

Controle endócrino e local da foliculogênese em bovinos¹

Endocrine and local control of folliculogenesis in cattle

José Buratini Jr.

Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

Correspondência: buratini@ibb.unesp.br

Resumo

Em bovinos, protocolos hormonais que controlam o desenvolvimento folicular e a função lútea permitem IA em momento pré-determinado, superestimulação ovariana e sincronização de receptoras para TE, potencializando a eficiência reprodutiva. Contudo, avanços nas técnicas de reprodução assistida requerem melhor entendimento da fisiologia ovariana. Apesar da enorme quantidade de informações produzidas durante as duas últimas décadas, o entendimento completo dos mecanismos controladores do desenvolvimento folicular ainda não foi atingido. Este trabalho revisa os principais mecanismos de controle das fases pré-antral e antral do desenvolvimento folicular, com foco principal na regulação predominantemente parácrina da fase pré-antral e na discussão dos fatores envolvidos na seleção do folículo dominante.

Palavras-chave: fatores endócrinos, fatores de crescimento, folículos ovarianos, bovinos

Abstract

In cattle, hormone protocols that control follicle development and luteal function allow timed AI, ovarian superstimulation and synchronization of recipients for ET, thus enhancing reproductive efficiency. However, advances in assisted reproductive technologies require a better understanding of ovarian physiology. Despite the huge amount of information produced over the last two decades, a full understanding of mechanisms underlying follicle development has yet to be achieved. This work reviews the main controlling mechanisms of preantral and antral follicle development, with main focus on the predominantly paracrine regulation of the preantral stage, and on the discussion of the factors involved in the selection of the dominant follicle.

Keywords: endocrine factors, growth factors, ovarian follicles, bovine

Desenvolvimento folicular pré-antral

O crescimento de folículos antrais iniciais até o diâmetro aproximado de 4 mm na ausência de FSH sustenta a hipótese de que o estágio pré-antral da foliculogênese é predominantemente regulado por fatores intra-ovarianos (Gong *et al.*, 1996). Contudo, receptores de FSH (FSHR) foram detectados em folículos primários bovinos e aumento do crescimento folicular pré-antral foi observado após adição de FSH ao meio de cultura, sugerindo o papel de coadjuvante para o FSH no controle do estágio pré-antral (Xu *et al.*, 1995; McNatty *et al.*, 1999; Gutierrez *et al.*, 2000; Webb *et al.*, 2003).

O oócito não é um mero expectador ou receptor de ações parácrinas oriundas das células vizinhas na fase pré-antral. Ele participa ativamente na indução da proliferação e diferenciação das células da granulosa (Gilchrist *et al.*, 2004). Para tanto, comunicação intercelular é proporcionada por processos citoplasmáticos trans-zonais (TZP) e pela secreção de mediadores parácrinos. As TZPs são extensões das células da granulosa que penetram através da zona pelúcida e atingem a membrana do oócito, onde junções do tipo gap permitem transporte bidirecional de moléculas reguladoras (Albertini *et al.*, 2001). Já a comunicação parácrina entre o oócito e as células da granulosa, embora também bidirecional, é mediada por vários fatores de crescimento produzidos por ambos os tipos celulares, dentre os quais destacam-se o fator de células tronco (SCF; também conhecido como kit-ligante: KL) e membros da família dos fatores de crescimento transformantes- β (TGF- β), particularmente o fator de crescimento diferencial-9 (GDF-9) e a proteína morfogenética óssea-15 (BMP-15; também conhecida como GDF-9B).

O receptor do KL, conhecido como c-kit, foi localizado em oócitos de folículos em crescimento, enquanto que o KL foi localizado em células da granulosa de folículos primordiais e primários em ruminantes (McNatty *et al.*, 1999). A importância da interação c-kit/KL para as fases iniciais da foliculogênese pré-antral foi demonstrada por estudos em que a neutralização do receptor c-kit por imunização ou mutação inativadora do gene interrompeu o desenvolvimento (Yoshida *et al.*, 1997; Kissel *et al.*, 2000). Acredita-se que o KL induza a secreção de mitógenos oocitários responsáveis pelo início da proliferação das células da granulosa (Otsuka e

¹Palestra apresentada no XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 31 de maio a 02 de junho de 2007, Curitiba, PR.

Shimasaki, 2002). Por outro lado, a detecção do receptor c-kit em células da teca e a expressão aumentada do KL no momento da formação da camada da teca, sugerem um papel importante para esse fator de crescimento também na diferenciação de células do estroma em células da teca (Parrot e Skinner, 2000).

