



Controle do crescimento e da seleção folicular por fatores locais e sistêmicos na espécie bovina

Local and systemic control of bovine follicular growth and selection

M.E.F. Oliveira¹, R.M. Ferreira², G.Z. Mingoti^{3,4}

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil.

²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, SP, Brasil.

³Faculdade de Medicina Veterinária, UNESP, Araçatuba, SP, Brasil.

⁴Correspondência: gmingoti@fmva.unesp.br

Resumo

A regulação da atividade ovariana é um processo integrado que envolve sinalização extraovariana e fatores intrafoliculares. Todavia, o real fator desencadeador do processo de seleção folicular ainda parece obscuro. As gonadotrofinas possuem papel importante, mas nem sempre fundamental. A ativação do folículo primordial e os estágios iniciais da foliculogênese podem ocorrer na ausência de gonadotrofinas, no entanto o FSH pode afetar a taxa de crescimento do folículo pré-antral. Já o desenvolvimento do folículo antral de 1 para 4 mm de diâmetro é completamente dependente de gonadotrofinas em bovinos, e a transferência de dependência de FSH para LH pode fazer parte do mecanismo de seleção folicular. Além disso, fatores de crescimento locais, como o sistema IGF, atuam em associação com as gonadotrofinas durante o crescimento folicular, podendo também influenciar o processo de seleção do folículo dominante. Portanto, a integração de sinais extraovarianos e de fatores intrafoliculares irá determinar se um folículo continuará seu desenvolvimento ou entrará em atresia. Essa revisão foca-se na interação entre as gonadotrofinas e os fatores intrafoliculares no desenvolvimento e na seleção folicular em bovinos.

Palavras-chave: bovinos, desenvolvimento folicular, fatores de crescimento locais, gonadotrofinas.

Abstract

The regulation of ovarian activity is an integrated process involving extraovarian signals and intrafollicular factors. In such process, gonadotropins have an important role, but not always crucial. The initiation of primordial follicle growth and the early stages of folliculogenesis can occur without gonadotropins, however FSH may affect the rate of preantral follicle growth. On the other hand, the antral follicle development from 1 to 4 mm in diameter is completely gonadotropin-dependent in bovine, and the alternation of dependency from FSH to LH may be part of the mechanism involved in follicular selection. Locally produced growth factors, such as the IGF system, work in association with gonadotropins throughout the follicular growth and can influence follicular selection. Thus, the integration of these extraovarian signals and intrafollicular factors seems to determine whether a follicle will continue to develop or go atretic. This review focuses on the interaction between gonadotropins and intrafollicular factors in follicular development and selection in cattle.

Keywords: bovine, follicular development, gonadotropins, growth factors locally produced.

Introdução

Em bovinos e outras espécies monovulares, o desenvolvimento folicular inicia-se com a ativação do folículo primordial, seguido de seu crescimento e desenvolvimento contínuo até culminar com a ovulação ou atresia. Entretanto, os mecanismos precisos envolvidos no controle do início desse crescimento contínuo e na determinação do número de folículos primordiais que começam a crescer ainda não estão bem estabelecidos. O que se sabe é que o crescimento dos folículos pré-antrais parece ser dependente de interações entre o oócito e as células da granulosa, bem como da secreção de fatores locais. Os folículos antrais, por sua vez, são gonadotrofina-dependentes e sofrem influência das interações entre os fatores locais.

O desenvolvimento folicular antral em bovinos pode ser dividido em duas fases distintas. Primeiramente, há um crescimento “lento” com duração de aproximadamente 30 dias, que se inicia com a aquisição do antro (folículos com diâmetro médio de 300 µm) e posterior desenvolvimento até o estágio de pequenos folículos antrais (Lussier et al., 1987). A segunda fase, de crescimento “rápido”, pode durar de cinco a sete dias e normalmente é descrita como onda folicular, apresentando algumas particularidades como: 1) emergência de um *pool* de folículos de 2-3 mm; 2) fases finais do processo de seleção folicular, as quais permitem que geralmente apenas um folículo continue crescendo e aumente a síntese de estradiol [folículo dominante, com diâmetro de 8,5 mm em *Bos taurus* (Sartorelli et al., 2005) e 6,2 mm em *Bos indicus* (Gimenes et al., 2008)]; e 3) período variável de dominância folicular que pode culminar no desenvolvimento do folículo pré-ovulatório e da ovulação (Sunderland et al., 1994). Porém, um estudo com autoenxerto ovariano e outro com indução de estresse térmico em fêmeas da raça Gir mostraram que esse período de desenvolvimento folicular



deve ser maior, sugerindo que sejam necessários meses para que o folículo primordial alcance o estágio pré-ovulatório (Campbell et al., 2000; Torres-Júnior et al., 2008).

A seleção folicular envolve diversos mecanismos e fatores conhecidos e desconhecidos que se inter-relacionam em processos de causa e consequência ainda difíceis de serem compreendidos. Dentre esses fatores, estão envolvidas as alterações das concentrações das gonadotrofinas e seus receptores e suspeita-se de uma série de fatores produzidos localmente, como o sistema IGF. Além disso, diversos fatores ambientais, como a nutrição, podem influenciar o desenvolvimento folicular e a qualidade oocitária. (Garnsworthy e Webb, 1999; Webb et al., 1999a, b, 2003). No entanto, o real fator desencadeador de todo o processo de seleção ainda permanece obscuro, embora se saiba que o conjunto de eventos que atuam neste processo seja gradativamente organizado. Essa revisão irá focar a interação entre as gonadotrofinas e os fatores intrafoliculares no desenvolvimento e na seleção folicular em bovinos.

Fatores envolvidos no crescimento e desenvolvimento folicular

Os fatores envolvidos no crescimento e desenvolvimento folicular nos estágios pré-antral e antral serão abordados a seguir e encontram-se sumarizados na Tab. 1.

Tabela 1. Fatores envolvidos no crescimento e desenvolvimento folicular.

Estágio folicular	Ação descrita	Referência
Pré-antral	Mutação gênica na BMP-15 bloqueia crescimento folicular no estágio primário do crescimento (ovino)	Galloway et al. (2000)
	Imunização contra BMP-15 e GDF-9 bloqueia desenvolvimento folicular ovariano (ovino)	Juengel et al. (2002)
	Expressão de RNAm para IGFBP-2 e IGFr do tipo 1 por células da granulosa (bovino)	Armstrong et al. (2002)
	IGF-I e EGF estimulam crescimento folicular pré-antral <i>in vitro</i> (bovino)	Gutierrez et al. (2000); Saha et al. (2000)
	Expressão de RNAm para enzimas esteroidogênicas (P450 _{sc} , P450 _{c17} e 3 β -HSD) logo após a formação da teca interna (bovino)	Bao e Garverick (1998)
	Expressão P450 _{arom} em células da granulosa e secreção E ₂ no início do desenvolvimento de folículos pré-antrais (bovino)	Bao e Garverick (1998); Thomas et al. (2001)
	E ₂ diferencia células somáticas em células pré-granulosas e atua no estabelecimento da comunicação oócito-granulosa (hamster; estudos <i>in vitro</i>)	Wang e Roy (2007)
	E ₂ parece atuar na regulação do papel do FSH sobre a formação do folículo primordial (hamster)	Roy e Albee (2000); Wang e Roy (2007)
	Evidências de que gonadotrofinas não estejam envolvidas na ativação do crescimento folicular, embora RNAm para FSHr tenha sido detectado em folículos com 1-2 camadas de células da granulosa (bovino e ovino)	Wandji et al. (1992); Bao e Garverick (1998); McNatty et al. (1999); Campbell et al. (2000); Fortune et al. (2000)
	FSH acelera taxa de desenvolvimento folicular pré-antral <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> (bovino e ovino)	Hulshof et al. (1995); Campbell et al. (2000); Gutierrez et al. (2000)
Expressão de RNAm para LHr durante a formação da teca interna (bovino)	Bao e Garverick (1998)	
Antral	Aumento transitório da secreção de FSH estimula onda de crescimento folicular antral (bovino)	Fortune (1994); Adams (1999)
	Alteração no padrão de expressão de RNAm para enzimas esteroidogênicas (P450 _{sc} , P450 _{c17} , 3 β -HSD e P450 _{arom}) e para receptores de gonadotrofinas (FSHr e LHr) durante a fase de desenvolvimento folicular a partir de 2 mm de diâmetro (bovino)	Bao e Gaverick (1998); Webb et al. (1999a)
	Evidências do envolvimento de BMP-15 e os receptores BMPR-2, -1A e -1B, inibina e ativina na diferenciação folicular via aumento da ação das gonadotrofinas (bovino e ovino)	Campbell e Baird (2001); Knight e Glister, (2001); Montgomery et al. (2001); Souza et al. (2002)
	Deteção de RNAm para IGF-II em células da teca no momento de formação do antro; deteção do receptor IGF-I e IGFBP-2, -3 e -4 neste mesmo estágio de desenvolvimento folicular (bovino)	Armstrong et al. (1998, 2000)
	Evidências de que IGF-II produzido pela teca regula o crescimento folicular antral por meio do receptor IGF tipo I (bovino)	Adashi et al. (1990); Armstrong et al. (1998); Yuan et al. (1998); Webb et al. (1999a); Armstrong et al. (2000); Lucy (2000)

Maiores detalhes podem ser encontrados no texto.



Crescimento folicular pré-antral

Os mecanismos que regulam a ativação e o subsequente crescimento contínuo dos folículos primordiais ainda permanecem vagamente entendidos. No entanto, seu crescimento provavelmente depende da ocorrência de interações entre o oócito e as células da granulosa e da secreção de diversos fatores locais, tais como o c-KIT/KIT ligando, fator de crescimento e diferenciação (GDF)-9, proteínas morfogenéticas ósseas (BMP), fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF), fator de crescimento epidérmico (EGF), ativinas e inibinas (McNatty et al., 1999; Knight e Glister, 2001; Smitz e Cortvindt, 2002; Webb et al., 2003).

