

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA

ESTUDO DA GLICOPROTEÍNA ESPECÍFICA DO
OVIDUTO (OGP) EM MAMÍFEROS

SUSAN HELLEN FRAGA MORAES

ILHA SOLTEIRA/SP
2003

1210001425



125



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA

ESTUDO DA GLICOPROTEÍNA ESPECÍFICA DO OVIDUTO
(OGP) EM MAMÍFEROS

AUTORA: SUSAN HELLEN FRAGA MORAES

ORIENTADOR: Dr. EDSON GUILHERME VIEIRA

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia – UNESP/Câmpus de Ilha Solteira, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia - Área de Concentração: Sistema de Produção Animal.

1210001425



ILHA SOLTEIRA – SP
AGOSTO 2003

Proc. 053/2003 - NOD 167

UNESP - "CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA"	
SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO	
DATA DE CHEGADA	DATA DE TOMBO
02.09.03	30.09.03
REGISTRADO POR	TOMBO
<i>Ailza</i>	Te. 1425
AQUISIÇÃO	CLASSIFICAÇÃO
<i>livros autor R\$ 10.00</i>	M827e

Co
sys 207943
sys 55652

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação/Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da FEIS/UNESP

M827e Moraes, Susan Hellen Fraga
Estudo da glicoproteína específica do oviduto (OGP) em mamíferos / Susan Hellen Fraga Moraes. -- Ilha Solteira : [s.n.], 2003
viii, 39 p. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de concentração: Sistemas de Produção Animal, 2003.

Orientador: Edson Guilherme Vieira

Bibliografia: p. 29-39

1. Oviduto. 2. Glicoproteína específica do oviduto. 3. Produção animal.

50405004

Estudo da Glicoproteína Específica do Oviduto (OGP) em Mamíferos

Susan Hellen Fraga Moraes

DISSERTAÇÃO APRESENTADA À UNESP - CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA
COMO PARTE DOS REQUISITOS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
MESTRE EM ZOOTECNIA

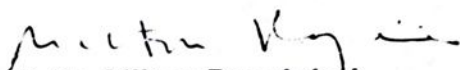
COMISSÃO EXAMINADORA:



Prof. Dr. Edson Guilherme Vieira - Orientador



Prof. Dr. Paulo Bahiense Ferraz Filho



Prof. Dr. Milton Passipieri

**Ilha Solteira – SP
agosto de 2003**

Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Cursos: Agronomia, Ciências Biológicas, Eng. Civil, Eng. Elétrica Eng. Mecânica, Física, Matemática e Zootecnia.
Avenida Brasil Centro, 56 Caixa Postal 31 CEP 15385-000 Ilha Solteira São Paulo Brasil
pabx 18 3743 1000 fax 18 3742 2735 scom@adm.feis.unesp.br www.feis.unesp.br

Aos meus pais, Roberto Domingues Moraes e Helaine Maria Fraga Moraes, pelo carinho, dedicação e confiança em todos momentos de minha vida.

Ao meu namorado, Daniel Augusto Pignanelli Cipollini, pelo estímulo e compreensão.

Dedico



AGRADECIMENTOS

À Deus, pela fé em busca de um ideal e presença inseparável nos momentos de fraqueza e alegria.

Ao Professor Doutor Edson Guilherme Vieira, meu orientador e idealizador deste trabalho, pela amizade, dedicação e confiança a mim depositada.

À Faculdade Engenharia de Ilha Solteira, em especial ao departamento de Zootecnia, pela oportunidade concedida.

Aos Professores, Milton Passipiéri, João Batista Alves, João Francisco Pereira Bastos, Maria Conceição Zocoller Seno, Vilma Aparecida Starke Buzetti e Hélio Takachi Okuda, pelos ensinamentos do curso e de vida.

Aos Professores do Departamento de Zootecnia, pela amizade e convivência.

Aos funcionários do departamento de Zootecnia, Meire, Zeneide, Cida, João Paixão, Cleuza e Márcio, pelo convívio e apoio.

Ao bibliotecário da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP - João Josué Barbosa, pela eficiência e auxílio prestado.

Aos amigos de Pós-Graduação – Marcelo, Tércio, Hyldeth, Silvinha, Ângelo, Cláudia, Érica, pela amizade, companheirismo e bons momentos aqui passados.

À amiga Flávia Cristina Diniz, pelo carinho e atenção nos momentos decisivos do curso.

À Cristina Lacerda Soares Petrarolha Silva (Kit), pelas sugestões na execução do trabalho.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

E a todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.



**"A ALEGRIA ESTÁ NA LUTA, NA TENTATIVA, NO
SOFRIMENTO ENVOLVIDO. NÃO NA VITÓRIA
PROPRIAMENTE DITA".**

(MAHATMA GANDI)



SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	02
2.1. O Oviduto.....	02
2.1.1. Composição Química do Fluido do Oviduto (ODF).....	07
2.2. Glicoproteína Específica do Oviduto (OGP).....	09
2.2.1. Controle Hormonal da Síntese e Secreção da OGP.....	10
2.2.2. Localização da OGP.....	12
2.2.3. Caracterização Bioquímica da OGP.....	16
2.2.4. Funções da OGP.....	22
3. CONCLUSÕES.....	27
4. REFERÊNCIAS.....	29



LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Componentes químicos encontrados no soro e no fluido do oviduto de vaca	07
TABELA 2. Característica das proteínas específicas de oviduto de mamíferos.....	16



LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Fotografia das regiões anatômicas do oviduto de vaca.....	02
FIGURA 2. Corte histológico do oviduto de vaca nas regiões da ampola e do istmo	03
FIGURA 3. Fotomicrografia do oviduto de vaca: Ampola.....	04
FIGURA 4. Fotomicrografia de oviduto de vaca: Istmo	05
FIGURA 5. Comparações de similaridade das seqüências de aminoácidos das glicoproteínas do oviduto	17
FIGURA 6. Funções estabelecidas para glicoproteína do oviduto (OGP).....	23

RESUMO

Em geral, o epitélio do oviduto de mamíferos sintetiza e secreta uma família de glicoproteínas específicas (OGP = oviductal glycoprotein) encontrada no oviduto durante a ovulação, fertilização e desenvolvimento embrionário precoce. Essas glicoproteínas otimizam um meio para maturação e transporte de gametas, fertilização e o desenvolvimento inicial do embrião. As moléculas de OGP encontram-se em grânulos de secreção produzidos exclusivamente pelas células não ciliadas do oviduto e sua produção pode ser afetada pelos esteróides ovarianos. O conteúdo destes grânulos é liberado no lúmen por exocitose. As moléculas de OGP associam-se com a zona pelúcida e espaço perivitelínico de oócitos ovulados e com embriões precoces. Essas glicoproteínas são similares entre si em relação à seqüência deduzida global de aminoácidos, porém são moléculas heterogêneas quanto a sua porção glicídica, sendo que as diferentes isoformas de OGP de uma única espécie resultam provavelmente de uma adição heterogênea de resíduos de ácido siálico, outros carboidratos, sulfatação ou fosforilação. O objetivo desta revisão é identificar e caracterizar a glicoproteína específica do oviduto de mamíferos relatada na literatura, comparando bioquimicamente suas isoformas e suas funções no processo reprodutivo.

Palavras Chave: Oviduto, glicoproteína específica do oviduto.

ABSTRACT

In general, the oviductal lining epithelium of mammals synthesizes and secretes a family of specific glycoproteins (OGP), which are found in the oviduct during the ovulation, fertilization, and early embryo development. These glycoproteins provide optimal medium for maturation and gamete transport, fertilization and the initial development of the embryo. OGP molecules are found in secretory granules exclusively produced by non ciliated cells of the oviduct and their production can be affected by ovarian steroids. The content of these granules is liberated in the lumen by exocytosis. OGP molecules associate with zona pellucida and perivitelline space of ovulated oocytes and early embryos. These glycoproteins are similar to each other concerning the derived global sequence of amino acids. However, OGP molecules are heterogeneous molecules concerning their carbohydrate composition. The different isoforms of OGP in a certain species may be the result of heterogeneous addition of sialic acid residues, other carbohydrates, sulphation or phosphorylation. The aim of this review is identify and characterize the oviductal glycoprotein of mammals found in the literature, biochemically comparing their isoforms and functions in the reproductive events.

Key-words: Oviduct, oviduct specific glycoprotein.



1. INTRODUÇÃO

O oviduto, também conhecido por tuba uterina ou trompa de falópio, é a porção do sistema reprodutor feminino onde ocorrem os eventos reprodutivos iniciais, como o transporte e a maturação final dos gametas, a fertilização e o início do desenvolvimento embrionário. O oviduto exerce ação bioquímica sobre os gametas imediatamente antes da fertilização e sobre o embrião durante seus estágios iniciais de desenvolvimento. Essas ações ocorrem em um fluido composto predominantemente de derivados do plasma, mas que também contém macromoléculas não séricas sintetizadas e secretadas pelo epitélio do próprio oviduto sob a regulação de esteróides ovarianos. Várias proteínas têm sido identificadas em mamíferos como sendo específicas do oviduto. Embora o peso molecular e propriedade eletroforética destas proteínas variem, dados disponíveis sugerem que estas proteínas são similares, pois todas têm sido identificadas como glicoproteínas e são secretadas especificamente pelo oviduto, predominantemente no período de ovulação, sendo genericamente referidas como glicoproteína do oviduto (oviductal glicoprotein ou OGP).

O objetivo desta revisão é identificar e caracterizar a glicoproteína específica do oviduto de mamíferos relatada na literatura, comparando bioquimicamente suas isoformas e suas funções no processo reprodutivo.



2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. O Oviduto

O oviduto, também conhecido como tuba uterina ou trompa, é a porção do sistema reprodutor feminino onde ocorrem importantes eventos, tais como o transporte e a maturação final dos gametas, a fertilização e o início do desenvolvimento embrionário. Para cada um dos ovários existe um oviduto associado, ligando funcionalmente o ovário ao útero. O oviduto é constituído por cinco diferentes regiões anatômicas (Figura 1): infundíbulo, ampola, junção istmo-ampola, istmo e junção útero-tubárica (PARRISH, 2003).

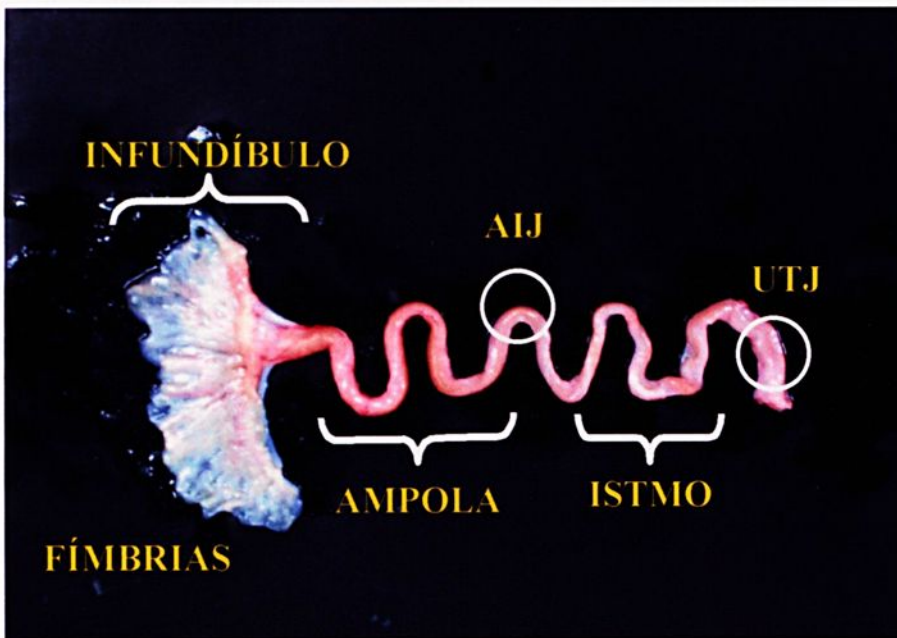
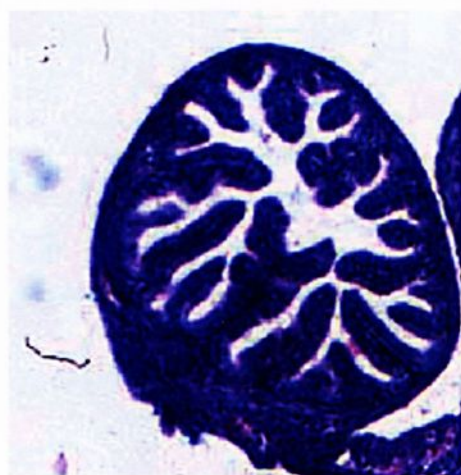


FIGURA 1. Fotografia das regiões anatômicas do oviduto de vaca.