O GDF-9 e a BMP-15 foram localizados exclusivamente em oócitos de folículos ovinos e bovinos a partir do estágio primordial (Bodensteiner *et al.*, 1999; Juengel *et al.*, 2004). A deleção do gene GDF-9 causou infertilidade com foliculogênese bloqueada no estágio primário em camundongos (Dong *et al.*, 1996), enquanto que o tratamento com GDF-9 estimulou o crescimento de folículos pré-antrais em ratas (Vitt *et al.*, 2000a, b), indicando participação fundamental do GDF-9 na regulação pré-antral. As ovelhas Inverdale, por apresentarem mutações inativadoras da BMP-15, constituem modelo interessante para a compreensão do papel desta proteína no controle da foliculogênese. A mutação em homozigose causa infertilidade com bloqueio da foliculogênese no estágio primário, mas quando em heterozigose, resulta em taxa ovulatória aumentada (Galloway *et al.*, 2000). Foi sugerido que a redução da disponibilidade de BMP-15 em ovelhas heterozigotas estimularia o desenvolvimento folicular por aumentar a sensibilidade ao FSH, já que estudos *in vitro* indicaram que a BMP-15 inibe a expressão de receptores para FSH (Otsuka *et al.*, 2001).

As vias de sinalização do KL, BMP-15 e GDF-9 interagem e se modulam reciprocamente. Enquanto a BMP-15 estimula a expressão do KL, este inibe a expressão da BMP-15. Já o GDF-9 parece inibir a expressão do KL em células da granulosa (Joyce *et al.*, 2000). O bloqueio da sinalização c-kit/KL em sistema de co-cultivo de células da granulosa com oócitos suprimiu a proliferação das células da granulosa induzida pela BMP-15, sugerindo que a BMP-15, via ativação do KL, induz a produção de mitógenos oocitários, dentre eles o GDF-9 (Otsuka e Shimasaki, 2002; Shimasaki *et al.*, 2003). Sendo assim, propôs-se a hipótese de que o desenvolvimento folicular pré-antral seria iniciado pela interação do KL com a BMP-15, enquanto que o GDF-9 seria secretado posteriormente por oócitos inteiramente crescidos para promover proliferação das células da granulosa e modular a ação do KL (Shimasaki *et al.*, 2003).

O envolvimento do IGF-1 nos estágios iniciais da foliculogênese foi evidenciado por estudos em que o nocaute do gene comprometeu severamente o desenvolvimento pré-antral e antral inicial em camundongos (Elvin e Matzuk, 1998). Contudo, distintamente dos fatores supracitados, o IGF-1 tem ação endócrina nesta fase. Os folículos pré-antrais não expressam os ligantes IGF-1 ou IGF-2, mas expressam receptores (IGFR-1) e proteínas ligantes (IGFBP-2 e 3), que mediam a ação e regulam a disponibilidade local de IGF-1 de origem hepática (Webb *et al.*, 2003). Os efeitos dos IGF-1 sobre o desenvolvimento folicular pré-antral variam com o sistema de cultivo, mas estimulação foi relatada quando doses de insulina próximas às fisiológicas foram utilizadas (Gutierrez *et al.*, 2000; Fortune *et al.*, 2004).

Os fatores de crescimento fibroblástico (FGF) figuram entre vários outros peptídeos intra-ovarianos envolvidos no controle pré-antral (McNatty *et al.*, 1999). O FGF-2 (FGF básico) foi localizado em oócitos de folículos primordiais e primários e em células da granulosa e da teca de folículos pré-antrais e antrais (Van Wezel *et al.*, 1995), enquanto que seus receptores foram predominantemente localizados na camada da granulosa (Wandji *et al.*, 1992). Testes em cultivo de folículos pré-antrais sugeriram que o FGF-2 estimula o desenvolvimento e a proliferação de células da granulosa (Gospodarowicz *et al.*, 1989; Nilsson *et al.*, 2001). Contudo, a família FGF abriga 22 membros que ativam 7 receptores diferentes (Itoh e Ornitz, 2004), o que sugere a participação de outros FGFs no controle da foliculogênese. O RNAm do FGF-8 e de seus receptores, o FGFR-3c e o FGFR-4, foi detectado em folículos primordiais, primários e secundários de fetos bovinos. A expressão do FGF-8 mostrou-se associada a do FGFR-3c e mais freqüente em folículos secundários, sugerindo que estes genes são gradativamente ativados ao longo do crescimento pré-antral (Buratini *et al.*, 2005a). Mais recentemente, a expressão do FGF-7 e do FGF-10, também conhecidos como fatores de crescimento dos queratinócitos 1 e 2 (KGF-1 e KGF-2), foi detectada em folículos pré-antrais primordiais, primários e secundários de fetos bovinos, sugerindo sua participação na regulação da foliculogênese pré-antral (Pinto *et al.*, 2006).

Desenvolvimento folicular antral

A fase antral do desenvolvimento folicular é dependente das gonadotrofinas, que induzem o recrutamento e o crescimento sincronizado de folículos antrais em ondas foliculares (Fortune *et al.*, 2001). Em bovinos, os intervalos interovulatórios apresentam 2 ou 3 ondas foliculares, sendo que a ocorrência de 1 ou 4 ondas é rara (Sirois e Fortune, 1988; Figueiredo *et al.*, 1997). Além das gonadotrofinas, peptídeos sintetizados localmente desempenham papel chave na regulação da fase antral, tanto por meio de mecanismos parácrinos como endócrinos (Webb *et al.*, 2003; Fortune *et al.*, 2004).

