



Hormônio do crescimento (GH) e fator de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I): importantes reguladores das foliculogêneses *in vivo* e *in vitro*

Growth Hormone (GH) and Insulin-like growth factor I (IGF-I): major regulators of folliculogenesis in vivo and in vitro

D.M. Magalhães¹, E.T. Sales, R.T. Padilha, T.F.P. Silva, R. Tonioli, J.R. Figueiredo

Laboratório de Manipulação de Oócitos e Foliculos Pré-Antrais, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

¹Correspondência: dmmvet@hotmail.com

Resumo

A foliculogênese é caracterizada pelo desenvolvimento folicular, envolvendo as etapas de ativação, crescimento e maturação. Durante este evento, hormônios e fatores de crescimento agem em conjunto controlando os complexos mecanismos envolvidos na fisiologia reprodutiva. Dentre estes, destacam-se o hormônio do crescimento (GH) e o fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I), que estão presentes nas diversas etapas da foliculogênese, atuando de forma direta e/ou indireta a fim de proporcionar o desenvolvimento folicular. Durante as últimas décadas, pesquisas acerca do efeito destas substâncias, isoladas ou em associação, têm sido amplamente realizadas. Neste sentido, esta revisão irá abordar o papel do GH e do IGF-I na regulação da foliculogênese, bem como a interação destes fatores nos desenvolvimentos foliculares *in vivo* e *in vitro*.

Palavras-chave: foliculogênese, GH, IGF-I, reprodução *in vivo* e *in vitro*.

Abstract

The folliculogenesis is characterized by follicular development, involving the steps of activation, growth and maturation. During this event, hormones and growth factors act jointly managing the complex mechanisms involved in reproductive physiology. Among these, we highlight the Growth Hormone (GH) and Insulin-like Growth Factor I (IGF-I) that are present at different stages of folliculogenesis, acting in ways direct or indirect to provide follicular development. During recent decades, searches on the effect of these substances alone or in combination have been widely performed. Therefore, this review will address the role of GH and IGF-I in regulation of folliculogenesis, as well as the interaction of these factors in follicular development in vivo and in vitro.

Keywords: folliculogenesis, GH, IGF-I, reproduction *in vivo* and *in vitro*.

Introdução

A foliculogênese pode ser definida como o desenvolvimento folicular desde o estágio primordial até o estágio pré-ovulatório, envolvendo as etapas de ativação, crescimento e maturação. O desenvolvimento folicular é controlado por uma complexa interação entre fatores endócrinos, parácrinos e autócrinos (Gougeon, 1996). O destino de um folículo, portanto, depende do equilíbrio entre os fatores estimulantes e inibitórios no ovário. Os fatores estimulantes são responsáveis pela sobrevivência e pelo desenvolvimento folicular, enquanto os inibitórios são aqueles responsáveis pela atresia. Dentre os fatores envolvidos nessa regulação da foliculogênese, pode-se destacar o hormônio do crescimento (GH) e o fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I), os quais são importantes reguladores das diversas etapas do desenvolvimento folicular.

O GH é um hormônio somatotrófico secretado pelo lobo anterior da hipófise na circulação, o qual se liga a receptores nos tecidos-alvo com o objetivo de estimular o crescimento (Herrington e Carter-Su, 2001). Estudos *in vitro* e *in vivo* têm revelado a importância deste hormônio durante o desenvolvimento folicular (Hutchinson et al., 1988; Gong et al., 1997; Sirotkin e Makarevich, 2002).

Os IGFs (IGF-I e IGF-II) podem ser produzidos na maioria dos órgãos e tecidos do organismo. Por não existir um órgão de armazenamento, a secreção destes fatores ocorre à medida que eles são produzidos (Yakar et al., 2002). No ovário, o IGF-I possui sua origem nas células da granulosa e tem como principal função estimular o desenvolvimento folicular nas fases pré-antral e antral (Armstrong e Benoit, 1996). Tendo em vista a grande importância do GH e do IGF-I na fisiologia da reprodução, esta revisão irá abordar o papel destas duas substâncias na regulação da foliculogênese, bem como a interação destes fatores nos desenvolvimentos foliculares *in vivo* e *in vitro*.



