



Hormônios hipofisários e seu papel na foliculogênese

Pituitary hormones and their role in folliculogenesis

M.V.A. Saraiva¹, M.H.T. Matos¹, L.R. Faustino¹, J.J.H. Celestino¹, J.R.V. Silva², J.R. Figueiredo¹

¹Laboratório de Manipulação de Oócitos e Foliculos Ovarianos Pré-Antrais (LAMOFOPA), Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

²Núcleo de Biotecnologia de Sobral (NUBIS), Universidade Federal do Ceará, Sobral, CE, Brasil.
Correspondência: vivi_veterinaria@yahoo.com.br

Resumo

Os mecanismos que promovem o completo desenvolvimento folicular no ovário são complexos e, em parte, desconhecidos. Diferentes substâncias agem sobre estágios específicos do desenvolvimento folicular para regular tais mecanismos, possibilitando a ativação dos folículos primordiais, o crescimento folicular, a seleção de um folículo dominante e, finalmente, a ovulação. Dentre as substâncias envolvidas, destacam-se os hormônios hipofisários: as gonadotrofinas Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e Hormônio Luteinizante (LH), a somatotrofina ou Hormônio do Crescimento (GH) e a tireotrofina ou Hormônio Tireotrófico (TSH), que podem atuar de forma direta ou indireta sobre o desenvolvimento e a maturação dos folículos. As gonadotrofinas são consideradas reguladores primários da foliculogênese, possuindo uma ação quase que específica no sistema reprodutor. No entanto, existem fortes evidências que também apontam um importante papel do GH e TSH nessa regulação. Diante disso, a revisão a seguir abordará aspectos relacionados à atuação *in vivo* e *in vitro* destes hormônios (FSH, LH, GH e TSH) sobre o desenvolvimento folicular.

Palavras-chave: folículo, hormônios hipofisários, ovário.

Abstract

*The mechanisms that promote full development of ovarian follicle are complex and not well understood. Different substances act on specific stages of follicular development to regulate such mechanisms, allowing the activation of primordial follicles, follicular growth, selection of a dominant follicle and ultimately ovulation. Among the substances involved pituitary hormones are highlighted: the gonadotrophins Follicle Stimulating Hormone (FSH) and Luteinizing Hormone (LH), the Somatotrophin or Growth Hormone (GH) and Thyrotrophin or Thyrotrophic Stimulating Hormone (TSH), that act direct or indirectly on follicular development and maturation. The gonadotrophins are considered primary regulators of folliculogenesis, providing an almost specific action on the reproductive system. However, there are strong evidences that also indicate an important role of GH and TSH in this regulation. In this regard, this review will present some aspects related to each *in vivo* and *in vitro* performance of these hormones (FSH, LH, GH and TSH) on follicular development.*

Keywords: follicle, ovary, pituitary hormones.

Introdução

Durante a vida reprodutiva das fêmeas, um pequeno número de folículos primordiais são estimulados a crescer, e, uma vez iniciado o crescimento, os folículos entram em um curso pré-programado de maturação e desenvolvimento, processos necessários para o sucesso da ovulação e da fecundação, ou alternativamente, da atresia (Fair, 2003). Durante este crescimento, a morfologia folicular é alterada, uma vez que o oócito cresce e as células circundantes se multiplicam e se diferenciam (Bristol-Gould e Woodruff, 2006). Para controlar estas mudanças, diferentes fatores de crescimento e hormônios agem de forma sincrônica, a fim de regular todos os eventos que ocorrem no desenvolvimento folicular. Apesar da importância que esta regulação exerce sobre a fertilidade de fêmeas, as substâncias envolvidas em muitos dos aspectos relacionados à foliculogênese, principalmente na fase inicial, permanecem ainda pouco elucidadas (Hutt et al., 2006). No entanto, diversos trabalhos vêm sendo realizados na tentativa de esclarecer os mecanismos e as substâncias envolvidas em cada fase da foliculogênese (Figueiredo et al., 2008). Dentre estas substâncias, pode-se destacar a atuação dos hormônios hipofisários, FSH, LH, GH e TSH, que sabidamente desempenham um papel direto ou indireto na manutenção da viabilidade, bem como no estímulo ao crescimento e à maturação folicular (Sirotkin e Makarevich, 2002; Baldrige et al., 2004; Matos et al., 2007; Saraiva et al., 2008).

A maior parte dos estudos têm sido focados para a atuação das gonadotrofinas FSH e LH na fase final da foliculogênese, visto que estes hormônios agem de maneira coordenada na regulação do crescimento e diferenciação gonadal, esteroidogênese e gametogênese, regulando, por conseguinte, o ciclo estral ou

menstrual em fêmeas mamíferas (Kumar e Matzuk, 2000). Apesar da escassez de estudos relacionados à atuação do GH e TSH sobre a foliculogênese, sabe-se que ambos os hormônios atuam, de um modo geral, no processo reprodutivo, promovendo a homeostasia por meio da manutenção constante do ambiente interno via regulação do metabolismo, crescimento e maturação de órgãos (Chandrashekar et al., 2004; Lin et al., 2008).

Diante disto, esta revisão tem como objetivo relatar a importância dos hormônios hipofisários (FSH, LH, GH e TSH) no desenvolvimento folicular, enfatizando o papel e o mecanismo de ação das gonadotrofinas nas diferentes fases do crescimento folicular.

Hipófise e seus hormônios

A hipófise é uma glândula complexa e heterogênea, que exerce um papel central na integração de vários sistemas regulatórios (San e Frohman, 2008). Esta glândula se localiza na base do encéfalo, sob o hipotálamo (Greco e Stabenfeldt, 2004) e é dividida em três regiões distintas denominadas lobos anterior (adeno-hipófise), posterior (neuro-hipófise) e intermediário. A neuro-hipófise é responsável pela produção de oxitocina e hormônio antidiurético (ADH), enquanto a adeno-hipófise é responsável pela produção de seis hormônios: LH, FSH, GH, TSH, prolactina e hormônio adrenocorticotrófico (ACTH; Fig. 1; Barnett et al., 2006). A função de cada um destes hormônios é regulada pelo sistema nervoso central, por *feedback* entre os hormônios produzidos por glândulas periféricas e ainda por mecanismos intra-hipofisários, por meio de sinalizações neuroendócrinas que envolvem o hipotálamo (San e Frohman, 2008).

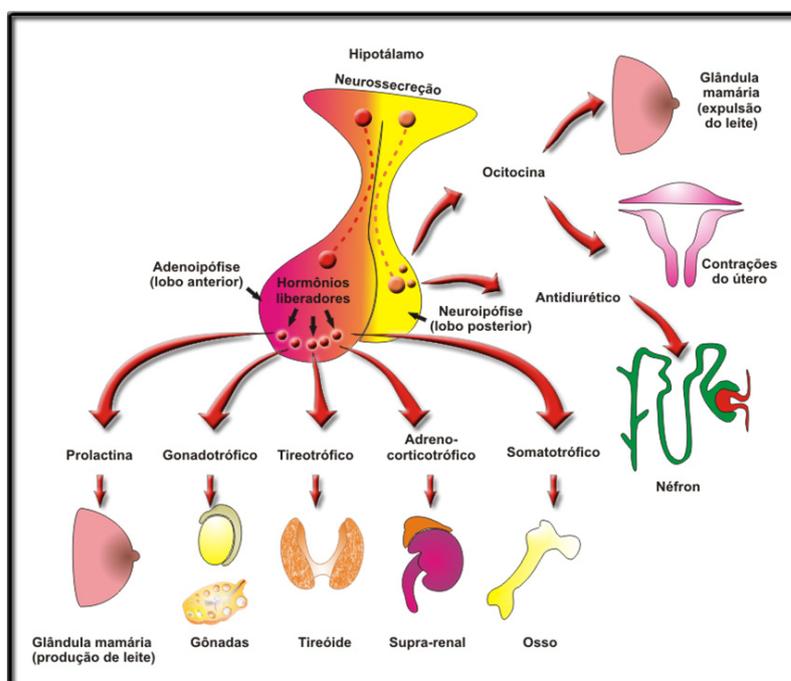


Figura 1. Representação esquemática da atuação dos hormônios hipofisários sobre diferentes órgãos em mamíferos.

No que se refere aos diferentes eventos associados à reprodução de mamíferos, estudos constataram que existe uma interação entre os eixos hipofisário/gonadotrófico/somatotrófico (Chandrashekar et al., 2004) e hipofisário/gonadotrófico/tireotrófico (Baldrige et al., 2004), nos quais diversos hormônios estão envolvidos direta e indiretamente. Em fêmeas, os principais hormônios envolvidos neste processo são as gonadotrofinas (LH e FSH) e os esteroides (estradiol e progesterona), não se excluindo, no entanto, a atuação de outros hormônios, como GH, TSH e prolactina, que, em ação conjunta, promovem a homeostasia e, por conseguinte, permitem a ocorrência natural dos sinais reprodutivos.

Ovário

O ovário é a gônada feminina que desempenha duas funções prioritárias para o sistema reprodutivo de fêmeas, sendo responsável pela diferenciação e liberação de um oócito maduro para fecundação (McGee e Hsueh, 2000), além da síntese e secreção de hormônios e fatores de crescimento. Tais substâncias produzidas são essenciais para o desenvolvimento folicular, ciclicidade, bem como manutenção e funções do trato reprodutivo (Hirshfield, 1991). Em todas as espécies de mamíferos, o ovário é composto de duas regiões distintas, uma medular e outra cortical, circundadas pelo epitélio germinal, e, na maioria das espécies, a medula ovariana está



localizada mais internamente e consiste em um arranjo irregular de tecido conjuntivo fibroelástico e um extensivo tecido nervoso e vascular que chega ao ovário através do hilo. O córtex ovariano, localizado mais externamente, consiste na região funcional do órgão e é composto de tecido conectivo (fibroblastos, colágeno e fibras reticulares), folículos ovarianos e corpos lúteos em vários estádios de desenvolvimento ou em regressão (Silva, 2005). A funcionabilidade deste órgão, durante a vida reprodutiva, depende da perfeita interação entre fatores autócrinos, parácrinos e endócrinos, que atuam coordenando o processo da foliculogênese ovariana.

Foliculogênese

A foliculogênese, evento iniciado na vida pré-natal na maioria das espécies, pode ser definida como o processo de formação, crescimento e maturação folicular, iniciando-se com a formação do folículo primordial e culminando com o estágio de folículo pré-ovulatório (Van den Hurk e Zhao, 2005). O folículo ovariano é a unidade estrutural básica e funcional dos ovários de mamíferos, que promove o microambiente necessário para o crescimento e a maturação do oócito (Gosden et al., 1993). É composto por um oócito circundado por células da granulosa (CG) e/ou células da teca (CT). Dessa forma, os folículos podem ser classificados, de acordo com o grau de evolução, em folículos pré-antrais (primordiais, primários e secundários) e antrais (terciários e pré-ovulatórios; Silva, 2005).