O aumento das concentrações plasmáticas de FSH constitui o estímulo necessário para o recrutamento e emergência da onda folicular (Adams *et al.*, 1992). Em espécies monovulatórias, apenas um folículo é selecionado dentre os recrutados para continuar a crescer e diferenciar-se em folículo ovulatório, enquanto os demais têm como destino a atresia. O folículo selecionado é conhecido como folículo dominante e suprime ativamente o crescimento dos subordinados pela secreção de estradiol e inibina (Fortune, 1994; Ginther *et al.*,

1996). A supressão seletiva de gonadotrofinas endógenas com uso de agonista de GnRH constituiu modelo interessante para avaliação dos requerimentos de FSH e LH para o desenvolvimento antral de bovino. Folículos antrais bovinos cresceram até o diâmetro de 4mm na ausência de FSH e LH, indicando que as fases pré-antral e antral inicial contam fundamentalmente com o aporte de estimuladores locais. Já o crescimento entre 4 e 8mm mostrou-se dependente do FSH e independente do LH, enquanto que folículos maiores que 9mm só foram observados na presença de LH endógeno ou FSH exógeno (Gong *et al.*, 1996). Portanto, os folículos são considerados dependentes de FSH até a ocorrência da dominância, após o que eles se tornam dependentes de LH (Fortune *et al.*, 2001).

A expressão de receptores de LH (LHR) em células da granulosa está associada à dominância folicular (Xu *et al.*, 1995; Bao e Garverick, 1998), o que condiz com o aumento proporcional ao diâmetro da capacidade de ligação de células da granulosa de folículos dominantes ao hCG (Ireland e Roche, 1983). Contudo, há dados discrepantes quanto à expressão do LHR em células da granulosa ao redor do desvio folicular em bovinos. Evans e Fortune (1997) não observaram o RNAm do LHR por meio de hibridização *in situ* nas células da granulosa do folículo dominante ou do maior folículo subordinado no segundo e terceiro dias da onda folicular (momento do desvio folicular), corroborando resultados anteriores em que o LHR não foi detectado em células da granulosa antes dos 9mm de diâmetro por meio da mesma técnica (Xu *et al.*, 1995). Contudo, utilizando RT-PCR, Beg *et al.* (2001) detectaram expressão do RNAm do LHR em maior concentração em futuros folículos dominantes comparados com seus subordinados antes do desvio folicular, o que os levou a sugerir que a expressão precoce do LHR em células da granulosa seria um evento importante para a seleção folicular. Mais recentemente, Robert *et al.* (2003), também utilizando RT-PCR, relataram expressão do RNAm do LHR em células da granulosa de folículos menores que 5mm. Curiosamente, a expressão do LHR não foi observada em células da teca neste mesmo estudo, o que o torna duplamente surpreendente.

O comportamento transcricional do gene LHR deve ser levado em consideração nos estudos de expressão gênica, já que várias isoformas do LHR (produtos de “splicing” alternativo) foram descritas em ovinos e bovinos e nem todas parecem ser funcionais. A investigação da região compreendida entre os finais dos exons 9 e 11 revelou deleção alternativa do exon 10 e parte do exon 11, gerando quatro transcritos alternativos (Abdennebi *et al.*, 2002; Robert *et al.*, 2003). A deleção parcial do exon 11 gera uma isoforma que não é transportada para a membrana celular (Bacich *et al.*, 1999; Kawate, 2004), enquanto que a deleção do exon 10 resulta em afinidade diminuída ao LH em relação ao hCG (Gromoll *et al.* 2000; Müller *et al.* 2003). Recentemente, a presença desses quatro transcritos alternativos foi confirmada em vacas Nelore em estudo que também revelou a ocorrência de deleção facultativa do exon 3 do LHR em bovinos (Nogueira *et al.*, 2006). Nesse mesmo estudo, a expressão do RNAm do LHR mostrou-se correlacionada com o diâmetro folicular em células da granulosa, tendo sido observada apenas após o diâmetro de 7mm. Considerando-se que o desvio folicular ocorre ao redor do diâmetro de 6mm na raça Nelore (Sartorelli *et al.*, 2005), conclui-se que a expressão do gene LHR nas células da granulosa foi detectada já na fase de dominância, portanto, após a seleção folicular. A expressão do LHR em células da granulosa em cultivo foi estimulada pelo FSH, mas a proporção entre as isoformas variou em relação ao padrão *in vivo*, sugerindo que o meio de cultura carece de agentes intra-ovarianos necessários para a indução fisiológica da expressão do LHR. Além disso, apesar da expressão do LHR nas células da granulosa em cultivo, a adição de LH ao meio de cultura não afetou a esteroidogênese, demonstrando que a presença do RNAm do receptor não implica necessariamente em funcionalidade (Nogueira *et al.*, 2006). Em conjunto, esses relatos sugerem cautela na interpretação fisiológica de dados sobre a expressão do RNAm do LHR em células da granulosa.

