



Proteoma uterino durante o ciclo reprodutivo e gestação em animais domésticos

Uterine proteomics during the reproductive cycle and pregnancy in domestic animals

L.A. Freitas^{1,3}, P.R. Villamil², A.A.A.N. Moura², L.D.M. Silva¹

¹Laboratório de Reprodução de Carnívoros, FAVET/UECE, Fortaleza, CE, Brasil.

²Laboratório de Fisiologia da Reprodução, Zootecnia/UFC, Fortaleza, CE, Brasil.

³Correspondência: lualaf@hotmail.com

Resumo

A abordagem proteômica tem permitido estudos da expressão proteica em diferentes tecidos e fluidos corporais, em condições e/ou momentos distintos. O recente progresso de metodologias nessa área tem permitido o estudo de moléculas responsáveis por processos biológicos na reprodução animal. Dessa forma, este trabalho buscou relatar os principais estudos abordando o proteoma uterino durante o ciclo reprodutivo e a gestação em animais domésticos. O estudo da dinâmica molecular uterina tem permitido a identificação de proteínas com papel biológico na reprodução de fêmeas domésticas, gerando perspectiva tanto para a aplicação de biotecnologias quanto para o diagnóstico e o tratamento precoce de alterações reprodutivas.

Palavras-chave: ciclo estral, endométrio, gestação, proteínas, proteômica, útero.

Abstract

Proteomic approach has allowed studies of protein expression in different tissues and body fluids in discrete conditions and/or time points. Recent advances of methodologies in this field have allowed the study of molecules responsible for biological processes in animal reproduction. Thus this study aimed to report the main studies addressing the uterine proteome during the reproductive cycle and pregnancy in domestic animals. The study of uterine molecular dynamics has allowed the identification of proteins with biological role in female reproduction of domestic generating prospect for application of biotechnology and early diagnosis and treatment of reproductive disturbances.

Keywords: endometrium, estrous cycle, pregnancy, protein, proteomic, uterus.

Introdução

O endométrio é um tecido plástico caracterizado como o único entre os tecidos adultos que se remodela a cada ciclo reprodutivo. Suas células sofrem uma variedade de reações adaptativas em resposta às mudanças hormonais que ocorrem nas diferentes fases do ciclo e em resposta ao embrião (Gray et al., 2001). Além disso, secreções provenientes das glândulas endometriais determinam o microambiente ideal para a capacitação e o transporte espermático, bem como a sobrevivência e o desenvolvimento embrionário (Buhi et al., 1992; Gray et al., 2001; Filant e Spencer, 2014).

Nesse contexto, para o desempenho das funções uterinas, estão envolvidas diferentes macromoléculas, entre elas, as proteínas. Estas são secretadas pelo endométrio e atuam na nutrição do embrião, na implantação, no reconhecimento da gestação e na manutenção luteal. Por esse motivo, o seu estudo tem relevância na reprodução de fêmeas, uma vez que a quantidade, bem como o tipo de proteína, altera-se com o *status* fisiológico e a fase de diferenciação celular (Chen et al., 2009; Chae et al., 2011; Faulkner et al., 2013). Desse modo, nos últimos anos, o estudo proteômico da dinâmica molecular uterina, assim como o seu papel na atividade uterina, tem ganhado espaço e gerado perspectiva para a aplicação de biotecnologias, o diagnóstico e o tratamento precoce de alterações reprodutivas (Koch et al., 2010).

A proteômica é o estudo descritivo e quantitativo do conjunto de proteínas codificadas pelo genoma em condições normais ou anormais resultantes de processos pós-transcricionais e pós-traducionais (Valledor e Jorrián, 2011). Estudos abordando o proteoma uterino, com amostras de fluido ou tecido, já foram descritos em situações fisiológicas em fêmeas de diferentes espécies, tais como cadela (Buhi et al., 1992), gata (Boomsma e Verhage, 1987), ovelha (Satterfield et al., 2006), porca (Chae et al., 2011), égua (Hayes et al., 2012) e vaca (Fröhlich et al., 2008; Faulkner et al., 2013). Além disso, trabalhos têm sido realizados com o proteoma do útero em condições associadas à infertilidade em vacas (Minhas e Saxena, 2008) e éguas (Wolf et al., 2012), demonstrando a importância de se conhecerem as proteínas envolvidas nesses processos para a compreensão da fisiologia ou das enfermidades reprodutivas.

Em virtude do exposto, a presente revisão buscou relatar os principais estudos abordando o proteoma uterino durante o ciclo reprodutivo e a gestação em animais domésticos.



Útero: constituição e modificações fisiológicas

Embora o desenvolvimento organogenético e a diferenciação da maioria dos órgãos do aparelho reprodutor feminino estejam completos ao nascimento, o tecido uterino terá seu desenvolvimento concluído somente após o nascimento (Gray et al., 2001). O processo de morfogênese pós-natal estabelece a diferenciação de três elementos histológicos clássicos que compõem a parede do útero: endométrio; miométrio e perimétrio. Tal diferenciação ocorre por eventos de organização e estratificação do estroma endometrial; crescimento e diferenciação do miométrio; e desenvolvimento coordenado das glândulas endometriais (Filant e Spencer, 2014).

