata et al., 2019). Tal tecnologia amadureceu a uma escala semelhante à observada na fertilização *in vitro* humana e é provável que persista e seja aprimorada no decorrer das próximas décadas (Sirard, 2018).

Conforme relatado pela Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (International Embryo Transfer Society - IETS, 2022), houve um notável aumento, de 25,6%, no número de embriões produzidos *in vitro* em escala global em comparação ao ano de 2020. O líder mundial em produção de embriões *in vitro* é os Estados Unidos, seguido pelo Brasil. Entretanto, vale ressaltar que os números do Brasil, provavelmente, são subestimados, uma vez que se nota uma diferença evidente entre o número de embriões reportados às associações de criadores e o número de embriões vendidos (IETS, 2022).

Para a realização da PIVE, é necessário a execução de quatro etapas, sendo elas: obtenção de oócitos, maturação *in vitro* (MIV), fecundação *in vitro* (FIV) e cultivo *in vitro* (CIV) (Varago et al., 2008, Maillo et al., 2016). A técnica predominante para a obtenção de oócitos é a aspiração dos folículos *in vivo*, conhecida como OPU (Ovum Pick Up). Em contrapartida, a punção folicular *post mortem*, realizada em ovários provenientes de animais de abatedouros ou de óbitos súbitos, é comumente empregada em casos de projetos de pesquisa ou em animais de alto valor genético (Ahumada et al., 2012).

Entre as etapas mencionada, destaca-se a MIV, considerada crucial, devido a uma série de modificações estruturais e bioquímicas que ocorrem no núcleo e no citoplasma do oócito. Esse processo torna o gameta feminino apto, influenciando diretamente na FIV e no subsequente desenvolvimento embrionário (CIV) (Ferreira et al., 2009).

A qualidade intrínseca do oócito é um dos principais fatores que impactam a eficiência embrionária. O oócito desempenha um papel crucial ao fornecer componentes essenciais para o desenvolvimento embrionário *in vitro*. Esses componentes são produzidos por meio de eventos moleculares que preparam o oócito, conferindo-lhe a capacidade de retomar a totipotência após a FIV (Rizos et al., 2002; Denicol & Siqueira, 2023).

Um dos fatores que pode afetar consideravelmente a qualidade oocitária é o estresse oxidativo, acarretando o baixo desempenho não apenas na MIV, mas também nas demais fases (Turrens, 2003; Catala et al., 2018; Lin & Wang, 2020; Soto-Hera & Paramio, 2020). O estresse oxidativo é ocasionado por condições que causam desequilíbrio entre a quantidades de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a capacidade antioxidante da célula, que pode surgir devido à exposição à luz, excesso de manipulação, falta de antioxidantes nos meios de cultura, variações na tensão de oxigênio, seja ela baixa ou alta, pH e temperatura, e a capacidade da célula de neutralizar o seu efeito (Guemra et al., 2013; Lin & Wang, 2020; Soto-Hera & Paramio, 2020).

Evidências favoráveis à suplementação com antioxidantes na PIVE estão se tornando cada vez mais prevalentes na literatura (Chen et al., 2018; Khan et al., 2018; Lee et al., 2019; Oliveria et al., 2022). Estudos experimentais têm elucidado os efeitos dos antioxidantes *in vitro*, permitindo a definição de suas concentrações e eficácia (Budani & Tiboni, 2020).

Considerando esse contexto, é de suma importância a condução de mais pesquisas que explorem o uso de antioxidantes, visando aprimorar a técnica e aumentar o sucesso dos procedimentos. Em particular, o uso de antioxidantes naturais tem ganhado destaque como uma abordagem promissora para atenuar os efeitos causadas pelas EROs. Essas alternativas são viáveis, de baixo custo e que têm demonstrado resultados promissores (Sovernigo et al., 2017; Santos et al., 2018; Santos et al., 2019; Oliveira et al., 2022).

Contudo, a aplicação efetiva de antioxidantes naturais enfrenta desafios significativos, que incluem a necessidade de resultados benéficos com comprovação de eficácia. A efetividade desses antioxidantes está intrinsecamente ligada à capacidade de atenuar as EROs, sendo influenciada por fatores como a determinação da concentração apropriada, a obtenção do extrato, bem como a origem da planta e sua composição de acordo com a estação (Santos et al., 2018). Esses fatores tornam a reprodução consistente dos resultados mais complexa.

A vitamina C e diversas outras substâncias naturais apresentam potencial para desempenhar o papel de antioxidantes em meios de maturação. Um exemplo é a *Moringa oleífera*, uma planta originária da Índia (Leone et al., 2016). Esta planta é reconhecida por possuir diversas substâncias farmacológicas valiosas, tais como propriedades antidiabéticas, anti-inflamatórias, antimicrobianas, antioxidantes, cicatrizantes, entre outras (Paikra et al., 2017; Sovernigo et al., 2017).

Devido às suas abrangentes propriedades benéficas, a *Moringa oleífera* tem sido alvo de crescente investigação, destacando-se pelo seu potencial como uma fonte natural de antioxidantes (Sharma et al., 2011; Leone et al., 2016; Sultana et al., 2020). A notável atividade antioxidante dessa planta é atribuída à presença de flavonoides e compostos fenólicos em suas folhas, os quais demonstram a capacidade de neutralizar eficazmente os radicais livres gerados durante o estresse oxidativo (Liu et al., 2018).

Diante desse cenário, a realização de estudos que explorem o emprego da *Moringa oleífera* em ambientes de MIV, com foco na redução das EROs e na melhoria na etapa de MIV da PIVE de bovinos, torna-se de suma importância. Isso se justifica pela escassez de pesquisas que abordem os reais efeitos do extrato de *Moringa oleífera* em experimentos realizados *in vitro* na área de biotecnologia reprodutiva animal.

## OBJETIVO

Este estudo teve como objetivo revisar a literatura no que diz respeito a maturação *in vitro* (MIV) de oócitos bovinos, bem como o impacto das espécies reativas de oxigênio (EROs) que podem estar presentes no decorrer da produção *in vitro* de embriões bovinos e, por fim, compreender como a utilização de antioxidantes naturais em meios MIV podem reduzir os efeitos deletérios dos EROs.