Fatores reguladores da foliculogênese

A foliculogênese pode ser dividida em duas fases: pré-antral e antral. A fase pré-antral inclui a ativação dos folículos de primordiais para primários e o crescimento destes para secundários. A fase antral está relacionada com o desenvolvimento dos folículos secundários até o estágio pré-ovulatório (Saumande, 1991). Os fatores autócrinos, parácrinos e endócrinos envolvidos no desenvolvimento e na diferenciação folicular incluem fatores de crescimento, peptídeos e hormônios (van den Hurk e Zhao, 2005). Entretanto, as exigências foliculares são diferentes para cada fase da foliculogênese, diferindo com relação à substância requerida e às concentrações necessárias.

Na fase pré-antral, os folículos são responsivos às gonadotrofinas (hormônio folículo estimulante - FSH e/ou luteinizante - LH), porém pouco dependentes destes hormônios. Alguns trabalhos demonstraram que o FSH e o LH podem atuar na fase pré-antral promovendo a sobrevivência, a ativação e o crescimento de folículos iniciais (Saraiva et al., 2008; Magalhães et al., 2009). Embora os folículos primordiais não possuam receptores para FSH, alguns trabalhos demonstraram que este hormônio pode atuar por meio da regulação da expressão de vários fatores de crescimento essenciais à ativação e ao posterior crescimento folicular (Joyce et al., 1999; Thomas et al., 2005). A fase pré-antral é, predominantemente, regulada por fatores intraovarianos (Gong et al., 1996). A comunicação parácrina e a autócrina entre oócitos e células da granulosa são mediadas por fatores de crescimento produzidos por ambas as células, destacando-se, dentre eles, o kit ligand (KL), o fator de crescimento fibroblástico (FGF), o fator de crescimento e a diferenciação 9 (GDF-9) e a proteína morfogenética óssea 15 (BMP-15). O IGF-I nesta fase pré-antral tem uma ação endócrina, tendo em vista que os folículos expressam apenas os receptores (IGFR-1) e as proteínas ligantes (IGFBPs), mas não os ligantes. As IGFBPs regulam a biodisponibilidade local de IGF-I produzida no fígado (Webb et al., 2003).

A fase antral é conhecida como sendo dependente de gonadotrofinas. O FSH e o LH aumentam a atividade esteroidogênica nas células da granulosa e da teca, resultando em um aumento na síntese e no acúmulo de esteroides, especialmente o estradiol. Nesta fase, além das gonadotrofinas, peptídeos produzidos localmente desempenham um papel crucial na regulação das exigências foliculares, atuando por meio de mecanismos parácrinos e endócrinos. Um aumento nas concentrações plasmáticas de FSH estimula o recrutamento folicular e a emergência da onda folicular (Fortune, 1994). Em espécies monovulatórias, um folículo é selecionado (dominante) e adquire capacidade ovulatória, enquanto os demais subordinados entram em atresia. O folículo dominante atua de forma ativa na supressão do crescimento dos subordinados pela secreção de estradiol e inibina (Fortune, 1994; Ginther et al., 2003). Até certa fase do desenvolvimento folicular antral, os folículos podem crescer independentemente do suporte do LH, mas o crescimento subsequente requer a presença de LH (Gong et al., 1996). Há fortes evidências de que o sistema IGF desempenha um papel crítico na seleção do folículo dominante. Os IGFs agem de forma sinérgica com o FSH na promoção do crescimento folicular e na produção de estradiol (Fortune et al., 2004). Para a ovulação do folículo dominante, ocorre o aumento da pulsatilidade, seguido do pico de LH. Este pico também é responsável pela retomada da meiose para que ocorra a maturação oocitária (Monniaux et al., 1997).