O endométrio, camada funcional do útero, sofre crescimento, diferenciação e remodelação tecidual durante a vida reprodutiva, em resposta a processos cíclicos e à gestação. Este processo de remodelação é regulado por vários fatores, tais como os hormônios esteroides, as citocinas e os fatores de crescimento. Além disso, a remodelação tecidual compartilha características de reparo a injúrias caracterizadas por padrões de sinalização matriz dependente e por migração e reorganização especializada do citoesqueleto e de receptores da matriz extracelular (Chen et al., 2009). Sob ação hormonal, os ciclos reprodutivos contemplam as fases proliferativa e secretória. Durante a fase proliferativa, sob influência do estrogênio, todos os compartimentos celulares e as matrizes extracelulares de suporte são restaurados pela elevada atividade mitótica de todos os tipos celulares endometriais. Após a ovulação, sob ação da progesterona, a fase secretória, por sua vez, é caracterizada pela reorganização e diferenciação dos vários tipos celulares em preparação para que haja a implantação (Salamonsen, 2008).

Amostras para estudo proteômico do útero

Mudanças moleculares nas glândulas e no epitélio endometrial resultam em alterações na composição das secreções uterinas. O fluido uterino é rico em nutrientes, vitaminas e proteínas, que fornecem suporte e modificam algumas características uterinas para garantir o estabelecimento e a manutenção da gestação. Esses componentes são derivados principalmente das secreções das glândulas endometriais, mas também contemplam as secreções das tubas uterinas, do transudato de proteínas do sangue e do blastocisto em desenvolvimento quando há concepção (Gao et al., 2009).

Durante o ciclo reprodutivo e a gestação, também ocorrem mudanças no tecido uterino na composição de moléculas de adesão, ácidos graxos e fatores de crescimento (Quenby et al., 2007); nos complexos juncionais celulares e na regulação de cálcio (Buck et al., 2012). Embora a análise de tecidos de biópsia uterina tenha alguns méritos, sobretudo no estudo de enfermidades, esta avaliação apresenta desvantagens. Uma delas é caracterizada pela diversidade morfológica do tecido endometrial, que leva a alterações significativas na arquitetura e na composição celular entre as fases do ciclo, equivocando a identificação de proteínas de compartimentos celulares com as de compartimentos estromais, epiteliais ou vasculares. Além disso, muitas proteínas identificadas em amostras de biópsia de tecido ou são estruturais ou proteínas associadas com as funções celulares básicas, tais como a proliferação (Evans et al., 2012).

Trabalhos demonstram que amostras de tecido e fluido não apresentam proteínas quanti ou qualitativamente idênticas, ainda que a maioria das proteínas sejam comuns (Hannan et al., 2012; Salamonsen et al. 2013). Acredita-se que, para o estudo do proteoma uterino, amostras de fluido apresentem resultados superiores ao tecido devido à forma menos invasiva de obtenção da amostra e à menor quantidade e complexidade de proteínas encontradas (Hannan et al., 2012), embora se obtenham pequenos volumes de amostras de fluido uterino e tais proteínas sejam, em grande parte, semelhantes às proteínas do plasma sanguíneo (Al Rumaih et al., 2006). Em vacas, foi verificado, por meio de proteômica quantitativa (iTRAQ), a diferença entre a composição proteica do fluido uterino (sétimo dia do ciclo) e o plasma sanguíneo, em que 53 proteínas foram diferentemente expressas, incluindo proteínas que participam de processos metabólicos, atividade antioxidante e modulação imune (Faulkner et al., 2012).

Outras fontes de obtenção de amostra relatadas na literatura citam a urina para identificação de proteínas associadas à gestação em vacas. Utilizando-se técnicas de eletroforese bidimensional, *Western blot* e espectrometria de massa (MALDI- TOF MS/MS), foram detectadas proteínas urinárias relacionadas à presença do embrião/feto, mas sem relação com a duração da gestação (Pyo et al., 2003).

Análise proteômica uterina durante a ciclicidade reprodutiva

Em muitas espécies, tais como em ruminantes e suínos, já se relatou que o endométrio secreta uma variedade de proteínas reguladas pela progesterona e pelo estrogênio no lúmen uterino durante o ciclo estral e a gestação inicial (Faulkner et al., 2013; Lee et al., 2013). Embora se conheçam os princípios da regulação e da ação hormonal no endométrio durante o ciclo reprodutivo, detalhes do mecanismo molecular proteico ainda não são compreendidos nas diferentes espécies (Al Rumaih et al., 2006) e poucos trabalhos abordam o proteoma uterino durante as fases do ciclo (Fröhlich et al., 2008; Mullen et al., 2012; Faulkner et al., 2013; Lee et al., 2013).