## REVISÃO DE LITERATURA

### MATURAÇÃO OOCITÁRIA

O processo de maturação dos oócitos permite que as células adquiram gradualmente a capacidade intrínseca de avançar em seu desenvolvimento (Ferreira et al., 2009). Esse processo é conhecido por envolver mecanismos complexos, que abrangem tanto o núcleo quanto o citoplasma, demandando uma sincronização no decorrer da maturação (Shu et al., 2008).

### MATURAÇÃO NUCLEAR

A maturação nuclear envolve uma série de eventos e bloqueios cruciais que ocorrem durante a meiose. Inicialmente, *in vivo*, ocorre a retomada da meiose a partir do estágio de diplóteno pelo estímulo gonadotrófico, em que há a condensação cromossômica e a quebra da vesícula germinativa (QVG), marcando a reversão do primeiro bloqueio meiótico. Conforme o oócito avança pelas diferentes etapas da divisão celular, metáfase I (MI), anáfase I (AI), telófase I (TI), ele alcança a metáfase II (MII),

quando ocorre o segundo bloqueio meiótico. Em síntese, a maturação nuclear é caracterizada pela reversão do primeiro bloqueio meiótico, que corresponde desde o estágio de vesícula germinativa (VG) até o segundo bloqueio na metáfase II (MII) (Kubelka et al, 2000; Trounson et al., 2001).

## MATURAÇÃO CITOPLASMÁTICA

A maturação citoplasmática compreende uma gama de processos e alterações necessárias para que o oócito torne-se apto para fecundação e mantenha um posterior desenvolvimento embrionário inicial (Anguita et al., 2007; Watson, 2007). Durante esses processos, ocorrem mudanças ultraestruturais e moleculares, que vão do estágio de VG até o fim da MII (Landim- Alvarenga & Maziero, 2014). Essas mudanças incluem, o acúmulo de proteínas e RNA, desenvolvimento de mecanismos reguladores de cálcio, redistribuição de organelas, entre outros (Krisher, 2004; Anguita et al., 2007).

Além disso, existem alguns parâmetros indiretos que podem ser considerados na avaliação da maturação citoplasmática. Por exemplo, um oócito maduro que demonstra capacidade de clivagem e desenvolvimento em blastocisto após fertilização ou ativação partenogênética é indicativo de um citoplasma maduro (Landim- Alvarenga & Maziero, 2014). Outros parâmetros indiretos incluem a expansão das células do *cumulus oophorus* (CCO's) e a extrusão do primeiro corpúsculo polar (CP) (Kruip et al., 1983).

No que compreende as modificações ultraestruturais, observa-se uma reorganização das organelas citoplasmáticas. Essa reestruturação ocorre por meio dos microtúbulos e microfilamentos do citoesqueleto, e o reposicionamento de cada organela é determinado pela necessidade da célula ao longo de cada estágio de desenvolvimento. Como resultado, mitocôndrias, grânulos corticais, retículo endoplasmático, complexo de golgi e ribossomos adotam diferentes posições em relação às observadas no momento em que a célula se encontra em VG (Hyttel et al., 1986; Fair et al., 1995; Dumollard et al., 2007).

As mitocôndrias, por exemplo, inicialmente localizadas na periferia do oócito imaturo, movem-se para uma distribuição mais dispersa por todo o citoplasma. Estas desempenham um papel de suma importância no desenvolvimento dos oócitos, fornecendo energia na forma de ATP durante a maturação. Tanto a quantidade quanto a capacidade funcional dessas organelas são fatores cruciais para a fertilização e para o desenvolvimento embrionário (Hyttel et al., 1986; Santos et al., 2006; Blerkom, 2011).

O ATP sintetizado pelas mitocôndrias é essencial na síntese e fosforilação de proteína, sendo indispensável para a maturação citoplasmática, visto que impulsiona todos os processos que demandam energia, regula o tempo do ciclo celular e influencia a aquisição de competência de desenvolvimento. Em outras palavras, oócitos com baixa competência de desenvolvimento demonstram redução do metabolismo energético, resultando em atrasos fisiológicos no desenvolvimento subsequente. Consequentemente, embriões com menos ATP no citoplasma desenvolvem-se mais lentamente e com menor número de células (Liu et al., 2000; Ge et al., 2012; Lee et al., 2014; Leoni et al., 2015).

No que diz respeito ao processo de maturação molecular, engloba várias etapas, incluindo a transcrição, armazenamento e processamento de RNAm (ácido ribonucleico mensageiro). Este processo culmina na síntese de proteínas pelos ribossomos que são essenciais para a maturação citoplasmática molecular. As proteínas produzidas desempenham papéis importantes na maturação, fertilização, formação dos pró- núcleos e desenvolvimento embrionário inicial (Fulka et al., 1998., Tomek et al., 2002; Tripathi et al., 2010).

Sabe-se que a maior parte do RNAm presente no oócito é produzida e armazenada no decorrer da foliculogênese. Quando a meiose é retomada, os cromossomos se tornam condensados e inativos. Portanto, até que ocorra a ativação da transcrição do DNA do embrião, a maturação do oócito, o zigoto e embriões com menos de 16 células dependem do RNAm e das reservas de proteínas armazenadas (Lonergan et al, 1997; Gandolfi & Gandolfi, 2001; Sirard et al., 2006).

### **ACÇÕES DE OXIDAÇÃO-REDUÇÃO (REDOX), PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (EROS) E ESTRESSE OXIDATIVO (EO)**

As reações de oxidação-redução (redox) desempenham papéis benéficos e essenciais em diversos processos biológicos, incluindo a regulação da homeostase oxidativa, por meio da perda (oxidação) e do ganho (redução) de elétrons. Além de atuarem como sinalizadores celulares, em processos reprodutivos, por exemplo, as redox também podem agir como agentes oxidantes potencialmente prejudiciais (Barros et al., 2019; Aitken, 2020).

Durante o metabolismo celular, são gerados radicais livres como subproduto do metabolismo aeróbico, resultando na liberação de pró-oxidantes, como as espécies reativas de oxigênio (EROs). Estas incluem ânions superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), radicais hidroxila ( $\cdot OH$ ) e peróxidos de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), entre outros. Embora o  $H_2O_2$  não seja

tecnicamente um radical livre, uma vez que não possui elétrons desemparelhados, ainda é considerado uma EROs (Agarwal et al., 2005; Wang et al., 2017).