Por outro lado, o sistema IGF parece, de fato, desempenhar papel crítico na seleção do folículo dominante. Os IGFs são sinérgicos ao FSH na promoção de crescimento folicular e produção de estradiol (Fortune *et al.*, 2004). Apesar da expressão gênica do IGF-1 e IGF-2 ter sido localizada em células da granulosa e da teca, respectivamente, o IGF-2 tem sido apontado como o principal IGF intraovariano, enquanto que o IGF-1 atuaria de forma endócrina (Yuan *et al.*, 1998; Armstrong *et al.*, 2000). O IGF-1 e o IGF-2 ativam os receptores de IGF tipo 1 e 2, ambos presentes em células da granulosa e da teca (Spicer, 2004). Embora a concentração de IGF total não tenha se mostrado diferente no fluido folicular de folículos dominantes em relação a folículos subordinados (de la Sota *et al.*, 1996), a concentração de IGF-1 livre foi maior no fluido folicular do maior folículo comparado ao segundo maior da mesma onda, antes mesmo da observação de diferenças na concentração de estradiol ou no diâmetro (Beg *et al.*, 2002). Este achado sugere a existência de um sistema modulador da disponibilidade de IGF intra-folicular, diferencialmente regulado em folículos dominantes e subordinados. As IGFbps 2, 3, 4 e 5 foram localizadas no fluido folicular bovino e parecem desempenhar papel central nesse contexto (Fortune *et al.*, 2001; Webb *et al.*, 2003). Concentrações reduzidas da IGFBP-4 foram encontradas em folículos dominantes comparados com os dois maiores folículos subordinados apenas 1,5 dias após a emergência da onda em bovinos (Mihm *et al.*, 2000). A queda dos níveis de IGFBP-4 no folículo selecionado foi interpretada como consequência do aumento de sua degradação proteolítica pela proteína plasmática associada à gestação (PAPP-A), recentemente identificada no folículo (Mazerbourg *et al.*, 2001). Posteriormente, verificou-se que não há apenas degradação precoce da IGFBP-4, como também da IGFBP-5, no

maior folículo antes do desvio folicular (Fortune *et al.*, 2004). As concentrações intra-foliculares de IGFBP-2 também diminuíram com o crescimento do folículo dominante, mas posteriormente em relação à queda da IGFBP-4 e -5 (Fortune *et al.*, 2004). Distintamente da IGFBP-4 e -5, as concentrações de IGFBP-2 parecem ser reguladas no nível transcricional pelo FSH, o que é sugerido pela ausência do RNAm da IGFBP-2 em células da granulosa de folículos dominantes grandes e pela inibição da expressão da IGFBP-2 pelo FSH em células da granulosa em cultivo (Armstrong *et al.*, 1998; Webb *et al.*, 2003).

Inúmeros outros peptídeos intra-ovarianos atuam no controle do desenvolvimento antral, dentre eles os FGFs. O FGF-2 é o FGF mais extensivamente investigado na fisiologia folicular. O principal sítio de expressão e produção de FGF-2 é a camada da teca nos folículos antrais bovinos (Berisha *et al.*, 2000). Embora estudos de ligação tenham sugerido que o principal alvo do FGF-2 é a camada da granulosa (Wandji *et al.*, 1992), receptores para o FGF-2 também são expressos em células da teca (Berisha *et al.*, 2004; Buratini *et al.*, 2005b). De fato, ambos os tipos celulares parecem responder ao FGF-2, já que ele induziu a proliferação e inibiu a esteroidogênese tanto em cultivo de células da granulosa (Lavranos *et al.*, 1994; Vernon e Spicer, 1994) quanto de células da teca (Spicer e Stewart, 1996; Nilsson *et al.*, 2001). Como a expressão do RNAm do FGF-2 aumenta com o desenvolvimento folicular em células da teca, supõe-se que o FGF-2 esteja principalmente envolvido no controle do crescimento final de folículos antrais, estimulando angiogênese e proliferação e sobrevivência das células da granulosa (Berisha *et al.*, 2004). Assim como o FGF-2, o FGF-1 também é predominantemente expresso por células da teca, mas de forma estável ao longo do desenvolvimento folicular antral. Embora a função do FGF-1 ainda não tenha sido bem caracterizada, os dados de expressão, combinados a efeitos descritos em outros tecidos, sugerem ação anti-apoptose/pró-sobrevivência em vasos sanguíneos e células da granulosa (Berisha *et al.*, 2004).