AIJ: junção istmo-ampola; UTJ: junção útero-tubárica.

O **infundíbulo** localiza-se na extremidade do oviduto voltada para o ovário e tem a forma de funil. A borda do funil pode ter projeções semelhantes a dedos chamados fimbrias. Outro termo descritivo também usado é funil fimbriado. Na ovulação, a superfície ciliada das fimbrias e infundíbulo apanha o óvulo e o transporta para a base do infundíbulo, através do óstio e em direção à ampola. A **ampola** (Figura 2) abrange a metade do comprimento do oviduto. Sua mucosa é altamente convolvida e bem desenvolvida, enquanto que a musculatura é fina (PARRISH, 2003). A ampola é a principal porção secretora do oviduto e o local onde a fertilização ocorre (MENEZO e GUERIN, 1997, p.99-104). A **junção istmo-ampola** corresponde à metade do caminho entre o ovário e o útero. O **istmo** (Figura 2) é a parte entre a ampola e a junção útero-tubárica e abrange a metade do comprimento do oviduto. Sua musculatura é bem desenvolvida. A **Junção útero-tubárica** é a transição entre o útero e o oviduto (PARRISH, 2003). Os espermatozoides de mamíferos podem ser armazenados nesta junção e liberados no período da ovulação (MENEZO e GUERIN, 1997, p.99-104).



AMPOLA



ISTMO

FIGURA 2. Corte histológico do oviduto de vaca nas regiões da ampola e do istmo (PARRISH, 2003).

A anatomia do oviduto pode ser altamente variável de uma espécie para outra. Por exemplo, o comprimento do oviduto em vacas é 25cm, enquanto que em ovelhas é de 15-19cm. O tamanho do infundíbulo varia com a espécie e idade do animal; por exemplo, a área de superfície é de 6 a 10 cm² na ovelha e de 20 a 30 cm² na vaca (HAFEZ, 1995, p.32-41).

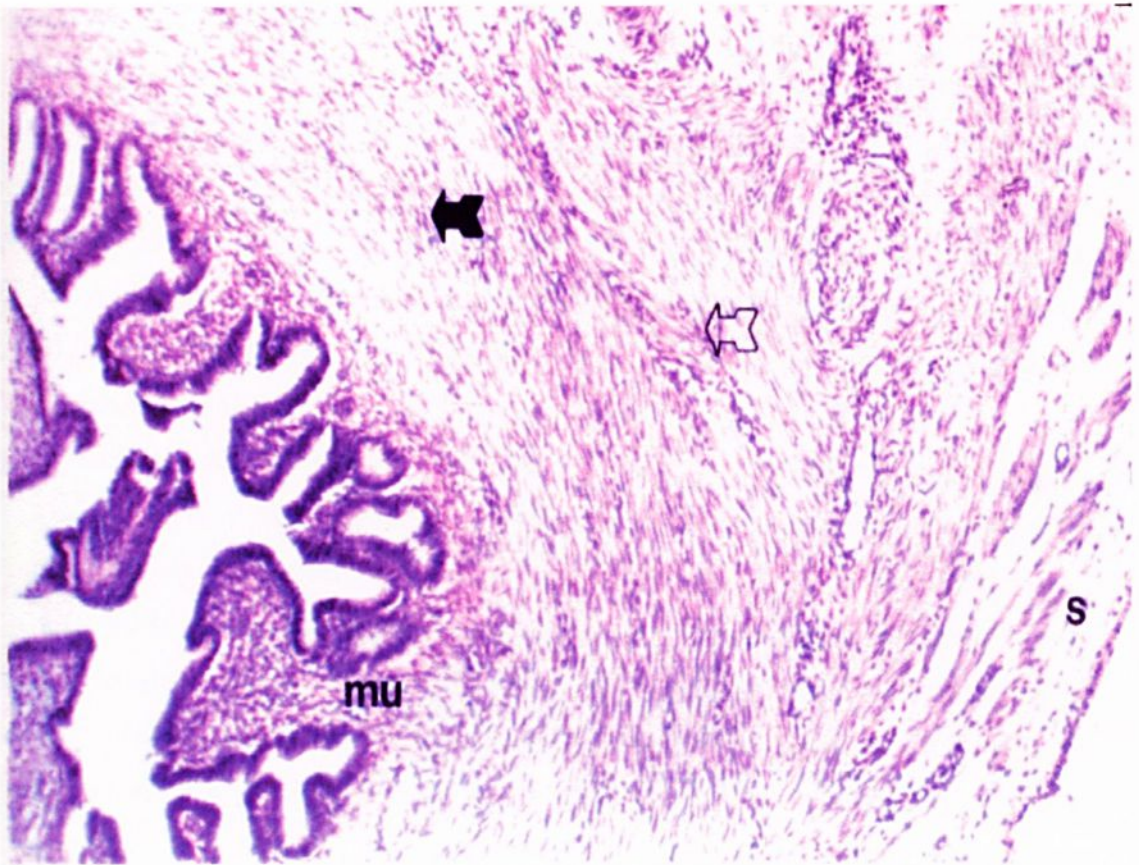


FIGURA 4. Fotomicrografia de oviduto de vaca: Isthmo. Camada mucosa (mu); subcamada muscular circular interna (seta cheia); fibras musculares oblíquas (seta vazada); serosa (s). (MONTEIRO, 1998, 121p.).

A mucosa do oviduto é formada por pregas primárias, secundárias e terciárias. Na ampola, a mucosa situa-se dentro de pregas altas e ramificadas que diminuem de altura em direção ao istmo tornando-se baixas na junção útero-tubárica. A mucosa consiste de uma camada de células epiteliais colunares. A submucosa das fibras musculares lisas e do tecido conjuntivo é entremeada por finos vasos sanguíneos e linfáticos. O epitélio contém células ciliadas e secretoras. Os cílios das células ciliadas da mucosa do oviduto são móveis e delgados (cinocílios) e se estendem para o interior do lúmen. A proporção de batimentos dos cílios é afetada pelos níveis de hormônios ovarianos, com atividade máxima na ovulação. A ação dos batimentos ciliares parece favorecer o óvulo dentro das células circundantes do *cumulus*, a fim de ser despojado da superfície dos folículos em direção ao óstio dos ovidutos. As células ciliadas são mais abundantes no local onde o óvulo é apanhado da superfície ovariana (fimbrias e infundíbulo), enquanto que

células secretoras são abundantes onde os fluidos luminiais são necessários como um meio para a interação de óvulos e espermatozóides. As células secretoras da mucosa do oviduto não são ciliadas e possuem grânulos de secreção característicos, cujo tamanho e número variam bastante entre as espécies e durante as diferentes fases do ciclo estral. A superfície apical das células não ciliadas é recoberta por numerosas microvilosidades. Os grânulos de secreção acumulados nas células epiteliais durante a fase folicular do ciclo são liberados no lúmen, por exocitose, após a ovulação, provocando uma redução na altura epitelial (HAFEZ, 1995, p.32-41).

A vascularização do oviduto é derivada de ramificações dos vasos do útero e ovário. As artérias e veias seguem um caminho paralelo que permite, através de anastomose, trocas metabólicas entre ovário, útero e oviduto. Uma intensa drenagem linfática também existe. Ineruações simpáticas e parassimpáticas estão presentes na parede do oviduto (MENEZO e GUERIN, 1997, p.99-104). O notável aumento na proeminência da vascularização, bastante regulado por estrógenos ovarianos, está parcialmente associado com a relevante função do oviduto, a de conduzir os óvulos e os espermatozóides em direções opostas, quase simultaneamente. A estrutura do oviduto está bem adaptada às suas múltiplas funções. O mesossalpinge e a musculatura tubárica coordenam os hormônios ovarianos, os estrógenos e a progesterona. As franjas das fimbrias transportam os óvulos liberados da superfície ovariana para o infundíbulo. A junção útero-tubárica controla, parcialmente, o transporte do sêmem do útero para os ovidutos. Os óvulos são conduzidos através das pregas mucosas para a ampola onde ocorre a fertilização e os primeiros estágios da clivagem dos óvulos fertilizados. Os embriões de mamíferos podem permanecer nos ovidutos durante três dias, antes de serem encaminhados ao útero. O oviduto propicia, portanto, um ótimo ambiente para a união dos gametas, assim como para o desenvolvimento inicial do embrião. Este ambiente proporciona nutrição e proteção para os espermatozóides, para o óvulo e para o subseqüente embrião (HAFEZ, 1995, p.32-41).



2.1.1. Composição Química do Fluido do Oviduto (ODF)

O fluido do oviduto é uma fina mistura de um transudato de compostos originados do soro e compostos específicos sintetizados pelo epitélio do oviduto (MENEZO e GUERIN, 1997, p.99-104), o que o torna bioquimicamente complexo, com vários íons, açúcares, proteínas e lipídios (GERENA e KILLIAN, 1990, p.113-120). Estes compostos e suas concentrações no soro e no ODF estão representadas na Tabela 1.

TABELA 1. Componentes químicos encontrados no soro e no fluido do oviduto de vaca.

COMPONENTES	SORO	ODF
Glicose	1-5mM	1-3mM
Lipídios	7,5mM	(baixa)
Aminoácidos	2mM	(Alta)
Proteínas	2,5mM	1/10

A concentração de glicose no ODF é mais baixa do que a observada no soro. Por outro lado, a concentração de lactato é mais alta no ODF do que no soro, devido ao metabolismo da glicose pelo próprio oviduto (LEESE, 1988, p.843-856). A glicose pode estar associada com a viabilidade, motilidade e sobrevivência espermática (MENEZO e GUERIN, 1997, p.99-104).

A quantidade de lipídios no ODF também é baixa, mas todas as classes de lipídios estão presentes: fosfolipídios, triglicerídeos e colesterol livre ou esterificado (WATERMAN e WALL, 1988, p.243-254). Os lipídios estimulam ou inibem a capacitação espermática e reação acrossômica (FLEMING e YANAGIMACHI, 1981, p.253-273).

As concentrações da maioria dos aminoácidos são maiores no ODF quando comparadas às do soro (por exemplo: metionina, leucina, fenilalanina, lisina, ácido aspártico, glicina, alanina, tirosina, taurina e hipotaurina). Glicina e alanina são os aminoácidos predominantes no ODF de várias espécies. O nível de alanina e especialmente glicina são muito maiores do que o observado no soro, sendo que o de

glicina pode chegar a 5mM. Estes aminoácidos estão implicados na regulação do pH intracelular e na proteção do embrião contra o estresse osmótico (MILLER e SCHULTZ, 1987, p.125-129). Taurina e hipotaurina estão presentes em um nível alto na secreção tubárica. Eles são produzidos e liberados pelo epitélio tubárico (OUHIBI et al. 1989, p.229-235; GUERIN e MENEZO, 1995, p.333-343), através de uma enzima específica, a descarboxilase de cisteína sulfinato (GUERIN e MENEZO, 1995, p.333-343). Estes compostos podem estar envolvidos na hiperativação espermática, mas nenhum mecanismo de ação foi proposto (FELLMAN e ROTH, 1985, p.71-82).

O conteúdo enzimático do ODF é completo e semelhante ao do soro. Isto é, pelo menos parcialmente, o resultado da transudação do soro. Estas enzimas participam na regulação da composição de secreções tubáricas: pH (anidrase carbônica) e conteúdo de lactato e piruvato (enzimas glicolíticas). Elas também estão envolvidas no processo de capacitação (MENEZO e GUERIN, 1997, p.99-104).