Características estruturais dos folículos ovarianos

Os gametas femininos são armazenados em estado quiescente no ovário, na forma de folículos primordiais, constituídos de um oócito imaturo, circundado por uma única camada de células da pré-granulosa de morfologia pavimentosa (Hutt et al., 2006). Esses folículos permanecem quiescentes até seu recrutamento para o grupo de folículos em crescimento (Van den Hurk e Zhao, 2005), constituindo a etapa de ativação folicular (Fair, 2003). Uma vez ativados, os folículos entram em um curso pré-programado de desenvolvimento e maturação que são necessários para o sucesso da ovulação e fecundação, ou são perdidos por atresia (Fair, 2003). Quando o oócito é circundado por uma camada completa de CG de morfologia cúbica, os folículos são denominados primários (Gougeon, 1996), cuja comunicação entre o oócito e a célula da granulosa é mediada por endocitose (Van den Hurk e Zhao, 2005). À medida que os folículos iniciam o crescimento, começam a ser sintetizadas as proteínas que irão formar a zona pelúcida (Lee, 2000), e a multiplicação das células da granulosa leva à formação de várias camadas destas células ao redor do oócito, formando os folículos secundários. Neste estágio, a zona pelúcida é claramente identificada ao redor do oócito (Parrot e Skinner, 1999), inicia-se a formação das células da teca externa a partir do estroma intersticial e os folículos passam a ser sensíveis ao FSH (Van den Hurk e Zhao, 2005).

Com o crescimento dos folículos secundários e a organização das células da granulosa em várias camadas, ocorre a formação de uma cavidade repleta de líquido denominada antro. A partir deste estágio, os folículos passam a ser denominados terciários ou antrais, e o diâmetro folicular aumenta acentuadamente devido ao crescimento do oócito, à multiplicação das células da granulosa, das células da teca e ao aumento do fluido antral (Driancourt, 2001). Pequenos folículos antrais podem ser similares aos folículos secundários quanto ao diâmetro (~200 μm), mas eles aumentam rapidamente em tamanho com o contínuo acúmulo de fluido folicular (Bristol-Gould e Woodruff, 2006). Os grandes folículos antrais (diâmetro acima de 3 mm) contêm células da granulosa diferenciadas em células do *cumulus* e células murais, muitas camadas de células tecais, um grande espaço contendo líquido folicular e um oócito (Van den Hurk e Zhao, 2005). No último estágio do desenvolvimento folicular, é formado o folículo pré-ovulatório, o qual é caracterizado por um oócito circundado pelas células do *cumulus*. As células da granulosa desses folículos param de se multiplicar em resposta ao LH e iniciam o programa final de diferenciação, iniciando também o processo de luteinização. A ovulação do complexo *cumulus*-oócito ocorre em resposta ao pico de LH. Em todas as espécies, a formação de folículos pré-ovulatórios ocorre geralmente a partir da puberdade (Driancourt, 2001).

Hormônios gonadotróficos e seu papel na reprodução animal

Os hormônios gonadotróficos LH e FSH são glicoproteínas heterodímeras sintetizadas e secretadas pelas células gonadotróficas, na hipófise anterior, e contêm uma subunidade α em comum e uma subunidade β hormônio específica (Brown e McNeilly, 1999). Estes hormônios agem de maneira coordenada na regulação do crescimento e diferenciação gonadal, na esteroidogênese e gametogênese, regulando, por conseguinte, o ciclo estral ou menstrual em fêmeas mamíferas (Kumar e Matzuk, 2000). Embora ambas as gonadotrofinas sejam produzidas pelo mesmo tipo celular, são secretadas de forma diferenciada. Enquanto o LH é secretado de forma pulsátil; o FSH é secretado de maneira constitutiva, isto é, grande parte do hormônio é liberada na velocidade em que é produzida, embora uma pequena parcela possa ser armazenada para ser liberada em resposta ao GnRH (Farnworth, 1995).

Como o próprio nome sugere, o FSH estimula a proliferação e diferenciação das células da granulosa e

induz a formação do antro. Já o LH tem como principal função, em folículos não ovulatórios, estimular a atividade da enzima esteroidogênica, a aromatase p450, nas células da teca, além de promover a ovulação e estimular a luteinização das células da granulosa e células da teca em folículos pré-ovulatórios (Richards et al., 2002). A regulação da proliferação e da diferenciação celular, bem como da atresia, relacionadas com a foliculogênese ovariana, é resultado de uma complexa interação entre fatores locais e endócrinos (Silva et al., 2006). Nesse contexto, observa-se uma grande importância das gonadotrofinas no que se refere ao desenvolvimento folicular normal e à esteroidogênese (Levi-Setti et al., 2004).

As gonadotrofinas apresentam maior importância nos estádios mais avançados do desenvolvimento folicular. Entretanto, uma grande quantidade de mudanças foi observada na população de folículos pré-antrais de camundongos (Edward et al., 1977) e ovelhas hipofisectomizadas (Dufour et al., 1979), evidenciando que as gonadotrofinas afetam os estádios iniciais de desenvolvimento folicular. Novos modelos de estudo da foliculogênese inicial em camundongos transgênicos demonstraram que a mutação de genes que controlam a expressão das gonadotrofinas, bem como de seus receptores, afeta diretamente não só a ovulação e a formação de corpo lúteo mas também o processo de formação de folículos primordiais, o crescimento e a atresia folicular (Barnett et al., 2006).

Um estudo realizado *in vivo* mostrou, pela primeira vez, evidências de que as gonadotrofinas podem afetar o desenvolvimento de folículos pré-antrais em grandes espécies mono-ovulatórias, as quais necessitam de um prolongado período para o desenvolvimento destes folículos (Campbell et al., 2004). Neste trabalho, ovários ovinos foram retirados, autotransplantados, e os animais receberam estímulo gonadotrófico, ou tiveram o eixo hipofisário bloqueado, sendo verificado um efeito positivo das gonadotrofinas sobre o desenvolvimento e a qualidade dos folículos pré-antrais após um, dois, três e quatro meses, contrariando, dessa forma o dogma de que as gonadotrofinas não afetam o desenvolvimento folicular inicial *in vivo*. Além disso, vários experimentos *in vivo* e *in vitro* têm mostrado que um grande número de folículos secundários se desenvolveram, e as taxas de atresia reduziram após a adição de gonadotrofinas no cultivo *in vitro* (Van den Hurk et al., 1997, 2000; McGee e Hsueh, 2000). Para uma melhor compreensão da influência das gonadotrofinas na foliculogênese, faz-se necessário o estudo dos locais de expressão de seus receptores, além dos prováveis mecanismos de ação desses hormônios em cada fase do desenvolvimento folicular.

Expressão de receptores para gonadotrofinas

Os receptores dos hormônios hipofisários FSH, LH, TSH e GH são estruturalmente semelhantes, sendo compostos de um grande domínio extracelular N-terminal, sete domínios transmembranários e um domínio C-terminal intracelular acoplado à proteína G (Salesse et al., 1991). Apesar de os receptores desses hormônios pertencerem à mesma superfamília, a união dos ligantes ao domínio extracelular é específica para cada hormônio (Salesse et al., 1991). A ligação das gonadotrofinas ao seu receptor ativa as proteínas G associadas, promovendo a conversão de guanosina difosfato (GDP) em guanosina trifosfato (GTP), que se liga à subunidade α da proteína G, estimulando a adenilciclase (AC) a gerar AMP cíclico (cAMP). Este, por sua vez, aciona uma cascata de fosforilação nas proteínas quinases dependentes de cAMP (PK-A; Fig. 2). Desta forma, a ativação da PK-A controla múltiplos aspectos da função celular por meio da fosforilação de substratos proteicos. Uma vez que a interação receptor-ligante tenha se estabelecido, o complexo é internalizado por endocitose e degradado pelos lisossomos, sendo o receptor reciclado de volta à membrana celular por exocitose (Hillier et al., 1996).

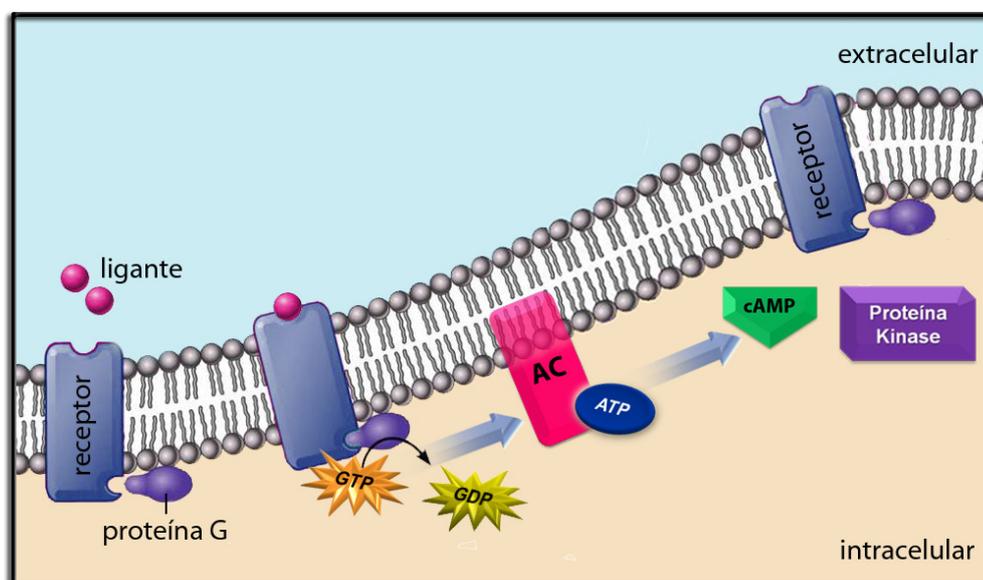


Figura 2. Esquema ilustrativo da atuação dos receptores para FSH, LH e TSH. Lig: Ligante.



Receptores de FSH

Como relatado anteriormente, o FSH e seu receptor desempenham um importante papel no desenvolvimento folicular e na regulação da esteroidogênese no ovário (Richards, 1980; Hsueh et al., 1989). Os receptores de FSH (R-FSH) são expressos nas células da granulosa em folículos pré-antrais iniciais, a partir do estágio primário (Xu et al., 1995), são funcionais em ovários de ratas recém-nascidas com idade de quatro-cinco dias (Sokka e Huhtaniemi, 1990), e seus níveis de transcrição atingem o ápice após 10 dias de nascimento em camundongas (O'Shaughnessy et al., 1997). Apesar de a ligação do FSH ao seu receptor ser restrita à célula da granulosa, estudos mais recentes demonstraram a presença destes receptores também em oócitos, sugerindo um efeito adicional do hormônio no ovário (Méduri et al., 2002). A expressão de R-FSH nas células da granulosa de folículos primários, secundários e antrais bovinos, bem como em oócitos de folículos primordiais de animais de laboratório, reforçam a ideia da ação do FSH sobre o crescimento dos folículos pré-antrais (Wandji et al., 1992; Roy, 1993).