A avaliação da expressão do FGF-7 (KGF-1) em folículos antrais indicou sua produção em células da teca (Parrot *et al.*, 1994; Berisha *et al.*, 2004). Similarmente ao FGF-2, o FGF-7 estimulou a proliferação das células da granulosa e inibiu a esteroidogênese *in vitro* (Parrot *et al.*, 1994; Parrot e Skinner, 1998), o que condiz com a localização predominante do seu receptor (FGFR2b) na camada da granulosa (Parrot e Skinner, 1998; Berisha *et al.*, 2004). A ação do FGF-7 parece ser modulada no nível do receptor, já que as concentrações de RNAm do FGF-7 não variaram ao longo da fase antral, enquanto que a expressão gênica do FGFR-2b aumentou com as concentrações intra-foliculares de estradiol (Berisha *et al.*, 2004). Mais recentemente, a expressão do RNAm do FGF-10 (KGF-2) foi demonstrada em oócitos e células da teca de folículos antrais bovinos. Apesar da similaridade estrutural entre o FGF-7 e o FGF-10, observou-se alta expressão do RNAm do FGF-10 e ausência do FGF-7 em oócitos bovinos (Buratini *et al.*, 2004). Como as células da granulosa expressam receptores para o FGF-10 (FGFR-2b; Berisha *et al.*, 2004), esses resultados sugerem o envolvimento do FGF-10 na sinalização parácrina oriunda do oócito e células da teca alvejando as células da granulosa. A concentração de RNAm do FGF-10 diminuiu com as concentrações intra-foliculares de estradiol em células da teca, indicando que a expressão do FGF-10 é regulada ao longo do desenvolvimento e que o FGF-10 deve atuar especificamente na diferenciação teca-induzida da camada da granulosa de folículos antrais recém-recrutados (Buratini *et al.*, 2004).

Dados de expressão gênica também sugerem a participação do FGF-8 e seus receptores, o FGFR-3c e o FGFR-4, no controle da fase antral. O RNAm do FGF-8 foi detectado em oócitos, células da granulosa e da teca de bovinos (Buratini *et al.*, 2005b), contrariando estudos anteriores em que o FGF-8 foi considerado oócito-específico em camundongos (Valve *et al.*, 1997). Já o RNAm do FGFR-4 foi exclusivamente detectado em células da teca em bovinos, em concentrações inversamente correlacionadas com o diâmetro folicular, sugerindo um papel na diferenciação inicial das células da teca (Buratini *et al.*, 2005b). Distintamente, o RNAm do FGFR-3c foi observado tanto em células da granulosa como em células da teca em folículos antrais bovinos. Enquanto a expressão do FGFR-3c mostrou-se relativamente estável em células da teca, as concentrações de RNAm mostraram-se positivamente correlacionadas com o diâmetro folicular e concentração intra-folicular de estradiol nas células da granulosa. Estes resultados sugerem um papel específico para o FGFR-3c na regulação da proliferação e diferenciação das células da granulosa de folículos dominantes (Buratini *et al.*, 2005b).

A interação entre o FSH e os FGFs ilustra bem a integração entre mecanismos endócrinos e parácrinos no controle do desenvolvimento folicular. O FSH estimulou a expressão do FGFR-3c e do FGFR-2b em células da granulosa *in vitro*, sugerindo que ele sensibiliza as células da granulosa de folículos recém-recrutados à ação dos FGFs, o que contribuiria para a manutenção do crescimento folicular após o desvio diante de concentrações de FSH reduzidas (Buratini *et al.*, 2005b, c).

Conclusões

Mecanismos parácrinos e endócrinos se integram no controle no desenvolvimento folicular. Na fase pré-antral, a regulação local é predominante, destacando-se o papel ativo do oócito e sua interação com as células da granulosa mediada pelo c-kit/KL, BPM-15 e GDF-9. Em contraste, a fase antral é dependente de suporte gonadotrófico. Embora a expressão de LHR em células da granulosa seja importante para que o LH mantenha o crescimento do folículo dominante após o desvio, este evento não parece ser necessário à seleção

folicular. Peptídeos intra-ovarianos como o IGF-2, as IGFbps e os FGFs participam de mecanismos de controle que, associados à ação gonadotrópica, determinam o recrutamento, seleção e dominância folicular.