As proteínas são originadas principalmente do soro e a sua concentração não varia de acordo com o ciclo hormonal (LEESE, 1988, p.843-856). Glass e Hanson (1975, p.15-19) observaram que as proteínas do soro, pelo menos a albumina, podem ser transferidas através do epitélio. Apenas as imunoglobulinas de alto peso molecular não podem passar através do epitélio. A albumina representa 60 a 80% do total de proteínas. Embora a composição protéica do ODF origina-se predominantemente do soro, ela também contém proteínas que são sintetizadas e secretadas exclusivamente pelo epitélio do oviduto (BOQUEST et al. 1999, p.583-595).

Algumas proteínas já foram identificadas dentre aquelas sintetizadas e secretadas pelo epitélio do oviduto, tais como a osteopontina (OPN), a proteína do tipo haptoglobina e a glicoproteína específica do oviduto (OGP). Cancel et al. (1999, p.454-460) estabeleceram que a OPN, uma proteína de 55kDa, é sintetizada pelas células epiteliais da ampola e também nas vesículas seminais de touro de alta fertilidade, bem como no fluido destes tecidos. A osteopontina é uma glicoproteína ácida rica em ácido aspártico, ácido glutâmico e serina (SORENSEN e PETERSEN, 1994, p.200-205). Rodrigues et al. (2000, p.414-419) afirmam que a identificação da origem de OPN no trato reprodutivo de touro reúne informações que podem fornecer perspectiva de como estas proteínas influenciam a fertilidade do macho. Way et al. (1997, p.134) identificaram uma proteína de 40 kDa, no ODF bovino, a qual inicialmente pareceu estar presente no ODF e no meio condicionado de células epiteliais de oviduto cultivadas *in vitro*, mas não no soro. Descobriu-se posteriormente que essa proteína

reage com um antisoro policlonal (anti-gp42) (HOFFMAN et al. 1996, p.176-184) gerado contra uma proteína do tipo haptoglobina, do endométrio de coelho (WAY et al. 1998, p.86). Sua função no trato reprodutor feminino, no entanto, ainda não foi estabelecida.

2.2. Glicoproteína Específica do Oviduto (OGP)

A OGP é uma glicoproteína secretada pelo epitélio do oviduto, predominantemente no período da ovulação, quando ocorre o pico de estrógeno e as concentrações de progesterona são mínimas (GERENA e KILLIAN, 1990, p.113-120).

Esta glicoproteína tem sido identificada no oviduto de fêmeas de várias espécies de mamíferos, sendo descrita primeiramente em coelhos (SHAPIRO et al. 1974, p.281-290; OLIPHANT e ROSS, 1982, p.537-543), e posteriormente em bovinos (ROBERTS et al. 1975, p.301-313; MALAYER et al. 1988, p.345-353), hamster (FOX e SHIVERS, 1975, p.599-608; ROBITAILLE et al. 1988, p.687-694), ovinos (ROBERTS et al. 1976, p.99-107; SUTTON et al. 1984, p.415), camundongos (KAPUR e JOHNSON, 1985, p.89-93, 1986, p.248-260), babuínos (FAZLEABAS e VERHAGE, 1986, p.455-462; VERHAGE et al. 1989, p.2464-2472), suínos (BROWN e CHENG, 1986, p.183-191; BUHI et al. 1990, p.929-938), humanos (VERHAGE et al. 1988, p.1639-1645), e caprinos (ABE et al. 1995, p.226-232).

À medida que a OGP foi sendo identificada no oviduto dessas espécies, diversas denominações, que correspondem a sinônimos funcionais da OGP, foram empregadas, tais como: oviductina, encontrada em fêmeas de hamsters (ROBITAILLE et al. 1988, p.687-694); glicoproteína 215 (GP215), encontrada em fêmeas de camundongos (KAPUR e JOHNSON, 1988, p.720-729); glicoproteína associada ao estro (EAP), encontrada em vacas (BUHI et al. 1990, p.929-938; KING e KILLIAN, 1994, p.34-42); glicoproteína secretada do oviduto (OSP), encontrada em porcas (BUHI et al. 1990, p.929-938); glicoproteína do oviduto (sOP92), encontrada em ovelhas (GANDOLFI et al. 1991, p.383-392); glicoproteína específica do oviduto dependente de estrógeno (OGP), encontrada em vacas, mulheres e fêmeas de babuínos (SENDAI et al. 1995, p.283-294; VERHAGE et al. 1997, p.541-552) e glicoproteína associada ao estro

específica do oviduto (EGP), encontrada em vacas e ovelhas (HILL, 1996, p.1367-1378).

As moléculas de OGP das diferentes espécies estudadas apresentam um grau significativo de homologia quanto à sua composição de aminoácidos, embora o peso molecular e o ponto isoelétrico difiram entre elas (GANDOLFI et al. 1991, p.383-392; ARIAS et al. 1994, p.795-799; SENDAI et al. 1994, p.927-934).

A OGP tem sido apontada como uma proteína multifuncional, induzindo a capacitação, motilidade e viabilidade espermática (KING et al. 1994, p.468-478; ABE et al. 1995, p.226-232), fertilização e início do desenvolvimento embrionário (KING e KILLIAN, 1994, p.34-42).

2.2.1. Controle Hormonal da Síntese e Secreção da OGP

A aparência morfológica e a atividade secretora das células que revestem o oviduto de mamíferos são sensíveis às mudanças nos níveis de esteróides ovarianos (estrógeno e progesterona) (VERHAGE et al. 1986, p.107). Dentre os estrógenos, o estradiol é o mais importante, possuindo outros metabolicamente ativos, a estrona e o estriol (HAFEZ, 1995, p.32-41). Assim, a síntese destas moléculas de OGP está diretamente relacionada com elevados níveis de estradiol e a ausência de progesterona (VERHAGE et al.1988, p.1639-1645). A correlação entre o período estradiol-dominante do ciclo ovariano e o aparecimento da OGP nas secreções do oviduto foram detectadas em muitas espécies (VERHAGE et al. 1989, p.2464-2472).

Em vários primatas foi demonstrado que um meio de cultura com estrógeno induz hipertrofia celular, ciliogênese e um aumento na atividade secretora destas células epiteliais (VERHAGE et al.1990, p. 81-90; HAFEZ, 1995, p.32-41). Em contraste, na ausência de esteróides sexuais ou após a administração de progesterona para animais com pico de estrógeno, as células epiteliais tornam-se atrofiadas, muitos cílios são perdidos e grânulos de secreção são raramente encontrados (ODOR et al. 1983, p.149-172; VERHAGE et al. 1990, p.81-90). Estas mudanças morfológicas mediadas por hormônios são acompanhadas por mudanças correspondentes na atividade secretora do oviduto (VERHAGE et al. 1988, p.1639-1645).

O epitélio de revestimento da ampola do oviduto de babuínos em fase folicular ou ovariectomizados (OVX) e tratados com estradiol (estradiol-dominados) consiste de

células ciliadas colunares e células secretoras, similar ao epitélio em humanos e outros primatas (VERHAGE et al. 1989, p.2464-2472). No entanto, durante períodos progesterona-dominantes, o epitélio de animais ciclando ou OVX consiste de uma larga proporção de células cuboidais, as quais não são nem ciliadas nem secretoras. Visto que as extremidades apicais das células secretoras maduras contêm grânulos de secreção e a liberação de alguns destes produtos ocorrem pelo processo de exocitose, pode-se prever que o padrão de proteínas sintetizadas pelo oviduto de primatas muda conforme as mudanças nos níveis de esteróides e o estado morfológico do epitélio (FAZLEABAS e VERHAGE, 1986, p.455-462). O tratamento de animais OVX com estrógeno pode também restaurar a produção de OGP (OLIPHANT et al. 1984, p.165-174; BUHI et al. 1991, p.3086-3095, 1992, p.426-435; VERHAGE et al. 1989, p.2464-2472, 1990, p.81-90).

Um completo desaparecimento da glicoproteína pode ser observado durante a fase lútea em espécies com ciclo mais longo, enquanto que a OGP está presente no epitélio do oviduto de espécies de mamíferos pequenos durante todo o ciclo ovariano (MALETTE et al. 1995, p.384-397). No hamster dourado (*Mesocricetus auratus*), por exemplo, a presença de glicoproteína no lúmen e nos grânulos de secreção do oviduto é máxima durante o tempo da ovulação, no entanto um alto nível basal é observado ao longo de todo o ciclo e ainda persiste durante a prenhez (Kan, comunicação pessoal, citado por Malette et al. 1995, p.384-397). Isto contrasta com o que foi observado em ovelhas, onde a OGP estava presente no estro e até aproximadamente o quarto dia de prenhez (MURRAY, 1993, p.446-453) sugerindo que a glicoproteína de hamster é constitutivamente expressa e secretada ou então a taxa de degradação da proteína no epitélio do oviduto é mais longa do que a duração do próprio ciclo estral.

A castração de fêmeas de hamster sexualmente maduras reduz ligeiramente o sinal de imunodeteção para a OGP no epitélio do oviduto e a administração de estradiol a fêmeas pré-púberes obviamente aumenta sua secreção (MALETTE et al. 1995, p.384-397). Esses dados reforçam a afirmação de Verhage et al. (1988, p.1639-1645), de que a indução da síntese de OGP de hamster é controlada pelo estradiol e permitem extrapolar que o estrógeno endógeno regula a presença da OGP em vários níveis no epitélio do oviduto de diferentes espécies (MALETTE et al. 1995, p.384-397).

Mudanças no porcentual de ciliação e altura das células do epitélio do oviduto foram observadas durante o ciclo menstrual ou após tratamento com esteróides de animais OVX em *Macaca mulata* (BRENNER et al. 1974, p.1094-1104), *M. nemestrina*

(ODOR et al. 1980, 35-57), *M. fascicularis* (BRENNER et al. 1983, p.1289-1302) e babuínos (ODOR e AUGUSTINE, 1979, p.639; VERHAGE et al. 1990, p.81-90). Verhage et al. (1990, p.81-90) mencionaram um processo cíclico de ciliação e deciliação que envolve praticamente todas as células ciliadas da ampola, enquanto parece estar ausente no istmo, e mostraram claramente que o estradiol induz e mantém células secretoras maduras em ambas as partes, ampola e istmo.

Investigações da expressão dos genes usando sondas para mRNA têm confirmado que os genes de bovino e babuíno são sensíveis a estrógeno (SENDAI et al. 1994, p.927-934; ARIAS et al. 1994, p.795-799). Estes autores relataram que as quantidades de mRNA foram menores em tecidos dominados por progesterona, obtidos da fase diestro do ciclo bovino ou início do estágio folicular e pós-parto de babuínos. Isto pode refletir a deficiência de estrógeno nestes estágios mais do que um efeito supressivo na expressão por progesterona, uma vez que OGP de ovelha é sempre secretada em altas concentrações em resposta a estradiol, a despeito do estado progestacional das ovelhas (SUTTON et al. 1986, p.645-653; SALOMONSEN e NANCARROW, 1994, p.289-328).

2.2.2. Localização da OGP

A imunolocalização e estudos de hibridização *in situ* demonstram que as moléculas de OGP são produzidas apenas pelo epitélio não ciliado do oviduto (BUHI, 2002, p.355-362); estas moléculas antigênicas nunca foram imunodetectadas fora do trato reprodutivo feminino. Sua presença na bursa ovariana e na parede da superfície epitelial do útero e da vagina é atribuída ao fluxo da secreção que se origina do oviduto (St-JACQUES e BLEAU, 1988, p.247-261).

Uma suposição razoável é que o oviduto de todas as espécies de mamíferos secretam a OGP no período da ovulação, fertilização e início do desenvolvimento embrionário (VERHAGE et al. 1997, p.541-552), exceto talvez em roedores, onde a diferenciação das células secretoras pode ocorrer durante a vida pós-natal (ABE e OIKAWA, 1990, p.210-221, 1993, p.390-398).