As EROs desempenham papéis em vias complexas de sinalização envolvidas em diversas funções celulares e são encontradas em equilíbrio nas células em condições fisiológicas normais. Muitas das respostas mediadas pelas EROs atuam protegendo as células contra o estresse oxidativo e auxiliando no equilíbrio redox. Em níveis baixos, sua produção é até mesmo considerada de suma importância, visto que possuem funções no ambiente folicular, na maturação dos oócitos, agem como mediadoras no processo de fertilização e contribuem para o desenvolvimento embrionário inicial (Sabatini et al., 1999; Dröge, 2002; Romek et al; 2017; Sovernigo et al., 2017; Lin & Wang, 2020).

Quando ocorre a superprodução de EROs em células, fluidos ou tecidos, há um desequilíbrio que ultrapassa a capacidade dos mecanismos antioxidantes intrínsecos de proteção e regulação, acarretando em um processo conhecido como estresse oxidativo. Sendo assim, o estresse oxidativo é desencadeado por moléculas ou compostos que oxidam substratos biológicos, levando à geração e superprodução de EROs, altamente danosas para a célula (Aitken, 2020).

O estresse oxidativo promove uma série de reações em várias moléculas, resultando em peroxidação lipídica, ruptura das membranas celulares, agregação e degradação de proteínas, além de danos ao DNA. Essas reações desencadeiam uma cascata de eventos que, por fim, levam à morte celular (Sovernigo et al, 2017; Catala et al., 2018).

Na PIVE, o estresse oxidativo representa um desafio significativo. Ele pode originar-se tanto de EROs endógenas, geradas pelo metabolismo celular normal, quanto de fontes exógenas, incluindo alta concentração de oxigênio ( $O_2$ ), exposição à luz, variações de temperatura, pH, suplementos adicionados aos meios de cultura, manipulação dos oócitos, procedimentos de criopreservação e outros parâmetros físico-químicos que afetam o metabolismo celular como um todo (Turrens, 2003; Das et al., 2006; Lin & Wang, 2020).

Uma das principais fontes endógenas de estresse oxidativo decorre da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial. As mitocôndrias são organelas vitais que produzem trifosfato de adenosina (ATP) por meio de fosforilação oxidativa (OXPHOS). Durante esse processo, o piruvato e os ácidos graxos são oxidados pela cadeia de transporte de elétrons, levando à perda de elétrons que reagem diretamente com o oxigênio., formando ânions superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), que serve como precursor para outras EROs e na propagação



das reações da cadeia oxidativa, que induzem o estresse oxidativo. O desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes interrompe a sinalização redox, ou seja, com o desequilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade da célula de neutralizá-las com antioxidantes, ocorre o estresse oxidativo, culminando em danos nos componentes celulares como lipídios, proteínas e DNA, como citado anteriormente (Turrens, 2003; Dumollard et al, 2007; Sies, 2015; Almansa-Ordonez et al., 2020).

Durante a maturação dos oócitos, a oxidação do piruvato para geração de ATP é acompanhada pela captação de O<sub>2</sub> e, conseqüentemente, pela produção de EROs. Em concentrações elevadas, essas EROs desencadeiam a desestabilização do fator promotor da fase M (MPF) e a redução dos fatores promotores de sobrevivência, resultando na apoptose mediada pela mitocôndria (Harris et al., 2009, Matos et al., 2009; Blerkom, 2011).

À vista disso, para assegurar a qualidade da produção *in vitro* de embriões (PIVE), é essencial que ocorra a homeostase oxidativa. Esse equilíbrio redox é considerado um fator crucial para o bom desempenho do processo e pode ser promovido por meio da adição de antioxidantes aos meios de MIV (Eini et al., 2018; Lin & Wang, 2020; Soto-Heras & Paramio, 2020).

### **EFEITO DA ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTES EM MEIOS DE CULTIVO *IN VITRO***

Os antioxidantes atuam como “defensores” contra as EROs, neutralizando-as ou reduzindo sua produção, tornando-as inofensivas. Eles funcionam como agentes de manutenção redox, essenciais para minimizar os danos causados pelo estresse oxidativo. Uma diversidade de antioxidantes pode ser adicionada aos meios de cultivo *in vitro* com intuito de reduzir esses danos (Goto et al., 1993; Sovernigo et al., 2017; Lee et al., 2019; Almubarak et al., 2023).

Os antioxidantes podem ser classificados em várias categorias. Entre os naturais endógenos enzimáticos estão a catalase (CAT), a glutathione peroxidase e a superóxido dismutase (SOD). Os naturais endógenos não enzimáticos incluem a glutathione, a melatonina e a ferritina, por exemplo. Já os antioxidantes naturais exógenos abrangem vitaminas, aminoácidos, carotenoides, ácidos graxos, polifenóis, dissacarídeos, entre outros. Além desses, existem os antioxidantes sintéticos, como a butil-hidroxitolueno (BHT), o propil galato, os tocoferóis e o ácido ascórbico (vitamina C). Esses compostos sintéticos são amplamente utilizados devido à sua eficácia e custo-benefício. No entanto, o uso excessivo está correlacionado à potenciais riscos à saúde, o que tem gerado em uma

crescente demanda por alternativas naturais (Goto et al., 1993; Sovernigo et al., 2017; Lee et al., 2019; Rasheed & Azeez, 2019; Almubarak et al., 2023).

Na PIVE, a adição de antioxidantes aos meios de cultura atenua os impactos negativos das EROs nos oócitos durante a MIV e contribui para a melhoria do desempenho nas etapas seguintes (Rodrigues-Cunha et al., 2016; Eini et al., 2018; Santos et al., 2019).

Dentre os antioxidantes empregados em meios de cultivo, a vitamina C destaca-se pelos efeitos benéficos e custo-benefício em meios de MIV. Sua estrutura química permite que atue como doadora de elétrons, funcionando como agente redutor. Essa ação catalítica não apenas reduz, mas também neutraliza as EROS devido ao seu alto teor antioxidante e papel como cofator enzimático, desempenhando um papel crucial na proteção contra danos oxidativos (Wang et al., 2002; Belin et al., 2010; Khazaei & Aghaz, 2017).