Referências

- Abdennebi L, Lesport AS, Remy JJ, Grebert D, Pisselet C, Monniaux D, Salesses R.** Differences in splicing of mRNA encoding LH receptor in theca cells according to breeding season in ewes. *Reproduction*, v.123, p.819-826, 2002.
- Adams GP, Matteri RL, Kastelic JP, Ko JCH, Ginther OJ.** Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J Reprod Fertil*, v.94, p.177-188, 1992.
- Albertini DF, Combelles CMH, Benecchi E, Carabatsos MJ.** Cellular basis for paracrine regulation of ovarian follicle development. *Reproduction*, v.121, p.647-653, 2001.
- Armstrong DG, Baxter G, Gutierrez CG, Hogg CO, Glazyrin AL, Campbell BK, Bramley TA, Webb R.** Insuline-like growth factor binding protein-2 and -4 messenger ribonucleic acid expression in bovine ovarian follicles: effect of gonadotropins and development status. *Endocrinology*, v.139, p.2146-2154, 1998.
- Armstrong DG, Gutierrez CG, Baxter G, Glazyrin AL, Mann GE, Woad KJ, Hogg CO, Webb R.** Expression of mRNA encoding IGF-I, IGF-II and type 1 IGF receptor in bovine ovarian follicles. *J Endocrinol*, v.165, p.101-113, 2000.
- Bacich DJ, Earl CR, O'Keefe DS, Norman RJ, Rodgers RJ.** Characterization of the translated products of the alternatively spliced luteinizing hormone receptor in the ovine ovary throughout the oestrous cycle. *Mol Cell Endocrinol*, v.147, p.113-124, 1999.
- Bao B, Garverick HA.** Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *J Anim Sci*, v.76, p.1903-1921, 1998.
- Beg MA, Bergfelt DR, Kot K, Ginther OJ.** Follicle selection in cattle: dynamics of follicular fluid factors during development of follicle dominance. *Biol Reprod*, v.66, p.120-126, 2002.
- Beg MA, Bergfelt DR, Kot K, Wiltbank MC, Ginther OJ.** Follicular-fluid factors and granulosa-cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. *Biol Reprod*, v.64, p.432-441, 2001.
- Berisha B, Shams D, Kosmann M, Amselgruber W, Einspanier R.** Expression and localization of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor during the final growth of bovine ovarian follicles. *J Endocrinol*, v.167, p.371-382, 2000.
- Berisha B, Sinowatz F, Schams D.** Expression and localization of fibroblast growth factor (FGF) family members during the final growth of bovine ovarian follicles. *Mol Reprod Dev*, v.67, p.162-171, 2004.
- Bodensteiner KJ, Clay CM, Moeller CL, Sawyer HR.** Molecular cloning of de ovine growth/differentiation factor-9 gene and expression of growth differentiation factor-9 in ovine and bovine ovaries. *Biol Reprod*, v.60, p.381-386, 1999.
- Buratini Jr J, Castilho AC, Cao M, Nicola ES, Price CA.** Regulation of fibroblast growth factor receptor-2b (FGFR-2b) gene expression in cultured bovine granulosa cells. *Biol Reprod Special Issue* p.190, 2005c.
- Buratini Jr J, Glapinski VF, Giometti IC, Teixeira AB, Costa IB, Avellar MCW, Barros CM, Price CA.** Expression of fibroblast growth factor-8 and its cognate receptors, fibroblast growth factor receptor (FGFR) -3c and -4, in fetal bovine preantral follicles. *Mol Reprod Dev*, v.70, p.255-61, 2005a.
- Buratini Jr J, Pinto MGL, Giometti IC, Costa IB, Teixeira AB, Barros CM, Price CA.** Fibroblast growth factor 10 gene expression in bovine antral follicles. *Biol Reprod Special Issue*, p.269-270, 2004.
- Buratini Jr J, Teixeira AB, Costa IB, Glapinski VF, Pinto MGL, Giometti IC, Barros CM, Cao M, Nicola ES, Price CA.** Expression of fibroblast growth factor-8 and regulation of cognate receptors, fibroblast growth factor receptor-3c and -4, in bovine antral follicles. *Reproduction*, v.130, p.343-350, 2005b.
- de la Sota RL, Simmen FA, Diaz T, Thatcher WW.** Insulin-like growth factor system in bovine first-wave dominant and subordinate follicles. *Biol Reprod*, v.55, p.803-812, 1996.
- Dong J, Albertini DF, Nishimori K, Kumar TR, Lu N, Matzuk MM.** Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature*, v.383, p.531-535, 1996.
- Elvin JA, Matzuk MM.** Mouse models of ovarian failure. *Rev Reprod*. v.3, p.183-195, 1998.
- Evans ACO, Fortune JE.** Selection of the dominant follicle in cattle occurs in the absence of differences in the expression of messenger ribonucleic acid for gonadotropin receptors. *Endocrinology*, v.138, p.2936-2971, 1997.
- Figueiredo RA, Barros CM, Pinheiro OL, Soler JMP.** Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Theriogenology*, v.47, p.1489-505, 1997.
- Fortune JE.** Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol Reprod*, v.50, p.225-232, 1994.
- Fortune JE, Rivera GM, Evans ACO, Turzillo AM.** Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biol Reprod*, v.65, p.648-654, 2001.
- Fortune JE, Rivera GM, Yang MY.** Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci*, v.82-83, p.109-126, 2004.
- Galloway SM., Mcnatty KP, Cambridge LM, Ritvos O.** Mutation in an oocyte derived growth factor gene

