



Fator de crescimento epidermal como mediador de sobrevivência e desenvolvimento folicular

Epidermal growth factor as mediator of survival and follicular development

J.J.H. Celestino, C.M.G. Silva, S.V. Castro, J.R. Figueiredo

Laboratório de Manipulação de Oócitos e Foliculos Ovarianos Pré-Antrais (LAMOFOPA), Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

Correspondência: juliana_jales@yahoo.com.br

Resumo

Diversos fatores intraovarianos atuam no ovário dos mamíferos regulando o desenvolvimento folicular. Entre eles, destaca-se o fator de crescimento epidermal (EGF), considerado um potente fator mitogênico para células foliculares e luteais. Tendo em vista a importância deste fator no âmbito do desenvolvimento folicular, a presente revisão de literatura tem como objetivo descrever as principais implicações do EGF na foliculogênese, destacando seu padrão de expressão no ovário, suas principais vias de sinalização celular, bem como seu efeito como fator de sobrevivência e de desenvolvimento folicular.

Palavras-chave: EGF, foliculo, mamífero, ovário.

Abstract

Several intra-ovarian factors act regulating the mammalian follicular development in the ovary. Among them highlights the epidermal growth factor (EGF), considered a potent mitogenic factor for follicular and luteal cells. Given the importance of this factor within the follicular development, this review describes the main implications of EGF in the folliculogenesis, focusing on its expression pattern in the ovary, the major pathways of cell signaling and its effect as a survival and follicular development factor.

Keywords: EGF, follicle, mammal, ovary.

Introdução

A foliculogênese é uma complexa orquestra de eventos que propicia o desenvolvimento folicular (Fair, 2003). Atualmente é bem estabelecido que o crescimento dos foliculos presentes nos ovários dos mamíferos é regulado por gonadotrofinas e por fatores intraovarianos (Fortune, 2003). O papel das gonadotrofinas, hormônio foliculo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH), tem sido bastante investigado, principalmente sobre o desenvolvimento folicular terminal, tornando-se uma prioridade o estudo dos fatores de crescimento, sobretudo durante o crescimento folicular inicial (Bristol-Gould e Woodruff, 2006).

O início do desenvolvimento folicular é marcado pela ativação folicular, ou seja, a passagem de foliculos primordiais do *pool* de reserva ou quiescentes (oócito circundado por uma camada de células da pré-granulosa de morfologia plana) para o estágio de foliculos de transição (oócito circundado por uma camada de células da granulosa de morfologia plana e/ou cúbica; van den Hurk e Zhao, 2005). Segundo Fortune (2003), este evento ocorre devido a estímulos de diferentes fatores de crescimento produzidos localmente no ovário. Além disso, Eppig (2001) demonstrou que vários fatores de crescimento, como o fator de crescimento epidermal (EGF) produzido pelo oócito e pelas células da granulosa, frequentemente atuam modulando a foliculogênese ovariana.

O EGF foi descoberto em 1962 (Cohen, 1962) e, desde a caracterização inicial da sua interação com receptor de superfície celular, em 1975 (Carpenter et al., 1975), o receptor EGF (EGF-R) tem sido um dos mais extensivamente estudados (Endres et al., 2011). É considerado um fator de crescimento proteico pertencente à família EGF, a qual consiste de, no mínimo, oito membros (Riese e Stern, 1998). A família EGF possui papéis importantes na fisiologia ovariana de vertebrados (Park et al., 2004; Ge, 2005; Onagbesan et al., 2009). Sua atividade biológica é mediada por receptores de membrana EGF-R (ErbB1) do tipo tirosina-quinase, pertencentes à superfamília ErbB (Conti et al., 2006), em que o EGF-R está envolvido no crescimento folicular e é frequentemente desregulado no câncer (Hynes e MacDonald, 2009; Endres et al., 2011). Na década de 80, vários estudos já demonstravam que o EGF induzia o crescimento de foliculos ovarianos e modulava a função das células da granulosa (Schomberg et al., 1983). Atualmente ele é considerado um polipeptídeo com potente atividade mitogênica em diferentes tipos celulares, *in vivo* e *in vitro* (Toyoda et al., 2007; Sofi et al., 2011). No ovário, é tido como um importante regulador da fisiologia, estando envolvido na regulação de diversos processos, incluindo ativação folicular (Celestino et al., 2009), proliferação e diferenciação das células da



granulosa (Saha et al., 2000; Wang et al., 2007), esteroidogênese e maturação oocitária (Gall et al., 2004). Além disso, tem recebido notável atenção por inibir a apoptose, garantindo, assim, maior sobrevivência folicular em condições *in vitro* (Markström et al., 2002).

Tendo em vista a grande relevância do EGF para o desenvolvimento folicular, a presente revisão de literatura tem como objetivo descrever as principais implicações deste fator sobre a foliculogênese ovariana, enfatizando seu padrão de expressão no ovário, as principais vias de sinalização celular, bem como seu efeito como fator de sobrevivência e de desenvolvimento folicular.

Expressão do EGF e do EGF-R no ovário

O RNAm para proteína e receptor de EGF (EGF-R) tem sido identificado no oócito e nas células da granulosa de folículos iniciais e em estádios mais avançados de desenvolvimento, em diferentes espécies (ratas: Chabot et al., 1986; Feng et al., 1987; mulheres: Maruo et al., 1993; Bennett et al., 1996; Qu et al., 2000; porcas: Singh et al., 1995b; vacas: Lonergan et al., 1996; camundongos fêmeas: Hill et al., 1999; *hamsters*: Garnett et al., 2002 e cabras: Gall et al., 2004; Silva et al., 2006). Além disso, foi encontrado em células luteais de porcas (Kennedy et al., 1993; Singh et al., 1995a), ratas (Tekpetey et al., 1995) e cabras (Silva et al., 2006).

Após análise por imuno-histoquímica para localização da proteína EGF em ovários de *hamsters*, foi observada uma intensa marcação nas células da granulosa de folículos pré-antrais (uma a seis camadas de células da granulosa; Roy e Greenwald, 1990). Por outro lado, Wu e Tian (2007) verificaram que a produção e a ação do EGF foram mais significativas em células da granulosa de folículos pré-antrais em desenvolvimento do que em folículos quiescentes (primordiais). Em caprinos, após quantificação do RNAm para o EGF, foi observada uma expressão significativamente superior em folículos secundários quando comparada com folículos primordiais, não diferindo dos folículos primários (Celestino et al., 2011). No entanto, esses achados não têm sido totalmente reproduzidos por outros estudos. Reeka et al. (1998) e Qu et al. (2000), por exemplo, relataram que, em humanos, a expressão de RNAm para EGF foi somente detectada em oócitos de folículos primordiais e primários, mas não nos estádios subsequentes. Maruo et al. (1993) relataram, também em humanos, que a expressão do EGF foi encontrada em oócitos a partir do estágio primário até a fase antral. Roy e Greenwald (1990) verificaram, por imuno-histoquímica, que, em *hamsters*, ocorre uma expressão flutuante nos níveis de EGF em razão das diferentes fases do ciclo estral. Skinner e Coffey (1988) e Tamura et al. (1995), utilizando a técnica de hibridização *in situ* e marcação por imuno-histoquímica, não detectaram imunorreatividade para EGF em células foliculares, luteais e em células do estroma em ovários de bovinos e humanos, respectivamente. Segundo Lafky et al. (2008), estas discrepâncias no padrão de expressão do EGF durante o desenvolvimento folicular podem ser atribuídas ao uso de diferentes técnicas, bem como à espécie estudada.