Métodos imunocitoquímicos foram usados para demonstrar que estas glicoproteínas foram encontradas em grânulos de secreção nas células não ciliadas do oviduto obtido de fêmeas de coelhos (OLIPHANT et al.1984, p.165-174), camundongos (KAPUR e JOHNSON, 1988, p.720-729), bovinos (JOSHI, 1988, p.249-261), hamsters (St-JACQUES e BLEAU, 1988, p.247-261), babuínos (VERHAGE et al. 1989, p.2464-2472), ovinos (GANDOLFI et al. 1991, p.383-392), suínos (BUHI et al. 1993, p.1274-1283) e humanos (RAPISARDA et al. 1993, p. 1483-1488). Diferenças entre as regiões do oviduto são evidentes, visto que as moléculas de OGP parecem estar restritas ao segmento ampolar em fêmeas de camundongos (KAPUR e JOHNSON, 1988, p. 720-729), ovinos (GANDOLFI et al. 1993, p.433-443) e suínos (BUHI et al. 1993, p.1274-1283), ao passo que, em fêmeas de coelhos, ela também ocorre no epitélio ístmico (OLIPHANT et al. 1984, p.165-174) e, em fêmeas de babuínos, em todo o oviduto (VERHAGE et al. 1990, p.81-90). Ainda precisa ser determinada se a OGP bovina é secretada pelos três segmentos do oviduto, o infundíbulo, a ampola e o istmo (BOICE et al. 1990, p.340-346) ou pelo epitélio da ampola somente (ABE et al. 1993, p.390-398). O motivo de algumas espécies não produzirem OGP em uma região específica não está claro, embora a falta de produção possa estar relacionada à função daquela região (BUHI, 2002, p.355-362).

Antígenos específicos do oviduto, usando a técnica "Imunogold", foram localizados em grânulos de secreção de primatas. Analisando segmentos da ampola e istmo, observaram-se agrupamentos específicos de partículas de ouro em todos os grânulos de secreção, não importando a densidade eletrônica, o tamanho do grânulo, ou a região do oviduto observados (VERHAGE et al. 1990, p.81-90). Uma vez que os anticorpos policlonais foram gerados para uma família de glicoproteínas (VERHAGE et al. 1989, p.2464-2472), dados encontrados não provam que cada grânulo secretor contém proteínas idênticas. Essas observações estão em contraste àquelas encontradas em camundongo (KAPUR e JOHNSON, 1988, p.720-729), onde usando técnicas similares bem como anticorpos policlonais, a localização antigênica foi demonstrada nos grânulos de secreção obtidos do segmento cranial do oviduto (infundíbulo e ampola), mas não nos grânulos de secreção ístmicos. Esse estudo em camundongo sugere que as diferentes regiões do oviduto podem ser bioquimicamente distintas (VERHAGE et al. 1989, p.2464-2472).

A imunolocalização ultraestrutural mostra que um anticorpo para a OGP de camundongo (anti-OGP) liga-se firmemente e seletivamente a prováveis grânulos de

secreção no citoplasma apical de células epiteliais não ciliadas do oviduto. Áreas dentro dessas células, identificadas como Golgi e retículo endoplasmático, também parecem ser marcadas com anti-OGP. A maior ampliação microscópica mostra que a ligação de anticorpos é mais concentrada quando associado ao material floculento circundado por áreas vazias eletro-luscentes, as quais parecem representar vesículas membranosas rompidas. Uma vez que as amostras controle não são marcadas, essas áreas floculentas presumivelmente contêm OGP (KAPUR e JONHSON, 1988, p.720-729).

Como predito pela imunofluorescência (KAPUR e JOHNSON, 1986, p.246-260), populações de células não ciliadas, que perdem seus grânulos de secreção e não são marcadas por anti-OGP, existem na ampola e no infundíbulo do oviduto. Em contraste a essas regiões, não foi observada qualquer imunomarcção específica no istmo do oviduto, embora estejam presentes células não ciliadas contendo grânulos de secreção. No entanto, os grânulos no epitélio do istmo são morfologicamente distintos daqueles da ampola. Em amostras de tecidos preparados para imunomarcção, caracteristicamente os grânulos ístmicos estão tanto destituídos de material de alta densidade eletrônica como podem conter uma massa de alta densidade eletrônica central (KAPUR e JONHSON, 1988, p.720-729).

Kapur e Jonhson (1988, p.720-729) encontraram grânulos densamente corados no citoplasma de células não ciliadas do infundíbulo e ampola em uma posição intracelular e distribuição no oviduto similar às áreas vesiculares reconhecidas pelo anti-OGP. Foi encontrado que um tipo de célula não ciliada, morfologicamente diferente, constitui a maioria do epitélio de revestimento do istmo. Em contraste com os segmentos de epitélio ampolar e infundibular do oviduto, existem numerosas interdigitações irregulares entre as membranas plasmáticas laterais das células epiteliais ístmicas. Essas células perdem seus grânulos de alta densidade eletrônica observados dentro do oviduto cranial. Em vez disso, elas contêm uma população de grânulos apicais com conteúdo mais difuso e filamentososo.

As espécies mamíferas podem ter evoluído diferentemente com relação ao processamento do ovo no oviduto. A maioria dos autores tem observado uma distribuição uniforme destas glicoproteínas ao longo da estrutura da zona pelúcida do oócito não fertilizado (KAN et al. 1989, p.585-598; BOICE et al. 1990, p.340-346; BUHI et al. 1993, p.1274-1283) e do embrião (GANDOLFI et al. 1991, p.383-392; BOICE et al. 1992, p.225-229; KAN et al. 1993, p.77-88).

Proteínas do oviduto de hamster estão presentes apenas na zona pelúcida (ZP) do embrião (KAN et al. 1988, p. 1441-1447, 1989, p.585-598) e, em camundongos, estão localizados exclusivamente no espaço perivitelínico (EP) (KAPUR e JOHNSON 1988, p.720-729). A distribuição de produtos do oviduto observados em embriões de ovelha, os quais incluem ZP, EP e membrana blastomérica, são semelhantes àquelas descritas em babuínos (BOICE et al. 1990, p.340-346).

Abe e Oikawa (1990, p.210-221), usando a microscopia imunoeletrônica, descrevem diferenças topográficas na localização da OGP de hamster na zona pelúcida. Estes autores identificam três camadas concêntricas, mostrando um grau variável de imunomarcção (com a camada mediana sendo mais intensamente marcada), usando um anticorpo monoclonal anti-OGP capaz de reconhecer um epitopo glicídico (ABE et al. 1992, p.209-218). A associação das moléculas de OGP com oócito ou embrião segue padrões que dependem da espécie. São exemplos dessas diferentes formas de associação a deposição de uma espessa camada mucinosa extracelular (SHAPIRO et al. 1974, p.281-290), seqüestro exclusivo no espaço perivitelínico (KAPUR e JOHNSON, 1988, p.720-729), associação não exclusiva com membrana vitelínica e o espaço perivitelínico (BOICE et al. 1992, p.225-229; GANDOLFI et al. 1991, p.383-392; BUHI et al. 1993, p.1274-1283) e localização intracitoplasmática (BOICE et al. 1990, p.340-346; BUHI et al. 1993, p.1274-1283). Associações específicas de OGP com a matriz extracelular que envolve a junção celular (MURRAY e MESSINGER, 1994, p.1126-1139) e compartimentos endocíticos (KAN et al. 1993, p.77-88) dos blastômeros de embriões também foram observados.

A localização imunofluorescente da OGP em associação com oócitos vivos envolvidos pelas células do *Cumulus* demonstra que a glicoproteína é seletivamente sequestrada dentro do espaço perivitelínico, mas não é detectada na matriz do *Cumulus*. Em adição, a OGP não está presente no citoplasma do oócito de uma forma imunologicamente reconhecível. Observações em nível de microscopia eletrônica de oócitos pós-ovulados imunomarcados confirmam a incorporação da OGP no espaço perivitelínico. No nível ultraestrutural, o espaço perivitelínico de oócitos pós-ovulados contém uma malha de material e partículas floculentas. Virtualmente toda ligação de anti-OGP aos cortes de oócitos pós-ovulados está localizada nesta matriz perivitelínica. Imunomarcção é vista ao longo do espaço perivitelínico, desde a superfície dos oócitos até a superfície interna da ZP, exceto onde existem falhas na matriz perivitelínica (KAPUR e JOHNSON, 1988, p.720-729).



A localização imunocitoquímica das moléculas de OGP dentro de estruturas celulares específicas varia com o do estado de maturação do oócito ou embrião (KAN et al. 1993, p.77-88) e algumas destas discrepâncias resultam claramente do uso de diferentes sondas (MALETTE et al. 1995, p.384-397).

2.2.3. Caracterização Bioquímica da OGP

Estudos utilizando reação imunológica cruzada entre proteínas (GANDOLFI et al. 1991, p.383-392), clonagem de DNA e caracterização molecular (ARIAS et al. 1994, p.795-799; SENDAI et al. 1994, p.927-934) indicaram um grau significativo de homologia entre espécies para a OGP, embora o peso molecular e ponto isoelétrico dessas proteínas difiram (Tabela. 2).

TABELA 2. Característica das proteínas específicas do oviduto de mamíferos.

Mamífero	Proteína		Referência
	kDa	pI	
Coelho	71-73	-	OLIPHANT e ROSS, 1982, p.537-543; ARIAS et al. 1994, p.795-799.
Ovino	90-92	4,5-6,5	GANDOLFI et al. 1989, p.303-312; DeSOUZA e MURRAY, 1994, p.96.
Bovino	95-97	5,5-8,1	BOICE et al. 1990, p.340-346; GERENA e KILLIAN, 1990, p.113-120; WEGNER e KILLIAN, 1992, p.841-854.
		4,7-5,2	
Suíno	75-85 100	<4,0 básica ácida	BUHL et al. 1990, p.929-938, 1994, p.165.
Babuíno	120-130	4,5 e 8,0	DONELLY et al. 1991, p. 356-364; VERHAGE et al. 1997, p.541-552.
Humano	130	4,5 e 8,0	ARIAS et al. 1994, p.795-799.
Camundongo	215	-	KAPUR e JOHNSON, 1986, p.248-260; SENDAI et al. 1994, p.927-934.
Hamster	160-350	3,5-4,5 e >9	MALETTE e BLEAU, 1993, p.437-435; MERLEN et al. 1994, p.132.

Pelo menos oito moléculas de OGP foram clonadas e um alto grau de conservação da seqüência de nucleotídeos e da seqüência de aminoácidos tem sido demonstrado entre as espécies. Essas moléculas de OGP compartilham 70-78% de identidade e são 76-87% similares na seqüência deduzida global de aminoácidos. Entretanto, a região N-terminal do polipeptídeo maduro tem um alto grau de identidade (77-84%) e similaridade (86-90%), comparada com a baixa identidade (37-63%) e similaridade (50-75%) da extremidade C-terminal (BUHI, 2002, p.355-362).

As comparações de duas regiões das seqüências derivadas de aminoácidos de várias glicoproteínas do oviduto de mamíferos estão apresentadas na Figura 5.

PORCENTAGEM DE SIMILARIDADE DA SEQÜÊNCIA INTEIRA

	Humano	Babuino	Bovino	Ovino	Suíno	Hamster	Camundongo
Humano		93,4	70,9	69,5	73,5	60,9	57,4
Babuino	97,5		71,1	69,5	74,1	62,7	63,5
Bovino	73,4	75,6		94,7	77,5	61,8	63,3
Ovino	71,3	77,2	95,4		76,9	62,8	62,6
Suíno	75,1	77,2	85,7	85,5		62,7	64,2
Hamster	69,4	70,1	68,5	69,7	63,3		71,0
Camundongo	75,6	76,3	69,7	68,5	70,2	79,6	

PORCENTAGEM DE SIMILARIDADE NA SEQÜÊNCIA N-TERMINAL

FIGURA 5. Comparações de similaridade das seqüências de aminoácidos das glicoproteínas do oviduto (VERHAGE et al. 1997, p.541-552).