- (BMP-15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nat Gen*, v.25, p.279-283, 2000.
- Gilchrist RB, Ritter LJ, Armstrong DT.** Oocyte-somatic cell interactions during follicle development in mammals. *Anim Reprod Sci*, v.82-83, p.431-446, 2004.
- Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K.** Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod*, v.55, p.1187-1194, 1996.
- Gong JG, Campbell BK, Bramley TA, Gutierrez CG, Peters AR, Webb R.** Suppression in the secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and ovarian follicle development in heifers continuously infused with a gonadotropin-releasing hormone agonist. *Biol Reprod*, v.55, p.68-74, 1996.
- Gospodarowicz D, Plouet J, Fujii DK.** Ovarian germinal epithelial cells respond to basic fibroblast growth factor and express its gene: implications for early folliculogenesis. *Endocrinology*, v.125, p.1266-1276, 1989.
- Gromoll J, Eiholzer U, Nieschlag E, Simoni.** Male hypogonadism caused by homozygous deletion of exon 10 of the luteinizing hormone (LH) receptor: differential action of human chorionic gonadotropin and LH. *J Clin Endocrinol Metab*, v.86, p.2281-2286, 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.
- Ireland JJ, Roche JF.** Development of nonovulatory antral follicles in heifers: changes in steroids in follicular fluid and receptors for gonadotropins. *Endocrinology*, v.112, p.150-156, 1983.
- Itoh N, Ornitz D.** Evolution of the Fgf and Fgfr gene families. *Trends Gen*, v.20, p.563-569, 2004.
- Joyce IM, Clark AT, Pendola FL, Eppig JJ.** Comparison of recombinant growth factor-9 and oocyte regulation of Kit ligand messenger ribonucleic acid expression in mouse ovarian follicles. *Biol Reprod*, v.63, p.1669-1675, 2000.
- Juengel JL, Bondenstein DA, Heath NL, Hudson NL, Moeller CL, Smith P, Galloway SM, Davis GH, Sawyer HR, MacNatty KP.** Physiology of GDF9 and BMP15 signaling molecules. *Anim Reprod Sci*, v.82-83, p.447-460, 2004.
- Kawate N.** Studies on the regulation of expression of luteinizing hormone receptor in the ovary and the mechanism of follicular cyst formation in ruminants. *J Reprod Dev*, v.50, p.1-8, 2004.
- Kissel H, Timokhina I, Hardy MP, Rothschild G, Tajima Y, Soares V, Angeles M, Whitlow SR, Manova K, Besmer P.** Point mutation in kit receptor tyrosine kinase reveals essential roles for kit signaling in spermatogenesis and oogenesis without affecting other kit responses. *Embo J*, v.19, p.1312-1326, 2000.
- Lavranos TC, Rodgers HF, Bertonecello I, Rodgers RJ.** Anchorage-independent culture of bovine granulosa cells: the effects of basic fibroblast growth factor and dibutyryl cAMP on cell division and differentiation. *Exp Cell Res*, v.211, p.245-251, 1994.
- Mazerbourg S, Overgaard TM, Oxvig C, Christiansen M, Conover AC, Laurendeau I, Vidand M, Tossier-Klopp G, Zapf J, Monget P.** Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) in ovine, bovine, porcine and equine ovarian follicles: involvement in IGF binding protein-4 proteolytic degradation and mRNA expression during follicular development. *Endocrinology*, v.142, p.5243-5253, 2001.
- McNatty KP, Heath DA, Lundy T, Fidler AE, Quirke L, O'Connell A., Smith P, Groome N, Tisdall DJ.** Control of early ovarian follicular development. *J Reprod Fertil Suppl*, n.54, p.3-16, 1999.
- Mihm M, Austin EJ, Good TEM, Ireland JLH, Knight PG, Roche JF, Ireland JJ.** Identification of potential intrafollicular factors involved in selection of dominant follicles in heifers. *Biol Reprod*, v.63, p.811-819, 2000.
- Müller T, Gromoll J, Simoni M.** Absence of exon 10 of the human luteinizing hormone (LH) receptor impairs LH, but not human chorionic gonadotropin action. *J Clin Endo Met*, v.88, p.2242-2249, 2003.
- Nilsson E, Parrott JA, Skinner MK.** Basic fibroblast growth factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol*, v.175, p.123-130, 2001.
- Nogueira MFG, Buratini JJr, Price CA, Castilho AC, Pinto MLG, Barros CM.** Expression of LH receptor mRNA splice variants in bovine granulosa cells: changes with follicle size and regulation by FSH in vitro. *Mol Reprod Dev*, v.74, p.680-686, 2006.
- Otsuka F, Yamamoto S, Erickson GF, Shimasaki S.** Bone morphogenetic protein-15 inhibits follicle-stimulating hormone (FSH) action by suppressing FSH receptor expression. *J Biol Chem*, v.276, p.11387-11392, 2001.
- Otsuka F, Shimasaki S.** A negative feedback system between oocyte bone morphogenetic protein-15 and granulosa cell kit ligand: its role in regulating granulosa cell mitosis. *Proc Natl Acad Sci*, v.89, p.8060-8065, 2002.
- Parrot JA, Skinner MK.** Kit ligand actions on ovarian stromal cells: effects on theca cell recruitment and steroid production. *Mol Reprod Dev*, v.55, p.55-64, 2000.
- Parrott JA, Skinner MK.** Thecal cell-granulosa cell interactions involve a positive feedback loop among keratinocyte growth factor, hepatocyte growth factor and kit-ligand during ovarian follicular development. *Endocrinology*, v.139, p.2240-2245, 1998.
- Parrott JA, Vigne JL, Chu BZ, Skinner MK.** Mesenchymal-epithelial interactions in the ovarian follicle