Diferenças no perfil proteômico do fluido uterino de vacas foram encontradas durante o estro e a fase luteal. De 517 proteínas encontradas, 199 foram diferentemente expressas, sendo mais abundantes na fase proliferativa a transferrina, as proteínas de choque térmico (HSP 90- α), a miosina-9, a α 2-macroglobulina e o fator de alongação 1- α 1 (EEFA1), e, na fase secretória, proteínas relacionadas à remodelação tecidual, como a ceruloplasmina, a isocitrato dehidrogenase, a α -enolase, a fosfatase alcalina e os fatores da cascata da coagulação (C1s, C3, C4, C5, C6, C7, fator B, e fator H; Soleilhavoup et al., 2016). Proteínas como aldose redutase, placoglobina e proteína de choque térmico 27 (HSP-27) mostraram maior expressão no dia 15 do ciclo, em comparação com o dia três. Tal fato demonstra que mudanças uterinas dependem tanto da fase do ciclo como das moléculas intrauterinas, o que pode ser útil futuramente para avaliação de problemas de fertilidade, concepção e implantação (Morris et al., 2007). Ulbrich et al. (2009) descreveram a presença do gene *Serpina 14*, que codifica as proteínas serpinas, em amostras do fluido uterino, durante o estro de vacas, antes descrita somente em grandes quantidades durante a gestação, o que levanta a hipótese de seu papel na adequação do ambiente uterino para o recebimento dos gametas.

Ao avaliar-se o fluido uterino durante o diestro inicial e final em vacas, observou-se que a concentração de progesterona gerou mudanças no proteoma uterino, contribuindo para o estudo de mecanismos moleculares ligados a perdas embrionárias. Maior expressão de proteínas com função de transporte, invasão e movimento celular, metabolismo, estresse oxidativo e resposta imune foi identificada no dia sete, enquanto aquelas que participam do metabolismo de carboidratos, resposta imune, estresse oxidativo e comunicação celular foram identificadas durante o dia 15 (Fualkner et al., 2013). Em outro estudo com o fluido uterino de vacas, foi possível identificar 300 proteínas no dia sete e 510 no dia 13 do ciclo estral, das quais 281 foram comuns aos dois períodos estudados. Cinco proteínas foram mais abundantes no dia sete em comparação com o dia 13, como a citoqueratina 10 e a histamina. Vinte e nove proteínas estavam mais abundantes no dia 13 em comparação com o dia sete, entre as quais a inibidor-2 legumina, a metaloprotease, a proteína cromogranina A e a quinase piridoxal. Dessa forma, há evidente complexidade associada ao proteoma do fluido uterino e às fases do ciclo estral em vacas, em virtude da expressão de proteínas com funções biológicas de remodelação do ambiente uterino em preparação para implantação; metabolismo de nutrientes; desenvolvimento e proteção; manutenção da saúde uterina e modulação imunitária (Mullen et al., 2012).

O proteoma do fluido uterino de outras espécies, como a suína, também apresenta variações em função da fase do ciclo estral (Lee et al., 2013). Foram identificadas 44 proteínas diferentemente expressas durante o proestro e o estro de porcas adultas. Entre as proteínas identificadas, as concentrações de ribulose fosfato 3 epimerase e enoil CoA hidratase aumentaram no estro enquanto DDAH-2 (dimetilarginina dimetilargino hidrolase 2), cadeia α -cristalina b, glutatona S-transferase x, carbonil redutase-1 e L-xilulose reduziram no mesmo período. Os autores sugeriram que a DDAH2, enzima responsável pelo metabolismo do óxido nítrico sintetase, é uma proteína estágio específica do proestro, podendo estar envolvida com a vasodilatação uterina, pois está 3,6 vezes mais abundante durante essa fase, momento em que há máxima vascularização uterina antes da ovulação (Lee et al., 2013).

Proteínas endometriais relacionadas à presença de hormônios ovarianos podem ser encontradas nas espécies canina, felina e equina. Foi demonstrada a presença de proteínas da matriz celular (CP1 - CP9) sob ação sinérgica da progesterona e do estrógeno exógenos em cadelas ovariectomizadas, no entanto não foram observadas quando os hormônios foram administrados de modo independente (Buhi et al., 1992). Em gatas ovariectomizadas tratadas com hormônios ovarianos e gestante, foi detectada uma proteína de 30 kDa e pI entre 6,5 e 7 somente na presença de progesterona independente da presença ou ausência de estrógeno (Boomsma e Verhage, 1987). Além disso, em estudos com eletroforese 1D, foi observado que gatas ovariectomizadas secretam proteínas dependentes de estrógenos, uma vez que não foram detectadas em gatas não tratadas e naquelas somente tratadas com progesterona (Murray et al., 1985). Em éguas, secreções uterinas obtidas durante o ciclo estral demonstraram que a fosfatase ácida é significativamente afetada pelo dia do ciclo e que a uteroferrina estava presente em lavados uterinos de animais ovariectomizados tratados com progesterona, mas não estava presente em fêmeas tratadas apenas com estrógeno (Zavy et al., 1982).