Além da vitamina C, outros compostos antioxidantes exógenos, especialmente polifenóis como resveratrol, cisteamina, kaempferol, *Syzygium Aromatum*, quercetina, por exemplo, também demonstram eficácia. Esses antioxidantes têm a capacidade de transferir elétrons e radicais de hidrogênio, contribuindo para a proteção antioxidante nos processos de MIV (Wang et al., 2014; Sovernigo et al., 2017; Piras et al., 2018; Oliveira et al., 2022; Zhao et al., 2022). A vitamina C, particularmente, pode ser utilizada tanto em sua forma natural quanto sintética.

Estudos indicam que os antioxidantes naturais tendem a apresentar menores efeitos colaterais em comparação aos sintéticos, graças à maior estabilidade das estruturas moleculares e menor produção de resíduos tóxicos. Essas características são associadas a melhorias nas taxas de maturação, fertilização e formação de blastocistos (Dalvit et al., 2005; Chowdhury et al., 2017; Budani & Tiboni, 2020; Cajas et al., 2020; Aquino et al., 2023; Davoodian et al., 2024).

Um exemplo promissor de um antioxidante exógeno natural é aquele obtido a partir da planta *Moringa oleifera*. Esta foi amplamente estudada por suas propriedades nutricionais e medicinais, pois é rica em compostos antioxidantes, demonstrando benefícios significativos em contextos experimentais (Leone et al., 2015; Vats & Gupta, 2017).

### *Moringa oleífera*

A *Moringa oleífera* (*M. oleífera*), uma árvore nativa da Índia e pertencente à família moringácea, tem ganhado destaque global devido à sua excepcional capacidade de adaptação a ambientes áridos, tropicais e subtropicais. Amplamente distribuída em regiões como América Central, do Norte e do Sul, Nepal, África, Filipinas, essa planta não apenas sobrevive, mas prospera, oferecendo uma abundante fonte de nutrientes essenciais. Suas diversas partes, incluindo folhas, sementes e raízes, são utilizadas há séculos não só como alimento, mas também por suas propriedades medicinais (Leone et al., 2016; Alegbeleye, 2018).

Os nutrientes essenciais dessa planta incluem zinco, magnésio, potássio, cálcio, ferro, enxofre, manganês, cobre (Valdez-Solana et al., 2015). Com o passar dos anos, seu uso tem se intensificado em virtude das suas propriedades antibacterianas, antioxidantes, anti-inflamatórias, antifúngicas, anticarcinogênicas, antidiabéticas, dentre outras (Sugunabai et al., 2014; Aboulthana et al., 2021; Lalan et al., 2023; Segwatibe et al., 2023; Yang et al., 2023).

Todas as partes da *M. oleífera* são aproveitáveis para fins nutricionais e medicinais. As folhas, especialmente, destacam-se como uma fonte rica de carboidratos, ácidos graxos, vitaminas A, B, C, D e E, além de polifenóis como compostos fenólicos e flavonóides, taninos, saponinas, alcaloides, aminoácidos e minerais variados. Esses componentes permitem desempenhar um papel de suma importância na síntese e metabolismo enzimático, além de possuírem forte ação antioxidante (Tsfay et al., 2011; Leone et al., 2016; Liu et al., 2018).

Além disso, as vitaminas A ( $\beta$ - caroteno), C e E ( $\alpha$ - tocoferol) são particularmente importantes no processo reprodutivo e na proteção antioxidante. Enquanto a vitamina A é essencial para proliferação celular e desenvolvimento embrionário, a vitamina C protege as membranas celulares e a vitamina E atua como antioxidante não enzimático, estabilizando o estado redox e mitigando a produção de EROs (Vergara-Jimenez et al., 2017; Tiloke et al., 2018; Ajantha et al., 2018).

Os flavonoides presentes na *M. oleífera*, como quercetina, kaempferol, zeatina, catequina, isotiocianatos, rutina, sitosterol, campesterol, miricetina, contribuem significativamente para a prevenção de danos causados pelas EROs, atuando como doadores de átomos de hidrogênio e neutralizando os radicais livres (Procházková et al., 2011; Saini, et al., 2016; Vats & Gupta, 2017; Pollini et al., 2020).

A presença de compostos fenólicos na *Moringa oleífera* confere-lhe uma notável atividade antioxidante, estabilizando os radicais livres gerados pelas células por meio de doação e recebimento de elétrons, atuando assim como potentes moléculas antioxidantes. Esta ação é fundamental para neutralização dos radicais livres, protegendo as células contra os danos oxidativos (Wang et al., 2017; Rani et al., 2018).

## CONCLUSÕES

Conclui-se que a produção de EROs durante o metabolismo celular ocorre de forma fisiológica e que em condições normais estes são combatidos pelos antioxidantes produzidos intrinsecamente pela célula, além disso, a produção de EROs em baixos níveis é considerada benéfica. Contudo, o aumento exacerbado na produção de EROs de forma que não possam ser combatidos pelos antioxidantes intrínsecos à célula, podem ocasionar danos celulares e acarretar atrasos ou falhas na maturação nuclear e/ou citoplasmática de oócitos durante a maturação *in vitro*. Neste sentido, o uso de antioxidantes é essencial para o incremento do processo de MIV, principalmente aqueles naturais, como a *Moringa oleífera*, que tendem a apresentar menores efeitos colaterais em comparação aos sintéticos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPEMIG (PIBIC, PAPG e APQ 01203-23), PIBIC-CNPq, CAPES-Prosup, CAPES-PDPG 3/4 e PAPE-Uniube pelo auxílio financeiro que torna os nossos estudos possíveis.

## REFERÊNCIAS

Aboulthana, WM; Shousha, WG; Essawy, EAR; Saleh, MH; Salama, AH. Assessment of the anti-cancer efficiency of silver *Moringa oleífera* leaves nano-extract against colon cancer induced chemically in rats. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v.22, p. 3267-3286, 2021.

