

Aplicação de Dipeptídeos na Maturação e Cultivo *In Vitro* de Embriões Bovinos - Revisão

Flávia Thaysa Vieira Freitag¹, Marcela Cristina Machado da Silva², João Filipi Scheffer Pereira³

Palavras-chave: Produção *in vitro*. Glicil-glutamina. Alanil-glutamina.

Na produção *in vitro* de embriões (PIVE) uma série de variáveis pode prejudicar o desenvolvimento embrionário. Os aminoácidos são de fundamental importância para que os embriões possam atingir o estágio blastocisto para transferência embrionária (ROSENKRANS e FIRST, 1994). A glutamina, aminoácido mais abundante no meio de maturação e cultivo *in vitro* melhora o desenvolvimento embrionário de bovinos e outras espécies (TIFFIN et al., 1991). O mecanismo de atuação da glutamina não está totalmente elucidado, mas evidências mostram sua participação no ciclo de Krebs e no metabolismo da glicose (TIFFIN et al., 1991), na osmorregulação (STEEVES e GARDNER, 1999), na redução da peroxidação lipídica (RIEGER, 1992), bem como, na síntese de purinas e pirimidinas (LEESE et al., 1993). O principal benefício da adição de glutamina no meio de cultivo é o aumento da produção embrionária, reduzindo a parada nos estágios iniciais de desenvolvimento embrionário. No entanto, possui grande potencial para se degradar na forma de amônia e ácido 2-pirrolidona-5-carboxílico (SUMMERS et al., 2005). Enquanto o tecido epitelial do trato reprodutivo feminino absorve ou neutraliza os produtos da amônia, no cultivo *in vitro* é acumulado no meio de cultivo durante a PIVE (GARDNER e LANE, 1993), prejudicando os oócitos e o desenvolvimento embrionário de mamíferos (HAMMON et al., 2000). A utilização da alanil-glutamina (Ala-gln) e glicil-glutamina (Gli-gln) tem como fundamento básico a redução de compostos amoníacos liberados pela glutamina (ROTH et al., 1988). Os dipeptídeos Ala-gln e Gli-gln são compostos estáveis em soluções aquosas e a temperaturas superiores a 120°C (ROTH et al., 1988), sendo degradados por peptidase celular específica liberada pelo embrião durante o desenvolvimento. É importante salientar que existe a produção de amoníaco mesmo na presença de dipeptídeos, mas, em menores concentrações, tornando o ambiente de cultivo *in vitro* menos tóxico que quando se utiliza a glutamina no cultivo embrionário. Na comparação entre os dipeptídeos, a liberação de amoníaco foi maior na utilização de Ala-gln, mostrando uma maior afinidade da enzima na hidrólise do Ala-gln e menor para Gli-gln, exigindo maiores concentrações de Gli-gln no meio de cultivo (CHRISTIE e BUTLER, 1994). Aumento nas taxas e aceleração da maturação de oócitos suínos foram observados na presença de dipeptídeos por Tareq et al. (2007) e Tareq et al. (2013). Quando utilizados na MIV, os dipeptídeos não apresentaram aumento na taxa de blastocistos e contagem do número de células em embriões suínos, mas melhoraram a competência de desenvolvimento pós a ativação partenogenética (KIM et al., 2013). Em bovinos, Pereira et al. (2015) observou que o Ala-gln quando utilizado na MIV aumentou a produção embrionária, no entanto não teve influência sobre a

1 Curso de Medicina Veterinária – UTP

2 Curso de Medicina Veterinária – UTP

3 Professor Orientador - UTP

qualidade dos embriões. O dipeptídeo Gli-gln não apresentou efeitos positivos quando utilizado na MIV. Quando utilizados na etapa de Cultivo *in vitro* ambos os dipeptídeos foram prejudiciais para a produção embrionária e quando associados também prejudicaram a qualidade embrionária. Em conclusão, na PIVE de bovinos, o dipeptídeo Ala-gln, é uma alternativa para melhorar a eficiência da técnica e aumento da capacidade dos oócitos em suportar o desenvolvimento embrionário após a fertilização, no entanto, a utilização de Gli-gln não é indicada em meios de cultivo na PIVE de bovinos.