Análise proteômica uterina durante a gestação

Requerimentos hormonais para receptividade endometrial são espécie-dependentes, porém a progesterona é essencial para os mamíferos. A progesterona induz a diferenciação do estroma uterino, estimula as secreções das glândulas endometriais, o acúmulo de vacúolos basais no epitélio glandular e modifica o padrão de secreção de proteínas pelas células endometriais, proporcionando um ambiente uterino apropriado para o desenvolvimento inicial do embrião, implantação e placentação (Niswender, 2002). Trabalhos demonstram que existe uma forte e positiva relação entre a concentração de progesterona e a sobrevivência do concepto devido à alteração na expressão gênica endometrial por mecanismos ainda não elucidados em bovinos (McNeill et al., 2006; Forde et al., 2011). Aliado a isso, os períodos pré e de implantação são regulados por complexos mecanismos de sinalização espécie-específica entre embrião e endométrio, limitados a um período de



receptividade uterina (Jalali et al., 2015).

Proteínas ligadas aos mecanismos de reconhecimento e estabelecimento da gestação pelo crescimento do blastocisto são vitais para a manutenção do corpo lúteo na fase embrionária inicial, uma vez que boa parte da mortalidade embrionária está relacionada à ocorrência de problemas de sinalização conceito-maternal (Forde et al., 2011). Tais mecanismos baseiam-se na produção pelo conceito do interferon-tau (IFN- τ) em ruminantes (Satterfield et al., 2006), produção do interferon-alfa (INF- α) e gama (INF- γ) em suínos (Bazer et al., 1994), migração intrauterina em equinos, produção de proteínas (Forde et al., 2015) e de estrógenos em equinos e suínos. Embora o estrógeno tenha função luteolítica em várias espécies mamíferas, em suínos os estrogênios produzidos pelos conceptos são reconhecidos como luteotróficos para a espécie (Bazer et al., 1994).

O IFN- τ apresenta diferentes isoformas de massa molecular de aproximadamente 18 kDa em ovinos e entre 22 a 24 kDa em bovinos. O INF- α e o INF- γ representam 25 e 75%, respectivamente, da produção de proteínas secretadas pelo conceito em suínos (Bazer et al., 1994). Suas funções são inerentes aos interferons, como potente atividade antiviral, inibição da proliferação celular e efeitos imunomodulares, mas também desempenham atividades distintas durante a gestação, que envolvem o controle da expressão gênica, como a inibição da regressão do corpo lúteo, pela supressão da liberação de prostaglandinas, ocitocina e estradiol no endométrio, intensificação da degradação da proteína quinase C e inibição da expressão da enzima prostraglandina F2 sintetase (Marques et al., 2007).

Estudos demonstraram alterações no proteoma do endométrio bovino durante o período pré-implantação para que haja condições para a sobrevivência e o desenvolvimento do conceito. Quatro proteínas foram abundantes no endométrio bovino gestante: inibidor de dissociação Rh β ; α -hidroxiesteroide dehidrogenase (20 α -HSD); dehidrogenase isocitrato solúvel NADP⁺-dependente 1; e proteína de ligação acil-CoA (Berendt et al., 2005). Ao se comparar o fluido uterino bovino de fêmeas gestantes e não gestantes durante o período de pré-implantação, foram identificadas nove proteínas mais expressas em fêmeas gestantes: anidrase carbônica, proteína do choque térmico 70, dehidrogenase isocitrato, difosfato nucleosídeo quinase, peroxiredoxina 1, nucleosídeo purina fosforilase, tioredoxina e triosefosfato isomerase; e quatro proteínas foram pouco abundantes: cistatina E/M, legumaina, proteína de ligação retinol (RBP) e metaloproteinase matriz inibidor tecidual 2 (TIMP-2; Ledgard et al., 2009).

Quinze proteínas no fluido de vacas gestantes foram relatadas como específicas do desenvolvimento embrionário. Estas apresentavam funções de crescimento e remodelação, regulação do sistema imune, balanço do estresse oxidativo e nutrição. No entanto, proteínas de remodelação tecidual, como a transgelina e a proteína placentar like PP9, estavam presentes tanto no útero não gestante como no gestante no dia 16 (Koch et al., 2010). Da mesma forma, ao se comparar o proteoma do fluido uterino de fêmeas gestantes em um período pré-implantação inicial (dia sete) e mais tardio (dia 13), foi verificada a presença de 34 proteínas diferencialmente expressas com papel biológico durante a gestação inicial de remodelação uterina em preparação para implantação, metabolismo nutricional, crescimento embrionário, desenvolvimento, proteção e manutenção da saúde uterina e modulação imune (Mullen et al., 2012). Outro trabalho foi realizado no intuito de retirar o fator individual, ao comparar em uma mesma fêmea o proteoma uterino não gestante e a presença de embriões na qual foi destacada a presença e a importância de proteínas relacionadas à imunidade (Munõz et al., 2012).