As seqüências derivadas de aminoácidos, estendendo da extremidade amino terminal da glicoproteína de babuíno até o aminoácido 385, têm um alto grau de identidade (65,4%) em todas as espécies para as quais os dados seqüenciais estão disponíveis (VERHAGE et al. 1997, p.541-552). Divergências foram encontradas nas seqüências do gene para OGP em babuíno e humano. Donnelly et al. (1991, p.356-364) analisando um trecho de 1195 pares de base na extremidade 3' do cDNA humano do gene para OGP, verificaram uma identidade de 92% com a seqüência parcial de cDNA

de babuíno, a principal área de divergência é devida a um trecho de 43 nucleotídeos ausente na seqüência humana. A seqüência parcial de cDNA de babuíno contém uma fase aberta de leitura (ORF- Open Read Frame) codificando para aminoácidos na extremidade carboxílica da proteína. O ressequenciamento de uma discrepância entre as seqüências de cDNA de humano e de babuíno mostrou a adição de uma guanina na posição 244 da seqüência de babuíno e, como consequência, uma extensão da fase aberta de leitura de 288 nucleotídeos. Em um outro estudo (VERHAGE et al. 1997, p.541-552) verificaram que as seqüências de OGP humana e de babuíno permanecem similares até o aminoácido 501, onde a seqüência de cDNA de babuíno tem um trecho de 45 nucleotídeos, codificando para 15 aminoácidos, não encontrado na seqüência humana. As moléculas de OGP de bovinos e ovinos são praticamente idênticas ao longo de sua seqüência e são também aproximadamente similares à de babuínos e humanos até o aminoácido 472. Neste ponto, a seqüência em babuínos e humanos contém 45 nucleotídeos (codificando 15 aminoácidos) não encontrados em OGP de vacas e ovelhas. Todas as disparidades iniciam-se depois do aminoácido 454, em função da ocorrência de inserções, em local correspondente ao exon 11 do gene para glicoproteína do oviduto.

Segundo Arias et al. (1994, p.795-799), o cDNA humano do gene para OGP possui 2216 pares de bases. A seqüência completa tem uma fase aberta de leitura de 1962 pares de bases (de 13 a 1975) que codifica uma proteína de 654 aminoácidos com uma massa molecular predita de 72,9 kDa e pI 6,2. A seqüência bovina consiste de 1612 pares de bases codificando para uma proteína com 537 aminoácidos. Entretanto, os primeiros 18 aminoácidos da extremidade amino-terminal representa uma seqüência sinal parcial sendo que a parte protéica da proteína madura consiste de 519 aminoácidos, com uma massa molecular estimada de 57,7 kDa. O mRNA da glicoproteína do oviduto humano tem uma região curta de 12 nucleotídeos na extremidade 5' não traduzida e uma região com 240 nucleotídeos na extremidade 3' também não traduzida, com o sinal característico de poliadenilação AATAAA na posição 2173. A seqüência deduzida de aminoácidos contém 4 sítios potenciais de N-glicosilação (Asn-X-Ser-Thr), dois sítios de N-miristoilação e uma variedade de sítios potenciais de fosforilação (BAIROCH, 1993, p.3097-3103). A ausência de uma seqüência característica para O-glicosilação impede a determinação do valor real do número de resíduos de serina e treonina que são potencialmente glicosilados (ARIAS et al. 1994, p.795-799).

As moléculas de OGP de camundongos (KAPUR e JOHNSON, 1985, p.89-93), humanos (VERHAGE et al. 1988, p.1639-1645), babuínos (VERHAGE e FAZLEABAS, 1988, p.522-558) e bovinos (DeSOUZA e MURRAY, 1995, p.1517-1526) são altamente glicosiladas e foi sugerido que até 85% da proteína de hamster (ROBITAILLE et al.1988, p.687-694) consiste de resíduos de açúcar. Em camundongos a largura da banda (215 kDa) é provavelmente causada pela heterogeneidade molecular das cadeias laterais oligossacarídicas (KAPUR e JOHNSON, 1985, p.89-93), uma característica de moléculas grandes e altamente glicosiladas (SHARON, 1975, p.1-154), como as moléculas sintetizadas pelo oviduto humano.

A organização e estrutura de seqüências genômicas foram descritas para OGP de humanos (JAFJE, 1996, p.74), camundongos (TAKAHASHI et al. 2000, p.217-226) e hamster (MERLEN e BLEAU, 2000, p.238-246). A seqüência codificadora está contida em 11 exons, com a seqüência sinal localizada nos exons 2 e 3 e o peptídio maduro encontrado nos exons 3 a 11. Uma seqüência TATAA foi identificada na extremidade 5' do gene humano, enquanto camundongo e hamster carecem das seqüências típicas TATAA, CAAT e CG. Entretanto, seqüências de nucleotídeos incomuns foram identificadas em ambas às espécies (BUHI, 2002, p.355-362).

A comparação da organização estrutural de genes (TAKAHASHI et al. 2000, p.217-226), comparações de seqüências protéicas e o número e posição de resíduos de cisteína conservados (BUHI et al. 1996, p.1305-1314) em OGP e produtos gênicos de mamíferos indicam que estas proteínas originaram-se de um gene ancestral comum. Análises de regiões hidrofóbicas e comparações seqüenciais entre todos os grupos de aminoácidos das moléculas de OGP indicam que a identidade e a similaridade são maiores no domínio N-terminal, definido como o domínio catalítico das quitinases. Quatro resíduos em quitinases parecem ser necessários à atividade, mas dois tem sido demonstrados, por mutagênese sítio-dirigida, serem requisitos absolutos para a atividade de quitinase (WATANABE et al. 1993, p.567-572). Todas as moléculas de OGP examinadas carecem de um resíduo de ácido glutâmico essencial e de atividade de quitinase. Análises de grupos hidrofóbicos indicam que os aminoácidos 386 a 525 em OGP de suíno correspondem a um domínio de ligação C-terminal encontrado em algumas celulasas e quitinases (BUHI et al. 1996, p.1305-1314). Devido a divergências no domínio C-terminal, levantou-se a hipótese que esta região constitui-se tanto como domínio de ligação como um domínio de reconhecimento específico da espécie.

A região C-terminal da OGP de hamsters contém um domínio tipo mucina, uma seqüência repetida em tandem (6 repetições), de 15 aminoácidos cada (PAQUETTE et al. 1995, p.388-396). Em contraste, em humanos, babuínos e macacos *Rhesus*, a região C-terminal contém apenas quatro seqüências repetidas em tandem, ao passo que aquelas de bovinos, ovinos e suínos contêm seqüências incompletas ou não repetidas em tandem. Entretanto, a região C-terminal de camundongo contém uma seqüência de aminoácidos que se repete 21 vezes, composta de sete aminoácidos cada (BUHI, 2002, p.355-362). Sítios prováveis de N-glicosilação, variando de 1 a 7, e sítios de O-glicosilação, variando de 10 a 20 (exceção em camundongos, nos quais calcula-se a existência de 67 locais), encontram-se localizados dentro da região C-terminal. Em geral, repetições em tandem são uma característica de mucinas, embora em elas ocorram em outras proteínas. De acordo com as características relatadas de algumas moléculas de OGP, repetição em tandem contém todas as O-glicosilações e são usualmente encontradas dentro de um exon. Assim, OGP de hamster e camundongo podem estar mais intimamente relacionadas a mucinas do que outras moléculas de OGP (BUHI, 2002, p.355-362).

Estudos de carboidratos precursores, ligação a lectinas, deglicosilação química, enzimas e inibidores indicam que ocorre tanto N- quanto O-glicosilação (BUHI e ALVAREZ, 1991, p.162). A OGP bovina contém um sítio de N-glicosilação e numerosos sítios de O-glicanas potenciais (NANCARROW e HILL, 1995, p.3-13). Arias et al. (1994, p.795-799) encontraram 4 sítios potenciais de N-glicosilação para a OGP humana. Portanto, o aumento na massa molecular da glicoproteína de 95 para 120 kDa entre bovinos e humanos parece estar relacionada à alta massa molecular da parte protéica da proteína (de 57,7 para 70,5 kDa) e a um aumento na N-glicosilação.

Embora existam métodos disponíveis para remoção de carboidratos, apenas um estudo *in vitro* (SATOH et al. 1995, p.117-123) investigando o papel biológico das moléculas de OGP desprovidas de carboidrato foi realizado até hoje. A remoção de ácido siálico e a N-glicosilação reduzem significativamente a capacidade da OGP bovina de manter a viabilidade espermática. OGP completamente deglicosilada é insolúvel. Portanto, estes locais de glicosilação parecem ser mais importantes para a atividade biológica e para a manutenção da solubilidade extracelular. Os carboidratos podem desempenhar um papel de proteção contra a degradação por proteases e a mudança conformacional da estrutura protéica e na interação proteína-proteína. Diferenças em repetições em tandem, a presença e distribuição de N- e O-carboidratos,

a diversidade de cadeias laterais e o comprimento da região C-terminal podem conferir especificidade às espécies mediante eventos de reconhecimento específico e regulação direta da atividade das moléculas de OGP (BUHI, 2002, p.355-362).

OGP com massas moleculares e teor de carboidratos diferentes são sintetizadas e liberadas exclusivamente pelo epitélio secretor do oviduto em todos os mamíferos examinados com duas possíveis exceções: ratas (ARIAS et al. 1994, p.795-799) e éguas (BUHI et al.1996, p.1305-1314). Os grupos de carboidratos presentes nestas moléculas de OGP são de grande importância nos processos reprodutivos, visto que carboidratos são conhecidos como determinantes funcionais (receptores), mediando interações célula-célula (GAHMBERG et al. 1992, p.39-52).

Os carboidratos encontrados nas moléculas de OGP incluem ácido N-acetilneuramínico (ácido siálico) terminal em ligações $\alpha(2,3)$ e $\alpha(2,6)$; ácido N-glicolilneuramínico; galactose, N-acetilgalactosamina; α -acetilgalactosamina; α -fucose; galactosil- $\beta(1,3)$ -N-acetilgalactosamina; chitobiose, N-acetilglucosamina e α -manose (BUHI et al. 1991, p.3086-3095; WEGNER e KILLIAN, 1992, p.841-854; SATOH et al. 1995, p.117-123; VIEIRA et al.2000, p.262). A análise da composição de carboidratos da OGP bovina encontrou que a proporção molar de galactose: manose: N-acetilglucosamina: N-acetilgalactosamina: ácido N-acetilneuramínico: ácido N-glicolilneuramínico: fucose foi de 17:2:4:15:9:7:1 por mol de OGP (SATOH et al. 1995, p.117-123).

As moléculas de OGP são heterogêneas. Além disso, a OGP de hamster consiste de pelo menos duas isoformas principais, as formas α e β , que possuem diferentes níveis de glicosilação (MALETTE e BLEAU, 1993, p.437-445). A OGP de suínos tem três isoformas principais e duas variantes de peso molecular (KOUBA et al. 2000, p.242-250), enquanto a OGP bovina consiste de sete isoformas, sendo que aquelas de baixo peso molecular são provavelmente não funcionais, representando produtos de degradação da OGP de 97kDa (VIEIRA et al. 1999, p.202).

Uma OGP de hamster, a qual associa-se com a zona pelúcida de oócitos ovarianos, foi isolada e caracterizada por Mallette e Bleau (1993, p.437-445). A OGP foi relatada ser uma glicoproteína sulfatada com baixo e alto ponto isoelétrico (pI 3,5-4,5 e >9) e uma ampla variação de massas moleculares (160-350kDa). A seqüência amino terminal de 18 aminoácidos foi similar àquela da OGP bovina, com exceção dos aminoácidos nas posições 1, 5, 12, 16 (SATOH et al. 1995, p.117-123). Além disso, estudo de marcação

metabólica tem demonstrado que as moléculas de OGP de coelho (OLIPHANT et al.1984, p.165-174), suíno (BUHI et al.1990, p.929-938) e hamster (MALETTE e BLEAU, 1993, p.437-445) são modificadas pela adição de sulfato inorgânico. Embora sítios de fosforilação possam ser preditos, fosforilação foi observada somente em OGP de suíno (BUHI e ALVAREZ, 1991, p.162). Portanto, as isoformas variáveis de OGP dentro de uma espécie podem ser o resultado de uma adição heterogênea de resíduos de ácido siálico, outros carboidratos, sulfatação ou fosforilação (BUHI, 2002, p.355-362). A heterogeneidade da OGP pode direcionar diferentes populações de moléculas glicosiladas para locais celulares diferentes (MALETTE e BLEAU 1993, p.437-445).