Já em bovinos, Armstrong et al. (2002) demonstraram que as células da granulosa de folículos pré-antrais expressam RNA mensageiro (RNAm) que codifica tanto proteínas ligadoras de IGF (IGFBP)-2 quanto receptores do fator de crescimento semelhante à insulina (IGFr) do tipo 1. A teca externa de folículos antrais e o estroma que circunda os folículos pré-antrais também parecem expressar RNAm para IGFBP-3. Diferentemente, a expressão de RNAm para IGF-I nas células da granulosa permanece ainda bastante controversa, havendo relatos demonstrando tanto a presença quanto a ausência desse fator de crescimento em folículos pré-antrais e antrais (Spicer e Echterkamp 1995; Yuan et al., 1998; Perks et al., 1999; Webb et al., 1999a; Schams et al., 2002). O IGF-II, por sua vez, foi detectado na camada de células da teca de folículos antrais bovinos (Yuan et al., 1998; Webb et al., 2003), o que sugere que o IGF regula o crescimento pré-antral primariamente por mecanismos endócrinos, sendo que as IGFBP-2 e -3 regulam a biodisponibilidade de IGF-I extraovariano e IGF-II derivado de folículos antrais adjacentes.

Com relação à função do IGF-I, foi demonstrado que, assim como o EGF, esse fator estimula o crescimento folicular pré-antral *in vitro* em bovinos (Gutierrez et al., 2000; Saha et al., 2000). Entretanto, altas concentrações de IGF-I podem ter efeito negativo no crescimento oocitário (McCaffery et al., 2000). Assim, o papel das IGFBP localmente produzidas é, provavelmente, o de manter o IGF em níveis ótimos para o crescimento do folículo pré-antral e do oócito.

A atividade esteroidogênica de folículos pré-antrais bem como as ações de esteroides sobre o crescimento folicular pré-antral também têm sido amplamente estudadas. O RNAm para enzimas esteroidogênicas, tais como citocromo P450 de clivagem de cadeia lateral (P450scc), citocromo P450 17 α -hidroxilase (P450c17) e 3 β -hidroxiesteroide dehidrogenase (3 β -HSD), é expresso pela primeira vez logo após a formação da teca interna. Já o citocromo P450 aromatase (P450arom) é localizada exclusivamente nas células da granulosa (Bao e Garverick, 1998), e os folículos pré-antrais parecem ser capazes de produzir estradiol já no início do seu desenvolvimento (Thomas et al., 2001; K.J. Dugan et al., observações não publicadas, citadas por Webb et al., 2004). Ainda, há fortes indícios de que pelo menos parte da regulação do FSH na formação dos folículos primordiais seja mediada pelo estradiol (Roy e Albee, 2000; Wang e Roy, 2007).

As gonadotrofinas provavelmente não estão envolvidas na ativação do crescimento folicular (Wandji et al., 1992; McNatty et al., 1999; Campbell et al., 2000; Fortune et al., 2000), embora RNAm para receptores de FSH (FSHr) possa ser detectado em folículos com apenas uma ou duas camadas de células da granulosa (Bao e Garverick, 1998). Em estudos *in vivo* (Campbell et al., 2000) e *in vitro* (Hulshof et al., 1995; Gutierrez et al., 2000) foi demonstrado que o FSH pode acelerar a taxa de desenvolvimento pré-antral. De forma semelhante, o papel do LH nesses estágios de desenvolvimento ainda não foi descrito para a espécie bovina, apesar de a expressão de RNAm para seus receptores (LHr) ter sido observada pela primeira vez quando a teca interna é formada ao redor das células da granulosa (Bao e Garverick, 1998).

Crescimento folicular antral

O crescimento folicular antral, a partir de 2 mm de diâmetro, está sob controle gonadotrófico (Campbell et al., 1995, 2003), sendo que cada onda de crescimento folicular é precedida por um aumento transitório na secreção de FSH (Adams, 1999). Em bovinos e algumas outras espécies, a inibição ou atraso nesse aumento de FSH acarreta em inibição ou atraso da onda folicular (revisado por Fortune, 1994). Foi também sugerido que as concentrações periféricas de inibina-A e FSH influenciam o número de ondas foliculares (Parker et al., 2003) e que as concentrações de FSH controlam o intervalo para a emergência da onda de crescimento folicular subsequente (Ginther et al., 2002b). Adicionalmente, evidências indicam que a inibina deva possuir, junto ao estradiol, papel importante no controle do aumento transitório de FSH para a emergência de uma nova onda de crescimento folicular (Ferreira et al., 2008).

Em protocolos de superovulação, o FSH exógeno pode recrutar maior número de folículos para continuarem o crescimento além de 5 mm de diâmetro, bem como aumentar o número de folículos disponíveis para ovulação. Esses efeitos do FSH parecem ser dose-dependentes, uma vez que o tratamento com pequenas quantidades de FSH exógeno pode induzir codominância (Adams et al., 1993; Rivera e Fortune, 2001). O que ainda não é bem entendido é como apenas um folículo dominante é selecionado entre o grupo de folículos recrutados pelo aumento transitório de FSH.

Mudanças nos padrões de expressão de RNAm para receptores de gonadotrofinas (FSHr e LHr) e para



enzimas esteroidogênicas-chave, como o P450scc, P450c17, P450arom e 3 β -HSD, ocorrem nessa fase de desenvolvimento folicular a partir de aproximadamente 2 mm de diâmetro (revisado por Bao e Garverick, 1998; Webb et al., 1999a). De forma mais específica, o crescimento de folículos até aproximadamente 5 mm de diâmetro (recrutamento) e acima disso é caracterizado pela indução da expressão de RNAm para P450scc e P450arom em células da granulosa. Aumento no RNAm para receptores de gonadotrofinas e enzimas esteroidogênicas também é observado na sequência do crescimento do folículo.

Em estudos em que a secreção de gonadotrofinas pela pituitária foi significativamente reduzida mediante o uso de um agonista do GnRH (buserelina em infusão contínua por 45 dias) ou imunização contra o GnRH, a infusão de FSH estimulou o crescimento folicular até 8,5 mm de diâmetro (Crowe et al., 2001; Garverick et al., 2002). Esse crescimento folicular foi acompanhado por aumento da expressão de RNAm para P450scc e P450arom nas células da granulosa e para P450c17 na células da teca, quando comparado aos folículos de tamanho similar recrutados em vacas com ciclos estrais normais. Além disso, a infusão de FSH por 48h (Garverick et al., 2002) também induziu aumento na expressão de RNAm para P450scc e P450arom nas células da granulosa de folículos pequenos (1 a 4 mm), comparados aos folículos dos animais-controle. Esse dado é comparável às ovelhas que carregam o gene *FecB*, o qual aumenta a taxa de ovulação e causa diferenciação folicular precoce (McNatty et al., 2003; Mulsant et al., 2003; Souza et al., 2003). O gene *FecB* é uma mutação no receptor BMP-1B e aumenta a expressão de RNAm para P450arom e para subunidade inibin- β A nas células da granulosa (Webb et al., 1999a), demonstrando claramente a importância dos mecanismos locais de controle.

Assim, além das gonadotrofinas, sabe-se que diversos fatores de crescimento produzidos localmente são importantes para o desenvolvimento folicular. Nesse contexto, foi demonstrado que a BMP pode alterar a esteroidogênese e proliferação das células da granulosa bovinas *in vitro* (Glistler et al., 2004). Outros membros da superfamília TGF- β que também parecem estar envolvidos nos mecanismos de controle local incluem BMP-15 e os receptores BMP (BMPR)-2, BMPR-1A e BMPR-1B, inibinas e ativinas. Os papéis precisos desses fatores ainda não são conhecidos, mas, semelhantemente ao sistema IGF, parece que eles estão envolvidos na diferenciação folicular via aumento da ação das gonadotrofinas (Campbell e Baird, 2001; Knight e Glistler, 2001; Montgomery et al., 2001; Souza et al., 2002).

É também ao redor do momento da formação do antro que o RNAm para IGF-II é detectado pela primeira vez nas células da teca. O receptor IGF tipo 1 e algumas IGFBP (IGFBP-2, -3 e -4) também foram detectados nesse estágio de desenvolvimento (Armstrong et al., 1998, 2000). No entanto, a hibridização *in situ* falhou em detectar a presença de RNAm para IGF-I nas células da granulosa em qualquer estágio de desenvolvimento folicular (Perks et al., 1995, 1999; Armstrong et al., 1998, 2000). Em contrapartida, já foi demonstrada a presença de RNAm codificando IGF-1 nas células da granulosa de folículos subordinados e dominantes (ovelhas: Leeuwenberg et al., 1995; bovinos: Yuan et al., 1998). Adicionalmente, outros trabalhos detectaram tanto RNAm para IGF-I quanto o próprio IGF-I em células da granulosa bovinas cultivadas *in vitro* (Spicer et al., 1993; Spicer e Echterkamp, 1995; Spicer e Chamberlain, 2000). Apesar dessas controvérsias, há um acordo geral de que o IGF-II produzido pelas células tecais é o principal IGF intrafolicular que regula o crescimento dos folículos antrais bovinos (Armstrong et al., 1998, 2000; Yuan et al., 1998; Webb et al., 1999a), atuando por meio do receptor de IGF tipo 1 (Adashi et al., 1990; Lucy, 2000).

Seleção folicular e dominância

Em bovinos, o estágio mais avançado do crescimento antral está bem caracterizado pela presença de duas ou três ondas de crescimento folicular durante cada ciclo estral, as quais já são observadas antes mesmo da puberdade e durante os períodos de anestro (Adams, 1999; Ireland et al., 2000). Cada onda de crescimento folicular em bovinos é caracterizada pelo recrutamento de um grupo de folículos (emergência), os quais continuam a crescer até aproximadamente 6 a 8 mm de diâmetro (*Bos indicus* e *Bos taurus*, respectivamente), quando passam pela seleção folicular. A emergência folicular é definida pelo menor diâmetro utilizado para gerar perfis de crescimento folicular por ultrassonografia (Ginther, 2000).