Hormônio do crescimento (GH)

Características estruturais e sítios de expressão do hormônio GH

O GH é um hormônio produzido pelos somatotrofos no lobo anterior da hipófise, é liberado na circulação e liga-se a receptores nos tecidos-alvo com o objetivo de estimular o crescimento (Herrington e Carter-Su, 2001). Este hormônio é constituído por uma cadeia única de 198 aminoácidos com duas pontes dissulfídicas internas, o que confere a esta estrutura um peso molecular de 22 kDa (Rosenfeld e Cohen, 2002). A glicina, particularmente, é o aminoácido mais importante para a atividade biológica do GH (Chen et al., 1991).

A secreção de GH ocorre em pulsos e é controlada pelo hipotálamo por meio do hormônio liberador do GH (GHRH), da somatostatina e da ghrelina. A somatostatina exerce um efeito inibitório, enquanto o GHRH e a ghrelina estimulam a secreção de GH por intermédio de receptores específicos distintos acoplados à proteína G (Rosicka et al., 2002). O GH possui dois locais de interação com seu receptor (GHR), podendo, em algumas espécies, ligar-se ao receptor da prolactina (Bramley et al., 1987).

Receptores e vias de sinalização celular do GH

Os GHRs pertencem à família dos receptores de citocinas, apresentando um domínio extracelular, uma porção transmembranária e um domínio citoplasmático (Sjogren et al., 1999). No organismo, o GHR se apresenta na forma de dímero e exhibe alterações conformacionais quando ligado ao GH, permitindo a transfosforilação dos hemireceptores e, conseqüentemente, das proteínas responsáveis pela sinalização intracelular (Brown et al., 2005). A molécula de GH possui dois sítios de ligação na sua estrutura, cada um deles



vai se ligar de modo sequencial a duas moléculas de GHR (Carter-Su et al., 1996). Trabalhos recentes sugerem que alguns GHR possam também sinalizar por meio da dissociação da membrana plasmática e translocação para o núcleo, dirigindo-se à maquinaria transcripcional (Swanson et al., 2007). Conway-Cambel et al. (2007) demonstraram que o GHR nuclear está correlacionado com o alto *status* proliferativo tanto *in vivo* quanto *in vitro*.

A transmissão do sinal ocorre mediante a ativação e a fosforilação da enzima JAK2 (*Janus kinase 2*) e de resíduos do domínio intracelular do GHR, o que resulta no engajamento de diversas proteínas de sinalização intracelular, incluindo os STAT (*signal transducers and activators of transcription*) -1, -3 e -5, e componentes da via das MAP (*mitogen-activated protein*) quinases. A fosforilação do STAT-5 é importante nas ações somatotróficas do GH, pois participa da regulação da secreção do IGF-I e da IGFBP-3 (Kofoid et al., 2003).

Funções do GH nas foliculogênese in vitro e in vivo

Os efeitos do GH no ovário podem ser diretos ou indiretos. Os efeitos indiretos estão relacionados à atuação do IGF-I, já que o GH estimula a liberação deste fator, enquanto os efeitos diretos estão relacionados com a expressão para os receptores de GH (R-GH) que foram detectados em ovários humanos (Sharara e Nieman, 1994).

O RNA mensageiro (RNAm) para R-GH foi detectado em ovários bovinos e ovinos por hibridização *in situ* (Eckery et al., 1997). Esses autores 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).