2.2.4. Funções da OGP

As funções creditadas as moléculas de OGP são apresentadas na Figura 6. O estrógeno transportado ao epitélio, via circulação, induz a síntese e secreção da OGP. Dentro do lúmen, a OGP pode interagir com espermatozóides, afetando sua motilidade e viabilidade, além de ter potencial para participar na capacitação e reação acrossômica. Os efeitos da OGP no oócito incluem um aumento nas taxas de penetração de espermatozóide e de fertilização e uma diminuição na polispermia. As alterações de desenvolvimento potenciais incluem mudanças nas taxas de clivagem e um aumento no número de embriões que chegam ao estágio de blastocistos. Efeitos autócrinos sobre o epitélio do oviduto são desconhecidos (BUHI, 2002, p.355-362).

Tratamento de espermatozóide bovino com OGP enriquecida ou semipurificada aumenta significativamente a capacitação e a habilidade para fertilizar oócitos bovinos (KING et al. 1994, p.468-478) ou diminui a motilidade e viabilidade quando adicionada de modo dose-dependente (ABE et al. 1995, p.226-232). De modo semelhante, espermatozóides de suínos demonstram aumento da viabilidade com OGP semipurificada em concentrações mais baixas (McCAULEY et al. 2001, p.47).

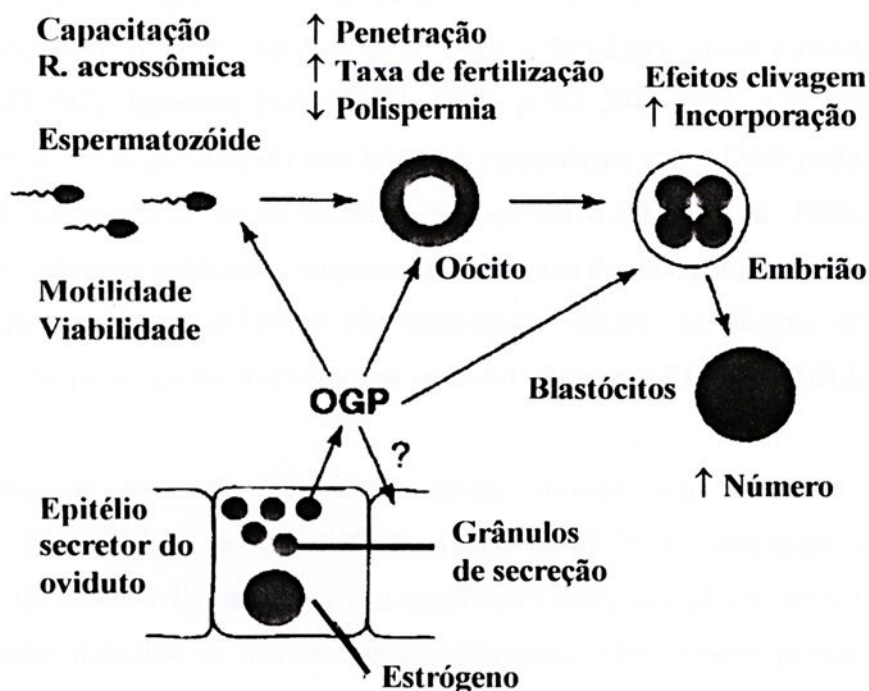


FIGURA 6. Funções estabelecidas para glicoproteína do oviduto (OGP) (BUHI, 2002, p.355-362).

Um papel importante das moléculas de OGP em todas as espécies estudadas parece estar relacionado a sua associação com a ZP e EP de oócitos e embriões, com possível exceção da ZP de camundongos, onde a associação parece ser limitada ao EP (KAPUR e JOHNSON, 1986, p.284-260, 1988, p.720-729; BOICE et al. 1992, p.225-229). A associação com a ZP pode ser devida ao local de ligação específico da glicoproteína sobre uma proteína específica da ZP, visto que outras glicoproteínas de alto peso molecular falharam em competir com a glicoproteína do oviduto para associar-se à ZP, e forte lavagem e incubação prolongada falharam em reduzir a associação com a ZP (REUTER et al. 1994, p.160-169). A associação da OGP com a ZP de oócitos e com espermatozoides de várias espécies implica um papel para estas proteínas na fertilização e no início do desenvolvimento embrionário (GANDOLFI et al. 1991, p.383-392; KING e KILLIAN, 1994, p.34-42). A OGP tem sido também relatada em associação *in vitro* com a região acrossômica nos espermatozoides de hamster (BOATMAN e MAGNONI, 1995, p.199-207) e touros (KING e KILLIAN, 1994, p.34-42). A interação da OGP com espermatozoides pode facilitar a capacitação espermática.

A observação de que a OGP liga-se aos oócitos e embriões de bovinos (WEGNER e KILLIAN, 1991, p. 77-84; BOICE et al. 1992, p.225-229), suínos (GANDOLFI et al. 1991, p.383-392), hamsters (KAN et al. 1989, p.585-598, 1993, p.77-88) e babuínos (BOICE et al. 1990, p.340-346) tem levado à especulação que a OGP pode formar uma camada protetora em torno do embrião precoce (MALETTE et al. 1995, p.385-397). Além disso, algumas evidências sugerem que as taxas de clivagem e a competência dos embriões para o desenvolvimento são melhoradas quando os oócitos de ovinos são fertilizados na presença de frações ricas em OGP (NANCARROW e HILL, 1995, p.3-13).

Estudos de imunofluorescência indireta, usando um anticorpo monoclonal específico (BOATMAN e MAGNONI, 1995, p.199-207), mostraram que a OGP purificada de hamster liga-se *in vitro* a espermatozóides homólogos no acrossomo. Da mesma forma, a análise de membranas de espermatozóides bovinos pré-incubados com OGP bovina verificou que a OGP associa-se à membrana de espermatozóides bovinos (KING e KILLIAN, 1994, p.34-42). No entanto, observou-se que nem OGP de hamster nem humana associam-se com espermatozóide humano usando a mesma técnica (BOATMAN e MAGNONI, 1995, p.199-207).

Em hamster dourado, foi observado que o EP expande-se consideravelmente após a ovulação (YANG e YANAGIMACHI, 1989, p.63-71). Esta mudança pode provir do acúmulo de OGP. Dados de imunomarcção indicaram que a OGP associa-se com materiais no EP de oócitos ovulados e embriões precoces de camundongos, suínos, ovinos, bovinos e hamsters. O significado funcional desta associação pode estar relacionado com a difusão da OGP da estrutura ZP até a membrana blastomérica do ovo fertilizado. Estudo de localização imunoeletrônica em hamster dourado (KAN et al.1993, p.77-88) mostrou que as moléculas de OGP foram encontradas em estruturas endocíticas específicas de ovos fertilizados e embriões precoces, indicando uma internalização da OGP. Epitopos de OGP foram também detectados em baixos níveis no citoplasma de blastocistos de leitoa (BUHI et al.1993, p.1274-1283) e embriões de babuínos em estágio de clivagem (BOICE et al. 1990, p.340-346), e somente nas membranas blastoméricas de ovelha (GANDOLFI et al. 1991, p.383-392).

Murray e Messinger (1994, p.1126-1139) localizaram moléculas de OGP concomitantemente com actina F em áreas de contato blastômero-blastômero em embriões precoces de hamster em estágio de clivagem, sugerindo novo e importante papel para a OGP em clivagem, formação e/ou adesão de blastômeros.

Kan et al. (1993, p.77-88) observaram que a marcação da OGP de hamster permaneceu uniformemente distribuída ao longo de toda a espessura da ZP que envolve os embriões precoces (até 8 células), embora a glicoproteína possa ser simultaneamente detectada em endossomos, corpos multi-vesiculares e lisossomos secundários. Estes resultados sugerem que a população de moléculas de OGP alcança a membrana blastomérica onde é engolfada por vesículas cobertas e é degradada ao longo do caminho endossômico/lisossômico, enquanto uma outra população de moléculas permanece dentro da ZP. Uma vez que a OGP ligada à ZP em embriões de duas células não é proteoliticamente degradada, modificações das cadeias laterais oligossacarídicas induzidas pela ação dos grânulos corticais ou enzimas acrossômicas liberadas após a fertilização podem ser um pré-requisito para a realocação das moléculas de OGP para a membrana do embrião. Receptores específicos de superfície para as glicoproteínas modificadas podem estar implicados na remoção da OGP parcialmente deglicosilada, de uma maneira semelhante à membrana plasmática do hepatócito, onde um receptor do tipo lectina participa na remoção de asialoglicoproteínas de circulação (ASHWELL e HARFORD, 1982, p.531-554).

OGP associada a espermatozóides foi localizada na cabeça e na peça intermediária por imunocitoquímica, usando anticorpo monoclonal específico. Embora dados conflitantes tenham sido obtidos no que concerne à ligação da OGP com espermatozóides homólogos, deve-se levar em consideração uma possível implicação destas moléculas glicosiladas secretadas no processo de maturação dos espermatozóides. A ZP e os produtos gênicos paternos do embrião, recentemente expressos, podem representar um desafio imunológico dentro do oviduto da mãe. O sistema imune humoral materno pode reagir com os espermatozóides ou com os embriões pré-implantados. O espermatozóide, o oócito e o embrião podem ser destruídos por anticorpos e componentes do sistema do complemento; portanto, o controle do sistema imune humoral desempenha um papel na sobrevivência de gametas e embriões. O fato de que as glicoproteínas sulfatadas do fluido de oviduto de coelhos podem inibir a lise celular mediada pelo complemento indica que as moléculas de OGP constituem uma barreira local, na superfície do oócito ou embrião, contra o ataque pelo sistema imune (OLIPHANT et al.1984, p.165-174). Uma vez que elas parecem ligar-se também a membrana de espermatozóides, essas moléculas de OGP devem agir como moléculas de anti-reconhecimento em geral.

Todas as funções acima atribuídas à OGP indicam a pertinência e importância de se desenvolver protocolos para a purificação das diferentes isoformas da OGP e conduzir estudos sobre a sua atuação fisiológica que possibilitem o seu emprego nas diferentes técnicas de reprodução assistida, com o objetivo de incrementar as médias atuais do número de óvulos fertilizados, de embriões que atingem o estágio de blastocisto *in vitro* e de gestações e partos resultantes de transferência embrionária.



3. CONCLUSÕES

- A OGP é uma glicoproteína secretada exclusivamente pelas células não ciliadas do epitélio do oviduto, e provavelmente de ocorrência geral nos mamíferos, por ter sido encontrada em todas as espécies até agora estudadas.
- À medida que foram sendo identificadas, diversas denominações foram sendo empregadas para as moléculas de OGP, porém essas glicoproteínas tratam-se de sinônimos funcionais.
- A OGP tem seu pico de produção ao redor do período de ovulação, quando ocorre o pico de estrógeno e as concentrações de progesterona são mínimas, ou após a administração de estrógeno (estradiol).
- A OGP é uma glicoproteína que apresenta uma variação de peso molecular e ponto isoelétrico entre as espécies estudadas e, em várias dessas espécies, é encontrada na forma de duas ou mais isoformas.
- As moléculas de OGP de diferentes espécies de mamíferos possuem similaridade quanto à seqüência de aminoácidos.
- O fato do fluido do oviduto participar de múltiplas funções no processo reprodutivo, tais como na capacitação espermática, maturação e transporte de gametas, fertilização e início do desenvolvimento embrionário, associado às evidências de que o componente do fluido que se liga a matriz extracelular, zona pelúcida, espaço perivitelínico e membranas de gametas e embriões são as moléculas de OGP, indicam que essas glicoproteínas cooperam para essas atividades funcionais. Essa

constatação é também reforçada pelos resultados de estudos nos quais frações semipurificadas de OGP foram empregadas.

- As funções atribuídas à OGP tornam imprescindível a continuidade do seu estudo visando a melhoria das taxas atuais de sucesso das técnicas de reprodução assistida.



4. REFERÊNCIAS

ABE, H; OIKAWA, T. Ultrastructural evidence for an association between an oviductal glycoprotein and zona pellucida of the golden hamster egg. **Journal Experimental Zoology**, New York, v.256, p.210-221, 1990.

ABE, H; OIKAWA, T. Effects of estradiol and progesterone on the cytodifferentiation of epithelial cells in the oviduct of the newborn golden hamster. **The Anatomical Record**, New York, v.235, p.390-398, 1993.