A tecnologia da ultrassonografia transretal possibilitou um grande avanço no entendimento da transição entre as fases de seleção e dominância folicular, bem como das associações temporais entre as mudanças na dinâmica folicular e as concentrações de hormônios periféricos (Adams, 1999; Ireland et al., 2000; Ginther et al., 2001a). No entanto, o mecanismo preciso de seleção e dominância ainda precisa ser completamente elucidado. Alguns fatores e características parecem estar intimamente relacionados à dominância folicular, mas não necessariamente são os iniciadores do processo. Dentre esses fatores estão o tamanho folicular, a esteroidogênese (especialmente a produção de estradiol), a capacidade de resposta ao FSH e LH (número de receptores para essas gonadotrofinas) e diversos fatores locais, como o IGF-I, por exemplo. Esses fatores serão detalhados a seguir, e suas ações encontram-se sumarizadas na Fig. 1.

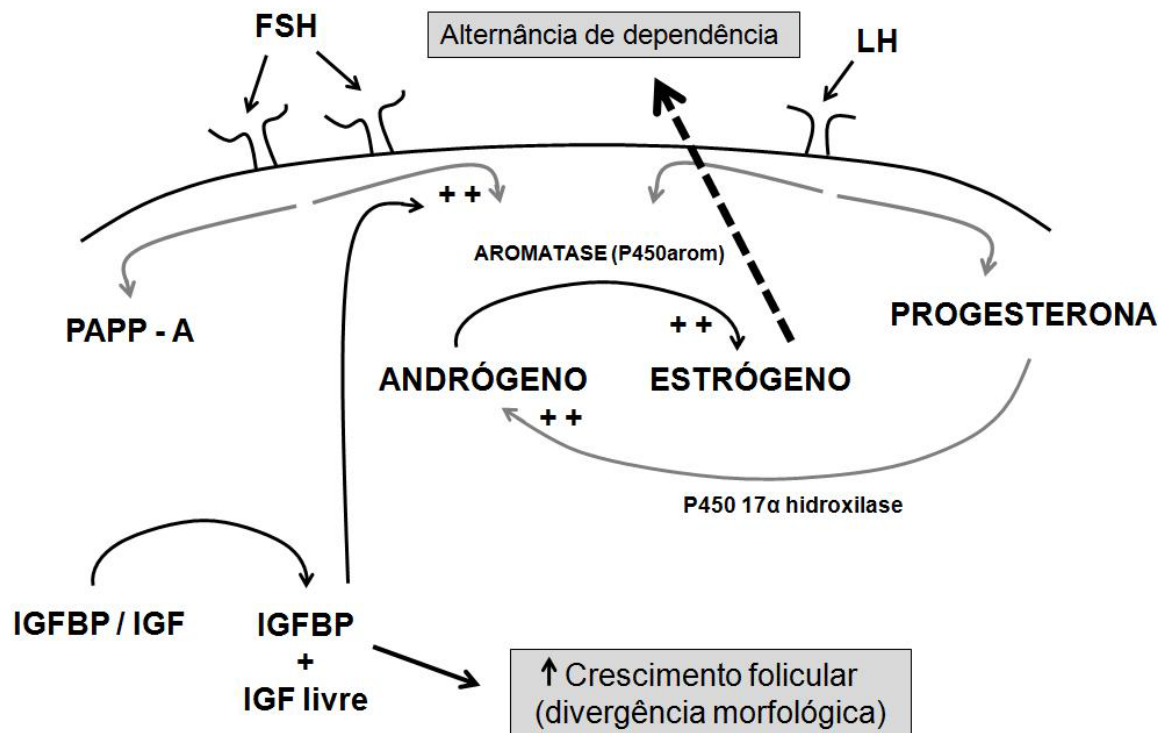


Figura 1. Esquema ilustrativo dos possíveis fatores envolvidos na seleção do folículo dominante em bovinos. O folículo dominante apresenta maior expressão de RNAm para FSHr, suportando o decréscimo das concentrações de FSH observado na sequência do crescimento folicular. Há também evidências de maior expressão de RNAm para enzimas citocromo P450 aromatase (P450arom), citocromo P450 17 α hidroxilase (P450c17) e enzimas envolvidas na síntese de progestinas (citocromo P450scc, 3 -HSD e StAR), favorecendo a produção de estrógeno pelo folículo dominante. Talvez em decorrência desse aumento de estrógeno, o folículo dominante adquira receptores para LH, garantindo seu subsequente crescimento, pois há manutenção de níveis basais de LH após a seleção. O sistema IGF parece interagir com o FSH na produção de estrógeno. Sugere-se que um evento crítico da seleção funcional é a indução pelo FSH da protease que degradará IGFBP-4 em um folículo dentre os demais recrutados, provocando aumento da biodisponibilidade de IGF. Essa seleção funcional é rapidamente seguida pela seleção morfológica e posterior diferenciação do folículo dominante.

Tamanho do folículo

Foi observado que, em novilhas, o futuro folículo dominante emerge, em média, seis ou sete horas antes do maior folículo subordinado (Ginther et al., 1997; Kulick et al., 1999). Após a emergência, os folículos entram em uma fase de crescimento comum, com média de sete a 11 folículos tanto em bovinos quanto em equinos e humanos (Gastal et al., 1997; Schipper et al., 1998). A emergência mais precoce resulta em vantagem de tamanho para o folículo dominante ao final da fase de crescimento comum. Esse fato é em virtude de que os folículos que emergem mais tardiamente na onda alcançam menor diâmetro máximo, crescem mais lentamente e devem atingir um platô ou diâmetro máximo antes do final dessa fase (Ginther et al., 2001b). A seleção folicular ocorre no final dessa fase de crescimento comum, quando o folículo dominante cresce em taxa contínua e os demais folículos ou subordinados reduzem a taxa de crescimento e depois regredem. Essa mudança das taxas de crescimento é conhecida como divergência (Ginther et al., 1997), e a diferença de tamanho entre o folículo dominante e o primeiro subordinado pode ser denominada divergência morfológica.

Em avaliações ultrassonográficas, a divergência pode ser determinada por inspeção retrospectiva. Assim, quando uma aparente diferença de diâmetro entre os dois maiores folículos de uma onda individual é observada, considera-se que o desvio ou divergência folicular ocorreu no exame anterior. Com base em diversos trabalhos, o diâmetro folicular médio dos dois maiores folículos no início do desvio é de 8,5 e 7,7 mm em novilhas *Bos taurus* (revisado por Ginther et al., 2003). Já em *Bos indicus* foi relatado que o diâmetro médio do maior folículo no momento da divergência é de 6,2 mm (Gimenes et al., 2008). Aparentemente, quando o maior folículo atinge um estágio de desenvolvimento decisivo, o rápido desenvolvimento de mecanismos de divergência bloqueia o crescimento do segundo maior folículo antes que ele atinja diâmetro semelhante. Portanto, a diferença média em diâmetro entre os dois maiores folículos da onda no início da divergência indica que o destino dos folículos é estabelecido em média <8 h em bovinos (equivalente à diferença de diâmetro de 0,5 mm; revisado por Ginther et al., 2003).



Apesar da rápida designação do *status* folicular, considera-se a hipótese de que o folículo subordinado mantenha adequada viabilidade por um dia ou mais após o início da divergência, podendo inclusive ser convertido em dominante caso o folículo dominante falhe ou passe por ablação (Ginther et al., 2001b, revisado por Ginther et al., 2003). Devido a isso, é possível concluir que todos os folículos da fase de crescimento comum têm potencial para serem futuros folículos dominantes. Portanto, mais do que a seleção propriamente dita de um folículo dominante, pode-se dizer que o processo de seleção ou desvio folicular envolve ações contra os folículos subordinados remanescentes, o que é uma importante consideração no desenvolvimento de hipóteses sobre a natureza dos mecanismos de desvio folicular (Ginther et al., 2003).

Esteroidogênese folicular: produção de estradiol

Uma característica bem definida dos folículos dominantes é sua maior capacidade de produzir estradiol: já foi demonstrado que as concentrações de estradiol no fluido folicular são muito maiores em folículos dominantes isolados no quinto dia do ciclo estral do que em folículos recrutados isolados no terceiro dia do ciclo (Badinga et al., 1992; Fortune, 1994). Em estudos prévios, folículos dominantes e subordinados foram comparados em momentos específicos com relação ao momento de ocorrência da dominância morfológica, e foram observadas maiores concentrações de estradiol no fluido folicular do folículo dominante já quando ele apresentava-se ligeiramente maior do que o maior folículo subordinado (Bodensteiner et al., 1996; Evans e Fortune, 1997; Ginther et al., 1997).

Avaliações das concentrações de estradiol e andrógenos no sangue periférico também apontam o folículo dominante como fonte responsável pelas altas concentrações desses esteroides durante a primeira onda de crescimento folicular de um ciclo estral. Observa-se que as concentrações de estradiol, androstenediona e testosterona aumentam no sangue da veia uterovariana, o qual é drenado do ovário que contém o folículo dominante, mas não na veia uterovariana contralateral (Evans et al., 1997).

A secreção pelo folículo dominante de estradiol e talvez de andrógeno está associada com a interrupção do aumento de FSH e com a manutenção dos níveis basais de FSH, respectivamente (Evans et al., 1997; Ginther et al., 2000). Experimentalmente, o aumento ou a diminuição das concentrações de estradiol no início esperado da divergência em vacas resultaram em uma diminuição ou aumento, respectivamente, nas concentrações de FSH, indicando relacionamento funcional entre os dois hormônios (Ginther et al., 2003). Além disso, foi sugerido que o estradiol e a inibina produzidos pelo folículo, isoladamente ou em sinergismo, suprimem a concentração circulante de FSH (Ginther et al., 2003; Mihm e Bleach, 2003). No entanto, em um trabalho recente, foi demonstrado que a administração de estradiol não foi capaz de suprimir o aumento transitório de FSH em vacas cujos folículos ovarianos foram aspirados 24 horas antes do tratamento, sugerindo que a inibina deva possuir papel importante no controle das concentrações dessa gonadotrofina (Ferreira et al., 2008). Complementarmente, foi mostrado que, em vacas, o estradiol circulante começa a aumentar no início da divergência (Bergfelt et al., 2000), enquanto as concentrações circulantes de inibina total aumentam com a emergência da onda (Ginther et al., 2003). Desse modo, parece que a inibina sozinha é responsável pela supressão do FSH antes da divergência e, após esta, age juntamente com o estradiol (Ginther et al., 2001a).