Em folículos antrais, a presença de RNAm para o receptor e proteína do EGF foi descrita em oócitos de suínos (Singh et al., 1995b), humanos (Reeka et al., 1998) e caprinos (Silva et al., 2006), bem como nas células da granulosa de folículos suínos (Singh et al., 1995b). Na espécie humana, uma fraca marcação por meio da técnica de imuno-histoquímica para a proteína EGF foi verificada em células da teca (Qu et al., 2000). Na espécie caprina, Celestino et al. (2011) demonstraram que a expressão de RNAm para o EGF foi significativamente superior nas células do *cumulus* quando comparado às suas respectivas células da granulosa/teca. Em primatas não humanos, após a formação da cavidade antral, a presença de receptores funcionais para EGF parece ser regulada pelas gonadotrofinas (Fru et al., 2007). Em *hamsters*, o receptor de EGF localizado nas células da granulosa e da teca completamente diferenciadas, bem como no oócito de folículos antrais avançados, teve sua expressão regulada positivamente pelo FSH e pelo estrógeno (Garnett et al., 2002). Em complexos *cumulus*-oócito (CCOs) de cadelas, a proteína do receptor EGF (EGF-R) foi indetectável tanto nas células do *cumulus* como nos oócitos. Além disso, a expressão relativa de transcritos de EGF-R em CCOs não variou entre as diferentes concentrações de suplementação de EGF (Song et al., 2011). Em ovários de peixe-zebra, o EGF foi exclusivamente expresso no oócito, enquanto o receptor EGF foi somente expresso na camada folicular (Tse e Ge, 2010). Esses resultados sugerem uma potencial rede de comunicação parácrina bidirecional entre o oócito e a camada folicular no folículo (Chung e Ge, 2012).

Caracterização estrutural e sinalização celular via EGF/EGF-R

O receptor EGF-R e seus múltiplos ligantes são considerados os maiores reguladores de diversos processos reprodutivos (Schneider e Wolf, 2008). O sistema EGF compreende oito ligantes e quatro receptores. Como ligantes, pode-se citar: o próprio EGF, fator de crescimento transformante alfa (TGF- α), fator de crescimento semelhante ao EGF ligado à heparina (HB-EGF), anfíregulina (AR), betacelulina (BTC), epiregulina (EPR), neuregulina (NRG 1-4) e epigen (Strachan et al., 2001; Schneider e Wolf, 2008). Todos esses membros são derivados de precursores ligados à membrana, os quais são proteoliticamente clivados na membrana plasmática (Plowman et al., 1990; Holmes et al., 1992; Abraham et al., 1993). Cada ligante possui um domínio extracelular com uma sequência altamente conservada, caracterizada por seis cisteínas que formam três pontes dissulfetos intramoleculares. Essa sequência confere especificidade de ligação ao EGF-R (Schneider e

Wolf, 2008).

O receptor EGF-R é uma glicoproteína transmembranária com um domínio ligante extracelular, um domínio lipofílico transmembrana e um domínio intracelular com atividade tirosina-quinase intrínseca (Ullrich e Schlessinger, 1990). O EGF-R (ErbB1; HER1) é um dos membros da família dos quatro receptores tirosina-quinase, na qual também se incluem ErbB2 (neu; HER2), ErbB3 (HER3) e ErbB4 (HER4) (Schneider e Wolf, 2008). O domínio extracelular amino-terminal de EGF-R tem duas regiões ricas em cisteína que formam o domínio de ligação com o ligante. A região transmembrana é uma hélice alfa simples que ancora o receptor à célula (Wells, 1999). O domínio citoplasmático contém uma região tirosina-quinase e uma cauda carboxi-terminal que contém pelo menos seis sítios de autofosforilação de tirosina: Y845, Y992, Y1045, Y1068, Y1148 e Y1173 (Fig. 1). Vários ligantes da superfamília EGF podem interagir com o EGF-R (ErbB1), ErbB3 e ErbB4, com diferentes especificidades para cada receptor, resultando em distintos efeitos celulares (Riese e Stern, 1998; Jones et al., 1999; Normanno et al., 2003). Ao EGF-R podem se ligar o EGF, TGF- α , EPR, AR, HB-EGF, BTC e epígen (Riese et al., 1996; Strachen et al., 2001). O ErbB2 não possui ligantes conhecidos (Klapper et al., 1999), enquanto o ErbB3 não possui atividade quinase intrínseca, parecendo atuar apenas como correceptor (Guy et al., 1994).

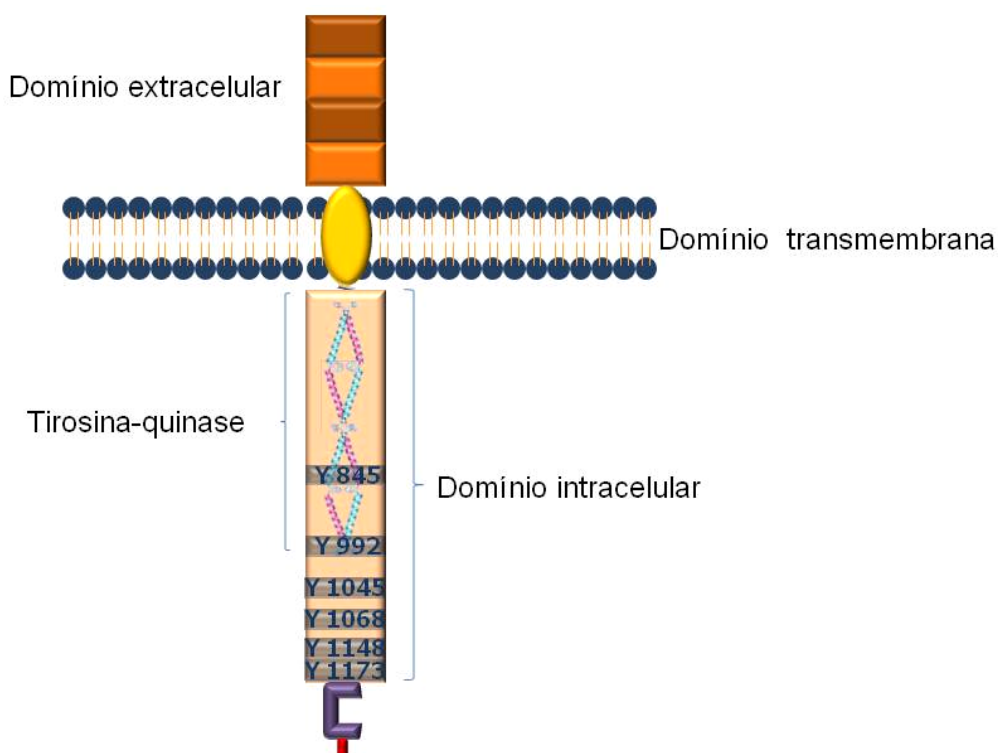


Figura 1. Estrutura do receptor do fator de crescimento epidermal (EGF-R) composto por um domínio ligante extracelular, um domínio lipofílico transmembrana e um domínio intracelular com atividade tirosina-quinase intrínseca. O domínio citoplasmático contém uma região tirosina-quinase e uma cauda carboxi-terminal que contém pelo menos seis sítios de autofosforilação de tirosina: Y845, Y992, Y1045, Y1068, Y1148 e Y1173.