A interação do FSH com seu receptor inicia uma cadeia de reações intracelulares que incluem a ativação de mais de 100 genes que codificam diferentes respostas (Hunzicker-Dunn e Maizels, 2006), tais como a estimulação da proliferação celular, a síntese de estereoides e a expressão de receptores para Fator de Crescimento Epidermal (EGF), Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1 (IGF-1) e LH (Van Den Hurk e Zhao, 2005).

Receptores de LH

Durante o desenvolvimento dos ovários de ratas, a expressão do RNAm para receptores de LH (R-LH) ocorre concomitante com o surgimento e a diferenciação das células da teca (Sokka et al., 1996). Em camundongas, a transcrição completa dos R-LH foi detectada cinco dias após o nascimento, sendo gradativamente aumentada até o dia sete (O'Shaughnessy et al., 1997). Além disso, o domínio extracelular destes receptores é encontrado em ovários de ratas antes mesmo do nascimento (Sokka e Huhtaniemi, 1990), mostrando seu possível efeito na foliculogênese inicial. Sabe-se que as células da teca expressam receptores para LH e que a ligação hormônio/receptor estimula a síntese de substratos androgênicos desde a vida fetal até o final da vida reprodutiva de fêmeas mamíferas (Adashi, 1994; Gougeon, 1996). Por outro lado, as células da granulosa adquirem seus próprios receptores para LH em meados da fase final de desenvolvimento folicular sob influência do FSH (Erickson e Hsueh, 1978), e, posteriormente, são encontrados receptores também nas células luteínicas e do *cumulus* (McFarland et al., 1989). Nesse estágio, o FSH e o LH agem sinergicamente para promover o desenvolvimento folicular, aumentando a atividade da aromatase, a produção de inibina, bem como preparando o folículo pré-ovulatório para o pico de LH (Levy et al., 2000). Outro trabalho realizado posteriormente em ratas demonstrou, por meio de imunohistoquímica, a presença de R-LH em células do *cumulus*, durante o desenvolvimento folicular, sugerindo que o LH pode interferir durante toda a fase de crescimento do oócito (Bukovsky et al., 1993).

Mecanismos de ação das gonadotrofinas na foliculogênese

Modificação da via metabólica da glicose

Durante todo o processo de foliculogênese, ocorrem diversos ciclos de multiplicação e diferenciação celular, os quais são dependentes de energia e, por conseguinte, requerem modulação das enzimas que regulam o metabolismo da glicose por meio dos fatores envolvidos na mitose e diferenciação celular (Adashi, 1994). Sob condições *in vitro*, a glicólise é a origem predominante de ATP para os folículos pré-antrais de camundongas (Boland et al., 1994). Devido ao gradiente de concentração de oxigênio existente nos folículos ovarianos (Gosden e Byatt-Smith, 1986), a capacidade de metabolização da glicose pode diferir em folículos de acordo com o grau de desenvolvimento e com o número de camadas de células da granulosa (Roy e Terada, 1999). Boland et al. (1993) registraram que o grau de produção de lactato *in vitro* pelos folículos pré-antrais de camundongas com células da teca/estroma aumentou fortemente com o desenvolvimento destes folículos pré-antrais até o estágio antral, e que o FSH, sozinho ou em associação ao LH, estimulou o aumento da produção de lactato. Mais tarde, a mesma equipe observou um aumento significativo da glicólise em cinco dias de cultivo folicular, quando o LH foi adicionado ao FSH, mostrando que o metabolismo energético dos folículos pré-antrais é sensível à atuação das gonadotrofinas (Boland et al., 1994). Posteriormente, outros autores verificaram a influência do FSH e LH sobre a modulação do metabolismo da glicose durante o desenvolvimento *in vitro* de folículos pré-antrais humanos, por meio da estimulação das enzimas regulatórias da glicólise e do ciclo de Krebs (Roy e Terada, 1999). Os resultados obtidos indicaram que a regulação do metabolismo da glicose, via glicólise ou ciclo de Krebs, pode ser influenciada diferentemente pelo FSH e LH e que essa influência varia de acordo com o grau de maturação e as necessidades dos folículos.



Interação entre oócito/célula da granulosa

Na foliculogênese inicial, fatores regulatórios produzidos localmente suportam o desenvolvimento fisiológico das células germinativas e somáticas (Buccione et al., 1990). Muitos fatores são produzidos por influência das gonadotrofinas (Thomas et al., 2005), e a passagem destes ocorre por meio da comunicação bidirecional entre o oócito e as células da granulosa, que acontece durante todo o processo de desenvolvimento folicular através das junções *gap* (intercomunicantes; Buccione et al., 1990). As junções *gap* são canais de membrana (Simon e Goodenough, 1998) que permitem a transferência de aproximadamente 85% dos metabólitos para o oócito (Buccione et al., 1990), bem como modulam a ação transcricional (De La Fuente e Eppig, 2001) e induzem modificações de diversas proteínas no oócito.

Estudos têm introduzido um novo conceito de que os sistemas de comunicação entre oócitos e células foliculares somáticas são cruciais não apenas para o crescimento e a maturação dos oócitos mas também para a própria mitose e a diferenciação das células foliculares circundantes (Dong et al., 1996; Matzuk et al., 2002). Neste conceito, os oócitos produzem fatores de crescimento, mais notavelmente Proteína Morfogênica Óssea-15 (BMP-15), Kit Ligand (KL) e Fator de Crescimento e Diferenciação-9 (GDF-9), que podem agir nas células da granulosa para regular a atividade do FSH e controlar a proliferação destas células (Otsuka et al., 2005).

Um estudo observou que o estrógeno amplifica a ação do FSH nas células da granulosa na presença, mas não na ausência do oócito, demonstrando que existe uma forte interação entre oócito/células da granulosa (Otsuka et al., 2005). Outro estudo utilizando camundongas com deficiência de expressão em R-FSH permitiu a elucidação do papel do FSH na interação entre oócito/células da granulosa. Neste trabalho, camundongas que não expressavam o gene para R-FSH apresentaram alterações estruturais no ovário após dois dias de nascidas (Balla et al., 2003). Posteriormente, evidências surgiram de que a ausência da expressão do R-FSH resulta em mudanças na estrutura e função do oócito, além da ruptura da comunicação entre oócito e células da granulosa (Yang et al., 2003). No momento, algumas questões ainda desafiam a compreensão dos pesquisadores: 1) como o oócito contribui para a função folicular fundamental?; 2) como as interações entre oócito e células da granulosa são associadas para promover a dinâmica do crescimento, desenvolvimento e atresia folicular (Otsuka et al., 2005)? e 3) como os hormônios hipofisários contribuem para a regulação destas interações?

Angiogênese

A formação de vasos sanguíneos tem um papel essencial para o sistema reprodutivo de fêmeas. No desempenho de suas funções fisiológicas, os órgãos desse sistema desenvolvem uma sofisticada vascularização e recebem boa parte do fluxo de sangue e metabólitos do organismo (Adair et al., 1990; Reynolds e Redmer, 1995). No ovário, o suprimento vascular é formado de maneira cíclica, de acordo com o estágio do ciclo estral/menstrual. Durante o ciclo menstrual em mulheres, pequenos folículos primordiais não possuem seu próprio suprimento sanguíneo (sistema de capilares) e são dependentes de vasos do estroma (Geva e Jaffe, 2000). Com a progressão do crescimento, os folículos primários já começam a desenvolver ao seu redor uma ou duas arteríolas, e com a aquisição do antro, uma “coroa” de vasos é estabelecida em volta das células da teca, consistindo dois sistemas concêntricos de vasos (teca interna e externa). O estabelecimento do sistema vascular nos folículos coincide com o período de rápido crescimento e diferenciação, o qual está vinculado ao aumento da sensibilidade e/ou dependência folicular às gonadotrofinas (Reisinger et al., 2007).

Dessa forma, alguns trabalhos têm verificado a influência das gonadotrofinas na formação de vasos sanguíneos durante a foliculogênese, uma vez que o aumento nos níveis de gonadotrofinas influencia a regulação de diferentes proteases, responsáveis pela degradação de membranas basais vasculares e, conseqüentemente, pelo surgimento de novos capilares em folículos antrais bovinos (Smith et al., 1996; Bakke et al., 2002, 2004; Dow et al., 2002a, b). Estudos indicam ainda que FSH e LH podem modular o sistema vascular dos órgãos reprodutivos, influenciando não apenas a expressão de fatores angiogênicos, como as angiopoietinas e seus receptores, mas também a expressão de outros fatores que participam da formação de vasos como o Fator de Crescimento de Fibroblasto (FGF) e o Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (FGDP), indicando uma possível ação direta das gonadotrofinas em células endoteliais (Reisinger et al., 2007). Além disso, durante o processo de dominância folicular, o LH estimula a expressão de um potente fator promotor da angiogênese derivado das células da teca, o Fator de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF; Garrido et al., 1993), cuja família é composta por seis membros, denominados VEGF-A, B, C, D, E e F (Stouffer et al., 2001; Ferrara, 2004). O LH e o VEGF atuam na mediação da resposta inflamatória folicular associada à ovulação (Wijayagunawardane et al., 2005). Estudos têm mostrado que a inibição da sinalização do VEGF ocasionou distúrbios na ovulação, bloqueou a subsequente vascularização do corpo lúteo e impediu o aumento dos níveis de progesterona em primatas (Fraser e Lunn, 2001). Em suínos, a produção folicular do VEGF é estimulada por gonadotrofinas (Mattioli et al., 2001) e está positivamente relacionada com o tamanho do folículo (Grasselli et al., 2002), confirmando, assim, o seu papel no desenvolvimento de uma rica rede de vasos no interior da parede folicular.

Em bovinos, Doyle et al. (2010) mostraram que o VEGF, associado ao FSH, agiu para induzir a proliferação de células da granulosa de folículos de 4 a 8 mm. Isso sugere que o aumento diferencial na expressão



do VEGF e seu receptor em células da granulosa, durante a seleção folicular (Einspanier et al., 2002; Ginther et al., 2004), pode atuar em combinação com FSH para o aumento da proliferação celular, promovendo, assim, o crescimento contínuo do folículo dominante (Beg e Ginther, 2006).

Efeitos indiretos

Além da atuação direta discutida anteriormente, as gonadotrofinas podem influenciar a foliculogênese de forma indireta. Tem sido bem demonstrado que os folículos pré-antrais secretam fatores de diferenciação tecal, os quais são regulados pelo FSH (Magoffin e Magarelli, 1995). Este, por sua vez, pode induzir as células da granulosa a mudarem a produção de fatores parácrinos inibitórios a fatores parácrinos estimulatórios, os quais podem modular a produção de andrógenos dependentes de LH produzidos pelas células da teca (Zachow e Magoffin 1995).