Em uma série de trabalhos em bovinos, características entre folículos recrutados (Dias zero a dois da onda) e selecionados (Dias quatro a 10) foram comparadas em uma mesma onda de crescimento folicular (revisado por Bao e Garverick, 1998), todavia não foram feitas comparações entre folículos dominantes e subordinados. Em um desses trabalhos, folículos foram obtidos a cada dois dias durante os 10 primeiros dias do ciclo estral, e a presença de RNAm para enzimas esteroidogênicas foi avaliada por análises de hibridização *in situ*. Como esperado pelos pesquisadores, os folículos selecionados tinham concentrações significativamente maiores de estradiol no fluido folicular do que os folículos recrutados ou em regressão. Os níveis de RNAm para P450arom nas células da granulosa, enzima que converte andrógenos em estradiol, aumentaram entre zero e dois dias após o início da onda, enquanto nas células da teca, os níveis de RNAm para P450 Δ 7-hidroxiase (17 α -OH), que converte progesterona em andrógenos, aumentaram entre os dias dois e quatro, fatos que coincidem com as elevadas concentrações de estradiol nos folículos selecionados no dia quatro em relação aos recrutados nos dias zero a dois (Xu et al., 1995b). Mudanças também foram observadas com relação ao RNAm para enzimas envolvidas na biossíntese de progestinas. Assim, os níveis da enzima P450scc eram maiores nas células da granulosa de folículos selecionados (dominante) obtidos no dia quatro da onda quando comparados aos folículos recrutados obtidos antes da seleção (Xu et al., 1995b).

Em outros experimentos, folículos foram isolados a cada 12 horas durante os quatro primeiros dias da primeira onda de crescimento folicular. Em um deles, a expressão de RNAm para 3 β -HSD nas células da teca de folículos recrutados avaliados no dia um aumentou em relação aos folículos analisados no dia 0,5 da onda e também do dia 1,5 ao dia dois nas células da granulosa de folículos selecionados *versus* recrutados (Bao et al., 1997b). Já o RNAm para a proteína de regulação aguda da esteroidogênese (StAR) não foi detectado nas células da granulosa, mas estava elevado nas células de teca de folículos recrutados no dia dois da onda (Bao et al., 1998).

Finalmente, em um estudo comparando características do folículo dominante *versus* subordinados ao



redor do momento da divergência morfológica, a única diferença encontrada no dia dois da onda folicular foi que o folículo dominante apresentava concentrações muito superiores de estradiol no fluido folicular, e suas células da granulosa secretavam quantidade consideravelmente maior de estradiol em cultivo (Evans e Fortune, 1997). Além disso, no dia três da onda, os folículos subordinados apresentaram menores níveis de RNAm para LHr e 17 α -OH nas células da teca e para FSHr e aromatase nas células da granulosa com relação aos dominantes (Evans e Fortune, 1997).

Portanto, com relação à produção de estradiol, esses estudos mostraram que, no início de uma onda de crescimento folicular, ocorre aumento de RNAm para aromatase nos folículos recrutados e, após a seleção, os folículos dominantes possuem maiores níveis de enzimas envolvidas na síntese de andrógenos e progestinas (17 α -OH, P450scc, 3 β -HSD e StAR) do que os recrutados.

Resposta ao FSH

Foi sugerido que o decréscimo da secreção de FSH após a emergência de uma onda de crescimento folicular deve ser um mecanismo-chave na seleção folicular. Assim, todos os folículos recrutados parecem contribuir para o declínio inicial do FSH periférico (Gibbons et al., 1997), sendo que o maior folículo tem papel principal na redução da concentração de FSH a níveis inferiores aos requeridos para dar continuidade ao crescimento da população dos menores folículos da onda (Campbell et al., 1995; Webb et al., 1999a; Ginther et al., 2001a). Em novilhas *Bos taurus*, este decréscimo na secreção de FSH já ocorre quando o maior folículo possui 4-5 mm de diâmetro (Ginther, 2000) e o intervalo entre o início do declínio do FSH e o início da divergência é de aproximadamente três dias (revisado por Ginther et al., 2001a). Paradoxalmente, embora o declínio do FSH seja imposto pelos folículos, esses continuam dependentes do FSH. Tal dependência foi demonstrada experimentalmente quando houve redução do diâmetro dos três maiores folículos após redução pela metade das concentrações de FSH plasmático (Ginther et al., 2000).

Os principais fatores produzidos pelos folículos em crescimento e selecionados que atuam suprimindo a secreção de FSH são o estradiol e a inibina (Webb et al., 1999a, b; Bleach et al., 2001). As relações de retroalimentação entre esses hormônios já foram bastante discutidas no tópico anterior. Resumidamente, o estradiol e a inibina secretados pelo folículo dominante são considerados os responsáveis pela manutenção do FSH a níveis basais durante o período de dominância. Assim, a ablação do folículo dominante causa uma rápida redução no estradiol sistêmico e na inibina-A em conjunto com a elevação rápida de FSH (dados não publicados citados por Ginther et al., 2001a).

Adicionalmente, foi demonstrado que a infusão de FSH pode dirigir o processo de seleção folicular (Mihm et al., 1997) e que a divergência de diâmetro entre os dois maiores folículos da onda está também associada a um aumento transitório da concentração periférica de LH (Kulick et al., 1999). A infusão de FSH em concentrações fisiológicas, sozinho ou em combinação com o LH, estimulou o desenvolvimento de folículos <4 mm de diâmetro até o estágio pré-ovulatório, e esses folículos pré-ovulatórios foram capazes de ovular em resposta ao hCG (Webb et al., 2003). No entanto, o suporte pulsátil adequado de LH parece ser requerido para manter a competência ovulatória de folículos grandes (>9 mm de diâmetro) quando as concentrações de FSH estão reduzidas, o que acontece fisiologicamente.

Inegavelmente, o tempo de exposição ao FSH é crítico para a seleção e dominância folicular normal, uma vez que, quando os folículos recrutados alcançaram o diâmetro de 6 a 7 mm, a infusão de FSH por mais de 48 horas sempre induziu resposta superovulatória, enquanto a exposição ao FSH por aproximadamente 48 horas resultou na seleção de um ou dois folículos dominantes (Webb et al., 2003). Esses dados são comparáveis aos dados gerados utilizando um modelo similar em ovinos e corroboram o presente entendimento do papel do declínio do FSH e subsequente suporte de LH na seleção do folículo dominante (Campbell et al., 2003).

Com relação aos receptores dessa gonadotrofina, um estudo mostrou que a expressão de RNAm para FSHr nas células da granulosa foi superior no folículo dominante quando comparado aos recrutados obtidos no dia dois da onda (Bao et al., 1997a). Assim, pode-se especular que essa superioridade em termos de FSHr pode ser importante na divergência, uma vez que possibilitaria que esses folículos selecionados continuassem respondendo ao FSH mesmo quando este está em baixas concentrações, mantendo a alta produção de estradiol por esses folículos dominantes.

Resposta ao LH

Existem ainda grandes controvérsias a respeito do momento da aquisição de LHr pelas células da granulosa e sua importância na divergência folicular. Em um trabalho mais recente, algumas evidências apontaram para um notável papel do LH no mecanismo da divergência, dentre elas estão (1) a aquisição de receptores de LH antes do início da divergência pelas células da granulosa do futuro folículo dominante; (2) a dependência de LH para o crescimento além de 7-9 mm (novilhas *Bos taurus*) e dominância do maior folículo; e (3) a ocorrência de uma elevação temporária nas concentrações de LH no período de divergência em bovinos (Ginther et al., 2003).



Alguns estudos defendem que, próximo ao momento da seleção do folículo dominante, a expressão de RNAm para LHR e β -HSD pode ser detectada nas células da granulosa (Bao e Garverick, 1998; Webb et al., 1999a), reforçando o conceito de que o folículo dominante pode utilizar LH para manter seu crescimento continuado mesmo com o declínio das concentrações de FSH. Sabe-se também que o tempo de vida do folículo dominante pode ser prolongado quando há suporte pulsátil ótimo de LH (Fortune, 1994). A comparação de folículos recrutados (Dias zero a dois da onda) e selecionados (Dias quatro a 10) em uma mesma onda de crescimento folicular por análises de hibridização *in situ* também detectou maior expressão de RNAm para LHR nas células de teca e granulosa de folículos selecionados (Dia quatro da onda) em relação aos recrutados (Dias zero a dois; Xu et al., 1995a).

Na tentativa de adquirir mais informações sobre as mudanças especificamente associadas com a seleção de um folículo dominante, folículos foram isolados a cada 12 horas durante os quatro primeiros dias da primeira onda de crescimento folicular. A expressão de RNAm para FSHr nas células da granulosa e para LHR nas células da teca foi superior no folículo dominante quando comparado aos recrutados obtidos no dia dois da onda (Bao et al., 1997a). No entanto, RNAm para LHR não foi detectado nas células da granulosa durante as primeiras 24 horas da onda, mas sua expressão foi detectada em um folículo por novilha ao redor do momento da seleção, com variação de 36 a 60 horas do início da onda (Bao et al., 1997a). Assim, segundo esses trabalhos, há evidências de que, após a seleção, os folículos dominantes possuem maiores níveis de RNAm para receptores de gonadotrofinas. Esses achados corroboram a ideia de que a aquisição de LHR nas células da granulosa é um fator crítico na seleção para a dominância.

Com o intuito de testar a hipótese de que a aquisição de LHR pelas células da granulosa estaria associada com a seleção do folículo dominante, foi realizado um estudo comparativo entre as características dos folículos dominantes e subordinados no momento da divergência morfológica. Para tal, o folículo dominante e os dois maiores subordinados foram obtidos nos dias dois e três da primeira onda folicular de um ciclo, e os níveis de RNAm para receptores de gonadotrofinas e enzimas esteroidogênicas foram examinados por hibridização *in situ*. Contrariamente à hipótese formulada pelos autores, não foi detectado RNAm para LHR nas células da granulosa de folículos dominantes ou subordinados, apesar de ser detectado nas células da teca dos mesmos folículos (Evans e Fortune, 1997). Ainda, a única diferença observada além da pequena diferença no diâmetro folicular foi a capacidade de produção de estradiol pelos folículos dominantes ou subordinados. Esses dados sugerem que a aquisição de LHR pelas células da granulosa não seja um componente-chave na seleção folicular, uma vez que parece ocorrer apenas após e não antes do momento da seleção (Evans e Fortune, 1997; Fortune et al., 2001). De forma semelhante, outros pesquisadores reportaram que o aumento de estradiol no fluido folicular precede o aumento de receptores de gonadotrofinas detectados por ensaios de radioreceptor (Bodensteiner et al., 1996).