Pesquisas têm demonstrado que a ligação do ligante induz nove das dez possíveis combinações de homo e heterodímeros ErbB, valendo destacar aqui que não tem sido observado homodímero ErbB2, provavelmente pelo fato de este receptor não possuir os domínios I e III da porção extracelular, não havendo, portanto, interação com o ligante (Riese et al., 1996; Tzahar et al., 1996). O EGF-R existe como um monômero inativo que se ativa por intermédio de um ligante externo. Isto leva o receptor a dimerizar-se com outro monômero de EGF-R (homodimerização) ou com outro membro da família de receptores (heterodimerização; Sako et al., 2000; Hynes et al., 2001; Yarden e Sliwkowski, 2001). Esta dimerização do EGF-R induz à atividade catalítica tirosina-quinase, o que leva à autofosforilação em vários sítios de tirosina dentro da cauda carboxil-terminal do receptor (Endres et al., 2011). Esse mecanismo de ativação assemelha-se à ativação das quinases dependentes de ciclina por ciclinas, com o domínio quinase do EGF-R atuando como sua própria ciclina (Zhang et al., 2006; Jura et al., 2011). As fosfotirosinas resultantes Y845, Y992, Y1045, Y1068, Y1148 e Y1173 agem como locais de ancoragem para enzimas transdutoras de sinais e proteínas de adaptação que desencadearão os efeitos celulares (Wells, 1999). Combinados, os quatro receptores contêm 89 tirosinas citosólicas, 40 das quais poderão interagir com uma ou mais proteínas adaptadoras para ativar vias de sinalização quando eles se tornam fosforilados (Schulze et al., 2005). Essas proteínas adaptadoras podem ter múltiplos sítios de ligação para um único receptor

ErbB e/ou múltiplos sítios de ligação para os membros da família de receptor ErbB, as quais permitem a ativação de uma diversa e complexa rede de padrões de sinalização, ou seja, vias de transdução (Lafky et al., 2008).

Uma vez ativados, os receptores desencadeiam o recrutamento e a fosforilação de vários substratos intracelulares, levando à sinalização mitogênica e a outras atividades celulares (Alroy e Yarden, 1997). Diversos padrões intracelulares que têm sido reportados em mamíferos medeiam a sinalização EGF-R, incluindo os padrões proteínas-quinases ativadas por mitógenos (MAPK)3/1 (Su et al., 2002; Reizel et al., 2010; Sabri et al., 2011), p38 MAPK (Hsieh et al., 2011; Sabri et al., 2011); proteína quinase C (PKC; Suzuki et al., 2008; Fan et al., 2009a) e fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)/Akt (também conhecida como proteína quinase B, PKB; Yan et al., 2009; Zhang et al., 2010; Sabri et al., 2011), ambas utilizando técnicas farmacológicas e Western blot. Em um estudo bem recente com peixe-zebra, a sinalização de EGF-R pareceu envolver múltiplos padrões intracelulares, incluindo MAPK3/1, p38 MAPK, PKA, PKC e (PI3K)/Akt (Chung e Ge, 2012). Entretanto, de uma forma geral, as principais vias de sinalização da família de receptores ErbB parecem ser as vias Ras/Raf/MEK/MAPK; PI3K/Akt, havendo, ainda, o transdutor de sinal e ativador de transcrição (STAT), que culmina com a sinalização celular, por meio de ativadores de transcrição gênica (Prenzel et al., 2001; Jorissen et al., 2003; Citri e Yarden, 2006). O EGF tem sido reportado como o fator que ativa (PI3K)/Akt em células da granulosa de humanos (Zhang et al., 2010), PKC em ovário de galinha (Woods et al., 2007) e p38 MAPK em células cancerígenas ovarianas (Zhou et al., 2007). A Fig. 2 ilustra, de forma resumida, a via de sinalização do EGF-R.

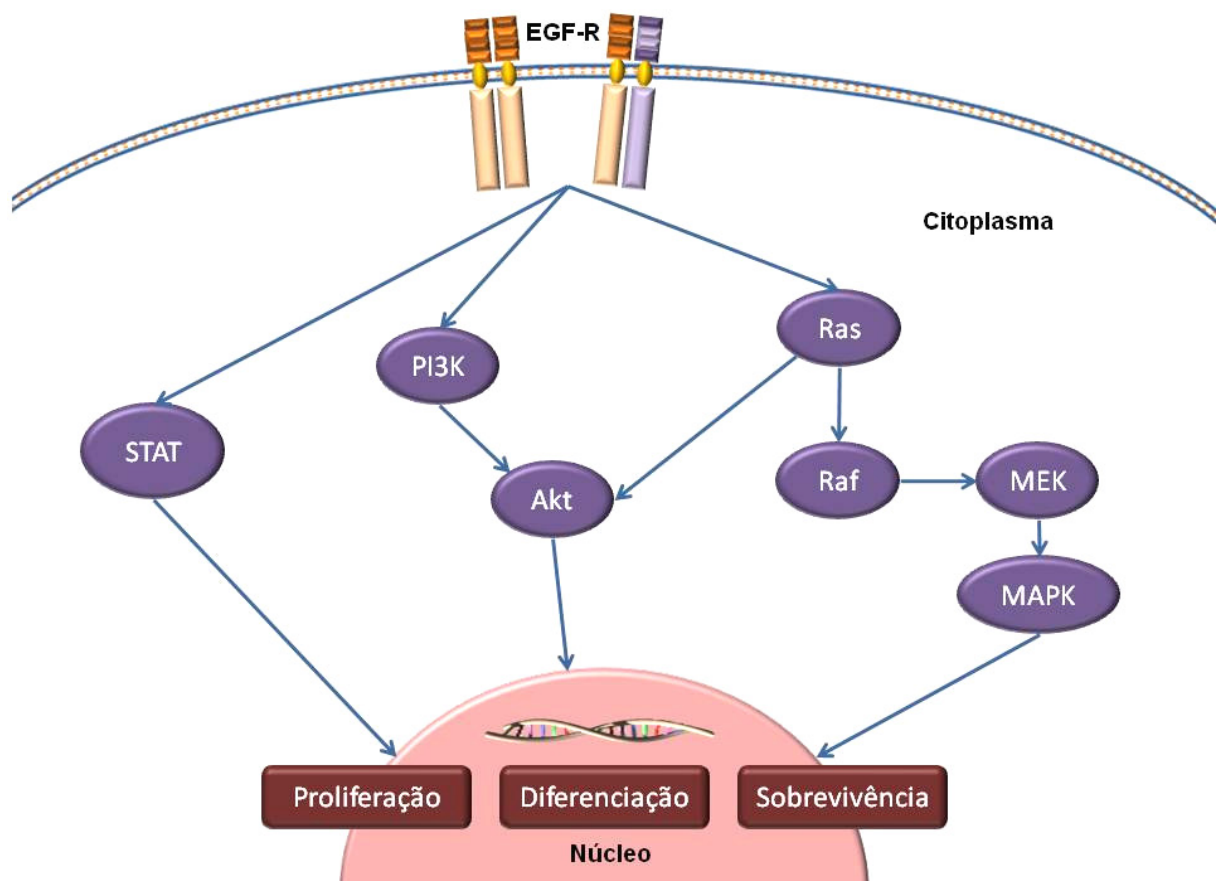


Figura 2. Proliferação, diferenciação e sobrevivência por diferentes vias de sinalização, decorrente da ligação do ligante fator de crescimento epidermal (EGF) ao seu receptor (EGF-R).