O GH age sobre as células da granulosa de ratas acelerando o processo de diferenciação das células foliculares em células luteínicas (Hutchinson et al., 1988). Alguns trabalhos demonstraram que o GH, na concentração de 1 mg/mL, aumentou o diâmetro folicular durante quatro dias de cultivo em folículos pré-antrais de fêmeas de camundongos medindo 100-105 μm (Liu et al., 1998; Kikuchi et al., 2001). Kobayashi et al. (2000), utilizando essa mesma concentração em seus experimentos com camundongos, mostraram que o GH promoveu a produção de estradiol, a secreção de inibina e a proliferação das células da granulosa e da teca. Em bovinos, a utilização de 100 ng/mL de GH associado à insulina aumentou a síntese de progesterona e a proliferação das células da granulosa cultivadas por quatro dias (Langhout et al., 1991). Em ovinos, o FSH e o GH atuaram como reguladores da secreção de IGF-I de forma dose-dependente, além de estimularem a produção de estrogênio (Khalid et al., 2000).

Recentemente, Shimizu et al. (2008) sugeriram que o aumento da expressão de GHR em células da granulosa pode ser um ponto de desvio para que o folículo antral entre no estágio pré-ovulatório durante o final do desenvolvimento folicular, podendo, dessa forma, auxiliar no processo de maturação de folículos pré-ovulatórios. Além disso, o GH também pode estar agindo indiretamente, via sistêmica ou pela produção local de IGF-I. Um grande número de estudos *in vitro* mostrou que o GH afeta a maturação do oócito, aumenta os receptores de gonadotrofinas e, desta forma, auxilia na foliculogênese (Sirotkin e Makarevich, 2002).

Experimentos *in vivo* têm revelado que o GH atua promovendo o desenvolvimento de folículos ovarianos de bovinos (Gong et al., 1991), aumentando as concentrações periféricas de insulina e/ou IGF-I em novilhas (Gong et al., 1997). Também nesta mesma espécie, Kaiser et al. (2006) observaram que, *in vivo*, o GH pode modular a formação das junções Gap no estágio inicial da foliculogênese. Estudos realizados por Swanchara et al. (1999) concluíram que, em bovinos, a imunoneutralização contra o fator liberador do GH diminuiu os níveis séricos de IGF-I e influenciou no desenvolvimento reprodutivo em novilhas púberes. Em ovinos, o cotratamento de ovelhas superovuladas com GH aumentou tanto a taxa de ovulação quanto o número de embriões transferidos (Folch et al., 2001).

Fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I)

Características estruturais e sítios de expressão da proteína IGF-I

O IGF-I, também conhecido como somatomedina C, pertence ao sistema IGF, o qual é composto por diferentes elementos, a saber: IGF-I e IGF-II, dois tipos de receptores (IGFR-1 e IGFR-2) e seis proteínas de ligação (IGFBP-1, -2, -3, -4, -5, e -6). Os IGFs (I e II) são fatores de crescimento peptídicos com elevado grau de homologia estrutural com a pró-insulina e se apresentam como moléculas de cadeia única com pesos moleculares de 7.649 e 7.471 Da, respectivamente, compartilhando resíduos idênticos em 45 posições e 62% de homologia entre si. Esses fatores exercem atividade sobre o metabolismo intermediário, a proliferação, o crescimento e a diferenciação celular (Jones e Clemmons, 1995).

O IGF-I é produzido predominantemente no fígado exercendo a função de um hormônio endócrino, entretanto ele também pode ser sintetizado por tecidos-alvo atuando de forma parácrina e autócrina, sendo sua



produção estimulada pelo GH. A secreção dos IGFs ocorre à medida que eles são produzidos, não existindo um órgão de armazenamento.