Porém, não só a presença do embrião induz a mudanças no proteoma uterino, mas o sexo do embrião leva à expressão diferencial de proteínas no fluido uterino bovino. Vinte e três proteínas são diferentemente expressas ao se comparar o fluido uterino de embriões fêmeas com o de machos, dos grupos de proteínas proteasoma/imunoproteasoma, antioxidante/proteínas de resposta antiestresse e enzimas envolvidas na glicólise. Nenhuma proteína é regulada no embrião macho. Esses dados geram informações úteis para melhorar o meio de cultura embrionária *in vitro* e possibilitar futuramente investigações quanto à seleção sexual (Gómez et al., 2013).

Em cadelas, um complexo de proteínas da matriz celular (CP1 a CP9) é sintetizado e secretado pelo endométrio de animais cíclicos e gestantes entre os dias três e 10 do diestro, antes do início da implantação, ou seja, a presença do embrião não difere na produção de proteínas uterinas. Dois maiores grupos de proteínas, CP5 e CP6, relacionados ao crescimento, ao desenvolvimento, à nutrição, à implantação e à imunoproteção embrionária parecem ser diferentemente regulados durante esses dias, sugerindo o controle por ação da progesterona (Buhi et al., 1992). Foi descrito que o fluido uterino avaliado aos 16 e 24 dias após o pico de LH na presença do embrião, ou seja, no período pós-implantação, modifica a produção proteica uterina, destacando proteínas envolvidas na conexão entre o endométrio e o embrião (Derussi et al., 2014).

Em gatas, foi demonstrada a presença do fator de crescimento semelhante à insulina ligante de proteína 1 (IGFBP1) nos sítios de implantação, em resposta à invasão do trofoblasto, similar à função da CP2 já identificada nessa espécie (Boosma et al., 1994).

Em porcas e cadelas, a CP6 foi identificada no fluido e caracterizada como uma proteína da família das proteínas de ligação do retinol, induzida pela progesterona. Essa proteína é essencial para a nutrição do conceito no período pré-implantação (Adams et al., 1981; Buhi et al., 1995).

Proteínas secretadas no lume uterino entre os dias 10 e 13 aumentaram em porcas durante o ciclo estral



e a gestação, indicando que a concentração de proteínas durante a gestação inicial é independente da presença do conceito e estas podem regular o endométrio e o embrião (Kayser et al., 2006). No entanto, uma variedade de proteínas tem sido descrita em resposta e manutenção da gestação por meio de análise proteômica do tecido endometrial de porcas gestantes e não gestantes (Chae et al., 2011; Jalili et al., 2015). Estes autores descreveram 63 proteínas reguladas diferentemente entre o útero gestante e o não gestante, sendo 10 dessas proteínas relacionadas com o citoesqueleto e a atividade de ligação (transferrina, proteína DJ 1, transgelina, galectina 1, septina 2, estatamina 1, cofilina 1, fascina 1, proteína do choque térmico 90 e 27).

Em ovelhas, proteínas relacionadas com a implantação foram diferentemente expressas no endométrio caruncular e intercaruncular com diferentes funções de síntese e degradação, antioxidação, integridade estrutural celular, adesão e sinalização de transdução (Al Gubory et al., 2014). Proteínas como a aldose redutase, actina citoplasmática e transferrina foram relatadas durante o período pré-implantação em ovinos (Lee et al., 1998).

As galectinas e a osteopontina foram relatadas como sendo importantes na regulação da sobrevivência do conceito, no crescimento e na adesão durante a implantação em ovelhas (Satterfield et al., 2006). Trabalho recente demonstra a atuação da osteopontina como molécula-chave no processo de implantação em ovinos e suínos (Johnson et al., 2014). As catepsinas, relatadas no útero ovino gestante, são peptidases que funcionam degradando a matriz extracelular, atuando no catabolismo intracelular das proteínas e no processamento de pró-hormônios. Ademais, são consideradas proteínas reguladoras da produção de hormônios placentários e ovarianos e estimuladoras da produção do IFN- τ pelo blastocisto (Song et al., 2005).

Em éguas, foi demonstrada uma variedade de proteínas no fluido uterino durante o início da gestação, dentre elas a P19 (Hayes et al., 2012), conhecida como uterocalina, caracterizada como a maior proteína endometrial dependente de progesterona identificada durante a fase secretória e a gestação inicial. Tal proteína tem função relacionada com o transporte de pequenas substâncias lipofílicas do endométrio para o embrião e, durante a fase secretória, pode apresentar funções relacionadas à fertilidade no útero não gestante, pois a produção inadequada foi relatada em éguas inférteis (Stewart et al., 2000).