Dos padrões de sinalização do EGF-R, o padrão MAPK3/1 é o mais estudado (Chung e Ge, 2012). Recentes estudos mostraram que o nocaute ou bloqueio da MAPK3/1 nas células da granulosa comprometeu a maturação do oócito e a diferenciação terminal das células *in vivo* e *in vitro* (Su et al., 2002; Fan et al., 2009b; Reizel et al., 2010). A inibição da sinalização MAPK3/1 aboliu parcialmente a maturação do oócito induzida pelo EGF ou LH (Reizel et al., 2010; Hsieh et al., 2011), mas suprimiu completamente a maturação do oócito induzida pelo FSH em complexo *cumulus*-oócito (Su et al., 2002). Embora a sinalização do EGF-R seja diversa, o padrão MAPK3/1 sozinho tem se mostrado suficiente para maturação do oócito *in vivo* e *in vitro* induzida pelo LH (Fan et al., 2009b; Reizel et al., 2010). Estudos mostraram ainda a importância da p38 MAPK na sinalização EGF-R em que ela esteve envolvida na manutenção de junções *gap* entre células da granulosa de camundongos



fêmeas durante a maturação do oócito (Hsieh et al., 2011) e a expansão do *cumulus* (Liu et al., 2010).

O padrão de sinalização Ras/MAPK é bastante utilizado pelos receptores do tipo tirosina-quinase para promover diferentes respostas celulares, incluindo crescimento celular, diferenciação e apoptose (Chin et al., 1996; Garrington e Johnson, 1999; Wu e Tian, 2007). Já o padrão PI3K é um padrão de sinalização “clássico”, consistindo de várias moléculas sinalizadoras, incluindo quinases, fosfatases e fatores transcricionais, as quais estabelecem cascatas de sinalização intracelular, que são fundamentais para regulação da proliferação celular, sobrevivência, migração e metabolismo (Blume-Jensen e Hunter, 2001; Cantley, 2002).

EGF como fator de sobrevivência folicular

Além de ser considerado um potente fator que estimula a proliferação de diferentes tipos celulares (Toyoda et al., 2007), o EGF é conhecido como um fator de sobrevivência tanto *in vivo* como *in vitro* (van den Hurk et al., 2000). *In vitro*, quando utilizado na concentração de 10 ng/mL, o EGF inibiu a apoptose das células da granulosa e levou a um aumento da formação de antro após o cultivo de folículos isolados suínos (Mao et al., 2004). Porém, em folículos pré-antrais de camundongos fêmeas, a utilização de EGF não mostrou nenhum efeito na supressão da apoptose (McGee et al., 1999; Demeestere et al., 2005).

Em bovinos, quando o EGF foi utilizado em uma concentração de 0,5 ng/mL, reduziu os níveis de atresia em folículos pré-antrais cultivados *in vitro* (Gutierrez et al., 2000). Por outro lado, nesta mesma espécie, utilizando-se a concentração de 10 ng/mL, o EGF não alterou a sobrevivência de folículos primários e secundários cultivados *in vitro* (Derrar et al., 2000). Posteriormente, estudos de Zhou e Zhang (2005a, b) demonstraram que a utilização do EGF na concentração de 50 ng/mL estimulou a sobrevivência de oócitos caprinos após o cultivo *in vitro*. Celestino et al. (2009) verificaram que a adição de baixas concentrações de EGF (1 ou 10 ng/mL) no cultivo *in vitro* de folículos pré-antrais caprinos manteve a morfologia e a ultraestrutura folicular após sete dias de cultivo. No entanto, Silva et al. (2004) não observaram efeito significativo do EGF sobre a sobrevivência de folículos pré-antrais caprinos após cinco dias de cultivo, provavelmente devido à elevada concentração (100 ng/mL) de EGF utilizada. Talmimani et al. (2005), ao testarem o efeito de diferentes concentrações de EGF (0, 25, 50, 75 ou 100 ng/mL) sobre folículos pré-antrais ovinos, mostraram que as maiores concentrações, ou seja, 75 ou 100 ng/mL, induziram à degeneração de todos os folículos pré-antrais após cultivo de seis dias. Achados semelhantes também foram descritos por Celestino et al. (2009), ao verificarem que folículos pré-antrais caprinos cultivados *in vitro* por sete dias em altas concentrações de EGF (100 ou 200 ng/mL) não sofreram ativação e apresentaram altas taxas de degeneração.

Papel do EGF no desenvolvimento folicular

Estudos *in vitro* mostraram que o EGF promove a ativação folicular em ovinos (Andrade et al., 2005) e estimula a proliferação das células da granulosa de suínos (Morbeck et al., 1993). Em *hamsters*, este acontecimento é evidenciado pela incorporação de timidina em folículos pré-antrais (Roy, 1993). Além disso, o EGF aumenta o diâmetro folicular em suínos (Mao et al., 2004) e promove o crescimento de oócitos em folículos primários de caprinos (Silva et al., 2004). Ademais, o EGF tem mostrado regular a expressão da conexina 43 em suínos (Bolamba et al., 2002) e coelhos (Kennedy et al., 2003). A conexina 43 é uma proteína essencial para a formação das junções *gaps*, sendo, portanto, importante para o desenvolvimento de folículos pré-antrais.

A ação do EGF sobre a ativação, diferenciação, proliferação e esteroidogênese das células da granulosa tem se mostrado controversa na literatura e dependente do estágio de desenvolvimento folicular. Alguns estudos têm mostrado que, embora o EGF não seja essencial para a ativação de folículos primordiais (Braw-Tal e Yossefi, 1997; Fortune et al., 1998; Wright et al., 1999), ele é importante para os estádios mais avançados de desenvolvimento folicular (Gutierrez et al., 2000; Nayudu et al., 2002; Peng et al., 2010). Em caprinos, Silva et al. (2004) demonstraram que o EGF (100 ng/mL), no cultivo *in situ*, não promoveu a ativação de folículos primordiais, mas teve um efeito benéfico no crescimento de oócitos de folículos primários. Em ovinos, sua utilização nesta mesma concentração promoveu a ativação de folículos primordiais *in situ* e a manutenção da viabilidade por até seis dias de cultivo (Andrade et al., 2005). Já em pequenos e médios folículos pré-antrais bovinos (60-179 μ m), a utilização de 50 ng/mL de EGF garantiu a sobrevivência e promoveu o crescimento e a produção de progesterona (Wandji et al., 1996), bem como estimulou a formação de antro em grandes folículos pré-antrais (166 μ m), mas não o crescimento do oócito (Gutierrez et al., 2000). Contrariamente, em suínos, o EGF em baixas concentrações (0,75; 1,5 ou 3 ng/mL), associado ao FSH, melhorou a qualidade dos oócitos, levando a uma maior taxa de desenvolvimento embrionário (Wu e Tian, 2007), corroborando o estudo de Park et al. (2004), os quais demonstraram que o EGF melhora a qualidade dos oócitos oriundos de folículos cultivados *in vitro*. Em um estudo mais recente com caprinos, foi observado que, embora a utilização do EGF (10 ng/mL) sozinho ou associado ao FSH no cultivo *in vitro* de folículos pré-antrais (aproximadamente 200 μ m) isolados não tenha mostrado um efeito adicional sobre a sobrevivência folicular, mostrou efeito sobre o desenvolvimento folicular. Com relação à formação de antro, a utilização de EGF promoveu uma porcentagem significativamente superior de folículos antrais, já com dois dias de cultivo. Além disso, o EGF, na presença ou ausência de FSH,



aumentou de forma significativa o diâmetro folicular e a taxa de crescimento diário dos folículos secundários que foram cultivados *in vitro* (Celestino et al., 2011).