Receptores e vias de sinalização celular do IGF-I

Os IGFs (I e II) possuem dois tipos de receptores, IGFR-1 e IGFR-2. Esses receptores são do tipo tirosina quinase transmembrana e possuem uma elevada homologia com o receptor de insulina. O IGFR-1 é composto por duas subunidades extracelulares α e duas subunidades β de 135 kDa e 90 kDa, respectivamente. Cada subunidade α é ligada a uma subunidade β por uma ponte dissulfídica, formando um α - β hemirreceptor que se liga a outro hemirreceptor por ponte dissulfídica entre as subunidades α , dando origem ao receptor completo (Martinelli e Aguiar-Oliveira, 2005). A subunidade β é constituída por uma parte extracelular, um segmento transmembranário e um domínio citoplasmático e, uma vez que esta subunidade é ativada, ela promove a fosforilação de resíduos de tirosina do próprio receptor e de proteínas-substrato associadas (Izadyar et al., 1998). As vias de sinalização ativadas são várias, dentre elas a fosfoinositol-3-quinase (PI3K) e as MAP quinases.

O IGFR-1 medeia a maioria das ações, tanto do IGF-I quanto do IGF-II. Entretanto, a afinidade deste receptor pelo IGF-I é maior do que pelo IGF-II ou pela insulina. O IGFR-2 se liga ao IGF-II, com menor afinidade ao IGF-I, mas não à insulina. Os efeitos do IGF-II são mediados via IGFR-1 (Izadyar et al., 1998). O papel fisiológico do IGFR-2 ainda não está bem elucidado. Há indícios de que o IGFR-2 possa participar da remoção do IGF-II do ambiente extracelular (Jones e Clemmons, 1995).

Interação IGF-I/IGFBPs

Os IGFs associam-se às proteínas transportadoras denominadas *insulin-like growth factor binding proteins* (IGFBPs). Nos fluidos biológicos, as IGFBPs estão presentes e atuam inibindo ou potencializando a ação dos dois tipos de IGFs nas células-alvo. A biodisponibilidade de IGF pode ser aumentada por meio da atividade de enzimas específicas, as IGFBPs proteases. Os níveis de IGFBPs no líquido folicular alteram-se dramaticamente durante a foliculogênese (Monget et al., 1996). Essas proteínas intrafoliculares desempenham uma função-chave na regulação do desenvolvimento folicular por modularem os IGFs e, portanto, as ações das gonadotrofinas (Monget et al., 1989).

Durante o desenvolvimento folicular, o conteúdo de IGFBPs no líquido folicular tem sido estudado e quatro tipos de IGFBP foram identificados: IGFBP-3 (PM entre 39 e 49KDa); IGFBP-2 (PM de 35 KDa); IGFBP-5 (PM entre 30 e 32Kda) e a IGFBP-4 (PM entre 22 e 28 KDa), em bovinos (De La Sota et al., 1996) e ovinos (Monget et al., 1996). No soro, as concentrações de IGFBP-1 e -2 são reguladas negativamente ou não afetadas pelo GH, enquanto a concentração de IGFBP-3 está positivamente regulada pelo GH e pelo IGF-I (Monget et al., 1996).

De forma geral, as IGFBPs possuem quatro funções essenciais na regulação das atividades dos IGFs: 1) atuar como proteínas de transporte no plasma; 2) prolongar a meia-vida dos IGFs por regular sua depuração metabólica; 3) proporcionar um meio de tecido de células-alvo de tipo específico; 4) modular diretamente a interação dos IGFs com seus receptores e, assim, indiretamente, controlar a sua biorreatividade.

*Funções do IGF-I nas foliculogêneses *in vitro* e *in vivo**

O envolvimento do IGF-I nos estágios iniciais da foliculogênese foi evidenciado por estudos em que o nocaute do gene comprometeu severamente o desenvolvimento pré-antral e o antral inicial em camundongos (Elvin e Matzuk, 1998). Em ovários de suínos e roedores, o IGF-I tem sido localizado nas células da granulosa de folículos antrais saudáveis, enquanto o IGF-II foi encontrado nas células da granulosa de folículos saudáveis e atresicos (Zhou et al., 1996). Ambos os receptores de IGF estão presentes em células da granulosa de folículos primários, secundários e antrais (Monget et al., 1989).