Considerações finais

Diversas proteínas uterinas foram descritas na literatura para as diferentes espécies domésticas com papel biológico durante o ciclo reprodutivo e a gestação. Tais proteínas apresentam funções importantes na preparação uterina para o recebimento dos gametas e dos embriões, relacionadas ao metabolismo, à remodelação tecidual, à nutrição, à resposta imune, ao estresse oxidativo e ao crescimento e ao desenvolvimento embrionário. Em mulheres, a utilização prática da proteômica tem permitido a obtenção de marcadores moleculares relevantes na avaliação de enfermidades e falhas de concepção. No entanto, estudos em animais ainda são de cunho fundamental para o esclarecimento da presença, função e interação entre moléculas proteicas em diferentes situações e utilizando-se amostras distintas. Ademais, muitas questões ainda precisam ser elucidadas quanto à funcionalidade, à forma e ao momento de atuação das proteínas para que futuramente possa ser aplicada a proteômica em biotécnicas reprodutivas e úteis no diagnóstico e tratamento de enfermidades.

Referências

- Adams KL, Bazer FW, Roberts RM.** Progesterone-induced secretion of a retinol-binding protein in the pig uterus. *J Reprod Fertil*, v.62, p.39-47, 1981.
- Al Gubory KH, Arianmanesh M, Garrel C, Bhattacharya S, Cash P, Fowler PA.** Proteomic analysis of the sheep caruncular and intercaruncular endometrium reveals changes in functional proteins crucial for the establishment of pregnancy. *Reproduction*, v.147, p.599-614, 2014.
- Al Rumaih HM, Price KM, Gillott DJ, Grudzinskas GJ.** Proteomic analysis of uterine flushing from infertile women in the proliferative phase of the menstrual cycle with respect to estrogen level 2. *Middle East Fertil Soc J*, v.11, p.183-190, 2006.
- Berendt FJ, Frohlich T, Schmidt SE, Reichenbach HD, Wolf E, Arnold GJ.** Holistic differential analysis of embryo-induced alterations in the proteome of bovine endometrium in the preattachment period. *Proteomics*, v.5, p.2551-2560, 2005.
- Bazer FW, Ott TL, Spencer TE.** Pregnancy recognition in ruminants, pigs and horses: Signals from the trophoblast. *Theriogenology*, v.41, p.79-94 1994.
- Boosma RA, Mavrogianis PA, Fazleabas AT, Jaffe RC, Verhage HG.** Detection of insulin-like growth factor binding protein-1 in cat implantation sites. *Biol Reprod*, v.51, p.392-399, 1994.
- Buck VU, Windoffer R, Leube RE, Classen-Linke I.** Redistribution of adhering junctions in human endometrial epithelial cells during the implantation window of the menstrual cycle. *Histochem Cell Biol*, v.137, p.777-790, 2012.
- Buhi WC, Alvarez IM, Shille VM, Thatcher M-J, Harney JP, Cotton M.** Purification and characterization of a uterine retinol-binding protein in the bitch. *Biochem J*, v.311, p.407-415, 1995.
- Buhi WC, Thatcher MJ, Shille VM, Alvarez IM, Lannon AP, Johnson J.** Synthesis uterine endometrial