Em um estudo com RT-PCR foi indicada a presença de RNAm para LHR nas células da granulosa de folículos pequenos (menores que 4 mm de diâmetro; Robert et al., 2003), todavia parece não haver expressão funcional de LHR na superfície das células. Mais recentemente, variações pós-transcricionais (*splicing*) do RNAm de LHR foram detectadas em folículos pré-ovulatórios menores (Nogueira et al., 2007). No entanto, os autores sugeriram que as células da granulosa não adquirem LHR funcionais até que a dominância folicular ocorra.

Na verdade, ainda não está claro por que as células da granulosa adquirem LHR. Uma hipótese seria que a aquisição desses receptores permitiria que as células da granulosa aumentassem a aromatase em resposta ao FSH e LH, ou, ainda, permitiria que houvesse uma troca de dependência de FSH por LH e isso aumentasse, ou ao menos mantivesse, sua capacidade de produzir mais estradiol que os folículos subordinados (Fortune et al., 2001). Entretanto, não há relatos que demonstrem ação estimulatória do LH sobre a produção de estradiol pelas células da granulosa. Além disso, quando células da granulosa bovinas obtidas de folículos pré-ovulatórios antes do pico de LH foram cultivadas em meio com ampla faixa de concentrações de LH (0,008 a 256 ng/mL), nenhum efeito estimulatório foi observado na aromatização de andrógenos a estradiol, embora altas doses de LH que simulem o pico desse hormônio tenham inibido a produção de estradiol (Berndtson et al., 1995; dados não publicados citados por Fortune et al., 2001).

Por outro lado, há relatos de que o LH estimula a aromatização pelas células da granulosa de folículos pré-ovulatórios de humanos e ratos (Fortune e Hilbert, 1986; Willis et al., 1998). Porém, nessas espécies o corpo lúteo produz também estradiol, o que torna difícil determinar se a produção de estradiol é simplesmente devido à luteinização das células da granulosa *in vitro* em resposta a altas doses de LH. Outra possibilidade é que os LHR se desenvolvem nas células da granulosa de folículos dominantes para prepará-los para a futura diferenciação em resposta ao pico de LH, ao invés de aumentar ou manter sua capacidade de secreção de estradiol (Fortune et al., 2001).

Algumas evidências experimentais derivadas de estudos com primatas (Zeleznik, 2001) e ovelhas (Campbell et al., 1999) suportam a hipótese de que o LH é crítico para a sobrevivência do folículo dominante após o declínio do FSH circulante. Ainda não está claro como o LH mantém a viabilidade folicular e a capacidade de secreção de estradiol, no entanto há pelo menos dois mecanismos potenciais e não excludentes: (1) as células da teca devem ser o alvo primário do LH durante esse período de desenvolvimento folicular; (2) a manutenção da secreção de andrógenos pela teca deve ser um fator limitante para produção de estradiol, uma vez



que a dominância é estabelecida. Há evidências de que a produção de progesterona pelas células da granulosa aumenta a produção de andrógenos pelas células da teca por aumentar a quantidade de precursor disponível (Fortune, 1986). Assim, o LH poderia aumentar a produção de progestinas pelas células da granulosa do folículo dominante e indiretamente aumentar a produção de estradiol.

Fatores de crescimento locais e provável papel do sistema IGF na seleção folicular

Acredita-se que os efeitos das gonadotrofinas sobre o crescimento e desenvolvimento dos folículos ovarianos sejam mediados em conjunção com fatores de crescimento produzidos localmente. Por exemplo, foi previamente demonstrado que o IGF-I, assim como a insulina, interage com o FSH para estimular a produção de estradiol pelas células da granulosa (Gutierrez et al., 1997; Spicer et al., 2002). Estudos *in vitro* demonstraram que um grande número de fatores locais, incluindo membros da superfamília TGF- β , FGF, EGF/TGF α e citocinas, está envolvido na regulação do crescimento folicular (Armstrong e Webb, 1997; Webb et al., 1999a, b). Além disso, foi relatado que a ativina e o TGF- β afetam a esteroidogênese e a proliferação das células da granulosa (Knight e Glister, 2001). As BMP certamente também estão envolvidas na maturação folicular, como indicado pelo marcante crescimento na taxa de ovulação de ovelhas com mutação do receptor BMP (Montgomery et al., 2001; Monget et al., 2002). Em bovinos, as BMP foram localizadas em folículos antrais (4 – 6 mm) e no oócito (Glister et al., 2004). Em células da granulosa, as BMP-4, -6 e -7 aumentaram a produção de estradiol, inibina-A, ativina-A e folistatina (Glister et al., 2004). Esses resultados evidenciam um papel da BMP na maturação folicular, que atua em conjunto com outros fatores de crescimento locais. No entanto, o exato mecanismo pelo qual esses fatores operam ainda precisa ser elucidado.

Com base nos achados discutidos acima, pode-se sugerir que o folículo dominante passa por algumas mudanças, além da aquisição de LHR pelas células da granulosa, as quais direcionam sua maior capacidade de secretar estradiol e permitem que ele se coloque à frente dos folículos subordinados. Uma vez que isso acontece, o folículo dominante seria capaz de exercer sua dominância via retroalimentação negativa dos níveis circulantes de FSH, mas também precisaria desenvolver mecanismos que permitiriam sua sobrevivência em ambiente de baixas concentrações de FSH (revisado por Fortune et al., 2001). Assim, há grandes evidências de que outros fatores, como o sistema IGF, devam ter papel crítico na seleção do folículo dominante.

O sistema IGF possui diversos componentes, incluindo dois ligantes (IGF-I e IGF-II), dois receptores (tipo 1 e tipo 2) e seis diferentes proteínas ligantes de IGF (IGFBP-1, -2, -3, -4, -5 e -6; revisado por Jones e Clemmons, 1995; Spicer et al., 1995; Monget et al., 1996; Poretsky et al., 1999). As ações dos IGF são exercidas principalmente por meio dos receptores do tipo 1, sendo que a ligação aos receptores pode ser modulada pelas IGFBP. Embora tenham sido descritos tanto efeitos estimulatórios quanto inibitórios das IGFBP sobre a ação dos IGF em diferentes tecidos-alvo (Jones e Clemmons, 1995; Kelley et al., 1996), parece haver um consenso de que as IGFBP são inibitórias para o crescimento folicular induzido por gonadotrofinas e para a diferenciação celular (Spicer et al., 1995; Monget et al., 1996; Poretsky et al., 1999). Dessa maneira, alterações intrafoliculares dos níveis de IGFBP podem provocar mudanças na biodisponibilidade de IGF e, assim, regular a ação das gonadotrofinas nas células foliculares (Fortune et al., 2001).

A maioria dos componentes do sistema IGF já foi identificada em ovários de bovinos. Nesses animais, RNAm para IGF-I e -II foi encontrado nas células da granulosa e da teca, respectivamente, de folículos antrais pequenos, subordinados e dominantes (Yuan et al., 1998). No entanto, em outro estudo, não foi encontrado RNAm para IGF-I em nenhuma dessas células (Armstrong et al., 2000). Além disso, a expressão gênica de IGF-II parece ser restrita às células da teca de folículos antrais (Armstrong et al., 2000), indicando que o IGF-II seja o principal IGF intraovariano.

Embora a expressão de RNAm para IGF aumente nos folículos dominantes, as concentrações intrafoliculares de IGF não estão correlacionadas às concentrações de estradiol no fluido folicular (Echternkamp et al., 1994; Stanko et al., 1994; de La Sota et al., 1996; Funston et al., 1996; Stewart et al., 1996), sugerindo que a biodisponibilidade folicular de IGF deve ser determinada pelas IGFBP e não pela expressão gênica de IGF nos tecidos ovarianos (revisado por Fortune et al., 2001).

As IGFBP exercem, de fato, papel regulatório no desenvolvimento folicular e já foi determinado que o fluido folicular bovino contém IGFBP-2, -3, -4 e -5 (de La Sota et al., 1996; Stewart et al., 1996). Além disso, RNAm para IGFBP-2 e -4 foi localizado nas células da granulosa e da teca, respectivamente (Armstrong et al., 1998; Yuan et al., 1998). Embora a IGFBP-3 seja a proteína ligante predominante no sangue e no fluido folicular (Rechler, 1993), na maioria das espécies estudadas ela é raramente ou não expressada nos tecidos ovarianos. Assim, as flutuações intrafoliculares nos níveis de IGFBP-3 são provavelmente um reflexo de alterações da permeabilidade vascular que acompanha o desenvolvimento folicular. Os níveis intrafoliculares das IGFBP de baixo peso molecular (PM < 40 KDa; IGFBP-2, -4 e -5) são de maior interesse, e suas concentrações no fluido folicular são maiores nos folículos subordinados e atresicos em relação aos folículos dominantes com atividade estrogênica (Echternkamp et al., 1994; de La Sota et al., 1996; Stewart et al., 1996; Mihm et al., 1997).

Sabe-se que a conversão de um folículo subordinado a futuro folículo dominante está associada com um aumento transitório do estradiol e da ativina A no fluido folicular, além da redução de IGFBP-2 (Ginther et al.,



2002a; Kojima et al., 2003). Esses dados corroboram os descritos por Echterkamp et al. (1994) e Austin et al. (2001), os quais observaram que as concentrações de IGFBP-2, e possivelmente de IGFBP-4 e -5, são maiores no fluido folicular de folículos pequenos e médios e no fluido folicular de folículos grandes em atresia. Além disso, são significativamente reduzidas ou até mesmo indetectáveis no fluido folicular de folículos grandes e/ou dominantes (Mihm et al., 2000; Austin et al., 2001; Ginther et al., 2002a; Nicholas et al., 2002). Assim, as baixas concentrações de IGFBP-2 no fluido folicular parecem estar associadas ao estabelecimento da dominância folicular.