O IGF-I, adicionado durante o cultivo *in vitro* de folículos pré-antrais nas concentrações de 20 e 50 ng/mL, estimulou o crescimento folicular em humanos (Louhio et al., 2000), bovinos (Gutierrez et al., 2000), ratos (Zhao et al., 2001) e camundongos (Liu et al., 1998), em sinergia com o FSH. Atuando em associação com o FSH, o IGF-I (100 ng/mL) também aumentou a proliferação e a atividade esteroidogênica de células da granulosa de camundongos (Liu et al., 1998). Em suínos, a utilização de 50 ng/mL de IGF-I resultou no crescimento folicular, estimulou a proliferação das células da granulosa e preveniu a apoptose de folículos pré-antrais cultivados por quatro dias na presença de soro (Guthrie et al., 1998). Experimentos mostraram que o IGF-I, na concentração de 100 ng/mL, proporcionou o crescimento e a viabilidade de oócitos inclusos em folículos pré-antrais caprinos (Zhou e Zhang, 2005). Em camundongos, o IGF-I (10, 50 e 100 ng/mL) aumentou a esteroidogênese de folículos pré-antrais cultivados *in vitro* por seis, 10 e 12 dias (Demeestere et al., 2004). Em ratas, o IGF-I aumentou significativamente o diâmetro folicular e o conteúdo do DNA (Zhou et al., 1996).



Fortune (2003) demonstrou que o IGF-I regula o desenvolvimento folicular nos estágios iniciais da foliculogênese, controlando o processo de maturação oocitária. A adição de IGF-I (100 ng/mL) ao meio de cultivo manteve a sobrevivência dos oócitos e estimulou o crescimento *in vitro* de folículos pré-antrais caprinos (Zhou e Zhang, 2005). Nesta mesma espécie, o IGF-I estimulou o crescimento de oócitos de folículos pré-antrais, tendo sua ação reforçada pelo EGF (Zhou e Zhang, 2005). Em bovinos, o IGF-I (10 ng/mL) promoveu o crescimento de pequenos folículos antrais *in vitro* e aumentou a viabilidade de oócitos (Walters et al., 2006), além de ter estimulado a proliferação e a sobrevivência das células da granulosa, prevenindo a apoptose (Quirk et al., 2004). Além disso, pesquisas demonstraram que a ação de IGF-I em grandes folículos secundários promoveu o aumento da incidência de dominância folicular e ovulação (Ginther et al., 2008).

Em um experimento realizado *in vivo*, Velazquez et al. (2009) observaram que o IGF-I exerce importante função no desenvolvimento folicular, na qualidade oocitária, e no posterior desenvolvimento embrionário em novilhas não superovuladas. O IGF-I desempenha um papel essencial na reprodução de mamíferos, como observado por meio de falhas na atividade ovariana e no desenvolvimento embrionário em modelos de camundongos com gene *knockout* para este fator (Elvin e Matzuk, 1998).

Considerações finais

O GH e o IGF-I desempenham funções essenciais na regulação do desenvolvimento folicular, tanto na fase antral como na pré-antral. Desta forma, um conhecimento aprofundado dessas duas substâncias e de suas atuações nas reproduções *in vivo* e *in vitro* permitirá maior compreensão da fisiologia reprodutiva, principalmente na fase da foliculogênese pré-antral, a qual é menos elucidada. Uma compreensão maior das substâncias envolvidas no desenvolvimento folicular também permitirá a elaboração de um meio sequencial para o cultivo folicular, respeitando as exigências requeridas para cada fase folicular. Em grande parte das espécies, o GH e o IGF-I parecem não ser necessários para a ativação folicular, entretanto eles atuam promovendo o crescimento de folículos secundários e a formação de antro. O GH atua melhorando o desenvolvimento folicular, principalmente na fase antral inicial, e estimula a maturação oocitária, enquanto o IGF-I auxilia na esteroidogênese e na proliferação das células da granulosa, bem como no crescimento oocitário.