O FSH pode ainda desempenhar efeito indireto no desenvolvimento de folículos iniciais por meio da indução da liberação de fatores de crescimento pelos grandes folículos antrais e células do estroma, uma vez que este hormônio promove a proliferação de células da granulosa por meio de fatores parácrinos, como o Fator de Crescimento Semelhante à Insulina-1 (IGF-1) e Ativina A (Van Den Hurk e Zhao, 2005). Em adição, o FSH regula a expressão do KL, GDF-9 e BMP-15 em folículos murinos (Joyce et al., 1999, Thomas et al., 2005), que têm sido implicados na ativação de folículos primordiais (Van Den Hurk e Zhao, 2005). Todos esses fatores mencionados são reguladores da função ovariana e medeiam o efeito das gonadotrofinas na regulação das interações celulares por mecanismos autócrinos e parácrinos (Erickson e Shimasaki, 2001). Além disso, a expressão do inibidor de proteínas de apoptose (IAP) pelas células da granulosa *in vivo* e *in vitro* é induzida pela presença de gonadotrofinas (Wang et al., 2003).

Além disso, tem-se sugerido que a ação do LH na ovulação também seja um processo mediado por fatores parácrinos, membros da família do EGF (Park et al., 2004; Ashkenazi et al., 2005). Acredita-se que, sob influência do pico de LH, o EGF se liga aos seus receptores (REGF) no folículo e estimula tanto a expansão das células do *cumulus* como a maturação oocitária (ratas: Dekel e Sherizly, 1985; porcas: Prochazk et al., 2000; mulheres: Goud et al., 1998). Isso explica por que o EGF mimetiza alguns dos efeitos *in vitro* do LH (Park et al., 2004).

Importância das gonadotrofinas na foliculogênese inicial (fase pré-antral)

Hormônio Folículo Estimulante (FSH)

Sabe-se que as gonadotrofinas são necessárias para o desenvolvimento de folículos antrais, mas ainda não está muito claro se o FSH afeta o desenvolvimento de pequenos folículos pré-antrais. Durante o cultivo de pequenos folículos pré-antrais bovinos (30-70 μm), o FSH promoveu um aumento do diâmetro folicular (Hulshof et al., 1995). Após seis dias de cultivo na presença de FSH, folículos primários e secundários (60-179 μm), isolados enzimaticamente de ovários de fetos bovinos, aumentaram o diâmetro, a sobrevivência folicular e a secreção de progesterona e estradiol (Wandji et al., 1996). Gutierrez et al. (2000) isolaram folículos secundários bovinos e, após cultivo de 28 dias, observaram que o FSH promoveu o crescimento folicular e aumentou as taxas de formação de antro. Nesta mesma espécie, o FSH estimulou o crescimento de oócitos de folículos pré-antrais cultivados *in vitro* (Itoh et al., 2002). Por outro lado, Braw-Tal e Yossefi (1997) mostraram que o FSH não afetou o diâmetro folicular e oocitário, bem como o número de células da granulosa durante cultivo de fragmentos ovarianos bovinos. Além disso, a adição de 5 ng/ml, de FSH (Derrar et al., 2000), bem como de outras concentrações de FSH (1, 10 ou 100 ng/ml), não teve efeito sobre os folículos pré-antrais bovinos cultivados por sete-14 dias (Fortune et al., 1998). Em suínos, o FSH está envolvido na proliferação e diferenciação de células da granulosa de folículos pré-antrais (Hirao et al., 1994). Já em caprinos, a adição de 50 ng/mL de FSH ao meio de cultivo de folículos pré-antrais incluídos em tecido ovariano foi responsável pela preservação da viabilidade folicular, pelo aumento do diâmetro folicular, bem como pela manutenção da integridade ultraestrutural dos folículos (Matos et al., 2007).

Muitas questões fundamentais relacionadas ao papel do FSH no desenvolvimento de folículos e oócitos, incluindo o papel deste hormônio na foliculogênese inicial e o mecanismo de ação deste sobre os sucessivos estádios de desenvolvimento folicular, ainda permanecem obscuras. Embora os folículos possam progredir do estágio pré-antral para o antral na ausência do FSH (Kumar et al., 1997) ou seu receptor (Abel et al., 2000), os níveis de FSH são elevados durante os primeiros 10 dias de vida em camundongas (Halpin et al., 1986), os quais correspondem ao período de rápido crescimento e desenvolvimento folicular nesta espécie. Em suínos, Wu et al. (2000) demonstraram que o FSH é essencial para crescimento *in vitro* de folículos pré-antrais, secreção de estradiol, aquisição de competência meiótica de oócitos, fecundação e desenvolvimento embrionário. Da mesma forma, Gupta et al. (2008) produziram embriões utilizando oócitos provenientes de folículos pré-antrais de búfalas cultivados em meio contendo FSH. Por outro lado, folículos secundários com apenas duas camadas de células da granulosa, isolados de camundongas imaturas, não responderam ao FSH sozinhos, contudo aqueles isolados de camundongas adultas aumentaram significativamente a resposta ao FSH em relação ao crescimento e



à produção de estradiol (Yokota et al., 1997; Liu et al., 1998). Além disso, em meio de cultivo contendo soro, o FSH foi de grande importância para a sobrevivência, o crescimento e a formação de antro a partir de folículos secundários de camundongas imaturas (Cortvrindt et al., 1997). Em adição, frente à importância do FSH para as diferentes fases de desenvolvimento folicular, a concentração deste pode ser considerada um fator limitante para a maturação folicular.

Hormônio Luteinizante (LH)

Apesar de a ação do LH ser direcionada para o estágio final da foliculogênese, sua ação conjunta com o FSH auxilia na proliferação celular, diferenciação, produção de estrógeno e posterior maturação (Qvist et al., 1990). Além disso, a interação FSH/LH foi utilizada com sucesso em experimentos realizados em diferentes espécies. Em camundongas, o cultivo *in vitro* de folículos pré-antrais com diâmetro de 100-130 µm com ambas as gonadotrofinas (LH 10 mUI/ml e FSH 100 mUI/ml) na presença de soro fetal bovino (5%) estimulou a formação de antro de forma mais eficiente que o FSH sozinho após 12 dias de cultivo (Ola et al., 2008). Além disso, Cortvrindt et al. (1998) verificaram que o LH aparentemente gerou condições favoráveis à transição de oócitos, provenientes de folículos pré-antrais de camundongas, de metáfase I para metáfase II. Da mesma forma, Gao et al. (2007), cultivando folículos pré-antrais também de camundongas pré-púberes na presença de FSH e LH, verificaram que o LH promoveu retomada da meiose de forma espontânea, enquanto o FSH sozinho raramente promoveu a quebra da vesícula germinal. Liu et al. (2002) obtiveram resultados ainda mais expressivos, após cultivo de folículos pré-antrais de 100-120 µm utilizando também as duas gonadotrofinas (LH 10 ou 100 mUI/ml e FSH 100 mUI/ml), resultando na maturação de folículos pré-antrais, aquisição de competência meiótica dos oócitos maturados, fecundação e posterior formação do blastocisto. Recentemente, a interação do LH ao FSH promoveu a manutenção da ultraestrutura folicular após cultivo de folículos pré-antrais caprinos inclusos no tecido ovariano por sete dias (Saraiva et al., 2008). Em suínos, a adição do LH associado ao FSH melhorou significativamente a qualidade dos oócitos por meio do estímulo do crescimento e posterior desenvolvimento embrionário, após três dias de cultivo *in vitro* de folículos pré-antrais (Wu et al., 2000).

Importância das gonadotrofinas na foliculogênese final (fase antral)

O desenvolvimento dos folículos antrais é caracterizado por uma fase de crescimento, recrutamento, seleção e dominância, no qual os folículos dominantes são estimulados a se tornarem folículos pré-ovulatórios (Van den Hurk e Zhao, 2005). A formação desses folículos é um pré-requisito para a ovulação e formação do corpo lúteo, bem como para a manutenção da fertilidade das fêmeas (Drummond, 2006).

Em ovelhas, por exemplo, logo após a formação do antro, os folículos passam por um rápido período de crescimento, caracterizado pela alta proliferação celular devido aos altos índices mitóticos em folículos entre 0,7 e 1,5 mm, que diminuem ao atingirem diâmetro maior que 2,2 mm (Cahill e Mauleon, 1980). A partir desta fase, os folículos são considerados dependentes das gonadotrofinas e são recrutados para crescerem após o aumento nos níveis séricos de FSH. A presença de altos níveis de aromatase, estimulada pelo FSH, faz com que os folículos selecionados passem a produzir estradiol, a partir de andrógenos produzidos pelas células da teca sob estímulo do LH (Driancourt, 2001). Então, os folículos antrais recrutados sintetizam estradiol em grandes quantidades, sendo este evento prioritário para a sobrevivência folicular. Durante o recrutamento, o FSH irá estimular a síntese de estradiol, inibina e IGF-1, dentre outras substâncias. Os folículos tornam-se mais dependentes de FSH, e essa dependência também os torna mais susceptíveis à atresia (Scaramuzzi et al., 1993). A resposta adequada dos folículos antrais às gonadotrofinas possibilita a sobrevivência e o posterior crescimento destes (Van Den Hurk e Zhao, 2005). O FSH reduz a expressão das proteínas ligadoras do IGF-1, tornando este importante fator biodisponível. Uma perfeita interação entre IGF-1, ativina, BMPs, EGF e estradiol suporta posterior crescimento e diferenciação do folículo. O LH e a inibina estimulam a produção de mais andrógenos pelas células da teca. A produção de andrógenos, precursores dos esteroides, posteriormente será controlada pelo IGF-1, ativina, BMPs e EGF (Driancourt, 2001). Quando os níveis de FSH estão mais altos, os folículos antrais são selecionados, tornam-se cada vez mais responsivos ao FSH e finalmente tornam-se dependentes de LH. Isto permite o contínuo crescimento dos folículos selecionados em um período em que os níveis de FSH caem devido ao alto nível de estrógeno e inibina produzidos pelo folículo dominante. Com a queda dos níveis séricos de FSH e aumento da secreção pulsátil de LH, um ou mais folículos irão se desenvolver até se tornarem pré-ovulatórios, podendo reduzir diretamente a sensibilidade dos folículos menores às gonadotrofinas (Driancourt, 2001; Fortune et al., 2001). Os maiores folículos selecionados iniciam a formação de R-LH nas células da granulosa e, sob influência do LH, irão crescer rapidamente e, em poucos dias, torna-se-ão maiores que os outros. Estes folículos são chamados de “dominantes” e podem atingir o tamanho máximo de 6-7 mm em ovelhas e 15-20 mm em vacas (Van Den Hurk e Zhao, 2005). Os folículos remanescentes do grupo de folículos selecionados tornam-se subordinados e entram em atresia (Driancourt, 2001; Fortune et al., 2001). Finalmente, o folículo dominante poderá ovular sob influência do pico pré-ovulatório de LH (Van Den Hurk e Zhao, 2005).