A concentração das IGFBP de baixo PM nos folículos de bovinos deve ser controlada pelo nível de expressão gênica nos tecidos ovarianos, pela taxa de degradação local por enzimas proteolíticas ou pela combinação de ambos os fatores (revisado por Fortune et al., 2001). Com relação à expressão gênica, há evidências de que ocorra uma regulação hormonal de IGFBP-2 em nível de expressão de RNAm e que esta seja feita pelo FSH. Essa gonadotrofina inibiu a expressão de RNAm em cultura de células da granulosa obtidas de folículos de diâmetro médio de bovinos (Armstrong et al., 1998). Nesse mesmo estudo, RNAm para IGFBP-4 foi encontrado nas células da teca de folículos antrais saudáveis e foi estimulado pelo LH em culturas de células tecais provenientes de folículos médios, sugerindo que as concentrações de IGFBP-4 devam ser reguladas por degradação proteolítica (revisado por Fortune et al., 2001), a qual é evidentemente elevada nos folículos dominantes (Rivera et al., 2001).

Uma interessante possibilidade é a alternância de susceptibilidade de quebra das IGFBP por proteases específicas. Assim, a regulação de IGF no fluido folicular de bovinos depende da degradação proteolítica de IGFBP-4 (Mazerbourg et al., 2000) que, junto à atividade das proteases de IGFBP-5, parece estar elevada nos folículos dominantes (Rivera et al., 2001; Rivera e Fortune, 2003b). Foi evidenciado também que a protease que degrada as IGFBP-4 e -5 é a proteína plasmática associada à prenhez-A (PAPP-A; Monget et al., 2002; Rivera e Fortune, 2003a). Além disso, foi mostrado que a PAPP-A é responsável pela degradação de IGFBP-2, levando ao aumento da biodisponibilidade de IGF (Monget et al., 2003). A expressão do RNAm para PAPP-A nas células da granulosa de bovinos e ovinos foi máxima em folículos pré-ovulatórios e está possivelmente correlacionada com a expressão de aromatase e receptores de LH. Modificações pós-translacionais das IGFBP também ocorrem, e já foram demonstradas ao menos 51 isoformas de IGFBP no fluido folicular bovino (Nicholas et al., 2002). No entanto, ainda não se sabe se elas possuem um papel fisiológico ou se têm a sensibilidade aumentada à ação das enzimas proteolíticas.

Para determinar se as diferenças observadas são importantes componentes na aquisição de dominância, foram realizados estudos sobre o papel do sistema IGF em momentos críticos da seleção folicular. Nesse contexto, Mihm et al. (2000) coletaram amostras de fluido folicular *in vivo* no dia 1,5 da primeira onda folicular (terceiro dia do ciclo) e demonstraram que o folículo que apresentava menor concentração de IGFBP-4 sempre se tornava o folículo dominante. Em contrapartida, as concentrações das demais IGFBP de baixo PM (IGFBP-2 e -5) não foram preditoras de dominância, enquanto a concentração de IGFBP-4 foi melhor preditora de dominância nesse estágio inicial da onda folicular do que a concentração de estradiol no fluido folicular ou o diâmetro folicular. Assim, é possível especular que a baixa concentração de IGFBP-4 observada no folículo dominante antes da seleção morfológica é resultante do elevado nível de proteólise dessas proteínas ligantes no futuro folículo dominante, aumentando a biodisponibilidade de IGF que, por sua vez, vai mediar o aumento da capacidade do folículo dominante para produzir estradiol (Fortune et al., 2001). Todavia, mais estudos são necessários para comprovar essa hipótese e avaliar o envolvimento de outros fatores locais de crescimento na aquisição de dominância.

Por fim, é importante ressaltar que o desenvolvimento das técnicas de ultrassonografia e de metodologias laboratoriais que possibilitam análises cada vez mais detalhadas, combinado ao aparecimento de novos métodos de amostragem do fluido folicular que não alteram o padrão normal de crescimento folicular, tem possibilitado grandes avanços científicos na compreensão dos fatores envolvidos no crescimento e na seleção folicular. Ainda não se sabe completamente por que apenas um folículo adquire capacidade de se tornar dominante. Entretanto, acredita-se que o sistema IGF, além de ter importante papel no crescimento folicular por meio da estimulação da proliferação das células da granulosa e do sinergismo com as gonadotrofinas para promover a diferenciação das células foliculares, possui também papel crucial na seleção folicular. Alterações de componentes intrafoliculares do sistema IGF, particularmente nas IGFBP de baixo PM, têm se mostrado cruciais no mecanismo que permite ao futuro folículo dominante secretar mais estradiol e desenvolver-se até estágios mais avançados do que os folículos subordinados.

Referências bibliográficas

- Adams GP, Kot K, Smith CA, Ginther OJ. Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. *Anim Reprod Sci*, v.30, p.259-271, 1993.
- Adams GP. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J Reprod Fertil Suppl*, n.54, p.17-32, 1999.
- Adashi EY, Resnick CE, Rosenfeld RG. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-II hormonal action in



- cultured granulosa cells: mediation via I but not II IGF receptors. *Endocrinology*, v.126, p.754-760, 1990.
- Armstrong DG, Baxter G, Gutierrez CG, Hogg CO, Glazyrin AL, Campbell BK, Bramley TA, Webb R.** Insulin-like growth factor binding protein-2 and -4 mRNA expression in bovine ovarian follicles: Effect of gonadotropins and developmental status. *Endocrinology*, v.139, p.2146-2154, 1998.
- Armstrong DG, Baxter G, Hogg CO, Woad KJ.** Insulin-like growth factor (IGF) system in the oocyte and somatic cells of bovine preantral follicles. *Reproduction*, v.123, p.789-797, 2002.
- 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 I IGF receptor in bovine ovarian follicles. *J Endocrinol*, v.165, p.101-113, 2000.
- Armstrong DG, Webb R.** Ovarian follicular dominance: The role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Rev Reprod*, v.2, p.139-146, 1997.
- Austin EJ, Mihm M, Evans ACO, Knight PG, Ireland JLH, Ireland JJ, Roche JF.** Alterations in intrafollicular regulatory factors and apoptosis during selection of follicles in the first follicular wave of the bovine estrous cycle. *Biol Reprod*, v.64, p.839-848, 2001.
- Badinga L, Driancourt MA, Savio JD, Wolfenson D, Drost M, de la Sota RL, Thatcher WW.** Endocrine and ovarian responses associated with the first-wave dominant follicle in cattle. *Biol Reprod*, v.47, p.871-883, 1992.
- Bao B, Calder MD, Xie S, Smith MF, Salfen BE, Youngquist RS, Garverick HA.** Expression of steroidogenic acute regulatory protein messenger ribonucleic acid is limited to theca of healthy bovine follicles collected during recruitment, selection, and dominance of follicles of the first follicular wave. *Biol Reprod*, v.59, p.953-959, 1998.
- Bao B, Garverick HA.** Expression of steroidogenic enzymes and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *J Anim Sci*, v.76, p.1903-1921, 1998.
- Bao B, Garverick HA, Smith GW, Smith MF, Salfen BE, Youngquist RS.** Changes in messenger ribonucleic acid encoding luteinizing hormone receptor, cytochrome P450-side chain cleavage, and aromatase are associated with recruitment and selection of bovine ovarian follicles. *Biol Reprod*, v.56, p.1158-1168, 1997a.
- Bao B, Garverick HA, Smith GW, Smith MF, Salfen BE, Youngquist RS.** Expression of messenger ribonucleic acid (mRNA) encoding 3 β hydroxysteroid dehydrogenase D4,D5 isomerase (3 β -HSD) during recruitment and selection of bovine ovarian follicles: identification of dominant follicles by expression of 3 β -HSD mRNA within the granulosa cell layer. *Biol Reprod*, v.56, p.1466-1473, 1997b.
- Bergfelt DR, Kulick LJ, Kot K, Ginther OJ.** Follicular and hormonal responses to experimental suppression of FSH during follicular deviation in cattle. *Theriogenology*, v.54, p.1191-1206, 2000.
- Berndtson AK, Vincent SE, Fortune JE.** Low and high concentrations of gonadotropins differentially regulate hormone production by theca interna and granulosa cells from bovine preovulatory follicles. *Biol Reprod*, v.52, p.1334-1342, 1995.
- Bleach ECL, Glencross RG, Feist SA, Groome NP, Knight PG.** Plasma inhibin A in heifers: Relationship with follicle dynamics, gonadotropins and steroids during the estrous cycle and after treatment with bovine follicular fluid. *Biol Reprod*, v.64, p.743-752, 2001.
- Bodensteiner KJ, Wiltbank MC, Bergfelt DR, Ginther OJ.** Alterations in follicular estradiol and gonadotropin receptors during development of bovine antral follicles. *Theriogenology*, v.45, p.499-512, 1996.
- Campbell BK, Baird DT.** Inhibin A is a follicle stimulating hormone-responsive marker of granulosa cell differentiation, which has both autocrine and paracrine actions in sheep. *J Endocrinol*, v.169, p.333-345, 2001.
- Campbell BK, Dobson H, Baird DT, Scaramuzzi RJ.** Examination of the relative role of FSH and LH in the mechanism of ovulatory follicle selection in sheep. *J Reprod Fertil*, v.117, p.355-367, 1999.
- Campbell BK, Scaramuzzi RJ, Webb R.** Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. Reproduction in Domestic Ruminants III. *J Reprod Fertil Suppl*, n.49, p.335-350, 1995.
- Campbell BK, Souza C, Gong JG, Webb R, Kendall N, Marsters P, Robinson G, Mitchell A, Telfer EE, Baird DT.** Domestic ruminants as models for the elucidation of the mechanisms controlling ovarian follicle development in humans. *Reproduction Suppl*, n.61, p.429-443, 2003.
- Campbell BK, Telfer EE, Webb R, Baird DT.** Ovarian autografts in sheep as a model for studying folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol*, v.163, p.137-139, 2000.
- Crowe MA, Kelly P, Draincourt MA, Boland MP, Roche JF.** Effects of follicle-stimulating hormone with and without luteinizing hormone on serum hormone concentrations, follicle growth, and intrafollicular estradiol and aromatase activity in gonadotropin-releasing hormone-immunised heifers. *Biol Reprod*, v.64, p.368-374, 2001.
- 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.
- Echternkamp SE, Howard RJ, Roberts AJ, Grizzle J, Wise T.** Relationships among concentrations of steroids, insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding proteins in ovarian follicular fluid of beef cattle. *Biol Reprod*, v.51, p.971-981, 1994.
- 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.2963-2971, 1997.