Aitken, RJ. Impact of oxidative stress on male and female germ cells: implications for fertility. **Reproduction**, v.159, p. 189-201, 2020.

Agarwal, A. Oxidative stress and its implications in female infertility- a clinician's perspective. **Reproductive BioMedicine Online**, v.11, n.5, p. 641-650, 2005.

Ahumada, CJ; Salvador, I; Cebrian-Serrano, A; Lopera, R; Silvestre, MA. Effect of supplementation of different growth factors in embryo culture medium with a small

number of bovine embryos on *in vitro* embryo development and quality. **Animal**, v.7, n.3, p. 455-462, 2012.

Ajantha, A; Kathirvelan, C; Purushothaman, MR; Visha P. Study on nutrients, mineral and vitamin profile of *Moringa oleifera* leaf meal. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.7, n. 5, 2018.

Alegbeleye, OO. How functional in *Moringa oleifera*? A review of its nutritive, medicinal, and socioeconomic potential. **Food and Nutrition Bulletin**, v.39, n.1, 149-170, 2018.

Almansa-Ordonez, A; Bellido, R; Vanessa, R; Barragan, M; Zambelli, F. Oxidative stress in reproduction: a mitochondrial perspective. **Biology**, v.269, p. 1-22, 2020.

Almubarak, A; Yu, IJ; Jeon, Y. Antioxidants as alleviating agents of *in vitro* embryo production oxidative stress. **Journal of Animal Reproduction and Biotechnology**, v.38, p. 47-53, 2023.

Anguita, B; Jimenez-Macedo, AR; Izquierdo, D; Mogas, T; Paramio, MT. Effect of oocyte diameter on meiotic competence, embryo development, p34 (cdc2) expression and MPF activity in prepubertal goat oocytes. **Theriogenology**, v.67, p.526-536, 2007.

Aquino, LVA; Santos, MVO; Oliveira, LRM; Moura, YBF; Nascimento, TL; Bertini, LM; Pereira, AF. Antioxidant effects of *Citrus sinensis* peel essential oil in a bovine oocyte model. **Livestock Science**, v.276, 105324, 2023.

Barros, FDA; Adona, PR; Guemra, S; Damião, BCM. Oxidative homeostasis in oocytes competence for *in vitro* embryo development. **Animal Science Journal**, v.90, p. 1343-1349, 2019.

Baruselli, PS; Catussi, BLC; Abreu, LA; Elliff, FM; Silva, LG; Batista, EOS. Challenges to increase the AI and ET markets Brazil. **Proceedings of the 33<sup>rd</sup> Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE)**, p. 1-12, 2019.

Belin, S; Kaya, F; Burtey, S; Fontes, M. Ascorbic acid and gene expression: another example of regulation of gene expression by small molecules. **Current Genomics**, v.11, p. 52-57, 2010.

Blerkom, JV. Mitochondrial function in the human oocyte and embryo and their role in developmental competence. **Mitochondrion**, v.11, p. 797-813, 2011.

Brackett, BG; Bousquet, D; Boice, ML; Donawick, WJ; Evans, JF; Dressel, MA. Normal development following *in vitro* fertilization in the cow. **Biology of Reproduction**, v.27, p. 147-158, 1982.

Budani, MC; Tiboni, GM. Effects of supplementation with natural antioxidants on oocyte and preimplantation embryos. **Antioxidants**, v.9, n. 612, p. 1-25, 2020.

Cajas, YN; Beltrán, KC; Guevara, ML; Blanca, MGM; Ramos-Ibeas, P; Gutiérrez-Adán, A; Rizos, D; González, EM. Antioxidant nobiletin enhances oocytes maturation and

subsequent embryo development and quality. **International Journal of Molecular Sciences**, v.21, p. 1-18, 2020.

Catala, MG; Roura, M; Soto-Heras, S; Menéndez, I; Contreras-Solis, I; Paramio, MT; Izquierdo. Effect of season on intrafollicular fatty acid concentrations and embryo production after *in vitro* fertilization and parthenogenic activation of prepubertal goat oocytes. **Small Ruminant Research**, v.168, p. 82-86, 2018.

Chen, X; Xuan, B; Xu, D; Wang, Q; Cheng, M; Jin, Y. Crocin supplementation during oocyte maturation enhances antioxidant defence and subsequent cleavage rate. **Reproduction in Domestic Animals**, v.54, p. 300-308, 2019.

Chowdhury, MMR; Choi, BH; Khan, I; Lee, KL; Mesalam, A; Song, SH; Xu, L; Joo, MD; Afrin, F; Kong, IK. Supplementation of lycopene in maturation media improves bovine embryo quality *in vitro*. **Theriogenology**, v.103, p. 173-184, 2017.

Dalvit, G; Lllanes, SP; Descalzo, A; Insani, M; Beconi, M; Cetica, P. Effect of alpha-tocopherol and ascorbic acid on bovine oocyte *in vitro* maturation. **Reproduction in Domestic Animals**, v.40, p. 93-97, 2005.

Das, S; Chattopadhyay, R; Ghosh, S; Gosh, S; Goswami, SK; Chakravarty, BN; Chaudhury, K. Reactive oxygen species level in follicular fluid- embryo quality marker in IVF? **Human Reproduction**, v.21, n.9, p. 2403-2407, 2006.

Davoodian, N; Kadivar, A; Mehrban, H. Supplementation of media with gamma-oryzanol as a novel antioxidant to overcome redox imbalance during bovine oocyte maturation *in vitro*. **Reproduction in Domestic Animals**, v.59, n.1, e14503, 2024.

Denicol, AC; Siqueira, LGB. Maternal contributions to pregnancy success: from gamete quality to uterine environment. **Animal Reproduction**, v.20, n.2, p. 1-16, 2023.

Dode, MAN; Rumpf, R. Produção *in vitro* de embriões- eficiência, limitações e perspectivas futuras: visão da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. In: Anais do *Workshop* sobre embriões bovinos produzidos *in vitro*: perspectivas de utilização e possíveis impactos na pecuária brasileira. **Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento**. p. 13-26, 2002.

Dröge, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **American Physiological Society**, v.82, p. 47-95, 2002.

Dumollard, R; Duchen, M; Carroll, J. The role of mitochondrial function in the oocyte and embryo. **Current Topics in Developmental Biology**, v.77, p. 21-48, 2007.