Na fase antral, o EGF estimula a retomada da meiose de oócitos em várias espécies (camundongo fêmea: De La Fuente et al., 1999; ovelha: Guler et al., 2000; vaca: Lonergan et al., 1996; mulher: Goud et al., 1998; porca: Li et al., 2002; Prochazka et al., 2003), induz a expansão das células do *cumulus* (camundongo fêmea: O'Donnell et al., 2004), estimula a proliferação das células da granulosa (porca: May et al., 1992), bem como a síntese de hormônio esteroides (mulher: Misajon et al., 1999). Além disso, o EGF parece agir localmente no ovário controlando a expressão de receptores para FSH e LH (Luciano et al., 1994; Hattori et al., 1995). A importância do EGF na fase antral também é observada na maturação e na ovulação, como foi observado em camundongo fêmea, em que uma mutação no receptor EGF-R com baixa atividade quinase leva a um comprometimento desses processos (Hsieh et al., 2007). Tal fato pode ainda ser corroborado com estudos mais recentes. Em ovinos, a taxa de maturação foi significativamente superior no meio contendo EGF, quando comparado ao meio contendo cisteamina e ao meio-controle (Sofi et al., 2011). Em cadelas, houve uma elevada proporção de oócitos em metáfase II quando esses foram cultivados *in vitro*, em meio de maturação suplementado com 10 ng/mL de EGF por 72 h (Song et al., 2011).

Considerações finais

Com base nas informações disponíveis, torna-se evidente a grande importância do EGF para a foliculogênese ovariana. No entanto, mais estudos são necessários acerca de sua atuação, sobretudo no que se refere ao seu mecanismo de ação e interação com outros fatores de crescimento e hormônios, auxiliando na implantação de bancos de germoplasmas de animais de alto valor genético, bem como para espécies ameaçadas de extinção.

Agradecimentos

Juliana Jales de Hollanda Celestino é bolsista da FUNCAP (Brasil).

Referências

- Abraham JA, Damm D, Bajardi A, Miller J, Klagsbrun M, Ezekowitz RA.** Heparin-binding EGF-like growth factor: characterization of rat and mouse cDNA clones, protein domain conservation across species, and transcript expression in tissues. *Biochem Biophys Res Commun*, v.190, p.125-133, 1993.
- Alroy I, Yarden Y.** The ErbB signal network in embryogenesis and oncogenesis signal diversification through combinatorial ligand-receptor interactions. *FEBS Lett*, v.410, p.83-86, 1997.
- Andrade ER, Seneda MM, Alfieri AA, Oliveira JA, Bracarense APFRL, Figueiredo JR, Tonioli R.** Interactions of indole acetic acid with EGF and FSH in the culture of ovine preantral follicles. *Theriogenology*, v.64, p.1104-1113, 2005.
- Bennett RA, Osathanondh R, Yeh J.** Immunohistochemical localization of transforming growth factor- α , epidermal growth factor (EGF), and EGF receptor in the human fetal ovary. *J Clin Endocrinol Metab*, v.81, p.3073-3076, 1996.
- Blume-Jensen P, Hunter T.** Oncogenic kinase signalling. *Nature*, v.411, p.355-365, 2001.
- Bolamba D, Floyd AA, McGlone JJ, Lee VH.** Epidermal growth factor enhances expression of connexin 43 protein in cultured porcine preantral follicles. *Biol Reprod*, v.67, p.154-160, 2002.
- Braw-Tal R, Yossefi S.** Studies in vivo and in vitro on the initiation of follicle growth in the bovine ovary. *J Reprod Fertil*, v.109, p.165-171, 1997.
- Bristol-Gould S, Woodruff TK.** Folliculogenesis in the domestic cat (*Felis catus*). *Theriogenology*, v.66, p.5-13, 2006.
- Cantley LC.** The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science*, v.296, p.1655-1657, 2002.
- Carpenter G, Lembach KJ, Morrison MM, Cohen S.** Characterization of the binding of 125-I-labeled epidermal growth factor to human fibroblasts. *J Biol Chem*, v.250, p.4297-4304, 1975.
- Celestino JJH, Bruno JB, Lima-Verde IB, Matos MHT, Saraiva MVA, Chaves RN, Martins FS, Lima LF, Name KPO, Campello CC, Silva JRV, Bão SN, Figueiredo JR.** Recombinant epidermal growth factor maintains follicular ultrastructure and promotes the transition to primary follicles in caprine ovarian tissue cultured in vitro. *Reprod Sci*, v.16, p.239-246, 2009.
- Celestino JJ, Bruno JB, Saraiva MV, Rocha RM, Brito IR, Duarte, Araújo VR, Silva CM, Matos MH, Campello CC, Silva JR, Figueiredo JR.** Steady-state level of epidermal growth factor (EGF) mRNA and effect of EGF on in vitro culture of caprine preantral follicles. *Cell Tissue Res*, v.344, p.539-550, 2011.
- Chabot JG, St-Arnaud R, Walker P, Pelletier G.** Distribution of epidermal growth factor receptors in the rat ovary. *Mol Cell Endocrinol*, v.44, p.99-108, 1986.
- Chin YE, Kitagawa M, Su WC, You ZH, Iwamoto Y, Fu XY.** Cell Growth Arrest and Induction of Cyclin-