Importância de outros hormônios hipofisários na foliculogênese

Hormônio do Crescimento (GH)

O GH é uma glicoproteína sintetizada pelos somatotrofos no lobo anterior da hipófise e secretada na circulação para ligar-se receptores nos tecidos alvo com o objetivo de estimular o crescimento destes (Herrington e Carter-Su, 2001), desempenhando um papel vital no controle da função gonadal (Chandrashekar et al., 2004). Estudos têm sugerido que este hormônio desempenha um importante papel no crescimento folicular, na ovulação e na função luteal (Barnett et al., 2006).

O RNA mensageiro para o receptor de GH (R-GH) foi detectado em ovários bovinos e ovinos por hibridização *in situ* (Eckery et al., 1997; Kölle et al., 1998). Eckery et al. (1997) demonstraram que este RNAm é abundante no oócito e em células da granulosa de folículos pré-antrais e pequenos folículos antrais de ovelhas. Em ovários bovinos, o RNAm já foi localizado no oócito de folículos primordiais e primários e começa a ser expresso em células da granulosa de folículos primários, permanecendo durante o estágio secundário (Kölle et al., 1998).

Os efeitos do GH no ovário podem ser diretos ou indiretos. Os efeitos indiretos estão relacionados à atuação do IGF-1, uma vez que o GH estimula no ovário a expressão gênica deste fator e, por conseguinte, mediará os efeitos do GH (Liu et al., 1998), enquanto os efeitos diretos estão relacionados com a expressão de R-GH e suas proteínas ligantes (GHBP), já detectadas em ovários de humanos (Sharara e Nieman, 1994). Foi relatado que camundongas com deficiência na expressão para R-GH apresentaram redução na taxa de ovulação, no número de folículos antrais e ainda aumentaram o número de folículos atrésicos. Estes sinais não foram reversíveis após tratamento com IGF-1, sugerindo que o GH exerce um efeito direto no ovário (Bachelot et al., 2002).

O GH pode atuar na secreção e na ação do LH e FSH (Chandrashekar e Bartke, 1998) e como relatado anteriormente, desempenhar efeito indireto mediado pela produção IGF-I. Este hormônio pode também ser produzido em tecido gonadal e mamário, e, desta forma, seus efeitos podem refletir uma ação autócrina ou parácrina (GH ovariano), bem como endócrina (GH hipofisário). Assim, o GH hipofisário está envolvido na manutenção estratégica da função ovariana, enquanto o GH ovariano pode estar envolvido na modulação emergencial desta função (Hull e Harvey, 2000).

O mecanismo pelo qual o GH estimula a foliculogênese parece ser espécie-específico e varia ao longo do ciclo ovariano (Hull e Harvey, 2000). Estudos *in vitro* mostraram que o GH estimulou o crescimento folicular em ovários de coelhas independentemente da ação do FSH (Yoshimura et al., 1993) e a proliferação de células da granulosa luteinizadas por meio de mecanismos independentes do FSH e IGF-1 (Ovesen, 1998). No entanto, o desenvolvimento de folículos pré-antrais induzidos pelo GH em camundongas imaturas foi independente de IGF-1, mas em adultas é um processo dependente da interação com FSH (Liu et al., 1998).

Experimentos *in vivo* têm revelado que este hormônio atua promovendo o desenvolvimento de folículos ovarianos bovinos (Gong et al., 1991), aumentando as concentrações periféricas de insulina e/ou IGF-1 em novilhas (Gong et al., 1997) e reduzindo os níveis de apoptose em folículos pré-ovulatórios de roedores (Danilovich et al., 2000). Além disso, o GH age sobre as células da granulosa de ratas acelerando o processo de diferenciação das células foliculares em células luteínicas (Hutchinson, 1988). Pesquisas demonstraram que camundongas com deficiência na síntese do gene que codifica a proteína do R-GH são férteis, mas não apresentam ciclo reprodutivo normal. Dentre outras deficiências ovarianas, observou-se um pequeno número de folículos pré-ovulatórios e, conseqüentemente, uma redução da taxa de ovulação (Zaczek et al., 2002).

O efeito benéfico do GH na fertilidade de fêmeas pode ainda estar relacionado à efeitos estimulatórios deste hormônio na cinética da maturação nuclear. Estudos têm demonstrado que oócitos bovinos tratados com GH completaram a meiose I de forma mais rápida, aumentaram a taxa de clivagem e melhoram a taxa de formação de blastocisto em relação a oócitos não tratados (Izadyar et al., 1997). Outro estudo mostrou que o GH afeta a maturação do oócito e aumenta os receptores de gonadotrofinas, auxiliando na foliculogênese/gametogênese (Sirotkin e Makarevich, 2002). A utilização do GH aumentou ainda a proporção de oócitos bovinos, manifestando características de maturação citoplasmática e nuclear, evidenciando que o GH melhora a coordenação entre ambos os tipos de maturação do oócito (Izadyar et al., 1997).

A interação entre o eixo somatotrófico e o eixo gonadotrófico é de grande importância também para o controle da maturação sexual (Chandrashekar et al., 2004). Dados obtidos de diferentes espécies indicam que, em fêmeas, essas ações incluem efeitos estimulatórios, sinérgicos ou permissivos do GH e IGF-1 na liberação de GnRH a partir do hipotálamo (Hiney et al., 1996; Lackey et al., 1999), de gonadotrofinas a partir da hipófise (Kleinberg, 1998; Chandrashekar et al., 1999, 2001), nos níveis de receptores de gonadotrofinas nas células da granulosa foliculares (Jia et al., 1986) e no desenvolvimento de glândulas mamárias (Bauman e Vernon, 1993; Kleinberg, 1998). Os esteroides gonadais, por sua vez, promovem liberação de GH (Bondanelli et al., 2003), que age em sinergismo para promover crescimento somático e maturação física que precede e acompanha o desenvolvimento da puberdade (Clark e Rogol, 1996; Delemarre et al., 2001). A influência do eixo somatotrófico no eixo gonadotrófico certamente representa um dos mecanismos que levam à maturação sexual e



ao crescimento físico. Já as relações entre o eixo somatotrófico e o envelhecimento reprodutivo são muito complexas, e a quantidade de informações pertinentes a este assunto é limitada. Sabe-se que níveis circulantes de GH e IGF-I declinam progressivamente durante o transcorrer da idade adulta (Toogood e Shalet, 1998), contudo ainda não está claro se o resultado da somatopausa contribui para o declínio da função reprodutiva relacionado à idade. Por esta razão, o uso de GH em terapia de reposição hormonal em idosos é assunto de grande interesse, necessitando de mais estudos (Chandrashekar et al., 2004).

Hormônio Tireotrófico (TSH)

O hormônio tireotrófico, TSH ou tireotrofina, é um membro da família de hormônios glicoproteicos, assim como o LH e o FSH. Enquanto o FSH e o LH são sintetizados nas células da hipófise, denominadas gonadotrofos, o TSH, é sintetizado nas células tireotróficas da hipófise (Kumar et al., 1997). Sua produção ocorre quando o hipotálamo libera o hormônio liberador da tireotrofina (TRH) para a hipófise, que sintetiza e libera o TSH, estimulando a glândula tireoide a produzir os hormônios triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4 ; Lin et al., 2008), que ajudam no controle de metabolismo. O receptor para TSH, membro da superfamília de receptores acoplados a proteínas G e de proteínas integrais da membrana, é encontrado principalmente em células foliculares tireoidianas. Uma vez estimulado, o receptor aumenta a produção e secreção dos hormônios T_3 e T_4 (Parmentier et al., 1989). Em células epiteliais tireoidianas, a ação mitogênica do TSH está associada à indução da expressão do antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) dependente de cAMP (Baptist et al., 1993). Younis et al. (1994) observaram que o FSH e o LH estimularam a expansão das células do *cumulus* após cultivo de complexo cumulus-oócito de macacas rhesus em meio TCM199 por 48 h. Além disso, esses autores verificaram que o FSH e o LH estimularam efeito moderado na progressão meiótica, no entanto o hTSH não mostrou efeito na expansão das células do *cumulus* e na progressão da meiose. Em outro estudo, observou-se uma melhoria no desenvolvimento *in vitro* de embriões bovinos na presença de TSH sozinho ou combinado com LH na maturação oocitária (MIV; Younis e Brackett, 1992).

Poucos trabalhos têm estudado o efeito do TSH sobre a foliculogênese. Acredita-se que o papel do TSH seja indireto, uma vez que estudos *in vivo* mostraram que o T_3 desempenha importante papel na regulação do crescimento folicular ovariano (Dijkstra et al., 1996). Estes autores observaram que o T_3 interagiu com o FSH promovendo o crescimento de folículos pré-antrais e que esta ação foi mediada pelo aumento da expressão de R-FSH e da ação do GDF-9 produzido pelo oócito. Cecconi et al. (2004) concluíram que o T_3 em concentrações suprafisiológicas no meio de cultivo de folículos pré-antrais de camundongas teve um efeito adverso no crescimento e subsequente maturação do oócito. Por outro lado, a tiroxina (T_4), uma pró-forma do T_3 , quando associada ao FSH, aumentou as taxas de desenvolvimento folicular, formação de antro e competência meiótica após cultivo *in vitro* de folículos pré-antrais ovinos por seis dias (Arunakumari et al., 2007).

Estudos também têm avaliado efeitos da redução das concentrações de hormônio da tireoide sobre parâmetros reprodutivos. Após radiotireoterapia de ratas adultas, Matteij et al. (1995) observaram ciclo estral prolongado e irregular, aumento das concentrações de LH na fase de pró-estro, decréscimo nas taxas de ovulação devido a uma redução nos grandes folículos antrais e aumento da atresia folicular. Além disso, o tratamento de ratas com propiltiouracil (PTU), um agente antitireoideo, levou ao aumento dos folículos secundários, decréscimo nos folículos antrais e aumento nas taxas de atresia folicular. Estes distúrbios na foliculogênese foram atribuídos ao decréscimo em hormônios tireoideos que interferiram na diferenciação, mas não na proliferação das células da granulosa (Dijkstra et al., 1996). Neste trabalho, os autores verificaram que a interferência do PTU, com o próprio mecanismo de transporte de iodo em resposta ao TSH, pode ter sido a causa dos defeitos na foliculogênese (Baldrige et al., 2004). Assim, o eixo hipotalâmico-hipofisário-tireoideo e o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano agem simultaneamente no controle da foliculogênese, e os hormônios da tireoide podem promover diversos efeitos na função ovariana, resultando na regulação da fertilidade.

Considerações finais

Apesar dos esforços envolvidos na elucidação da foliculogênese, pouco se sabe sobre os mecanismos que regulam os processos de ativação de folículos primordiais e posterior crescimento folicular e maturação oocitária. Os hormônios hipofisários, especialmente as gonadotrofinas, desempenham um importante papel nesta regulação, por meio do estímulo da síntese de hormônios e fatores de crescimento, modulação do metabolismo glicolítico, estimulação da angiogênese, manutenção das junções *gap* e ainda por meio de interações com o eixo somatotrófico e tireotrófico. Mais estudos são necessários para desvendar outros mecanismos envolvidos e interligar as informações obtidas.