- Evans ACO, Komar CM, Wandji S-A, Fortune JE.** Changes in androgen secretion and luteinizing hormone pulse amplitude are associated with the recruitment and growth of ovarian follicles during the luteal phase of the bovine estrous cycle. *Biol Reprod*, v.57, p.394-401, 1997.
- Ferreira RM, Ayres H, Araújo RR, Hackbart KS, Wiltbank MC.** Effect of estradiol benzoate one day after follicular aspiration on follicular dynamics in high producing dairy cows. *Reprod Domest Anim*, v.43, suppl.3, p.40-40, 2008. Abstract.
- Fortune JE.** Bovine theca and granulosa cells interact to promote androgen production. *Biol Reprod*, v.35, p.292-299, 1986.
- Fortune JE.** Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol Reprod*, v.50, p.225-232, 1994.
- Fortune JE, Cushman RA, Wahl CM, Kito WS.** The primordial to primary follicle transition. *Mol Cell Endocrinol*, v.163, p.53-60, 2000.
- Fortune JE, Hilbert JL.** Estradiol secretion by granulosa cells from rats with four- or five-day estrous cycles: the development of responses to follicle-stimulating hormone versus luteinizing hormone. *Endocrinology*, v.118, p.2395-2401, 1986.
- Fortune JE, Rivera GM, Evans ACO, Turzillo AM.** Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biol Reprod*, v.65, p.648-654, 2001.
- Funston RN, Seidel GE Jr, Klindt J, Roberts AJ.** Insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor-binding proteins in bovine serum and follicular fluid before and after the preovulatory surge of luteinizing hormone. *Biol Reprod*, v.55, p.1390-1396, 1996.
- Galloway SM., McNatty KP, Cambridge LM, Laitinen MPE, Juengel JL, Jokiranta TS, McLaren RS, Luuro K, Dodds KG, Montgomery GW, Beattie AE, Davis GH, Rivito O.** Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP 15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage sensitive manner. *Nat Genet*, v.25, p.279-283, 2000.
- Garnsworthy PC, Webb R.** The influence of nutrition on fertility in dairy cows. In: Garnsworthy PC, J. Wiseman J (Ed.). *Recent advances in animal nutrition*. Nottingham, UK: Nottingham University Press, 1999. p.39-58.
- Garverick HA, Baxter G, Gong J, Armstrong DG, Campbell BK, Gutierrez CG, Webb R.** Regulation of expression of ovarian mRNA encoding hypogonadotrophic cattle. *Reproduction*, v.123, p.651-661, 2002.
- Gastal EL, Gastal MO, Bergfelt DR, Ginther OJ.** Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. *Biol Reprod*, v.57, p.1320-1327, 1997.
- Gibbons JR, Wiltbank MC, Ginther OJ.** Functional interrelationships between follicles greater than 4 mm and follicle-stimulating hormone surge in heifers. *Biol Reprod*, v.57, p.1066-1073, 1997.
- Gimenes LU, Sá Filho MF, Carvalho NA, Torres-Júnior JR, Souza AH, Madureira EH, Trinca LA, Sartorelli ES, Barros CM, Carvalho JB, Mapletoft RJ, Baruselli PS.** Follicle deviation and ovulatory capacity in Bos indicus heifers. *Theriogenology*, v.69, p.852-858, 2008.
- Ginther OJ.** Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Anim Reprod Sci*, v.60/61, p.61-79, 2000.
- Ginther OJ, Beg MA, Bergfelt DR, Donadeu FX, Kot K.** Follicle selection in monovular species. *Biol Reprod*, v.65, p.638-647, 2001a.
- Ginther OJ, Beg MA, Bergfelt DR, Kot K.** Activin A, estradiol and free insulin-like growth factor I in follicular fluid preceding the experimental assumption of follicle dominance in cattle. *Biol Reprod*, v.67, p.14-19, 2002a.
- Ginther OJ, Beg MA, Bergfelt DR, Kot K.** Role of low circulating FSH concentrations in controlling the interval to emergence of the subsequent follicular wave in cattle. *Reproduction*, v.124, p.475-482, 2002b.
- Ginther OJ, Beg MA, Donadeu FX, Bergfelt DR.** Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Anim Reprod Sci*, v.78, p.239-257, 2003.
- Ginther OJ, Bergfelt DR, Beg MA, Kot K.** Follicle selection in cattle: relationship among growth rate, diameter ranking, and capacity for dominance. *Biol Reprod*, v.65, p.345-350, 2001b.
- Ginther OJ, Bergfelt DR, Kulick LJ, Kot K.** Selection of the dominant follicle in cattle: role of two-way functional coupling between follicle stimulating hormone and the follicles. *Biol Reprod*, v.62, p.920-927, 2000.
- Ginther OJ, Kot K, Kulick LJ, Wiltbank MC.** Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. *Theriogenology*, v.48, p.75-87, 1997.
- Ginther OJ, Kot K, Kulick LJ, Wiltbank MC.** Sampling follicular fluid without altering follicular status in cattle: oestradiol concentrations early in a follicular wave. *J Reprod Fertil*, v.109, p.181-186, 1997.
- Glister C, Kemp CF, Knight PG.** Bone morphogenetic protein (BMP) ligands and receptors in bovine ovarian follicle cells: Actions of BMP-4, -6, and -7 on granulosa cells and differential modulation of Smad-1 phosphorylation by follistatin. *Reproduction*, v.127, p.239-254, 2004.
- Gutierrez CG, Campbell BK, Webb R.** Development of a long-term bovine granulosa cell culture system: induction and maintenance of estradiol production, response to follicle stimulating hormone and morphological characteristics. *Biol Reprod*, v.56, p.608-616, 1997.
- Gutierrez CG, Ralph JH, Telfer EE, Wilmut I, Webb R.** Growth and antrum formation of bovine antral follicles in long-term culture in vitro. *Biol Reprod*, v.62, p.1322-1328, 2000.



- Hulshof SCJ, Figueiredo JR, Becker JF, Severs MM, van der Donk JA, van den Hurk R.** Effects of fetal bovine serum, FSH and 17 β -estradiol on the culture of bovine pré-antral follicles. *Theriogenology*, v.44, p.217-226, 1995.
- Ireland JJ, Mihm M, Austin E, Diskin MG, Roche JF.** Historical perspective of turnover of dominant follicles during the bovine estrous cycle: Key concepts, studies, advancements, and terms. *J Dairy Sci*, v.83, p.1648-1658, 2000.
- Jones JI, Clemmons DR.** Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev*, v.16, p.3-34, 1995.
- Juengel JL, Hudson NL, Heath DA, Smith P, Reader KL, Lawrence SB, O'Connell AR, Laitinen MPE, Cranfield M, Groome NP, Ritvos O, McNatty KP.** Growth differential factor 9 and bone morphogenetic protein 15 are essential for ovarian follicular development in sheep. *Biol Reprod*, v.67, p.1777-1789, 2002.
- Kelley KM, Oh Y, Gargosky SE, Gucev Z, Matsumoto T, Hwa V, Ng L, Simpson DM, Rosenfeld RG.** Insulin-like growth factor-binding proteins (IGFBPs) and their regulatory dynamics. *Int J Biochem Cell Biol*, v.28, p.619-637, 1996.
- Knight PG, Glistler C.** Potential local regulatory functions of inhibins, activins and follistatins in the ovary. *Reproduction*, v.121, p.503-512, 2001.
- Kojima FN, Bergfeld EGM, Wehrman ME, Cupp AS, Fike KE, Mariscal-Aguayo DV, Sanchez-Torres T, Garcia-Winder M, Clopton DT, Roberts AJ, Kinder JE.** Frequency of hormone pulses in cattle influences duration of persistence of dominant ovarian follicles, follicular fluid concentration of steroids, and activity of insulin-like growth factor binding proteins. *Anim Reprod Sci*, v.77, p.187-211, 2003.
- Kulick LJ, Kot K, Wiltbank MC, Ginther OJ.** Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. *Theriogenology*, v.52, p.913-921, 1999.
- Leeuwenberg BR, Hurst PR, McNatty KP.** Expression of IGF-I mRNA in the ovine ovary. *J Mol Endocrinol*, v.15, p.251-258, 1995.
- Lucy MC.** Regulation of ovarian follicular growth by somatotropins and insulin-like growth factors in cattle. *J Dairy Sci*, v.83, p.1635-1647, 2000.
- Lussier JG, Matton P, Dufour JJ.** Growth rates of follicles in the ovary of the cow. *J Reprod Fertil*, v.81, p.301-307, 1987.
- Mazerbourg S, Zapf J, Bar RS, Brigstock DR, Monget P.** Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-4 proteolytic degradation in bovine, equine, and porcine preovulatory follicles: Regulation by IGF and heparin-binding domain-containing peptides. *Biol Reprod*, v.63, p.390-400, 2000.
- McCaffery FH, Leask R, Riley SC, Telfer EE.** Culture of bovine preantral follicles in a serum-free system: markers for assessment of growth and development. *Biol Reprod*, v.63, p.267-273, 2000.
- McNatty KP, Heath DA, Lindy F, 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.
- McNatty KP, Juengel JL, Wilson T, Galloway SM, Davis GH, Hudson NL, Moeller CC, Cranfield M, Reader KL, Laitinen MPE, Groome NP, Sawyer HR, Ritvos O.** Oocyte-derived growth factors and ovulation rate in sheep. *Reproduction Suppl*, n.61, p.339-351, 2003.
- 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.
- Mihm M, Bleach ECL.** Endocrine regulation of ovarian antral follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci*, v.78, p.217-237, 2003.
- Mihm M, Good TEM, Ireland JLH, Ireland JJ, Knight PG, Roche JF.** Decline in serum follicle-stimulating hormone concentrations alters key intrafollicular growth factors involved in selection of the dominant follicle in heifers. *Biol Reprod*, v.57, p.1328-1337, 1997.
- Monget P, Besnard N, Huet C, Pisselet C, Monniaux D.** Insulin-like growth factor-binding proteins and ovarian folliculogenesis. *Horm Res*, v.45, p.211-217, 1996.
- Monget P, Fabre S, Mulsant P, Lecerf F, Elsen JM, Mazerbourg S, Pisselet C, Monniaux D.** Regulation of ovarian folliculogenesis by IGF and BMP system in domestic animals. *Domest Anim Endocrinol*, v.23, p.139-154, 2002.
- Monget P, Mazerbourg S, Delpuech T, Maurel MC, Maniere S, Zapf J, Lalmanach G, Oxvig C, Overgaard MT.** Pregnancy-associated plasma protein A is involved in insulin-like growth factor binding protein-2 (IGFBP-2) proteolytic degradation in bovine and porcine preovulatory follicles: identification of cleavage site and characterization of IGFBP-2 degradation. *Biol Reprod*, v.68, p.77-86, 2003.
- Montgomery GW, Galloway SM, Davis GH, McNatty KP.** Genes controlling ovulation rate in sheep. *Reproduction*, v.121, p.843-852, 2001.
- Mulsant P, Lecerf F, Fabre S, Bodin L, Thimonier J, Monget P, Lanneluc I, Monniaux D, Teyssier J, Elsen JM.** Prolificacy genes in heep: the French genetic program. *Reproduction Suppl*, n.61, p.353-359, 2003.
- Nicholas B, Scougall RK, Armstrong DG, Webb R.** Changes in insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) isoforms during bovine follicular development. *Reproduction*, v.124, p.439-446, 2002.
- Nogueira et al.** 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, 2007.