- involve keratinocyte and hepatocyte growth factor production by thecal cells and their action on granulosa cells. *Endocrinology*, v.135, p.569-575, 1994.
- Pinto MGL, Castilho ACS, Amorim RL, Price CA, Buratini JJr.** Expressão dos fatores de crescimento fibroblástico 7 e 10 (FGF-7 e FGF-10) em folículos pré-antrais bovinos. *Acta Sci Vet*, v.34, p.362, 2006. Resumo.
- Robert C, Gagné D, Lussier JG, Bousquet D, Barnes FL, Sirard MA.** Presence of LH receptor mRNA in granulosa cells as a potential marker of oocyte developmental competence and characterization of the bovine splicing isoforms. *Reproduction*, v.125, p.437-446, 2003.
- Sartorelli E, Carvalho L, Bergfelt D, Ginther O, Barros C.** Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. *Theriogenology*, v.63, p.2382-2394, 2005.
- Shimasaki S, Moore RK, Erickson GF, Otsuka F.** The role of bone morphogenetic proteins in ovarian function. *Reproduction*, v. 61, p.323-337, 2003.
- Sirois J, Fortune JE.** Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol Reprod*, v.39, p.308-17, 1988.
- Spicer LJ, Stewart RE.** Interactions among basic fibroblast growth factor, epidermal growth factor, insulin, and insulin-like growth factor-I (IGF-I) on cell numbers and steroidogenesis of bovine thecal cells: role of IGF-I receptors. *Biol Reprod*, v.54, p.255-263, 1996.
- Valve E, Penttilä TL, Paranko J, Harkonen P.** FGF-8 is expressed during specific phases of rodent oocyte and spermatogonium development. *Biochem Biophys Res Commun*, v.232: 173-177, 1997.
- Van Wezel IL, Umapathysivam K, Tilley WD, Rodgers RJ.** Immunohistochemical localization of basic fibroblast growth factor in bovine ovarian follicles. *Mol Cell Endocrinol*, v.115, p.133-140, 1995.
- Vernon RK, Spicer LJ.** Effects of basic fibroblast growth factor and heparin on follicle-stimulating hormone-induced steroidogenesis by bovine granulosa cells. *J Anim Sci*, v.72, p.2696-2702, 1994.
- Vitt UA, Hayashi M, Klein C, Hsueh AJW.** Growth differentiation factor-9 stimulates proliferation but suppresses the follicle stimulating hormone-induced differentiation of cultured granulosa cells from small antral and preovulatory rat follicles. *Biol Reprod*, v.62, p.370-377, 2000b.
- Vitt UA, Mcgee EA, Hayashi M, Hsueh AJW.** In vivo treatment with GDF-9 stimulates primordial and primary follicle progression and theca cell marker CYP17 in ovaries of immature rats. *Endocrinology*, v.141, p.3814-3820, 2000a.
- Xu Z, Garverick HA, Smith GW, Smith MF, Hamilton SA, Youngquist RS.** Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. *Biol Reprod*, v.53, p.951-957, 1995.
- Wandji SA, Pelletier G, Sirard MA.** Ontogeny and cellular localization of ¹²⁵I-labeled basic fibroblast growth factor and ¹²⁵I-labeled epidermal growth factor binding sites in ovaries from bovine fetuses and neonatal calves. *Biol Reprod*, v.47, p.807-813, 1992.
- Webb R, Nicholas B, Gong JG, Campbell BK, Gutierrez CG, Garverick, HA, Armstrong DG.** Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reproduction Suppl*, n.61, p.71-90, 2003.
- Yoshida H, Takakura N, Kataoka H, Kunisada T, Okamura H, Nishikawa S.** Stepwise requirement of c-Kit tyrosine kinase in mouse ovarian follicle development. *Dev Biol*, v.184, p.122-37, 1997.
- Yuan W, Bao B, Garverick HA, Youngquist RS, Lucy MC.** Follicular dominance in cattle is associated with divergent patterns of ovarian gene expression for insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-II binding protein-2 in dominant and subordinate follicles. *Dom Anim Endocrinol*, v.15, p.55-63, 1998.