Referências

- CHRISTIE A.; BUTLER M. Glutamine-based dipeptides are utilized in mammalian cell culture by extracellular hydrolysis catalyzed by a specific peptidase. *Journal of Biotechnology*, v. 37, p. 277-290, 1994.
- GARDNER D.K.; LANE M. Amino acids and ammonium regulate mouse embryo development in culture. *Biology of Reproduction*, v. 48, p.377-385, 1993.
- HAMMON, D.S.; WANG S.; HOLYOAK G.R.; Ammonia concentration in bovine follicular fluid and its effect during in vitro maturation on subsequent embryo development. *Animal Reproduction Science*, v. 58, p. 1–8, 2000.
- KIM S.J.; KOO O.J.; KWON D.K.; KANG J.T.; PARK S.J.; GOMEZ M.N.; ATIKUZZAMAN M.; JANG G.; LEE B-C. Replacement of glutamine with the dipeptide derivative alanyl-glutamine enhances in vitro maturation of porcine oocytes and development of embryos. *Zygote*, v. 22, p. 286-289, 2013.
- LEESE H.J.; CONAGHAN J.; MARTIN K.L.; HARDY K. Early human embryo metabolism. *Bioessays*, v.15, p. 259-264, 1993.
- PEREIRA, J.F.S. Dipeptídeos Alanil-Glutamina e glicil-glutamina na maturação de oócitos e cultivo de embriões bovinos *in vitro*. 2015. São José dos Pinhais, 52f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.
- RIEGER D. Relationships between energy metabolism and development of early mammalian embryos. *Theriogenology*, v. 37, p. 75-93, 1992.
- ROSENKRANS JR C.F.; FIRST N.L. Effect of free amino acids and vitamins on cleavage and developmental rate of bovine zygotes in vitro. *Journal Animal Science*, v. 72, p. 434-437, 1994.
- ROTH E.; OLLENSCHLAGER G.; HAMILTON G.; SIMMEL A.; LANGER K.; FEKL W.; JAKESZ R. Influence of two glutamine-containing dipeptides on growth of mammalian cells. *In Vitro Cellular e Developmental Biology*, v. 24, p. 696-698, 1988.
- STEEVES T.E.; GARDNER D.K. Temporal and differential effects of amino acids on bovine embryo development in culture. *Biology of Reproduction*, v. 61, p. 731-740, 1999.
- SUMMERS M.C.; MCGINNIS L.K.M.; LAWITTS J.A.; BIGGERS J.D. Mouse embryo development following IVF in media containing either L-glutamine or glycyl-L-glutamine. *Humam Reproduction*, v. 20, p. 1364-1371, 2005.
- TAREQ K.M.A.; AKTER Q.S.; TSUJII H.; KHANDOKER M.A.M.Y.; CHOI I. Effect of dipeptides on the in vitro maturation, fertilization and subsequent embryonic development of porcine oocytes. *Asian-Australians Journal of Animal Science*, v. 26, p. 501-508, 2013.
- TAREQ K.M.A.; MIAH A.G.; SALMA U.; YOSHIDA M.; TSUJII H. Effect of amino acids and dipeptides on accumulation of ammonia in the medium during in vitro maturation and fertilization of porcine oocytes. *Reproductive Medicine and Biology*, v. 6, p.165-170, 2007.
- TIFFIN G.J.; RIEGER D.; BETTERIDGE K.J.; YADAV B.R.; KING W.A. Glucose and glutamine metabolism in pre-attachment cattle embryos in relation to sex and stage of development. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 93, p. 125–132, 1991.