ABE, H; OOKATA, K; ABE, M; OIKAWA, T. Immunological characterization of oviductal glycoproteins associated with the zona pellucida of the golden hamster egg. **Journal Experimental Zoology**, New York, v.262, p.209-218, 1992.

ABE, H.; SENDAI, Y.; SATOH, T.; HOSHI, H. Bovine oviduct-specific glycoprotein: a potent factor for maintenance of viability and motility of bovine spermatozoa in vitro. **Molecular Reproduction and Development**, New York, v.42, p.226-232, 1995.

ARIAS, E.B.; VERHAGE, H.G.; JAFFE, R.C. Complementary deoxyribonucleic acid cloning and molecular characterization of an estrogen-dependent human oviductal glycoprotein. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.51, p.795-799, 1994.

ASHWELL, G.; HARFORD, J. Carbohydrate-specific receptors of the liver. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v.51, p.531-554, 1982.

BAIROCH, A. The proposit dictionary of sites and patterns in proteins, its current status. **Nucleic Acids Research**, Rondon, v.21, p.3097-3103, 1993.

BOATMAN, D.; MAGNONI, G. Identification of a sperm penetration factor in the oviduct of the golden hamster. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.52, p.199-207, 1995.

BOICE, M.L.; MAVROGIANIS, P.A.; MURPHY, C.N.; PRATHER, R.S.; DAY, B.N. Immunocytochemical analysis of the association of bovine oviduct-specific glycoproteins with early embryos. **Journal of Experimental Zoology**, New York, v.263, p. 225-229, 1992.

BOICE, M.L.; McCARTHY, T.J.; MAVROGIANIS, P.A.; FAZLEBAS, A.T.; VERHAGE, H.G. Localization of oviductal glycoproteins within the zona pellucida and perivitelline space of ovulated ova and early embryos in baboons (*Papio anubis*). **Biology of Reproduction**, Champaign, v.43, p.340-346, 1990.

BOQUEST, A.C.; SMITH, J.F.; BRIGGS, R.M.; DUGANZICH, D.M.; SUMMER, D.M. Effects of bovine oviductal proteins on bull spermatozoa function. **Theriogenology**, Stoneham, v.51, p.583-595, 1999.

BRENNER, R.M.; CARLISLE, K.S.; HESS, D.; SANDOW, B.A.; WEST, N.B. Morphology of the oviducts and endometria of cynomolgus macaques during the menstrual cycle. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.29, p.1289-1302, 1983.

BRENNER, R.M.; RESKO, J.A.; WEST, N.B. Cyclic changes in oviductal morphology and residual cytoplasmic estradiol binding capacity induced by sequential estradiol-progesterone treatment of spayed Rhesus monkeys. **Endocrinology**, Baltimore, v.95, p.1094-1104, 1974.

BROWN, C.R.; CHENG, K.T. Changes in composition of the porcine zona pellucida during development of the oocyte to the 2 to 4 cell embryo. **Journal Embryology Experimental Morphology**, v.92, p.183-191, 1986.

BUHI, W.C. Characterization and biological roles of oviduct-specific, oestrogen-dependent glycoprotein. **Reproduction, Fertility and Development**, Melbourne, v.123, p.355-362, 2002.

BUHI, W.C.; ALVAREZ, I.M. Phosphorylation and glycosylation of the 75-85,000 Mr estrogen-induced oviductal secretory protein. **Biology of Reproduction**. Champaign, v.44, supl.1, p.162, 1991.

BUHI, W.C.; ALVAREZ, I.M.; CHOI, I.; CLEAVER, B.D.; SIMMEN, F.A. Molecular cloning and characterization of an estrogen-dependent porcine oviductal secretory glycoprotein. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.55, p.1305-1314, 1996.



BUHI, W.C.; ALVAREZ, I.M.; CHOI, I.; SIMMEN, F.A. A recombinant cDNA to a porcine oviductal estrogen-dependent secretory glycoprotein (POESP). **Biology of Reproduction**, Supl. 1, v.50, p.165, 1994.

BUHI, W.C.; ALVAREZ, I.M.; SUDHIPONG, V.; DONES-SMITH, M.M. Identification and characterization of the novo-synthesized porcine oviductal secretory proteins. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.43, p.929-938, 1990.

BUHI, W.C.; ASHWORTH, C.J.; BAZER, F.W.; ALVAREZ, I.M. *In vitro* synthesis of oviductal secretory proteins by estrogen-treated ovariectomized gilts. **Journal of Experimental Zoology**, New York, v.262, p.426-435, 1992.

BUHI, W.C.; BAZER, F.W.; ALVAREZ, I.M.; MIRANDO, M. Synthesis *in vitro* of oviductal proteins associated with estrus and 17-estradiol treatment of ovariectomized ewes. **Endocrinology**, Baltimore, v.128, p.3086-3095, 1991.

BUHI, W.C.; O'BRIEN, B.; ALVAREZ, I.M.; ERDOS, G.; DUBOIS, D. Immunogold localization of porcine oviductal secretory proteins within the zona pellucida, perivitelline space, and plasma membrane of oviductal and uterine oocytes and early embryos. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.48, p.1274-1283, 1993.

CANCEL, A.M.; CHAPMAN, D.A.; KILLIAN, G.J. Osteopontin localization in the Holstein bull reproductive tract. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.60, p.454-460, 1999.

DeSOUZA, M.M.; MURRAY, M.K. An mRNA encoding an estrogen (E)-dependent oviduct-specific glycoprotein (Mr 90-92,000) is expressed in a temporal and regional specific manner during early pregnancy in the sheep. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.50, suppl.1, p.96, 1994.

DeSOUZA, M.M.; MURRAY, M.K. An estrogen-dependent sheep oviductal glycoprotein has glycan linkages typical of sialomucins and does not contain chitinase activity. **Biology of Reproduction**. v.53, p.1517-1526. 1995.

DONNELLY, K.M.; FAZLEABAS, A.T.; VERHAGE, H.G.; MAVROGIANIS, P.A.; JAFFE, R.C. Cloning of a recombinant complementary DNA to a baboon (*Papio anubis*) estradiol-dependent oviduct-specific glycoprotein. **Molecular Endocrinology**, Bethesda, v.5, p.356-364, 1991.

FAZLEABAS, A.T; VERHAGE, H.G. The detection of oviduct-specific proteins in the baboon (*Papio anubis*) oviduct. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.35, p.455-462, 1986.

FELLMAN, J.H.; ROTH, E.S. The biological oxidation of hypotaurine to taurine: hypotaurine as an antioxidant. **Pro Clinic Biology Research**, v.179, p.71-82, 1985.

FOX, L.L.; SHIVERS, C.A. Immunologic evidence for addition of oviductal components to the hamster zona pellucida. **Fertility and Sterility**, v.26, p.599-608, 1975.

FLEMING, A.D.; YANAGIMACHI, R. Effects of various lipids on the acrosome reaction and fertilizing capacity of guinea-pig spermatozoa with special reference to the possible involvement of lypophospholipids in the acrosome reaction. **Gamete Research**. v.4, p.253-273, 1981.

GAHMBERG, C.G.; KOTOVUORI, P.; TONTTI, E. Cell surface carbohydrate in cell adhesion. Sperm cells and leukocytes bind to their target cells through specific oligosaccharide ligands. **APMIP**, Copenhagen, Supl. 27, v.100, p.39-52, 1992.

GANDOLFI, F.; BREVINI, T.A.L.; RICHARDSON, L.; BROWN, C.R.; MOOR, R.M. Characterization of proteins secreted by sheep oviduct epithelial cells and their function in embryonic development. **Development**, Cambridge, v.106, p. 303-312, 1989.

GANDOLFI, F.; MODINA, S.; BREVINI, T.A.L.; GALLI, C.; MOORE, R.M.; LAURIA, A. Oviduct ampullary epithelium contributes a glycoprotein to the zona pellucida, perivitelline space and blastomeres membrane of sheep embryos. **European Journal of Basic and Applied Histochemistry**, Cambridge, v.35, p.383-392, 1991.

GANDOLFI, F.; PASSONI, L.; MODINA, S.; BREVINI, T.A.L; VARGA, Z.; LAURIA, A. Similarity of an oviduct-specific glycoprotein between species. **Reproduction, Fertility and Development**, Melbourne, v.5, p.433-443, 1993.

GERENA, R.L.; KILLIAN, G.J. Electrophoretic characterization of proteins in oviduct fluid of cows during the estrous cycle. **Journal of Experimental Zoology**. New York, v.256, p.113-120, 1990.

GLASS, L.; HANSON, J.E. Transfer and localizations of material serum antigens by mouse pre-implantation embryos and oviduct epithelium. **Differentiation**, London, v.4, p.15-19, 1975.



GUERIN, P.; MENEZO, Y. Hypotaurine and taurine in gamete and embryo environments: de novo synthesis via the cysteine sulfinic acid pathway in oviduct cells. **Zygote**, v.3, p.333-343, 1995.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. São Paulo: Manole, 1995. p.32-41.

HILL, J.L. The effects of ovine oviductal estrus-associated glycoproteins. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.46, p.1367-1378, 1996.

HOFFMAN, L.; WINFREY, V.; BLAEUER, G.; OLSON, G. A haptoglobin-like glycoprotein is produced by implantation-stage rabbit endometrium. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.55, p.176-184, 1996.

JAFFE, R. Characterization of the human oviductal glycoprotein gene. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.54, supl.1, p.74, 1996.

JOSHI, M.S. Isolation, cell culture, and immunocytochemical characterization of oviduct epithelial cells of the cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.83, p.249-261, 1988.

KAN, F. W.K.; ROUX, E.; BLEAU, G. Immunolocalization of oviductin in endocytic compartments in the blastomeres of developing embryos in the golden hamster. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.48, p.77-88, 1993.

KAN, F.W.K.; St-JACQUES, S.; BLEAU, G. Immunoelectron microscopic localization of an oviductal antigen in hamster zona pellucida by use of a monoclonal antibody. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, Baltimore, v.36, p.1441-1447, 1988.

KAN, F.W.K.; St-JACQUES, S.; BLEAU, G. Immunocytochemical evidence for the transfer of an oviductal antigen to the zona pellucida of hamster ova after ovulation. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.40, p.585-598, 1989.

KAPUR, R.P.; JOHNSON, L.V. An oviductal fluid glycoprotein associated with ovulated mouse ova and early embryos. **Developmental Biology**, New York, v.112, p.89-93, 1985.

KAPUR, R.P.; JOHNSON, L.V. Selective sequestration of oviductal fluid glycoprotein in the perivitelline space of mouse oocytes and embryos. **Journal of Experimental Zoology**, New York, v.238, p.248-260, 1986.

KAPUR, R.P.; JOHNSON, L.V. Ultrastructural evidence that specialized regions of the murine oviduct contribute a glycoprotein to the extracellular matrix of mouse oocytes. **Anatomy Records**, v.221, p.720-729, 1988.

KING, R.S.; ANDERSON, S.H.; KILLIAN, G.J. Effect of bovine oviductal estrus-associated protein on the ability of sperm to capacitate and fertilize oocytes. **Journal of Andrology**, Champaign, v.15, p.468-478, 1994.

KING, R.S.; KILLIAN, G.J. Purification of bovine estrus-associated protein and localization of binding on sperm. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 51, p.34-42, 1994.

KOUBA, A.J.; ABEYDEERA, L.R.; ALVAREZ, I.M.; DAY, B.N.; BUHI, W.C. Effects of the porcine oviduct-specific glycoprotein on fertilization, polyspermy, and embryonic development in vitro. **Biology of Reproduction**, v.63, p.242-250, 2000.

LEESE, H.J. The formation of oviduct fluid. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.82, p.843-856, 1988.

McCAULEY, T.C.; BUHI, W.C.; DIDION, B.A.; DAY, B.N. Exposure of oocytes to porcine oviduct-specific glycoprotein reduces the incidence of polyspermic penetration *in vitro*. **Sixth International Conference on Pig Reproduction**, p.47, 2001.

MALAYER, L.R.; HANSEN, P.J.; BUHI, W.C. Secretion of proteins by cultured bovine oviducts collected from estrus through early diestrus. **Journal of Experimental Zoology**, New York, v.248, p.345-353, 1988.