Eini, F; Bidadkosh, A; Nazarian, H; Piryaeei, A; Novin, MG; Joharchi, K. Thymoquinone reduces intracytoplasmic oxidative stress and improves epigenetic modification in polycystic ovary syndrome mice oocytes, during *in vitro* maturation. **Molecular Reproduction & Development**, p. 1-14, 2019.

Fair, T; Hyttel, P; Greve, T. Bovine oocyte diameter in relation to maturational competence and transcriptional activity. **Molecular Reproduction and Development**, v.42, p. 437-442, 1995.

Ferré, LB, Kjelland, ME; Strobeck, LB; Hyttel, P; Mermillod, P; Ross, PJ. Review: Recent advances in bovine *in vitro* embryo production: reproductive biotechnology history and methods. **Animal**, v.14, n.5, 2020.

Ferreira, EM; Vireque, AA; Adona, PR; Meirelles, FV; Ferriani, RA; Navarro, PAAS. Cytoplasmic maturation of bovine oocytes: Structural and biochemical modification and acquisition of developmental competence. **Theriogenology**, v.71, p. 836-848, 2009.

Fulka Jr, J; First, NL; Moor, RM. Nuclear and cytoplasmic determinants involved in the regulation of mammalian oocyte maturation. **Molecular Human Reproduction**, v.4, n.1, p. 41-48, 1998.

Gandolfi, BTAL; Gandolfi, F. The maternal legacy to the embryo: Cytoplasmic components and their effects on early development. **Theriogenology**, v.55, p. 1255-1276, 2001.

Ge, H; Tollner, TL; Hu, Z; Dai, M; Li, X; Guan, H; Shan, D; Zhang, X; LV, J; Huang, C; Dong, Q. The importance of mitochondrial metabolic activity and mitochondrial DNA replication during oocyte maturation *in vitro* on oocyte quality and subsequent embryo developmental competence. **Molecular Reproduction & Development**, v.79, p. 392-401, 2012.

Goto, Y; Noda, Y; Mori, T; Nakano, M. Increased generation of reactive oxygen species in embryos cultured *in vitro*. **Free Radical Biology & Medicine**, v.15, p. 69-75, 1993.

Guemra, S; Monzani, PS; Santos, ES; Zanin, R; Ohashi, OM; Miranda, MS; Adona, PR. Maturação *in vitro* de oócitos bovinos em meios suplementados com quercetina e seu efeito sobre o desenvolvimento embrionário. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.6, p. 1616-1624, 2013.

Harris, SE; Leese, HJ; Gosden, RG; Picton, HM. Pyruvate and oxygen consumption throughout the growth and development of murine oocytes. **Molecular Reproduction & Development**, v.76, p. 231-238, 2009.

Hyttel, P; Xu, KP; Smith, S; Greve, T. Ultrastructure of *in vitro* oocyte maturation in cattle. **Journals of Reproduction & Fertility**, v.78, 615-625, 1986.

IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Rebanho de Bovinos (Bois e Vacas)**. Rio de Janeiro: IBGE, 2022.

IETS. 2021 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. In: **Embryo Technology Newsletter**, v.40, n.4, p. 01-19, 2022.

Khan, I; Chowdhury, MMR; Song, SH; Mesalam, A; Zhang, S; Khalil, AAK; Jung, EH; Kim, JB; Jafri, L; Mirza, B; Kong, IK. Lupeol supplementation improves the

developmental competence of bovine embryos *in vitro*. **Theriogenology**, v.107, p. 203-210, 2018.

Khazaei, M; Aghaz, F. Reactive oxygen species generation and use of antioxidants during *in vitro* maturation of oocytes. **International Journal of Fertility and Sterility**, v.11, n.2, p. 63-70, 2017.

Krisher, RL. The effect of oocyte quality on development. **Journal of Animal Science**, v.82, p. 14-23, 2004.

Kruip, TAM; Cran, DG; Beneden, TH; Dieleman, SJ. Structural changes in bovine oocytes during final maturation *in vitro*. **Gamete Research**, v.8, p. 29-47, 1983.

Kubelka, M; Motlík, J; Schultz, RM; Pavlok, A. Butyrolactone I reversibly inhibits meiotic maturation of bovine oocytes, without influencing chromosome condensation activity. **Biology of Reproduction**, v.62, p. 292-302, 2000.

Lalan, G; Thirumal, M; Ankul, SS; Anant, N. Phytochemical screening and *in vitro* evaluation of antibacterial antioxidant properties of *Moringa oleifera* linn leaf extract. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v.16, p. 4512-4518, 2023.

Landim-Alvarenga, FC, Maziero, RRD. Control of oocyte maturation. **Animal Reproduction**, v.11, n.3, p.150-158, 2014.

Lee, Y; Shim, J; Ko, N; Kim, HJ; Park, JK; Kwak, K; Kim, H; Choi, K. Effect of alanine supplementation during *in vitro* maturation on oocyte maturation and embryonic development after parthenogenesis and somatic cell nuclear transfer in pigs. **Theriogenology**, v.127, p. 80-87, 2019.

Leone, A; Spada, A; Battezzati, A; Schiraldi, A; Aristil, J; Bertoli, S. Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: An overview. **International Journal of Molecular Sciences**, v.16, p. 12791-12835, 2015.

Leone, A; Spada, A; Battezzati, A; Schiraldi, A; Aristil, J; Bertoli, S. *Moringa oleifera* seeds and oil: Characteristics and uses for human health. **International Journal of Molecular Sciences**, v.17, p. 1-14, 2016.

Leoni, GG; Palmerini, MG; Satta, V; Succu, S; Pasciu, V; Zinellu, A; Carru, C; Macchiarelli, G; Nottola, AS; Naitana, Salvatore; Berlinguer, F. Differences in the kinetic of the first meiotic division and active mitochondrial distribution between prepubertal and adult oocytes mirror differences in their developmental competence in a sheep. **PLoS ONE**, v.10, n.4, p. 1-5, 2015.

Lin, J; Wang, L. Oxidative stress in oocyte and embryo development: implications for *in vitro* systems. **Antioxidants and Redox Signaling**, p. 1-38, 2020.