Atualmente, uma série de estudos bioquímicos e fisiológicos vêm esclarecendo o papel dos hormônios hipofisários. Avanços nas últimas duas décadas na manipulação do genoma de camundongos têm anunciado uma nova dimensão à compreensão da biologia dos hormônios hipofisários, sendo possível o desenvolvimento de modelos para muitos distúrbios reprodutivos humanos envolvendo a sinalização dos hormônios hipofisários. As análises com os modelos genéticos não só confirmaram prévios estudos fisiológicos como também revelaram



novos papéis para estes hormônios não conhecidos anteriormente, auxiliando na compreensão dos mecanismos regulatórios da foliculogênese. Desse modo, a elucidação da foliculogênese resultará em um avanço biotecnológico de grande importância para a reprodução assistida, pois, uma vez controlada, será possível a produção de um grande número de oócitos maduros provenientes de uma mesma fêmea, que poderão ser destinados aos programas de fecundação e posterior produção *in vitro* de embriões. Aliado a isso, os modelos *in vivo* que hoje têm um impacto significativo na compreensão da fisiologia e fisiopatologia dos hormônios servirão como a principal ferramenta genética para estudar os mecanismos de sinalização no ovário.

Referências bibliográficas

- Abel MH, Wootton AN, Wilkins V, Huhtaniemi I, Knight PG, Charlton HM.** The effect of a null mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene on mouse reproduction. *Endocrinology*, v.141, p.1795-1803, 2000.
- Adair TH, Gay WJ, Montain JP.** Growth regulation of the vascular system: evidence for metabolic hypothesis. *Anim J Physiol*, v.259, p.R393-R404, 1990.
- Adashi EY.** Endocrinology of the ovary. *Hum Reprod*, v.9, p.815-827, 1994.
- Arunakumari G, Vagdevi R, Rao BS, Nake BR, Naidu KS, Suresh Kumar RV, Rao VH.** Effect of hormones and growth factors on in vitro development of sheep preantral follicles. *Small Rumin Res*, v.70, p.93-100, 2007.
- Ashkenazi H, Cao X, Motola S, Popliker M, Conti M, Tsafiriri A.** Epidermal growth factor family members: endogenous mediators of the ovulatory response. *Endocrinology*, v.146, p.77-84, 2005.
- Bachelot A, Monget P, Imbert-Bollere P, Coshigano K, Kopchick JJ, Kelly PA, Binart N.** Growth hormone is required for ovarian follicular growth. *Endocrinology*, v.143, p.4104-4112, 2002.
- Bakke LJ, Dow M, Cassar CA, Peters MW, Pursley JR, Smith GW.** Effect of the preovulatory gonadotropin surge on matrix metalloproteinase (MMP)-14, MMP-2, and tissue inhibitor of metalloproteinases-2 expression within bovine periovulatory follicular and luteal tissue. *Biol Reprod*, v.66, p.1627-1634, 2002.
- Bakke LJ, Li QL, Cassar CA, Dow MPD, Pursley JR, Smith GW.** Gonadotropin surge-induced differential upregulation of collagenase-1 (MMP-1) and collagenase-3 (MMP-13) mRNA and protein in bovine preovulatory follicles. *Biol Reprod*, v.71, p.605-612, 2004.
- Baldrige MG, Stahl RL, Gerstenberger SL, Tripoli V, Hutz RJ.** In utero and lactational exposure of Long-Evans rats to ammonium perchlorate (AP) disrupts ovarian follicle maturation. *Reprod Toxicol*, v.19, p.155-161, 2004.
- Balla A, Danilovich N, Yang Y, Sairam MR.** Dynamics of ovarian development in the FORKO: imature mouse structural and functional implications for ovarian reserve. *Biol Reprod*, v.69, p.281-293, 2003.
- Baptist M, Dumont JE, Roger PP.** Demonstration of cell cycle kinetics in thyroid primary culture by immunostaining of proliferating cell nuclear antigen: differences in cyclic AMP-dependent and -independent mitogenic stimulations *J Cell Sci*, v.105, p.69-80, 1993.
- Barnett KR, Schilling C, Greenfeld CR, Tomic D, Flaws JA.** Ovarian follicle development and transgenic mouse models. *Hum Reprod*, v.13, p.1-19, 2006.
- Bauman DE, Vernon RG.** Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. *Annu Rev Nutr*, v.13, p.437-461, 1993.
- Beg MA, Ginther OJ.** Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. *Reproduction*, v.132, p. 365-377, 2006.
- Boland NI, Humpherson PG, Leese HJ, Gosden RG.** Pattern of lactate production and steroidogenesis during growth and maturation of mouse ovarian follicles in vitro. *Biol Reprod*, v.48, p.798-806, 1993.
- Boland NI, Humpherson PG, Leese HJ, Gosden RG.** The effect of glucose metabolism in murine follicle development and steroidogenesis in vitro. *Hum Reprod*, v.9, p.617-623, 1994.
- Bondanelli M, Ambrosio Mr, Margutti A, Franceschetti P, Zatelli Mc, Degli Uberti Ec.** Activation of the somatotrophic axis by testosterone in adult men: evidence for a role of hypothalamic growth hormone-releasing hormone. *Neuroendocrinology*, v.77, p.380-387, 2003.
- 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.1, p. 5-13, 2006.
- Brown P, McNeilly AS.** Transcriptional regulation of pituitary gonadotrophin subunit genes. *Rev Reprod*, v.4, p.117-124, 1999.
- Buccione R, Schroeder A, Eppig J.** Interactions between somatic cells and germ cells throughout mammalian oogenesis. *Biol Reprod*, v.43, 543-547, 1990.
- Bukovsky A, Chen TT, Wimalascena J.** Cellular localization of luteinizing hormone receptor immunoreactivity in the ovaries of imature, gonadotropin-primed and normal cycling rats. *Biol Reprod*, v.48, p.1367-1382, 1993.



- Cahill LP, Mauleon P.** Influences of season, cycle and breed on follicular growth rates in sheep. *J Reprod Fertil*, v.30, p.321-328, 1980.
- Campbell BK, Telfer E, Webb R, Baird DT.** Evidence of a role for follicle-stimulating hormone in controlling the rate of preantral follicle development in sheep. *Endocrinology*, v.145, p.1870-1879, 2004.
- Cecconi S, Barboni B, Cocchio G, Macchiarelli G, Borini A, Canipari R.** Influence of thyroid hormone on mouse preantral follicles development in vitro. *Fertil Steril*, v.81, p.919-924, 2004.
- Chandrashekar V, Bartke A.** The role of growth hormone in then control of gonadotropin secretion in adult male rats. *Endocrinology*, v.139, p.1067-1074, 1998.
- Chandrashekar V, Bartke A, Awoniyi CA, Tsai-Morris CH, Dufau ML, Russell LD, Kopchick JJ.** Testicular endocrine function in growth hormone receptor gene disrupted mice. *Endocrinology*, v.142, p.3443-3450, 2001.
- Chandrashekar V, Bartke A, Coschigano KT, Kopchick JJ.** Pituitary and testicular function in growth hormone receptor gene knockout mice. *Endocrinology*, v.140, p.1082-1088, 1999.
- Chandrashekar V, Zaczek D, Bartke A.** The consequences of altered somatotrophic system on reproduction. *Biol Reprod*, v.71, p.17-27, 2004.
- Clark PA, Rogol AD.** Growth hormones and sex steroid interactions at puberty. *Endocrinol Metab Clin North Am*, v.25, p.665-681, 1996.
- Cortvriendt R, Hu Y, Smitz J.** Recombinant Luteinizing Hormone as a survival and differentiation factor increases oocyte maturation in recombinant follicle stimulating hormone-supplemented mouse preantral follicle culture. *Hum Reprod*, v.13, p.1292-1302, 1998.
- Cortvriendt R, Smitz J, Van Steirteghem AC.** Assessment of the need for follicle stimulating hormone in early preantral mouse follicle culture in vitro. *Hum Reprod*, v.12, p.759-768, 1997.
- Danilovich NA, Bartke A, Winters TA.** Ovarian follicle apoptosis in bovine growth hormone transgenic mice. *Biol Reprod*, v.62, p.103-107, 2000.
- De La Fuente R, Eppig JJ.** Transcriptional activity of the mouse oocyte genome: companion granulosa cells modulate transcription and chromatin remodeling. *Dev Biol*, v.229, p.224-236, 2001.
- Dekel, N, Sherizly I.** Epidermal growth factor induces maturation of rat follicle-enclosed oocytes. *Endocrinology*, v.116, p.406-409, 1985.
- Delemarre-Van de Waal HA, Van Coeverden SC, Rotteveel J.** Hormonal determinants of pubertal growth. *J Pediatr Endocrinol Metab*, v. 14, suppl. 6, p.1521-1526, 2001.
- Derrar N, Price CA, Sirard MA.** Effect of growth factors and co-culture with ovarian medulla on the activation of primordial follicles in explants of bovine ovarian cortex. *Theriogenology*, v.54, p.587-598, 2000.
- Dijkstra G, De Rooij DG, De Jong FH, Van Den Hurk R.** Effects of hypothyroidism on ovarian follicular development, granulosa cell proliferation and peripheral hormone levels in the prepubertal rat. *Eur J Endocrinol*, v.134, p.649-654, 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.
- Dow MP, Bakke LJ, Cassar CA, Peters MW, Pursley JR, Smith GW.** Gonadotrophin surge-induced upregulation of mRNA for plasminogen activator inhibitors 1 and 2 within bovine periovulatory follicular and luteal tissue. *Reproduction*, v.123, p.711-719, 2002a.
- Dow MP, Bakke LJ, Cassar CA, Peters MW, Pursley JR, Smith GW.** Gonadotropin surge-induced upregulation of the plasminogen activators (tissue plasminogen activator and urokinase plasminogen activator) and the urokinase plasminogen activator receptor within bovine periovulatory follicular and luteal tissue. *Biol Reprod*, v.66, p.1413-1421, 2002b.
- Doyle LK, Walker, CA, Donadeu, FX.** VEGF modulates the effects of gonadotropins in granulosa cells. *Domest Anim Endocrinol*, v.38, p.127-137, 2010.
- Driancourt MA.** Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, v.55, p.1211-1239, 2001.
- Drummond AE.** The role of steroids in follicular growth. *Reprod Biol Endocrinol*, v.4, p.1-11, 2006.
- Dufour J, Cahill LP, Mauleon P.** Short and long-term effects of hypophysectomy and unilateral ovariectomy on populations follicular in sheep. *J Reprod Fertil*, v.7, p.301-309, 1979.
- Eckery DC, Moeller CL, Nett TM, Sawyer HR.** Localization and quantification of binding sites for follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, growth hormone, and insulin- like growth factor-I in sheep ovarian follicles. *Biol Reprod*, v.57, p.507-513, 1997.
- Edwards RG, Fowler RE, Gore-Langton RE, Gosden RG, Jones EC, Readhead C, Steptoe PC.** Normal and abnormal follicular growth in mouse, rat and human ovaries. *J Reprod Fertil*, v.51, p.237-263, 1977.
- Einspanier R, Schönfelder M, Müller K, Stojkovic M, Kosmann M, Wolf E, Schams D.** Expression of the vascular endothelial growth factor and its receptors and effects of VEGF during in vitro maturation of bovine cumulus-oocyte complexes (COC). *Mol Reprod Dev*, v.62, p.29-36, 2002.
- Erickson GF, Hsueh AJW.** Secretion of 'inhibin' by rat granulosa cells in vitro. *Endocrinology*, v.103, p.1960-1963, 1978.