- Dependent Kinase Inhibitor p21^{WAF1/CIP1} Mediated by STAT1. *Science*, v.272, p.719-722, 1996.
- Chung C-K, Ge W.** Epidermal growth factor differentially regulates activin subunits in the zebrafish ovarian follicle cells via diverse signaling pathways. *Mol Cell Endocrinol*, 361:133-142, 2012.
- Citri A, Yarden Y.** EGF-ERBB signaling: towards the systems level. *Nat Rev Mol Cell Biol*, v.7, p.505-516, 2006.
- Cohen S.** Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the newborn animal. *J Biol Chem*, v. 237, p.1555-1562, 1962.
- Conti M, Hsieh M, Park J-Y, Su Y-Q.** Role of the epidermal growth factor network in ovarian follicles. *Mol Endocrinol*, v.20, p.715-723, 2006.
- De La Fuente R, O'Brien MJ, Eppig JJ.** Epidermal growth factor enhances preimplantation developmental competence of maturing mouse oocytes. *Hum Reprod*, v.14, p.3060-3068, 1999.
- Demeestere I, Centner J, Gervy Y, Englert Y, Delbaere A.** Impact of various endocrine and paracrine factors on *in vitro* culture of preantral follicles in rodents. *Reproduction*, v.130, p.147-156, 2005.
- Derrar N, Price CA, Sirard M-A.** Effects of growth factors and co-culture with ovarian medulla on the activation of primordial in explants of bovine ovarian cortex. *Theriogenology*, v.54, p.587-598, 2000.
- Endres NF, Engel K, Das R, Kovacs E, Kuriyan J.** Regulation of the catalytic activity of the EGF receptor. *Curr Opin Struct Biol*, v.21, p.777-784, 2011.
- Eppig JJ.** Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals *Reproduction*, v.122, p.829-838, 2001.
- Fair T.** Follicular oocyte growth and acquisition of development competence. *Anim Reprod Sci*, v.78, p.203-216, 2003.
- Fan QW, Cheng C, Knight ZA, Haas-Kogan D, Stokoe D, James CD, McCormick F, Shokat KM, Weiss WA.** EGFR signals to mTOR through PKC and independently of Akt in glioma. *Sci Signal*, 2(55):ra4, 2009a.
- Fan HY, Liu Z, Shimada M, Sterneck E, Johnson PF, Hedrick SM, Richards JS.** MAPK3/1 (ERK1/2) in ovarian granulosa cells are essential for female fertility. *Science*, v.324, p.938-941, 2009b.
- Feng P, Knecht M, Catt K.** Hormonal control of epidermal growth factor receptors by gonadotropins during granulosa cell differentiation. *Endocrinology*, v.120, p.1121-1126, 1987
- Fortune JE.** The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Anim Reprod Sci*, v.78, p.135-163, 2003.
- Fortune JE, Kito S, Wandji SA, Srsen V.** Activation of bovine and baboon primordial follicles *in vitro*. *Theriogenology*, v.49, p.441-449, 1998.
- Fru KN, Cherian-Shaw M, Puttabyatappa M, VandeVoort CA, Chaffin CL.** Regulation of granulosa cell proliferation and EGF-like ligands during the periovulatory interval in monkeys. *Hum Reprod*, v.22, p.1247-1252, 2007.
- Gall L, Chene N, Dahirel M, Ruffini S, Boulesteix C.** Expression of epidermal growth factor receptor in the goat cumulus-oocyte complex. *Mol Reprod Dev*, v.67, p.439-445, 2004.
- Garnett K, Wang J, Roy SK.** Spatiotemporal expression of epidermal growth factor receptor messenger RNA and protein in the hamster ovary: follicle stage specific differential modulation by follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, estradiol, and progesterone. *Biol Reprod*, v.67, p.1593-1604, 2002.
- Garrington TP, Johnson GL.** Organization and regulation of mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Curr Opin Cell Biol*, v.11, p.211-218, 1999.
- Ge W.** Intrafollicular paracrine communication in the zebrafish ovary: the 650 state of the art of an emerging model for the study of vertebrate 651 folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinology*, v.237, p.1-10, 2005.
- Goud PT, Goud AP, Qian C, Laverge H, Van der Elst J, De Sutter P, Dhont M.** *In vitro* maturation of human germinal vesicle stage oocytes: role of cumulus cells and EGF in the culture medium. *Hum Reprod*, v.13, p.1638-1644, 1998.
- Guler A, Poulin N, Mermillod P, Terqui M, Cognie Y.** Effect of growth factors, EGF and IGF-I, and estradiol on *in vitro* maturation of sheep oocytes. *Theriogenology*, v.54, p.209-218, 2000.
- Gutierrez CG, Ralph JH, Telfer EE, Wilmut I, Webb R.** Growth and antrum formation of bovine preantral follicles in long-term culture *in vitro*. *Biol Reprod*, v.62, p.1322-1328, 2000.
- Guy PM, Platko JV, Cantley LC, Cerione RA, Carraway III KL.** Insect cell-expressed p180erbB3 possesses an impaired tyrosine kinase activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.91, p.8132-8136, 1994.
- Hattori MA, Yoshino E, Shinohara Y, Horiuchi R, Kojima I.** A novel action of epidermal growth factor in rat granulosa cells: its potentiation of gonadotrophin action. *J Mol Endocrinol*, v.15, p.283-291, 1995.
- Hill JL, Hammar K, Smith PJ, Gross DJ.** Stage dependent effects of epidermal growth factor on Ca²⁺ efflux in mouse oocytes. *Mol Reprod Dev*, v.53, p.244-253, 1999.
- Holmes WE, Sliwkowski MX, Akita RW, Henzel WJ, Lee J, Park JW, Yansura D, Abadi N, Raab H, Lewis GD, Shepard HM, Kuang W-J, Wood WL, Goeddel DV, Vandlen RL.** Identification of Heregulin, a Specific Activator of p185^{erbB2}. *Science*, v.256, p.1205-1210, 1992.
- Hsieh M, Lee D, Panigone S, Horner, K, Chen R, Theologis A, Lee DC, Threadgill DW, Conti M.** Luteinizing hormone-dependent activation of the epidermal growth factor network is essential for ovulation. *Mol Cell Biol*, v.27, p.1914-1924, 2007.



- Hsieh M, Thao K, Conti M.** Genetic dissection of epidermal growth factor receptor signaling during luteinizing hormone-induced oocyte maturation. *PLoS One*, v.6, e21574, 2011.
- Hynes NE, Horsh K, Olayioye MA, Badache A.** The ErbB receptor tyrosine family as signal integrators. *Endocr Relat Cancer*, v.8, p.151-159, 2001.
- Hynes NE, MacDonald G.** ErbB receptors and signaling pathways in cancer. *Curr Opin Cell Biol*, v.21, p.177-184, 2009.
- Jones JT, Akita RW, Sliwkowski MX.** Bindings specificities and affinities of egf domain for ErbB receptors. *FEBS Lett*, v.447, p.227-231, 1999.
- Jorissen RN, Walker F, Pouliot N, Garrett TP, Ward CW, Burgess AW.** Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signaling. *Exp Cell Res*, v.284, p.31-53, 2003.
- Jura N, Zhang X, Endres NF, Seeliger MA, Schindler T, Kuriyan J.** Catalytic control in the EGF receptor and its connection to general kinase regulatory mechanisms. *Mol Cell*, v.42, p.9-22, 2011.
- Kennedy KL, Floyd AA, Clarkson AM, Lee VH.** Epidermal growth factor regulation of connexin 43 in cultured granulosa cells from preantral rabbit follicles. *Mol Reprod Dev*, v.64, p.61-69, 2003.
- Kennedy TG, Brown KD, Vaughan TJ.** Expression of the genes for the epidermal growth factor receptor and its ligands in porcine corpora lutea. *Endocrinology*, v.132, p.1857-1859, 1993.
- Klapper LN, Glathe S, Vaisman N, Hynes NE, Andrews GC, Sela M, Yarden Y.** The ErbB-2/HER2 oncoprotein of human carcinomas may function solely as a shared coreceptor for multiple stroma-derived growth factors. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.96, p.4995-5000, 1999.
- Lafky JM, Wilken JA, Baron AT, Maihle NJ.** Clinical implications of the ErbB/epidermal growth factor (EGF) receptor family and its ligands in ovarian cancer. *Biochim Biophys Acta*, v.1785, p.232-265, 2008.
- Li YH, Liu RH, Jiao LH, Wang WH.** Synergetic effects of epidermal growth factor and estradiol on cytoplasmic maturation of porcine oocytes. *Zygote*, v.10, p.349-354, 2002.
- Liu Z, Fan HY, Wang Y, Richards JS.** Targeted disruption of Mapk14 (p38MAPKa) in granulosa cells and cumulus cells causes cell-specific changes in gene expression profiles that rescue COC expansion and maintain fertility. *Mol Endocrinol*, v.24, p.1794-1804, 2010.
- Loneragan P, Carolan C, Van Langendonck A, Donnay I, Khatir H, Mermillod, P.** Role of epidermal growth factor in bovine oocyte maturation and preimplantation embryo development in vitro. *Biol Reprod*, v.54, p.1420-1429, 1996.
- Luciano AM, Pappalardo A, Ray C, Peluso JJ.** Epidermal growth factor inhibits large granulosa cell apoptosis by stimulating progesterone synthesis and regulating the distribution of intracellular free calcium. *Biol Reprod*, v.51, p.646-654, 1994.
- Mao J, Smith MF, Rucker EB, Wu GM, McCauley TC, Cantley TC, Prather RS, Didion BA, Day BN.** Effect of epidermal growth factor and insulin-like growth factor I on porcine preantral follicular growth, antrum formation, and stimulation of granulosa cell proliferation and suppression of apoptosis in vitro. *J Anim Sci*, v.82, p.1967-1975, 2004.
- Markström E, Svensson EC, Shao R, Svanberg B, Billig H.** Survival factors regulating ovarian apoptosis - dependence on follicle differentiation. *Reproduction*, v.123, p.23-30, 2002.
- Maruo T, Ladines-Llave CA, Samoto T, Matsuo H, Manalo AS, Ito H, Mochizuki M.** Expression of epidermal growth factor and its receptor in the human ovary during follicular growth and regression. *Endocrinology*, v.132, p.924-931, 1993.
- May JV, Bridge AJ, Gotcher ED, Gangrade BK.** The regulation of porcine theca cell proliferation in vitro: synergistic actions of epidermal growth factor and platelet derived growth factor. *Endocrinology*, v.131, p.689-697, 1992.
- McGee EA, Chun S-Y, Lai S, He Y-E, Hsueh AJW.** Keratinocyte growth factor promotes the survival, growth, and differentiation of preantral ovarian follicles. *Fertil Steril*, v.71, p.732-738, 1999.
- Misajon A, Hutchinson P, Lolatgis N, Trounson AO, Almahbobi G.** The mechanism of action of epidermal growth factor and transforming growth factor alpha on aromatase activity in granulosa cells from polycystic ovaries. *Mol Hum Reprod*, v.5, p.96-103, 1999.
- Morbeck DE, Flowers WL, Britt JH.** Response of porcine granulosa cells isolated from primary and secondary follicles to FSH, 8-bromo-cAMP and epidermal growth factor in vitro. *J Reprod Fertil*, v.99, p.577-584, 1993.
- Nayudu PL, Vitt UA, De Tomasi JB, Pancharatna K, Ulloa-Aguirre A.** Intact follicle culture: what it can tell us about the roles of FSH glycoforms during follicle development. *Reprod BioMed Online*, v.5, p.240-253, 2002.
- Normanno N, Bianco C, De Luca A, Maiello MR, Salomon DS.** Target-based agents against ErbB receptors a their ligands: a novel approach to cancer treatment. *Endocr Relat Cancer*, v.10, p.1-21, 2003.
- O'Donnell JR, Hill JL, Gross DJ.** Epidermal growth factor activates cytosolic [Ca²⁺] elevations and subsequent membrane permeabilization in mouse cumulus-oocyte complexes. *Reproduction*, v.127, p.207-220, 2004.
- Onagbesan O, Bruggeman V, Decuypere E.** Intra-ovarian growth factors 647 regulating ovarian function in avian species: a review. *Anim Reprod Sci*, v.111, p.121-140, 2009.
- Park JY, Su YQ, Ariga M, Law E, Jin SLC, Conti M.** EGF-like growth factors as mediators of LH action in