Liu, L; Trimarchi, JR; Keefe, DL. Involvement of mitochondria in oxidative stress-induced cell death in mouse zygotes. **Biology of Reproduction**, v.62, p. 1745-17553, 2000.



Liu, Y; Wang, X; Wei, X; Gao, Z. Values, properties and utility of different parts of *Moringa oleifera*: an overview. **Chinese Herbal Medicines**, v.10, p. 371-378, 2018.

Lonergan, P; Khatir, H; Carolan, C; Mermillod, P. Bovine blastocyst production *in vitro* after inhibition of oocyte meiotic resumption for 24h. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.109, p. 355-365, 197.

Magata, F; Ideta, A; Okubo, H; Matsuda, F; Urakawa, M; Oono, Y. Growth potential of bovine embryos presenting abnormal cleavage observed through time lapse cinematography. **Theriogenology**, v.133, p. 119-124, 2019.

Maillo, V; Lopera-Vasquez, R; Hamdi, M; Gutierrez-Adan, A; Lonergan, P; Rizos, D. Maternal-embryo interaction in the bovine oviduct: Evidence from *in vivo* and *in vitro* studies. **Theriogenology**, v.86, p. 443-450, 2016.

Matos, L; Stevenson, D; Gomes, F; Silva-Carvalho, JL; Almeida, H. Superoxide dismutase expression. In human cumulus oophorus cells. **Molecular Human Reproduction**, v.15, n.7, p. 411-419, 2009.

Oliveira, LRM; Aquino, LVC; Santos, MVO; Freitas, VJF; Bertini, LM; Pereira, A. Antioxidant effect of bioactive compounds isolated from *Syzygium aromaticum* essential oil on the *in vitro* developmental potential of bovine oocytes. **Livestock Science**, v.260, 104932, 2022.

Paikra, BK; Dhongade, HKJ; Gidwani, B. Phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* Lam. **Journal of Pharmacopuncture**, v.20, n.3, p. 194-200, 2017.

Piras, AR; Menéndez-Blanco, I; Soto-Heras, S; Catalá, MG; Izquierdo, D; Bogliolo, L; Paramio, MT. Resveratrol supplementation during *in vitro* maturation improves embryos development of prepubertal goat oocytes selected by brilliant cresyl blue staining. **Journal of Reproduction and Development**, v.65, n.2, p. 113-120, 2019.

Pollini, L; Tringaniello, C; Ianni, F; Blasi, F; Manes, J; Cossignani, L. Impact of ultrasound extraction parameters on the antioxidant properties of *Moringa oleifera* leaves. **Antioxidants**, v.277, n.9, p. 1-14, 2020.

Procházková, D; Bousová, I; Wilhelmová, N. Antioxidants and prooxidant properties of flavonoids. **Fitoterapia**, v.82, p. 513-523, 2011.

Rani, NZA; Husain, K; Kumolosasi, E. Moringa Genus: A review of phytochemistry and Pharmacology. **Frontiers in Pharmacology**, p. 1-26, 2018.

Rasheed, A; Azeez, RFA. Chapter- A review on natural antioxidants. **Traditional and Complementary Medicine**, p. 1-24, 2019.

Rizos, D; Ward, F; Duffy, P; Boland, MP; Lonergan, P. Consequences of bovine oocyte maturation, fertilization or early embryo development *in vitro* versus *in vivo*: Implications for blastocyst yield and blastocyst quality. **Molecular Reproduction and Development**, v.61, p. 234-248, 2002.

Rodrigues-Cunha, MC; Mesquita, LG; Bressan, F; Collado, M; Balieiro, JCC; Schwarz, KRL; Castro, FC; Watanabe, OY; Watanabe, YF. Effects of melatonin during IVM in defined medium on oocyte meiosis, oxidative stress, and subsequent embryo development. **Theriogenology**, v.86, n.7, p. 1685-1694, 2016.

Romek, M; Gajda, B; Krzystofowicz, E; Kucia, M; Uzarowska, A; Smorag, Z. Improved quality of porcine embryos cultures with hyaluronan due to the modification of the mitochondrial membrane potential and reactive oxygen species level. **Theriogenology**, v.102, p. 1-9, 2017.

Sabatini, L; Wilson, C; Lower, A; Al-Shawaf, T; Grudzinskas, G. Superoxide dismutase activity in human follicular fluid after controlled ovarian hyperstimulation in women undergoing *in vitro* fertilization. **Fertility and Sterility**, v.72, n.6, p. 1027-1034, 1999.

Saini, KR; Sivanesan, I; Keum, YS. Phytochemicals of *Moringa oleifera*: A review of their nutritional, therapeutic and industrial significance. **3 Biotech**, v.203, n.6, p. 1-14, 2016.

Santos, TA; Shourbagy, SE; John, JCS. Mitochondrial content reflects oocyte variability and fertilization outcome. **Fertility and Sterility**, v.85, n.3, p. 1-8, 2006.

Santos, MVO; Borges, AA; Queiroz Neta, LB; Bertini, LM; Pereira, AF. Use of natural antioxidants in *in vitro* mammalian embryo production. **Semina: Ciências Agrárias**, v.39, n.1, p. 431-443, 2018.

Santos, MVO, Nascimento, LE; Praxedes, EA; Borges, AA; Silva, AR; Bertini, LM; Pereira, AF. *Syzygium aromaticum* essential oil supplementation during *in vitro* bovine oocytes maturation improves parthenogenetic embryonic development. **Theriogenology**, v.128, p. 74-80, 2019.

Segwatibe, MK; Cosa, S; Basseyy, K. Antioxidant and antimicrobial evaluations of *Moringa oleifera* Lam leaves extract and isolates compounds. **Molecules**, v.28, n.2, p. 1-22, 2023.

Sharma, V; Paliwal, R; Pracheta, Sharma, S. Phytochemical analysis and evaluation of antioxidant activities of hydro-ethanolic extract of *Moringa oleifera* Lam. Pods. **Journal of Pharmacy Research**, v.4, n.2, p. 554-557, 2011.