Parker KI, Robertson DM, Groome NP, Macmillan KL. Plasma concentrations of inhibin A and follicle stimulating hormone differ between cows and two or three waves of ovarian follicular development in a single estrous cycle. *Biol Reprod*, v.68, p.822-828, 2003.

Perks CM, Denning-Kendall PA, Gilmour RS, Wathes DC. Localization of messenger ribonucleic acids for insulinlike growth factor-I (IGF-I), IGF-II and the type 1 IGF receptor in the ovine ovary throughout the oestrous cycle. *J Endocrinol*, v.136, p.5266-5273, 1995.

Perks CM, Peters AR, Wathes DC. Follicular and luteal expression of insulin-like growth factor I and II and the type 1 IGF receptor in the bovine ovary. *J Reprod Fertil*, v.116, p.157-165, 1999.

Poretsky L, Cataldo NA, Rosenwaks Z, Giudice LC. The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocr Rev*, v.20, p.535-582, 1999.

Rechler MM. Insulin-like growth factor binding proteins. *Vitam Horm*, v.47, p.1-114, 1993.

Rivera GM, Chandrasekhar YA, Evans ACO, Giudice LC, Fortune JE. A potential role for insulin-like growth factor binding protein-4 proteolysis in the establishment of ovarian follicular dominance in cattle. *Biol Reprod*, v.65, p.102-111, 2001.

Rivera GM, Fortune JE. Development of codominant follicles in cattle is associated with an FSH-dependent insulin-like growth factor binding protein-4 (IGFBP-4) protease. *Biol Reprod*, v.65, p.112-118, 2001.

Rivera GM, Fortune JE. Proteolysis of insulin-like growth factor binding proteins-4 and -5 in bovine follicular fluid: implications for ovarian follicular selection and dominance. *Endocrinology*, v.144, p.2977-2987, 2003a.

Rivera GM, Fortune JE. Selection of the dominant follicle and insulin-like growth factor (IGF)-binding protein 5: evidence that pregnancy-associated plasma protein A contributes to proteolysis of IGF-binding protein 5 in bovine follicular fluid. *Endocrinology*, v.144, p.437-446, 2003b.

Robert C, Gagne' 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*, 125:437-2003.

Roy SK, Albee L. Requirement for follicle-stimulating hormone action in the formation of primordial follicles during perinatal ovarian development in the hamster. *Endocrinology*, v.141, p.4449-4456, 2000.

Saha S, Shimizu M, Geshi M, Izaike Y. In vitro culture of bovine preantral follicles. *Anim Reprod Sci*, v.63, p.27-39, 2000.

Sartorelli ES, Carvalho LM, Bergfelt DR, Ginther OJ, Barros CM. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. *Theriogenology*, v.63, p.2382-2394, 2005.

Schams D, Bensa B, Krosmann M, Amselgruber WM. Expression and localization of IGF family members in bovine antral follicles during final growth and in luteal tissue during different stages of estrous cycle and pregnancy. *Domest Anim Endocrinol*, v.22, p.51-72, 2002.

Schipper I, de Jong FH, Fauser BCJM. Lack of correlation between maximum early follicular phase serum follicle stimulating hormone concentrations and menstrual cycle characteristics in women under the age of 35 years. *Hum Reprod*, v.13, p.1442-1448, 1998.

Smitz JE, Cortvindt RG. The earliest stages of folliculogenesis in vitro. *Reproduction*, v.123, p.185-202, 2002.

Souza CJH, Campbell BK, McNeilly AS, Baird DT. Effect of bone morphogenetic protein 2 (BMP2) on oestradiol and inhibin A production by sheep granulosa cells, and localization of BMP receptors in the ovary by immunohistochemistry. *Reproduction*, v.123, p.363-369, 2002.

Souza CJH, Campbell BK, McNeilly AS, Baird DT. What the known phenotypes of the Booroola mutation can teach us about its mechanism of action? *Reproduction Suppl*, n.61, p.361-370, 2003.

Spicer LJ, Alpizar E, Echterkamp SE. Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production and (or) insulin-like growth factor I production in vitro. *J Anim Sci*, v.71, p.1232-1241, 1993.

Spicer LJ, Chamberlain CS, Maciel SM. Influence of gonadotropins on insulin and insulin-like growth factor-I (IGF-I)-induced steroid production by bovine granulosa cells. *Domest Anim Endocrinol*, v.22, p.237-254, 2002.

Spicer LJ, Chamberlain CS. Production of insulinlike growth factor-I by granulosa cells but not thecal cells is hormonally responsive in cattle. *J Anim Sci*, v.38, p.2919-2926, 2000.

Spicer LJ, Echterkamp SE. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domest Anim Endocrinol*, v.12, p.223-245, 1995.

Stanko RL, Cohick WS, Shaw DW, Harvey RW, Clemmons DR, Whitacre MD, Armstrong JD. Effect of somatotropin and/or equine chorionic gonadotropin on serum and follicular insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding proteins in cattle. *Biol Reprod*, v.50, p.290-300, 1994.

Stewart RE, Spicer LJ, Hamilton TD, Keefer BE, Dawson LJ, Morgan GL, Echterkamp SE. Levels of insulin-like growth factor (IGF) binding proteins, luteinizing hormone and IGF-I receptors, and steroids in dominant follicles during the first follicular wave in cattle exhibiting regular estrous cycles. *Endocrinology*, v.137, p.2842-2850, 1996.

Sunderland SJ, Crowe MA, Boland MP, Roche JF, Ireland JJ. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. *J Reprod Fertil*, v.101, p.547-555, 1994.



- Thomas FH, Leask R, Sisen V, Rileys SC, Spears N, Telfer EE.** Effect of ascorbic acid on health and morphology of bovine preantral follicles during long-term cultures. *Reproduction*, v.122, p.487-495, 2001.
- Torres-Júnior JRS, Pires MFA, Sá WF, Ferreira AM, Viana JHM, Camargo LSA, Ramos AA, Folhadella IM, Polisseni J, Freitas C, Clemente CAA, Sá Filho MF, Paula-Lopes FF, Baruselli PS.** Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology*, v.69, p.155-166, 2008.
- Wandji S-A, Pelletier G, Sirard M-A.** Ontogeny and cellular localization of 125I-labelled insulin-like growth factor-1, 125I-labelled follicle-stimulating hormone, and 125I-labelled human chorionic gonadotropin binding sites in ovaries from bovine fetuses and neonatal calves. *Biol Reprod*, v.47, p.814-822, 1992.
- Wang C, Roy SK.** Development of primordial follicles in the hamster: role of estradiol-17 β . *Endocrinology*, v.148, p.1707-1716, 2007.
- Webb R, Campbell BK, Garverick HA, Gong JG, Gutierrez CG, Armstrong DG.** Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. *J Reprod Fertil Suppl*, n.54, p.33-48, 1999a.
- Webb R, Garnsworthy PC, Gong J-G, Armstrong DG.** Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. *J Anim Sci*, v.82, suppl. E, p.E63-E74, 2004.
- Webb R, Gosden RG, Telfer EE, Moor RM.** Factors affecting folliculogenesis in ruminants. *Anim Sci*, v.68, p.257-284, 1999b.
- Webb R, Nicholas B, Gong JG, Campbell BK, Gutierrez CG, Garverick HA, Armstrong DG.** Mechanism regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reproduction Suppl*, n.61, p.71-90, 2003.
- Willis DS, Watson H, Mason HD, Galea R, Brincat M, Franks S.** Premature response to luteinizing hormone of granulosa cells from anovulatory women with polycystic ovary syndrome: relevance to mechanism of anovulation. *J Clin Endocrinol Metab*, v.83, p.3984-3991, 1998.
- 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, 1995a.
- Xu Z, Garverick HA, Smith GW, Smith MF, Hamilton SA, Youngquist RS.** Expression of messenger ribonucleic acid encoding cytochrome P450 side-chain cleavage, cytochrome P450 17 α -hydroxylase, and cytochrome P450 aromatase in bovine follicles during the first follicular wave. *Endocrinology*, v.136, p.981-989, 1995b.
- 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 and IGF binding protein-2 in dominant and subordinate follicles. *Domest Anim Endocrinol*, v.15, p.55-63, 1998.
- Zeleznik AJ.** Follicle selection in primates: "many are called but few are chosen". *Biol Reprod*, v.65, p.655-659, 2001.
-