- the ovulatory follicle. *Science*, v.303, p.682-684, 2004.
- Peng X, Yang M, Wang L, Tong C, Guo Z.** In vitro culture of sheep lamb ovarian cortical tissue in a sequential culture medium. *J Assist Reprod Genet*, v.27, p.247-257, 2010.
- Plowman GD, Green JM, McDonald VL, Neubauer MG, Distche CM, Todaro GJ, Shoyab M.** The amphiregulin gene encodes a novel epidermal growth factor-related protein with tumor-inhibitory activity. *Mol Cell Biol*, v.10, p.1969-1981, 1990.
- Prenzel N, Fischer OM, Streit S, Hart S, Ullrich A.** The epidermal growth factor receptor family as a central element for cellular signal transduction and diversification. *Endocr Relat Cancer*, v.8, p.11-31, 2001.
- Prochazka R, Kalab P, Nagyova E.** Epidermal growth factor-receptor tyrosine kinase activity regulates expansion of porcine oocyte-cumulus cell complexes in vitro. *Biol Reprod*, v.68, p.797-803, 2003.
- Qu JP, Godin PA, Nisolle M, Donnez J.** Distribution of epidermal growth factor receptor expression of primordial follicles in human ovarian tissue before and after cryopreservation. *Hum Reprod*, v.15, p.302-310, 2000.
- Reeka N, Berg FD, Bruer C.** Presence of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor in human ovarian tissue and follicular fluid. *Hum Reprod*, v.13, p.2199-2205, 1998.
- Reizel Y, Elbaz J, Dekel N.** Sustained activity of the EGF receptor is an absolute requisite for LH-induced oocyte maturation and cumulus expansion. *Mol Endocrinol*, v.24, p.402-411, 2010.
- Riese DJ, Kim ED, Elenius K, Buckley S, Klagsbrun M, Plowman GD, Stern DF.** The epidermal growth factor receptor couples transforming growth factor- α , heparin-binding epidermal growth factor-like factor, and amphiregulin to Neu, ErbB-3, and ErbB-4. *J Biol Chem*, v.271, p.20047-20052, 1996.
- Riese DJ, Stern DF.** Specificity within the EGF family/ErbB receptor family signaling network. *Bioessays*, v.20, p.41-48, 1998.
- Roy SK.** Epidermal growth factor and transforming growth factor-beta modulation of follicle-stimulating hormone-induced deoxyribonucleic acid synthesis in hamster preantral and early antral follicles. *Biol Reprod*, v.48, p.552-557, 1993.
- Roy SK, Greenwald GS.** Immunohistochemical localisation of epidermal growth factor-like activity in the hamster ovary with a polyclonal antibody. *Endocrinology*, v.126, p.1309-1317, 1990.
- Sabri A, Ziaee AA, Ostad SN, Alimoghadam K, Ghahremani MH.** Crosstalk of EGF-directed MAPK signalling pathways and its potential role on EGF-induced cell proliferation and COX-2 expression in human mesenchymal stem cells. *Cell Biochem Funct*, v.29, p.64-70, 2011.
- Saha S, Shimizu M, Geshi M, Izaike Y.** In vitro culture of bovine preantral follicles. *Anim Reprod Sci*, v.63, p.27-39, 2000.
- Sako Y, Minoguchi S, Yanagida T.** Single-molecule imaging of EGFR signaling on the surface of living cells. *Nat Cell Biol*, v.2, p.168-172, 2000.
- Schneider MR, Wolf E.** The epidermal growth factor receptor and its ligands in female reproduction: Insights from rodent models. *Cytokine Growth Factor Rev*, v.19, p.173-181, 2008.
- Schomberg DW, May JV, Mondschein JS.** Interactions between hormones and growth factors in the regulation of granulosa cell differentiation in vitro. *J Steroid Biochem*, v.19, p.291-295, 1983.
- Schulze WX, Deng L, Mann M.** Phosphotyrosine interactome of the ErbB-receptor kinase family. *Mol Syst Biol*, v.1, p.2005-2008, 2005.
- Silva JRV, van den Hurk R, Figueiredo JR.** Expression of mRNA and protein localization of epidermal growth factor and its receptor in goat ovaries. *Zygote*, v.14, p.107-117, 2006.
- Silva JRV, van den Hurk R, Matos MHT, Santos RR, Pessoa C, Moraes MO, Figueiredo JR.** Influences of FSH and EGF on primordial follicles during in vitro culture of caprine ovarian cortical tissue. *Theriogenology*, v.61, p.1691-1704, 2004.
- Singh B, Kennedy TG, Tekpetey FR, Armstrong DT.** Gene expression and peptide localization for epidermal growth factor receptor and its ligands in porcine luteal cells. *Mol Cell Endocrinol*, v.113, p.137-143, 1995a.
- Singh B, Rutledge JM, Armstrong DT.** Epidermal growth factor and its receptor gene expression and peptide localization in porcine ovarian follicles. *Mol Reprod Dev*, v.40, p.391-399, 1995b.
- Skinner MK, Coffey RJ.** Regulation of ovarian cell growth through the local production of transforming growth factor- α by theca cells. *Endocrinology*, v.123, p.2632-2638, 1988.
- Sofi KA, Khan MZ, Islam R, Lone FA.** Effect of cysteamine and epidermal growth factor supplementation on the in vitro maturation rate of ovine oocytes. *Small Rumin Res*, v.96, p.191-194, 2011.
- Song HJ, Kang EJ, Maeng GH, Ock SA, Lee SL, Yoo JG, Jeon BG, Rho GJ.** Influence of epidermal growth factor supplementation during *in vitro* maturation on nuclear status and gene expression of canine oocytes. *Res Vet Sci*, v.94, p.439-445, 2011.
- Strachan L, Murison JG, Prestidge RL, Sleeman MA, Watson JD, Kumble KD.** Cloning and biological activity of epigen, a novel member of the epidermal growth factor superfamily. *J Biol Chem*, v.276, p.18265-18271, 2001.
- Su YQ, Wigglesworth K, Pendola FL, O'Brien MJ, Eppig JJ.** Mitogen-activated protein kinase activity in cumulus cells is essential for gonadotropin-induced oocyte meiotic resumption and cumulus expansion in the mouse. *Endocrinology*, v.143, p.2221-2232, 2002.