MALETTE, B.; BLEAU, G. Biochemical characterization of hamster oviductin as a sulfated zona pellucida-binding glycoprotein. **Biochemistry Journal**, v.295, p.437-445, 1993.

MALETTE, B.; PAQUETTE, Y.; MERLEN, Y.; BLEAU, G. Oviductins possess chitinase and mucin-like domains: a lead in the search for the biological function of these oviduct-specific ZP-associating glycoproteins. **Molecular Reproduction and Development**, New York, v.41, p.384-397, 1995.

MENEZO, Y.; GUERIN, P. The mammalian oviduct: biochemistry and physiology. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, Amsterdam, v.73, p.99-104, 1997.



MERLEN, Y; BLEAU, G. Organization of a gene coding for an oviduct specific glycoprotein (oviductin) in the hamster. **Molecular Reproduction and Development**, New York, v.57, p.238-246, 2000.

MERLEN, Y; PAQUETE, Y; BLEAU, G. Protein sequence of hamster oviductin deduced from its cloned cDNA. **Journal of Obstetrics & Gynecology**, v.46, p.132, 1994.

MILLER, J.G.; SCHULTZ, G.A. Amino acid content of preimplantation rabbit embryos and fluids of the reproductive tract. **Biology Reproduction**, Champaign, v.36, p.125-129, 1987.

MONTEIRO, C.M.R. **Estudo comparativo das características anatômicas e histológicas do útero e tuba uterina de vacas e novilhas Nelore (*Bos indicus*)**. São Paulo, 1998. 121p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

MURRAY, M.K. An estrogen-dependent glycoprotein is synthesized and released from the oviduct in a temporal and region specific manner during early pregnancy in the ewe. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.48, p.446-453, 1993.

MURRAY, M; MESSINGER, S.M. Early embryonic development in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*) is accompanied by alterations in the distribution and intensity of an estrogen (E2)-dependent oviduct glycoprotein in the blastomere membrane and zona pellucida and in its association with F-actin. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.51, p.1126-1139, 1994.

NANCARROW, C.D.; HILL, J.L. Oviduct proteins in fertilization and early embryo development. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.49, p.3-13, 1995.

ODOR, D.L; AUGUSTINE, J.R. The microscopic structure of the oviductal epithelium in the immature and cycling common olive baboon, *Papio anubis*. **The Anatomical Record**, New York, v.193, p.639, 1979.

ODOR, D.L.; GADDUM-ROSSE, P.; RUMERY, R.E. Secretory cells of the oviduct of the pig tailed monkey, *macaca nemestrina*, during the menstrual cycle and after oestrogen treatment. **American Journal Anatomy**, Philadelphia, v.166, p.149-172, 1983.



ODOR, D.L.; GADDUM-ROSSE, P.; RUMERY, R.E.; BLANDAU, R.J. Cyclic variations in the oviductal ciliated cells during the menstrual cycle and after estrogen treatment in the pig-tailed monkey, *Macaca nemestrina*. **The Anatomical Record**, New York, v.198, p.35-57, 1980.

OLIPHANT, G.; REYNOLDS, A.B.; SMITH, P.F.; ROSS, P.R.; MARTA, J.S. Immunocytochemical localization and determination of hormone-induced synthesis of the sulfated oviductal glycoproteins. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.31, p.165-174, 1984.

OLIPHANT, G.; ROSS, P.R. Demonstration of production and isolation of three sulphated glycoproteins from the rabbit oviduct. **Biology of Reproduction**. Champaign, v.26, p.537-543, 1982.

OUHIBI, N.; MENEZO, Y.; BENET, G.; NICOLLET, B. Culture of epithelial cells derived from the oviduct of different species. **Human Reproduction**, Oxford, v.4, p.229-235, 1989.

PAQUETTE, Y.; MERLEN, Y.; MALETTE, B.; BLEAU, G. Allelic polymorphism in the hamster oviductin gene is due to a variable number of mucin-like tandem repeats. **Molecular Reproduction and Development**, New York, v.42, p.388-396, 1995.

PARRISH, J.J. Handout 1: Functional anatomy of the female and histology of the oviduct Disponível em: <http://www.wisc.edu/ansci_repro>. Acesso em: 02 de julho de 2003.

RAPISARDA, J.J.; MAVROGIANIS, P.A.; O'DAY-BOWMAN, M.B.; FAZLEABAS, A.T.; VERHAGE, H.G. Immunological characterization and immunocytochemical localization of an oviduct-specific glycoprotein in the human. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Illinois, v.76, p.1483-1488, 1993.

REUTER, L.M.; O'DAY-BOWMAN, M.B.; MAVROGIANIS, P.A.; FAZLEABAS, A.T.; VERHAGE, H.G. Incubation *in vitro* of golden (Syrian) hamster ovarian oocytes and human sperm with a human oviduct specific glycoprotein. **Molecular Reproduction and Development**, New York, v.38, p.160-169, 1994.

ROBERTS, G.P.; PARKER, J.M.; SYMONDS, H.W. Proteins in the luminal fluid from the bovine oviduct. **Journal Reproduction and Fertility**, v.45, p.301-313, 1975.



ROBERTS, G.P.; PARKER, J.M.; SYMONDS, H.W. Macromolecular components of genital tract fluids from the sheep. **Journal Reproduction and Fertility**, v.48, p.99-107, 1976.

ROBITAILLE, G.; ST-JACQUES, S.; POTIER, M.; BLEAU, G. Characterization of an oviductal glycoprotein associated with the ovulated hamster oocyte. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.38, p.687-694, 1988.

RODRIGUES, C.M.; DAY, J.R.; KILLIAN, G.J. Osteopontin gene expression in the Holstein bull reproductive tract. **Journal of Andrology**, Champaign, v.21, p.414-419, 2000.

SALAMONSEN, L.A.; NANCARROW, C.D. Cell biology of the oviduct and endometrium. In: FINDLAY, J.K. (Ed.) **Molecular biology of the female reproductive system**, New York: Academic Press, 1994. p 289-328.

SATOH, T.; ABE, H.; SENDAI, Y.; IWATA, H.; HOSHI, H. Biochemical characterization of bovine oviduct-specific sialo-glycoprotein that sustains sperm viability *in vitro*. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.1266, p.117-123, 1995.

SENDAI, Y.; ABE, H.; KIKUCHI, M.; SATOH, T.; HOSHI, H. Purification and molecular cloning of bovine oviduct-specific glycoprotein. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.50, p.927-934, 1994.

SENDAI, Y.; KOMIYA, H.; SUZUKI, K.; ONUMA, T.; KIKUCHI, M.; HOSHI, H.; ARAKI, Y. Molecular cloning and characterization of a mouse oviduct-specific glycoprotein. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.53, p.283-294, 1995.

SHAPIRO, S.S.; BROWN, N.E.; YARD, A.S. Isolation of an acidic glycoprotein from rabbit oviductal fluid and its association with the egg coating. **Journal Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.40, p.281-290, 1974.

SHARON, N. **Complex carbohydrates: their chemistry, biosynthesis, and functions**. Reading: Addison-Wesley; 1975. p.1-154.

SORENSEN, E.S.; PETERSEN, T.E. Identification of two phosphorylation motifs in bovine osteopontin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 190, p.200-205, 1994.



St-JACQUES, S; BLEAU, G. Monoclonal antibodies specific for an oviductal component associated with the hamster zona pellucida. **Journal Reproduction Immunology**, v.12, p.247-261, 1988.

SUTTON, R.; NANCARROW, C.D.; WALLACE, A.L.C. Estrogen and seasonal effect on the production of an estrus-associated glycoprotein in oviductal fluid of sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.77, p. 645-653, 1986.

SUTTON, R.; NANCARROW, C.D.; WALLACE, A.L.C.; RIBGY, N.W. Identification of an estrus-associated glycoprotein in oviductal fluid of sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.72, p.415, 1984.

TAKAHASHI, K.; SENDAI, Y.; MATSUDA, Y.; HOSHI, H.; HIROI, M.; ARAKI, Y. Mouse oviduct-specific glycoprotein gene: genomic organization and structure of the 5'-flanking regulatory region. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.62, p.217-226, 2000.

VERHAGE, H.G.; BOICE, M.L.; MAVROGIANIS, P.A.; DONNELLY, K.M.; FAZLEABAS, A.T. Immunological characterization and immunocytochemical localization of oviduct-specific glycoproteins in the baboon (*Papio anubis*). **Endocrinology**, Baltimore, v.124, p.2464-2472, 1989.

VERHAGE, H.G; FAZLEABAS, A.T. The *in vitro* synthesis of estrogen-dependent proteins by the baboon (*Papio anubis*) oviduct. **Endocrinology**, Baltimore, v.123, p. 522-558, 1988.

VERHAGE, H.G.; FAZLEABAS, A.T.; DONNELLY, K. The *in vitro* synthesis and release of proteins by the human oviduct. **Endocrinology**, Baltimore, v.122, p.1639-1645, 1988.

VERHAGE, H. G.; FAZLEABAS, A. T.; MAVROGIANIS, P.A.; O'DAY-BOWMAN, M.B.; DONNELLY, K.M.; ARIAS, E.B.; JAFFE, R. C. The baboon oviduct: characteristics of an oestradiol-dependent oviduct-specific glycoprotein. **Human Reproduction Update**, Oxford, v.3, p.541-552, 1997.

VERHAGE, H.G; JAFFE, R.C. Hormonal control of the mammalian oviduct: Morphological features and the steroid receptor systems. In: The Fallopian tube: Basic Studies and clinical Contributions. **Futura Publishing Company**, New York, v.10, p.107, 1986.

VERHAGE, H.G.; MAVROGIANIS, P.A.; BOICE, M.L.; LI, W.; FAZLEABAS, A.T. Oviductal epithelium of the baboon: hormonal control and the immunogold localization of oviduct-specific glycoproteins. **American Journal Anatomy**, Philadelphia, v.187, p.81-90, 1990.

VIEIRA, E.G.; CHAPMAN, D.A.; KILLIAN, G.J. Evidence for multiple forms of estrus-associated protein in bovine oviductal fluid associated with oviduct region and stage of the estrous cycle. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.60, supl.1, p.202, 1999.

VIEIRA, E.G.; CHAPMAN, D.A.; KILLIAN, G.J. Terminal carbohydrate characterization of multiple forms of estrus associated proteins in bovine oviductal fluid using lectin probes. **Biology of Reproduction**, Champaign, v.62, supl.1, p.262, 2000.

WATANABE, T.; KOBORI, K.; MIYASHITA, K.; FUJII, T.; SAKAI, H.; UCHIDA, M.; TANAKA, H. Identification of glutamic acid 204 and aspartic acid 200 in chitinase A1 of *bacillus circulans* WL-12 as essential residues for chitinase activity. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.268, p.567-572, 1993.

WATERMAN, R.A.; WALL, R.J. Lipid interactions with in vitro development of mammalian zygotes. **Gamete Research**, v.21, p.243-254, 1988.

WAY, A.; HOFFMAN, L.; SHOPE, N.; MILLER, M.; KILLIAN, G. Immunodetection of a 40 kDa haptoglobin-like protein in bovine oviductal fluid (ODF) and reproductive tract tissues. **Biology of Reproduction**, New York, v.58, supl., p.86, 1998.

WAY, A.; ZACZEK, D.; KILLIAN, G. Presence of a haptoglobin-like protein in bovine oviductal fluid (ODF). **Biology of Reproduction**, New York, v.56, supl., p.134, 1997.

WEGNER, C.C.; KILLIAN, G.J. In vitro and in vivo association of an oviduct estrus-associated protein with bovine zona pellucida. **Molecular Reproduction and Development**, v.29, p.77-84, 1991.

WEGNER, C.C.; KILLIAN, G.J. Origin of estrus-associated glycoproteins in bovine oviduct fluid. **Journal of Reproduction and Fertility**, Melbourne, v.95, p.841-854, 1992.

YANG, C.H.; YANAGIMACHI, R. Differences between mature ovarian and oviductal oocytes: A study using the golden hamster. **Human Reproduction**, Oxford, v.4, p.63-71, 1989.