- proteins during early diestrus in the cyclic and pregnant dog, and after estrogen and progesterone treatment. *Biol Reprod*, v.47, p.326-336, 1992.
- Boomsma RA, Verhage HG.** Detection of a progesterone-dependent secretory protein synthesized by cat endometrium. *Biol Reprod*, v.37, p.117-126, 1987.
- Chae J, Kim J, Lee SG, Jeon YJ, Kim DW, Soh Y, Seo KS, Lee HK, Choi NJ, Ryu J, Kang S, Cho SK, Lee DS, Chung HM, Koo DB.** Proteomic analysis of pregnancy-related proteins from pig uterus endometrium during pregnancy. *Proteome Sci*, v.41, p.1-16, 2011.
- Chen JIC, Hannan NJ, Mak Y, Nicholis PK, Zhang J, Rainczuk A, Stanton PG, Robertson DM, Salamonsen LA, Stephens AN.** Proteomic characterization of midproliferative and midsecretory human endometrium. *J Proteomics Res*, v.8, p.2032-2044, 2009.
- Derussi AAP, Volpato R, Guatolini CRF, Ackermann CL, Taffarel M, Cardoso GS, Souza FF, Lopes MD.** Evaluation of protein profile in uterine secretion in pregnant bitches during peri-implantation period. *Anim Reprod*, v.11, p.482-482, 2014.
- Evans GE, Martinez-Conejero JA, Phillipson GT, Simon C, McNoe LA, Sykes PH.** Gene and protein expression signature of endometrial glandular and stromal compartments during the window of implantation. *Fertil Steril*, v.97, p.1365-1373, 2012.
- Faulkner S, Elia G, O'Boyle P, Dunn M, Morris D.** Composition of the bovine uterine proteome is associated with stage of cycle and concentration of systemic progesterone. *Proteomics*, v.13:p.3333-3553, 2013.
- Faulkner S, Elia G, O'Boyle P, Dunn M, Morris D.** A comparison of the bovine uterine and plasma proteome using iTRAQ proteomics. *Proteomics*, v.12, p.2014-2023, 2012.
- Filant J, Spencer T.** Uterine glands: biological roles in conceptus implantation, uterine receptivity and decasualization. *Int J Dev Biol*, v.58, p.107-116, 2014.
- Forde N, Bazer FW, Spencer TE, Lonergan P.** 'Conceptualizing' the endometrium: identification of conceptus-derived proteins during early pregnancy in cattle. *Biol Reprod*, v.92, p.1-13, 2015.
- Forde N, Beltman ME, Duffy GB, Duffy P, Mehta JP, Gaora PO, Roche JF, Lonergan P, Crow MA.** Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle: effect of low circulating progesterone and consequences for conceptus elongation. *Biol Reprod*, v.84, p.266-278, 2011.
- Fröhlich T, Kashirin, R, Bolbrinker P, Reichenbach H-D, Wolf E, Arnold GJ.** Estrous cycle-dependent changes in the bovine endometrium proteome. *Fertil Dev*, v.21, p.152-152, 2008.
- Gao H, Wu G, Spencer TE, Johnson GA, Bazer FW.** Select nutrients in the ovine uterine lumen. II. Glucose transporters in the uterus and peri-implantation conceptuses. *Biol Reprod*, v.80, p.94-104, 2009.
- Gómez E, Caamaño JN, Corrales FJ, Díez C, Correia-Álvarez E, Martín D, Trigel B, Carrocera S, Mora MI, Pello-Palma J, Moreno JF, Muñoz M.** Embryonic sex induces differential expression of proteins in bovine uterine fluid. *J Proteome Res*, v.12:1199-1210, 2013.
- Gray CA, Bartol FF, Tarleton BJ, Wiley AA, Johnson GA, Bazer FW, Spencer TE.** Developmental biology of uterine glands. *Biol Reprod*, v.65, p.1311-1323, 2001.
- Hannan NJ, Nie G, Rainczuk A, Rombauts LJ, Salamonsen LA.** Uterine lavage or aspirate: which view of the intrauterine environment? *Reprod Sci*, v.19, p.1125-1132, 2012.
- Hayes MA, Quinn BA, Lillie BN, Côté O, Bienzle D, Waelchli RO, Betteridge KJ.** Changes in various endometrial proteins during cloprostenol-induced failure of early pregnancy in mares. *Anim Reprod*, v.9, p.723-741, 2012.
- Jalali BM, Bogacki M, Dietrich M, Likso P, Wasielek M.** Proteomic analysis of porcine endometrial tissue during peri-implantation period reveals altered protein abundance. *J Proteomics*, v.125, p.76-88, 2015.
- Johnson GA, Burghardt R, Bazer FW.** Osteopontin: a leading candidate adhesion molecule for implantation in pigs and sheep. *J Anim Sci Biotechnol*, v.5, p.2-14, 2014.
- Kayser JP, Kim JG, Cerny RL, Vallet JL.** Global characterization of porcine intrauterine proteins during early pregnancy. *Reproduction*, v.132, p.379-388, 2006.
- Koch JM, Ramadoss J, Magness RR.** Proteomic profile of uterine luminal fluid from early pregnant ewes. *J Proteome Res*, v.9, p.3878-3885, 2010.
- Ledgard AM, Lee RSF, Peterson J.** Bovine endometrial legumain and TIMP-2 regulation in response to presence of a conceptus. *Mol Reprod Dev*, v.76, p.65-74, 2009.
- Lee RS, Wheeler TT, Peterson AJ.** Large-format, two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of ovine peri implantation uterine luminal fluid proteins: Identification of aldose reductase, cytoplasmic actin, and transferrin as conceptus-synthesized proteins. *Biol Reprod*, v.59:743-752, 1998.
- Lee WY, Chai SY, Lee KH, Park HJ, Kim JH, Kim B, Kim NH, Jeon HS, Kim IC, Choi HS, Song H.** Identification of the DDAH2 protein in pig reproductive tract mucus: a putative oestrus detection marker. *Anim Reprod Sci*, v.48, p.e13-16, 2013.
- Marques VB, Bertan, CM, Almeida, AB, Meirelles FV, Papa PC, Binelli M.** Interferon-tau e o reconhecimento da gestação em bovinos. *Rev Bras Reprod Anim*, v.31, p.479-488, 2007.
- McNeill RE, Sreenan JM, Diskin MG, Cairns MT, Fitzpatrick R, Smith TJ, Morris, DG.** Effect of systemic progesterone concentration on the expression of progesterone-responsive genes in the bovine endometrium