Shu, Y; Zeng, H; Ren, Z; Zhuang, G; Liang, X; Shen, H; Yao, S; Ke, P; Wang, N. Effects of cilostamide and forskolin on the meiotic resumption and embryonic development of immature human oocytes. **Human Reproduction**, v.23, n.3, p. 504-513, 2008.

Sies, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox Biology**, v.4, p. 180-183, 2015.

Sirard, MA; Richard, F; Blondin, P; Robert, C. Contribution of the oocyte to embryo quality. **Theriogenology**, v.65, p. 126-136, 2006.

Sirard, MA. 40 years of bovines IVF in the new genomic selection context. **Reproduction**, v.156, R1-R7, 2018.

Soto-Heras, S; Paramio, MT. Impacto f oxidative stress on oocyte competence for *in vitro* embryo production programs. **Research in Veterinary Science**, v.132, p. 342-350, 2020.

Sovernigo, TC, Adona, PR, Monzani, OS, Guemra, S; Barros, FDA, Lopes, FG; Leal, CLV. Effects of supplementation of medium with different antioxidants during *in vitro* maturation of bovine oocytes on subsequent embryo production. **Reproduction in Domestic Animals**, p. 1-9, 2017.

Stephoe, PC; Edwards, RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. **The Lancet**, p. 366, 1978.

Sugunabai, J; Jayaraj, M; Karpagam, T; Varalakshmi, B. Antidiabetic efficiency of *Moringa oleifera* and *Solanum nigrum*. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.6, n.1, p. 40-42, 2014.

Sultana, S. Nutritional and functional properties of *Moringa oleifera*. **Metabolism Open**, v.8, p. 1-6, 2020.

Tesfay, SZ; Bertling, I; Odindo, AO; Workneh, TS; Mathaba, N. Levels of anti-oxidants in different parts of moringa (*Moringa oleifera*) seedling. **African Journal of Agricultural Research**, v.6, n.22, p. 5123-5132, 2011.

Tiloke, C; Anand, K; Gengan, RM; Chuturgoon, AA. *Moringa oleifera* and their phytonanoparticles: Potential antiproliferative agents against cancer. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.108, p. 457-466, 2018.

Tripathi, A; Kumar, KVP; Chaube, SK. Meiotic cell cycle arrest in mammalian oocytes. **Journal of Cellular Physiology**, v.233, p. 592-600, 2010.

Trounson, A; Anderiesz, C; Jones, G. Maturation of human oocytes *in vitro* and their developmental competence. **Reproduction**, v.121, p. 51-75, 2001.

Tomek, W; Torner, H; Kanitz, W. Comparative analysis of protein synthesis, transcription and cytoplasmic polyadenylation of mRNA during maturation of bovine oocytes *in vitro*. **Reproduction in Domestic Animals**, v.37, p. 86-91, 2002.

Turrens, JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. **Journal of Physiology**, v.552, n.2, p.335-344, 2003.

Valdez-Solana, MA; Mejía-García, VY; Téllez-Valencia, A; García-Arenas, G; Salas-Pacheco, J; Alba-Romero, J; Sierra-Campos, E. Nutricional content and elemental and phytochemical analyses of *Moringa oleifera* Grow in Mexico. **Journal of Chemistry**, v.2015, p. 1-9, 2015.

Van Wagendonk-de Leeuw, AM. Ovum pick up and *in vitro* production in the bovine after use in several generations: A 2005 status. **Theriogenology**, v.65, p. 914-925, 2006.

Varago, FC; Mendonça, LF; Lagares, MA. Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.32, n.2, p. 100-109, 2008.

Vats, S; Gupta, T. Evaluation of bioactive compounds and antioxidant potential of hydroethanolic extract of *Moringa oleifera* Lam. From Rajasthan, India. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v.23, p.239-248, 2017.

Vergara-Jimenez, M; Almatrafi, MM; Fernandez, ML. Bioactive componentes in *Moringa oleifera* leaves protect against chronic disease. **Antioxidants**, v.6, n.91, p.1-13, 2017.

Viana, JHM. Produção de embriões bovinos *in vivo* (transferência de embriões - TE) e *in vitro* (Fecundação *in vitro* FIV) no Brasil: histórico, cenário atual e perspectivas. **Anais do Simpósio de Reprodução de Bovinos**, 1ª Ed., Pelotas, RS, Brasil, p. 48-55, 2008.

Wang, X; Falcone, T; Attaran, M; Goldberg, JM; Agarwal, A; Sharma, R. Vitamin C and vitamin E supplementation reduce oxidative stress-induced embryo toxicity and improve the blastocyst development rate. **Fertility and Sterility**, v.78, n.6, p. 1272-1277, 2002.

Wang, F; Tian, X; Zhang, L; He, C; Ji, P; Li, Y; Tan, D; Liu, G. Beneficial effect of resveratrol on bovine oocyte maturation and subsequent embryonic development after *in vitro* fertilization. **Reproductive Science**, v.101, n.2, p. 578-586, 2014.

Wang, S; He, G; Chen, M; Zuo, T; Xu, W; Liu, X. The role of antioxidant enzymes in the ovaries. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.2017, p. 1-14, 2017.

Wang, Y; Gao, Y; Ding, H; Liu, S; Han, X; Gui, J; Liu, D. Subcritical ethanol extraction of flavonoids from *Moringa oleifera* leaf and evaluation of antioxidant activity. **Food Chemistry**, v.218, p. 152-158, 2017.

Watson, AJ. Oocyte cytoplasmic maturation: A key mediator of oocyte and embryo developmental competence. **Journal of Animal Science**, v.85, E1-E3, 2007.

Yang, M; Tao, L; Kang, X; Wang, Z; Su, L; Li, L; Gu, F; Zhao, C; Sheng, J; Tian, Y. *Moringa oleifera* Lam. leaves as new raw food material: A review of its nutritional composition, functional properties and comprehensive application. **Trends in Food Science & Technology**, v.138, p.399-416, 2023.

Zhao, B; Ding, X; Wang, X; Sun, Y; Gao, S; Song, X; Zhang, B; Zhang, Y; Wang, Y. Supplementation with kaempferol relieves oxidative stress and enhances development of early bovine embryos *in vitro*. **Reproduction in Domestic Animals**, v.57, p. 1007-1015, 2022.