- Erickson GF, Shimasaki S.** The physiology of folliculogenesis: the role of novel growth factors. *Fertil Steril*, v.76, p.943-949, 2001.
- Fair T.** Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence. *Anim Reprod Sci*, v.78, p.203-216, 2003.
- Farnworth PG.** Gonadotrophin secretion revised – how many ways can FSH leave a gonadotroph. *J Endocrinol*, v.145, p.387-395, 1995.
- Ferrara N.** Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev*, v.25, p.581-611, 2004.
- Figueiredo JR, Rodrigues APR, Amorim CA, Silva JRV.** Manipulação de oócitos inclusos em folículos ovarianos pré-antrais - MOIFOPA. In: Gonçalves PBD, Figueiredo JR, Freitas VJF. *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. 2.ed. São Paulo, SP: Roca, 2008. p.303-327.
- Fortune JE, Kito S, Wandji AS, Srsen V.** Activation of bovine and baboon primordial follicles in vitro. *Theriogenology*, v.49, p.441-449, 1998.
- Fortune JE, Rivera GM, Evan ACO, Turzillo AM.** Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biol Reprod*, v.65, p.648-654, 2001.
- Fraser HM, Lunn SF.** Regulation and manipulation of angiogenesis in the primate corpus luteum. *Reproduction*. v.121, p.355-362, 2001.
- Gao M, Wang Y, Wu X.** In vitro maturation of immature oocytes from preantral follicles in prepuberal mice. *J Reprod Contracept*, v.18, p.25-32, 2007.
- Garrido C, Saule S, Gosporowicz.** Transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor gene expression in bovine granulosa cell. *Growth Factors*. v.8,p.212-219, 1993.
- Geva E, Jaffe RB.** Role of vascular endothelial growth factor in ovarian physiology and pathology. *Fertil Steril*, v.74, p.429-438, 2000.
- Ginther OJ, Gastal EL, Gastal MO, Checura CM, BegMA.** Doseresponse study of intrafollicular injection of insulin-like growth factor-I on follicular fluid factors and follicle dominance in mares. *Biol Reprod*, v.70, p.1063-1069, 2004.
- Gong JG, Baxter G, Bramley T, Webb R.** Enhancement of ovarian follicle development in heifers by treatment with recombinant bovine somatotrophin: a dose-response study. *J Reprod Fertil*, v.110, p.91-97, 1997.
- Gong JG, Bramley T, Webb R.** The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers: follicular population and peripheral hormones. *Biol Reprod*, v.45, p.941-949, 1991.
- Gosden RG, Boland NI, Spears N, Murray AA, Chapman M, Wade JC, Zohdy NI.** The biology and technology of follicular oocyte development in vitro. *Reprod Med Rev*, v.2, p.29-152, 1993.
- Gosden RG, Byatt-Smith JG.** Oxygen concentration gradient across the ovarian follicular epithelium: model, predictions and implications. *Hum Reprod*, v.1, p.65-68, 1986.
- 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 epidermal growth factor in the culture medium. *Hum Reprod*, v.13, p.1638-1644, 1998.
- Gougeon A.** Regulation of ovarian follicular development in primates-facts and hypothesis. *Endocrinol Rev*, v.17, p.121-155, 1996.
- Grasselli F, Basini G, Bussolati S and Tamanini C.** Effects of VEGF and bFGF on proliferation and production of steroids and nitric oxide in porcine granulosa cells. *Reprod Domest Anim*, v.37, p.362-368, 2002.
- Greco D, Stabenfeldt GH.** Endocrinologia. In: Cunningham JG. *Tratado de fisiologia veterinária*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.307-350.
- Gupta PSP, Ramesh HS, Manjunatha BM, Nandi S, Ravindra JP.** Production of buffalo embryos using oocytes from in vitro grown preantral follicles. *Zygote*, v.16, p.57-63, 2008.
- 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.
- Halpin DM, Jones A, Fink G, Charlton HM.** Postnatal ovarian follicle development in hypogonadal (hpg) and normal mice and associated changes in the hypothalamic-pituitary ovarian axis. *J Reprod Fertil*, v.77, p.287-296, 1986.
- Herrington J, Carter-Su C.** Signaling pathways activated by the growth hormone receptor. *Trends Endocrinol Metab*, v.12, p.252-257, 2001.
- Hillier SG, Kitchner HC, Neilson JP.** *Scientific essentials of reproductive medicine*. London: WB Saunders. 1996. p.32-44.
- Hiney JK, Srivastava V, Nyberg CL, Ojeda SR, Dees WL.** Insulin-like growth factor of peripheral origin acts centrally to accelerate the initiation of female puberty. *Endocrinology*, v.137, p.3717-3728, 1996.
- Hirao Y, Nagai T, Kubo M, Miyano T, Miyake M, Kato S.** In vitro growth and maturation of pig oocytes. *J Reprod Fertil*, v.100, p.333-339, 1994.
- Hirshfield AN.** Development of follicles in the mammalian ovary. *Int Rev Cytol*, v.124, p.43-101, 1991.
- Hsueh AJW, Bicsak TA, Jia XC, Dahl KD, Fauser BC, Galway AB, Czekala N, Pavlou S N, Papkoff H, Keene J.** Granulosa cells as hormone targets: the role of biologically active follicle stimulating hormone in



reproduction. *Recent Prog Horm Res*, v.5, p.209-277, 1989.

Hull KL, Harvey S. Growth hormone: a reproductive endocrine–paracrine regulator. *J Reprod Fertil*, v.5, p.175-182, 2000.

Hulshof SCJ, Figueiredo JR, Bekers JF, Bevers MM, Van Der Donk JA. Effects of fetal bovine serum, FSH and 17 β -estradiol on the culture of bovine preantral follicles. *Theriogenology*, v.44, p.217-226, 1995.

Hunzicker-Dunn M, Maizels ET. FSH signaling pathways in immature granulosa cells that regulate target gene expression: branching out from protein kinase A. *Cell Signal*, v.18, p.1351-1359, 2006.

Hutchinson LA, Findlay JK, Herington A. Growth hormone and insulin-like growth factor-I accelerate PMSG-induced differentiation of granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol*, v.55, p.61-69, 1988.

Hutt KJ, McLaughlin EA, Holland MK. Kit ligand and c-Kit have diverse roles during mammalian oogenesis and folliculogenesis. *Mol Hum Reprod*, v.12, p.61-69, 2006.

Itoh T, Kacchi M, Abe M, Sendai Y, Hoshi H. Growth, antrum formation and estradiol production of bovine preantral follicles cultured in a serum-free medium. *Biol Reprod*, v.67, p.1099-1105, 2002.

Izadyar F, Colenbrander B, Bevers MM. Stimulatory effect of growth hormone on *in vitro* maturation of bovine oocytes is exerted through the cyclic adenosine 3',5'-monophosphate signaling pathway. *Biol Reprod*, v.57, p.1484-1489, 1997

Jia XC, Kalmijn J, Hsueh AJ. Growth hormone enhances follicle stimulating hormone-induced differentiation of cultured rat granulosa cells. *Endocrinology*, v.118, p.1401-1409, 1986.

Joyce IM, Pendola FL, Wigglesworth K, Eppig JJ. Oocyte regulation of Kit ligand expression in mouse ovarian follicles. *Dev Biol*, v.214, p.342-353, 1999.

Kleinberg DL. Role of IGF-I in normal mammary development. *Breast Cancer Res Treat*, v.47, p.201-208, 1998.

Kölle S, Sinowatz F, Boie G, Lincoln D. Developmental changes in the expression of the growth hormone receptor messenger ribonucleic acid and protein in the bovine ovary. *Biol Reprod*, v.59, p.836-842, 1998.

Kumar TR, Matzuk MM. Gene knockout models to study the hypothalamus-pituitary-gonadal axis. In: Shupnik MA (Ed.). *Gene engineering and molecular models in Endocrinology*. Totowa, NJ: The Human Press, 2000.

Kumar TR, Wang Y, Lu N, Matzuk MM. Follicle-stimulating hormone is required for ovarian follicle maturation but not male fertility. *Nat Genet*, v.15, p.201-204, 1997.

Lackey BR, Gray SL, Henricks DM. The insulin-like growth factor (IGF) system and gonadotropin regulation: actions and interactions. *Cytokine Growth Factor Rev*, v.10, p.201-217, 1999.

Lee VH. Expression of rabbit zona pellucida-1 messenger ribonucleic acid during early follicular development. *Biol Reprod*, v.63, p.401-408, 2000.

Levi-Setti PE, Cavagana M, Baggiani A, Zannoni E, Colombo GV, Liprandi V. FSH and LH together in ovarian stimulation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, v.115, suppl. 1, p.S34-S39, 2004.

Levy DP, Navarro JM, Glenn LS, Davis OK, Rosenwaks Z. Debate: The role of LH in ovarian stimulated exogenous LH: Let's design the future. *Hum Reprod*, v.15, p.2258-2265, 2000.

Lin Z, Wang X, Li ZJ, Ren SQ, Chen GN, Ying XT, Lin J M. Development of a sensitive, rapid, biotin-streptavidin based chemiluminescent enzyme immunoassay for human thyroid stimulating hormone. *Talanta*, v.75, p.965-972, 2008.

Liu H, He Z, Rosenwaks Z. In vitro culture and in vitro maturation of mouse preantral follicles with recombinant gonadotropins. *Fertil Steril*, v.77, p.373-383, 2002.

Liu X, Andoh K, Yokota H, Kobayashi J, Abe Y, Yamada K, Mizunuma H, Ibuki Y. Effects of growth hormone, activin, and follistatin on the development of preantral follicle from immature female mice. *Endocrinology*, v.139, p. 2342-2347, 1998.

MacFarland KC, Sprengel R, Phillips HS, Kohler M, Rosembli N, Nikolics K, Segaloff PH. Lutropin-choriogonadotrophin receptor: an unusual member of the G protein-couple receptor family. *Science*, v.245, p.494-499, 1989.

Magoffin DA, Magarelli PC. Preantral follicles stimulate luteinizing hormone independent differentiation of ovarian theca-interstitial cells by intrafollicular paracrine mechanism. *Endocrine*, v.3, p.107-112, 1995.