- during the early luteal phase. *Reprod Fertil Dev*, v.18 p.573-583, 2006.
- Minhas V, Saxena HM.** Detection of a uterine secretory protein unique to uninfected repeat breeder (infertile) cows by SDS- PAGE. *Int J Vet Med*, v.4, p.1-4, 2008.
- Morris DG, Kenny DA, Earley B, Patton J, Murphy J, Diskin MG, Brass A, Wathes DC.** Effect of stage of cycle on the bovine uterine proteome. *Athenry Res Rep*, p.146-147, 2007.
- Mullen MP, Elia G, Hilliard M, Parr MH, Diskin MG, Evans ACO, Crowe M.** Proteomic characterization of histotroph during the preimplantation phase of the estrous cycle in cattle. *J Proteome Res*, v.11, p.3004-3018, 2012.
- Muñoz M, Corrales FJ, Caamaño JN, Díez C, Trigo B, Mora MI, Martín D, Carrocera S, Gómez E.** Proteome of the early embryo-maternal dialogue in the cattle uterus. *J Proteome Res*, v.11, p.751-766, 2012.
- Murray KM, Verhage HG, Buhi WC, Jaffe RC.** The detection protein and purification of a cat uterine secretory that is estrogen dependent (CUPED). *Anim Reprod Sci*, v.32, p.1219-1227, 1985.
- Niswender, GD.** Molecular control of luteal secretion of progesterone. *Reproduction*, v.123, p.333-339, 2002.
- Pyo J, Hwang SI, Oh J, Lee SJ, Kang SC, Kim JS, Lim J.** Characterization of a bovine pregnancy-associated protein using two-dimensional gel electrophoresis, N-terminal sequencing and mass spectrometry. *Proteomics*, v.3, p.2420-2427, 2003.
- Quenby S, Anim-Somuah M, Kalumbi C, Farquharson R, Aplin JD.** Different types of recurrent miscarriage are associated with varying patterns of adhesion molecule expression in endometrium. *Reprod Biomed Online*, v.14, p.224-234, 2007.
- Salamonsen LA.** The menstrual and estrous cycles. In: Aplin JD, Fazleabas AT, Glasser SR, Giudice LC (Ed.). *The endometrium: molecular, cellular, and clinical perspectives*. Boca Raaton, FL: CRC Press, 2008. p. 25-45.
- Salamonsen LA, Edgell T, Rombauts LJ, Stephens AN, Robertson DM, Rainczuk A, Nie G, Hannan NJ.** Proteomics of the human endometrium and uterine fluid: a pathway to biomarker discovery. *Fertil Steril*, v.15, p.1086-1092, 2013.
- Satterfield MC, Bazer FW, Spencer TE.** Progesterone regulation of preimplantation conceptus growth and Galectin 15 (LGALS15) in the ovine uterus. *Biol Reprod*, v.75, p.289-296, 2006.
- Soleilhavoup C, Riou C, Tsikis G, Labas V, Harichaux G, Kohnke P, Reynaud K, Graaf SP, Gerard N, Druart X.** Proteomes of the female genital tract during the oestrous cycle. *Mol Cell Proteomics*, v.15, p.93-108, 2016.
- Song G, Spencer TE, Bazer FW.** Cathepsins in the ovine uterus: regulation by pregnancy, progesterone, and interferon tau. *Endocrinology*, v.11, p.4825-4833, 2005.
- Stewart F, Gerstenberg C, Suire S, Allen WR.** Immunolocalization of a novel protein (P19) in the endometrium of fertile and subfertile mares. *J Reprod Fertil Suppl*, n.56, p.593-599, 2000.
- Ulbrich SE, Fröhlich T, Schulke K, Englberger E, Waldschmitt N, Arnold GJ, Reichenbach HD, Reichenbach M, Wolf E, Meyer HH, Bauersachs S.** Evidence for estrogen-dependent uterine serpin (SERPINA14) expression during estrus in the bovine endometrial glandular epithelium and lumen. *Biol Reprod*, v.4, p.795-805, 2009.
- Valledor L, Jorrin J.** Back to the basics: maximizing the information obtained by quantitative two dimensional gel electrophoresis analyses by an appropriate experimental design and statistical analyses. *J Proteomics*, v.74, p.1-18, 2011.
- Wolf CA, Maslchitzky E, Gregory RM, Jobim MI, Mattos RC.** Effect of corticotherapy on proteomics of endometrial fluid from mares susceptible to persistent postbreeding endometritis. *Theriogenology*, v.15, p.1351-1359, 2012.
- Zavy MT, Sharp DC, Bazer FW, Fazleabas A, Sessions F, Roberts RM.** Identification of stage-specific and hormonally induced polypeptides in the uterine protein secretions of the mare during the oestrous cycle and pregnancy. *J Reprod Fertil*, v.64, p.199-207, 1982.
-