- Suzuki T, Seth A, Rao R.** Role of phospholipase C α -induced activation of protein kinase C ϵ (PKC ϵ) and PKC δ in epidermal growth factor-mediated protection of tight junctions from acetaldehyde in Caco-2 cell monolayers. *J Biol Chem*, v.283, p.3574-3583, 2008.
- Talmimani G, Rao BS, Vagdevi R, Amarnath D, Naik BR, Mutharao M, Rao VH.** Nuclear maturation of ovine oocytes in cultured preantral follicles. *Small Rumin Res*, v.60, p.295-305, 2005.
- Tamura M, Sasano H, Suzuki T, Fukaya T, Funayama Y, Takayama K, Takaya R, Yajima A.** Expression of epidermal growth factors and epidermal growth factor receptor in normal cycling human ovaries. *Hum Reprod*, v.10, p.1891-1896, 1995.
- Tekpetey FR, Singh B, Barbe G, Armstrong DT.** Localization of epidermal growth factor (EGF) receptor in the rat corpus luteum, and EGF and transforming growth factor- α stimulation of luteal cell steroidogenesis *in vitro*. *Mol Cell Endocrinol*, v.110, p.95-102, 1995.
- Toyoda T, Nakamura K, Yamada K, Thanseem I, Anitha A, Suda S, Tsujii M, Iwayama Y, Hattori E, Toyota T, Miyachi T, Iwata Y, Suzuki K, Matsuzaki H, Kawai M, Sekine Y, Tsuchiya K, Sugihara G-I, Ouchi Y, Sugiyama T, Takei N, Yoshikawa T, Mori N.** SNP analyses of growth factor genes EGF, TGF- β 1, and HGF reveal haplotypic association of EGF with autism. *Biochem Biophys Res Commun*, v.360, p.715-720, 2007.
- Tse AC-K, Ge W.** Spatial localization of EGF family ligands and receptors in the zebrafish ovarian follicle and their expression profiles during folliculogenesis. *Gen Comp Endocr*, v.167, p.397-407, 2010.
- Tzahar E, Waterman E, Chen X, Levkowitz G, Karunakaran D, Lavi S, Ratzkin BJ, Yarden Y.** A hierarchical network of interreceptor interactions determines signal transduction by Neu differentiation factor/neuregulin and epidermal growth factor. *Mol Cell Biol*, v.16, p.5276-5287, 1996.
- Ullrich A, Schlessinger J.** Signal transduction by receptors with tyrosine kinase activity. *Cell*, v.61, p.203-212, 1990.
- van den Hurk R, Abir R, Telfer EE, Bevers MM.** Preantral and antral follicles as possible source for fertilizable oocytes in human and bovine. *Hum Reprod Update*, v.2, p.457-474, 2000.
- van den Hurk R, Zhao J.** Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. *Theriogenology*, v.63, p.1717-1751, 2005.
- Wandji SA, Eppig JJ, Fortune JE.** FSH and growth factors affect the growth and endocrine function *in vitro* of granulosa cells of bovine preantral follicles. *Theriogenology*, v.45, p.817-832, 1996.
- Wang Y, Li J, Wang CY, Kwok AHY, Leung FC.** Epidermal growth factor (EGF) receptor ligands in the chicken ovary: I. Evidence for heparin-binding EGF-like growth factor (HBEGF) as a potential oocyte-derived signal to control granulosa cell proliferation and HB-EGF and kit ligand expression. *Endocrinology*, v.148, p.3426-3440, 2007.
- Wells A.** EGF receptor. *Int J Biochem Cell Biol*, v.31, p.637-644, 1999.
- Woods DC, Haugen MJ, Johnson AL.** Actions of epidermal growth factor receptor/mitogen-activated protein kinase and protein kinase C signaling in granulosa cells from *Gallus gallus* are dependent upon stage of differentiation. *Biol Reprod*, v.77, p.61-70, 2007.
- Wright CS, Hovatta O, Margara R, Trew G, Winston RML, Franks S, Hardy K.** Effects of follicle-stimulating hormone and serum substitution on the in-vitro growth of human ovarian follicles. *Hum Reprod*, v.14, p.1555-1562, 1999.
- Wu J, Tian Q.** Role of follicle stimulating hormone and epidermal growth factor in the development of porcine preantral follicle in vitro. *Zygote*, v.15, p.233-240, 2007.
- Yan F, Cao H, Chaturvedi R, Krishna U, Hobbs SS, Dempsey PJ, Peek Jr, RM, Cover TL, Washington MK, Wilson KT, Polk DB.** Epidermal growth factor receptor activation protects gastric epithelial cells from *Helicobacter pylori*-induced apoptosis. *Gastroenterology*, v.136, p.1297-1307, 2009.
- Yarden Y, Sliwkowski MX.** Untangling the ErbB signaling network. *Nat Rev Mol Cell Biol*, v.2, p.127-137, 2001.
- Zhang X, Gureasko J, Shen K, Cole PA, Kuriyan J.** An allosteric mechanism for activation of the kinase domain of epidermal growth factor receptor. *Cell*, v.125, p.1137-1149, 2006.
- Zhang Y, Huang Q, Cheng JC, Nishi Y, Yanase T, Huang HF, Leung PC.** Homeobox A7 increases cell proliferation by up-regulation of epidermal growth factor receptor expression in human granulosa cells. *Reprod Biol Endocrinol*, v.8, p.61-70, 2010.
- Zhou H, Zhang Y.** Effect of growth factors on in vitro development of caprine preantral follicle oocytes. *Anim Reprod Sci*, v.90, p.265-272, 2005a.
- Zhou H, Zhang Y.** Regulation of in vitro growth of preantral follicles by growth factors in goats. *Domest Anim Endocrinol*, v.28, p.235-242, 2005b.
- Zhou HY, Pon YL, Wong AS.** Synergistic effects of epidermal growth factor and hepatocyte growth factor on human ovarian cancer cell invasion and migration: role of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and p38 mitogen-activated protein kinase. *Endocrinology*, v.148, p.5195-5208, 2007.