Matos MHT, Lima-Verde IB, Luque MCA, Maia Jr JE, Silva JRV; Celestino JJH, Martins FS, Bão SN, Lucci AM, Figueiredo JR. Essential role of follicle stimulating hormone in the maintenance of caprine preantral follicle viability in vitro. *Zygote*, v.15, p.173-182, 2007.

Matteij JAM, Swarts JJM, Lokerse P, Van Kampen JT, Van Der Heide D. Effects of hypothyroidism on the pituitary-gonadal axis in the adult female rat. *J Endocrinol*, v.146, p. 87-94, 1995.

Mattioli M, Barboni B, Turriani M, Galeati G, Zannoni A, Castellani G, Berardinelli P and Scapolo PA. Follicle activation involves vascular endothelial growth factor production and increased blood vessel extension. *Biol Reprod*, v.65, p.1014-1019, 2001.

Matzuk MM, Burns KH, Viveiros MM, Eppig JJ. Intercellular communication in the mammalian ovary: oocytes carry the conversation. *Science*, v.296, p. 2178-2180, 2002.

McGee EA, Hsue AJ. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr Rev*, v.21, p. 200-214, 2000.



- Méduri G, Charnaux N, Driancourt MA, Combettes L, Granet P, Vannier B, Loosfelt H, Migrom E.** Follicle-stimulating hormone receptors in oocytes. *J Clin Endocrinol Metab*, v.87, p.2266-2276, 2002.
- O'Shaghnessy PJ, McLelland D, McBride MW.** Regulation of luteinizing hormone receptor and follicle-stimulating hormone-receptor messenger ribonucleic acid levels during development in the neonatal mouse ovarian. *Biol Reprod*, v.57, p.602-608, 1997.
- Ola SI, Ai J, Liu J, Wang Q, Wang Z, Chen D, Sun Q.** Effects of gonadotrophins, growth hormone, and activin A on enzymatically isolated follicle growth, oocyte chromatin organization, and steroid secretion. *Mol Reprod Dev*, v.75, p.89-96, 2008.
- Otsuka F, Moore RK, Wang X, Sharma S, Miyoshi T, Shimasaky S.** Essencial role of the oocyte in estrogen amplification of follicle-stimulating hormone signaling in granulosa cells. *Endocrinology*, v.146, p.3362-3367, 2005.
- Ovesen P.** Synergistic effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I on differentiation and replication of cultured human luteinized granulosa cells. *Acta Obstet Gynecol Scand*, v.77, p.487-491, 1998.
- Park JY, Su YQ, Ariga M, Law E, Jin SL, Conti M.** EGF-like growth factors as mediators of LH action in the ovulatory follicle. *Science*, v.303, p.682-684, 2004.
- Parmentier M, Libert F, Maenhaut C, Lefort A, Gérard C, Perret J, Van Sande J, Dumont JE, Vassart G.** Molecular cloning of the thyrotropin receptor. *Science*, v.246, p.1620-1622, 1989.
- Parrot JA, Skinner MK.** Kit ligand/stem cell factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. *Endocrinology*, v.140, p.4262-4271, 1999.
- Prochazka R, Srsen V, Nagyova E, Miyano T, Flechon JE.** Developmental regulation of effect of epidermal growth factor on porcine oocyte-cumulus cell complexes: nuclear maturation, expansion, and F-actin remodeling. *Mol Reprod Dev*, v.56, p.63-73, 2000.
- Qvist R, Blackwell LF, Bourne H, Brown JB.** Development of mouse ovarian follicles from primary to ovulatory stages in vitro. *J Reprod Fertil*, v.89, p.169-180, 1990.
- Reisinger K, Baal N, Mckinnon T, Münstedt K, Zygmunt M.** The gonadotrophin: Tissue specific angiogenic factors? *Mol Cell Endocrinol*, v.269, p.65-80, 2007
- Reynolds LP, Redmer DA.** Utero placenta vascular development and placental function. *J Anim Sci*, v.73, p.1939-1851, 1995.
- Richards J, Russel D, Ochsner S, Hsieh M, Doyle K, Falender A, Lo Y, Sharma S.** Novel signaling pathways that control ovarian follicular development, ovulation and luteinization. *Recent Prog Horm Res*, v.57, p.195-220, 2002.
- Richards JS.** Maturation of ovarian follicles: actions and interactions of pituitary and ovarian hormones on follicular cell differentiation. *Physiol Rev*, v.60, p.51-89, 1980.
- Roy SK.** Epidermal growth factor and transforming growth factor- β 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, Terada DM.** Activities of glucose metabolic enzymes in human preantral follicles: in vitro modulation by follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, epidermal growth factor, insulin-like growth factor i, and transforming growth factor. *Biol Reprod*, v.60, p. 763-768,1999.
- Salesse R, Remy JJ, Levin JM, Jallal B, Garnier J.** Towards understanding the glycoprotein hormone receptors. *Biochimie*, v.73, p.109-120, 1991.
- San S, Frohman LA.** Normal physiology of hypothalamic pituitary regulation. *Endocrinol Metab Clin North Am*, v.37, p.1-22, 2008.
- Saraiva MVA, Celestino JJH, Chaves RN, Martins FS, Bruno JB, Lima-Verde IB, Matos MHT, Silva GM, Porfirio EP, Bão SN, Campello CC, Silva JRV, Figueiredo JR.** Influence of different concentrations of LH and FSH on in vitro caprine primordial ovarian follicle development. *Small Rumin Res*, v.78, p.87-95, 2008.
- Scaramuzzi RJ, Adams NR, Baird DT, Campbell BK, Downing JA, Findlay JK.** A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reprod Fertil Dev*, v.5, p.459-478, 1993.
- Sharara FI, Nieman LK.** Identification and cellular localization of growth hormone receptor gene expression in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab*, v.79, p.670-672, 1994.
- Silva JR, 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.** *Growth factors in goat ovaries and the role of activina-A in the development of esrly-staged follicles.* 142f. Thesis (PhD) - Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine. 2005.
- Simon AM, Goodenough DA.** Diverse function of verbrate gap junctions. *Trends Cell Biol*, v.8, p.477-483, 1998.
- Sirotkin AV, Makarevich AV.** Growth hormone can regulate functions of porcine ovarian granulosa cells through the cAMP/protein kinase A system. *Anim Reprod Sci*, v.70, p.111-126, 2002.
- Smith GW, Juengel JL, McIntush EW, Youngquist RS, Garverick HA, Smith MF.** Ontogenies of messengerRNA encoding tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and 2 within bovine periovulatory follicles and luteal tissue. *Domest Anim Endocrinol*, v.13, p.151-160, 1996.



- Sokka TA, Hamalainen TM, Kaipia A, Warren D, Huhtaniemi I.** Development of luteinizing hormone action in the perinatal rat ovary. *Biol Reprod*, v.55, p.663-670, 1996.
- Sokka TA, Huhtaniemi I.** Ontogeny of gonadotrophin receptors and gonadotrophin-stimulated cyclic AMP production in the neonatal rat ovary. *J Endocrinol*, v.127, p.297-303, 1990.
- Stouffer RL, Martínez-Chequer JC, Molskness TA, Xu F, Hazzard TM.** Regulation and action of angiogenic factors in the primate ovary. *Arch Med Res*, v.32, p.567-575, 2001.
- Thomas FH, Ethier JF, Shimasaki S, Vanderhyden BC.** Follicle-stimulating hormone regulates oocyte growth by modulation of expression of oocyte and granulosa cell factors. *Endocrinology*, v.146, p.941-949, 2005.
- Toogood AA, Shalet SM.** Ageing and growth hormone status. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*, v.12, p.281-296, 1998.
- Van Den Hurk R, Abir R, Telfer EE, Bevers MM.** Primate and bovine immature oocytes and follicles as sources of fertilizable oocytes. *Hum Reprod*, v.5, p.457-474, 2000.
- Van Den Hurk R, Bevers MM, Beckers JF.** *In vivo* and *in vitro* development of follicles preantral. *Theriogenology*, v.47, p.73-82, 1997.
- 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 S, Fortier MA, Sirard M.** Differential response to gonadotrophins and prostaglandin E2 in ovarian tissue during prenatal and postnatal development in cattle. *Biol Reprod*, v.46, p.1034-1041, 1992.
- Wandji SA, Srsen V, Voss AK, Eppig JJ, Fortune JE.** Initiation *in vitro* of growth of bovine primordial follicles. *Biol Reprod*, v.55, p.942-948, 1996.
- Wang Y, Rippstein PU, Tsang BK.** Role and gonadotrophic regulation of X-linked inhibitor of apoptosis protein expression during rat ovarian follicular development *in vitro*. *Biol Reprod*, v.68, p.610-619, 2003.
- Wijayagunawardane MPB, Kodithuwakku SP, Yamamoto D, Miyamoto A.** Vascular endothelial growth factor system in the cow oviduct: a possible involvement in the regulation of oviductal motility and embryo transport. *Mol Reprod Dev*, v.72, p.511-520, 2005.
- Wu J, Nayudu PL, Kiesel PS, Michelmann HW.** Luteinizing hormone has a stage-limited effect on preantral follicle development *in vitro*. *Biol Reprod*, v.63, p.320-327, 2000.
- Xu Z, Gaverik 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.
- Yang Y, Balla A, Danilovich N, Sairam MR.** Development and molecular aberrations associated with deterioration of oogenesis during complete or partial follicle-stimulating hormone receptor deficiency in mice. *Biol Reprod*, v. 69, p.1294-1302, 2003.
- Yokota H, Yamada K, Liu X, Kobayashi J, Abe Y, Mizunuma H, Ibuki Y.** Paradoxical action of activin A on folliculogenesis in immature and adult mice. *Endocrinology*, v.138, p.4572-4576, 1997.
- Yoshimura Y, Nakamura Y, Koyama N, Iwashita M, Adachi T, Takeda Y.** Effects of growth hormone on follicle growth, oocyte maturation, and ovarian steroidogenesis. *Fertil Steril*, v.59, p.917-923, 1993.
- Younis AI, Brackett BG.** Thyroid stimulating hormone enhancement of bovine oocyte maturation *in vitro*. *Mol Reprod Dev*, v.31, p.144-51, 1992.
- Younis AI, Sehgal PK, Biggers, JD.** Fertilization and early embryology: antral follicle development and *in vitro* maturation of oocytes from macaques stimulated with a single subcutaneous injection of pregnant mare's serum gonadotrophin. *Hum Reprod*, v.9, p. 2130-2134, 1994.
- Zachow RJ, Magoffin, DA.** Granulosa cell modulation of luteinizing hormone-dependent androgen production by ovarian theca-interstitial cell: a temporal switch from suppression to augmentation stimulated by follicle-stimulating hormone *in vitro*. *Biol Reprod*, v.53, p.758-765, 1995.
- Zaczek D, Hammond J, Suen L, Wandji S, Service D, Bartke A, Chandrashekar V, Coschigano K, Kopchick J.** Impact of growth hormone resistance on female reproductive function: new insights from growth hormone receptor knockout mice. *Biol Reprod*, v.67, p.1115-1124, 2002.
-