Referências

- Armstrong J D, Benoit AM.** Paracrine, autocrine, and endocrine factors that mediate the influence of nutrition on reproduction in cattle and swine: an *in vivo*, IGF-I perspective. *J Anim Sci*, v.74, p.18-35, 1996.
- Bramley TA, Menzies GS, McNeilly AS, Friesen HG.** Receptors for lactogenic hormones in the ovine corpus luteum. I: a major discrepancy in the specific binding of radiolabelled ovine prolactin and human growth hormone. *J Endocrinol*, v.113, p.365-374, 1987.
- Brown RJ, Adams JJ, Pelekanos RA, Wan Y, Mckinstry WJ, Palethorpe K, Seeber RM, Monks TA, Eidne KA, Parker MW, Waters MJ.** Model for growth hormone receptor activation based on subunit rotation within a receptor dimer. *Nat Struct Mol Biol*, v.12, p.814-821, 2005.
- Carter-Su C, Schwartz J, Smit LS.** Molecular mechanism of growth hormone action. *Annu Rev Physiol*, v.58, p.187-207, 1996.
- Chen WY, Wight DC, Mehta BV, Wagner TE, Kopchick JJ.** Glycine 119 of bovine growth hormone is critical for growth promoting activity. *Mol Endocrinol*, v.5, p.1845-1852, 1991.
- Conway-Campbell BL, Wooh JW, Brooks AJ, Gordon D, Brown RJ, Lichanska AM, Chin HS, Barton CL, Boyle GM, Parsons PG, Jans DA, Waters MJ.** Nuclear targeting of the growth hormone receptor results in dysregulation of cell proliferation and tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.104, p.13331-13336, 2007.
- 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.
- Demeestere I, Gervy C, Centner J, Devreker F, Englert Y, Delbaere A.** Effect of insulin-like growth factor-I during preantral follicular culture on steroidogenesis, *in vitro* oocyte maturation, and embryo development in mice. *Biol Reprod*, v.70, p.1664-1669, 2004.
- 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.
- Elvin JA, Matzuk MM.** Mouse models of ovarian failure. *Rev Reprod*, v.3, p.183-195, 1998.
- Folch J, Ramo'n JP, Cocero MJ, Alabart JL, Beckers JF.** Exogenous growth hormone improves the number of transferable embryos in superovulated ewes. *Theriogenology*, v.55, p.1777-1785, 2001.
- Fortune JE.** Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol Reprod*, v.50, p.225-232, 1994.
- Fortune JE.** The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Anim Reprod Sci*, v.78, p.135-163, 2003.
- Fortune JE, Rivera GM, Yang MY.** Follicular development: the role of the follicular microenvironment in



- selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci*, v.82/83, p.109-126, 2004.
- 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, Gastal EL, Gastal MO, Beg MA.** Intrafollicular effect of IGF1 on development of follicle dominance in mares. *Anim Reprod Sci*, v.105, p.417-423, 2008.
- Gong JG, Baxter G, Bramley TA, 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 somatotrophin on ovarian function in heifers: follicular population and peripheral hormones. *Biol Reprod*, v.45, p.941-949, 1991.
- Gong JG, Campbell BK, Bramley TA, Gutierrez CG, Peters AR, Webb R.** Suppression in the secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and ovarian follicle development in heifers continuously infused with a gonadotropin-releasing hormone agonist. *Biol Reprod*, v.55, p.68-74, 1996.
- Gougeon A.** Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocr Rev*, v.17, p.121-154, 1996.
- Guthrie HD, Garrett WM., Cooper BS.** Follicle stimulating hormone and insulin-like growth factor-I attenuate apoptosis in cultured porcine granulosa cells. *Biol Reprod*, v.58, p.390-396, 1998.
- 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.
- Herrington J, Carter-Su C.** Signaling pathways activated by the growth hormone receptor. *Trends Endocrinol Metab*, v.12, p.252-257, 2001.
- Hutchinson LA, Findlay JK, Herington AC.** Growth hormone and insulin-like growth factor-I accelerate PMSG-induced differentiation of granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol*, v.55, p.61-69, 1988.
- Izadyar F, Zeinstra EB, Bevers MM, Bevers MM.** Follicle stimulating hormone and growth hormone act differently on nuclear maturation while both enhance developmental competence of *in vitro* matured bovine oocytes. *Mol Reprod Dev*, v.51, p.339-345, 1998.
- Jones JI, Clemmons DR.** Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev*, v.16, p.3-34, 1995.
- 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.
- Kaiser GG, Kölle S, Boie G, Sinowatz F, Palma GA, Alberio RH.** *In vivo* effect of growth hormone on the expression of connexin-43 in bovine ovarian follicles. *Mol Reprod Dev*, v.73, p.600-606, 2006.
- Khalid M, Haresign W, Luck MR.** Secretion of IGF-I by ovine granulosa cells: effects of growth hormone and follicle stimulating hormone. *Anim Reprod Sci*, v.58, p.261-272, 2000.
- Kikuchi N, Andoh K, Abe Y, Yamada K, Mizunuma H, Ibuki Y.** Inhibitory action of leptin on early follicular growth differs in immature and adult female mice. *Biol Reprod*, v.65, p.66-71, 2001.
- Kofoed EM, Hwa V, Little B, Woods KA, Buckway CK, Tsubaki J, Pratt KL, Bezrodnik L, Jasper H, Tepper A, Heinrich JJ, Rosenfeld RG.** Growth hormone insensitivity associated with a STAT5b mutation. *N Engl J Med*, v.349, p.1139-1147, 2003.
- Kobayashi J, Mizunuma H, Kikuchi N, Liu X, Andoh K, Abe Y, Yokota H, Yomada K, Ibuki Y, Hagiwara H.** Morphological assessment of the effect of growth hormone on preantral follicles from 11-day-old mice in an *in vitro* culture system. *Biochem Biophysiol Res Commun*, v.268, p.36-41, 2000.
- Kölle S, Sinowatz F, Boie G, Lincon 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.
- Langhout DJ, Spicer LJ, Geisert RD.** Development of a culture system for bovine granulosa cells: effects of growth hormone, estradiol, and gonadotropins on cell proliferation, steroidogenesis, and protein synthesis. *J Anim Sci*, v.69, p.3321-34, 1991.
- 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.
- Louhio H, Hovatta O, Sjöberg J, Tuuri T.** The effects of insulin, and insulin-like growth factors I and II on human ovarian follicles in long-term culture. *Mol Hum Reprod*, v.6, p.694-698, 2000.
- Magalhães DM, Araujo VR, Lima-Verde IB, Matos MHT, Silva RC, Lucci CM, Bão SN, Campello CC, Figueiredo JR.** Impact of pituitary FSH purification on *in vitro* early folliculogenesis in goats. *Biocell*, v.33, p.91-97, 2009.
- Martinelli CE Jr, Aguiar-Oliveira MH.** Crescimento normal: avaliação e regulação endócrina. In: Antunes-Rodrigues J, Moreira AC, Elias LLK, Castro M (Ed.). *Neuroendocrinologia básica e aplicada*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p.366-389.
- Monget P, Besnard N, Huet C, Pisselet C, Monniaux D.** Insulin-like growth factor-binding proteins and ovarian folliculogenesis. *Horm Res (Basel)*, v.45, p.211-217, 1996.
- Monget P, Monniaux D, Durand P.** Localization, characterization and qualification of insulin-like growth



- factor-I-binding sites in the ewe ovary. *Endocrinology*, v.125, p.2484-2493, 1989.
- Monniaux D, Huet C, Besnard N, Clement F, Bosc M, Pisselet C, Monget P, Mariana JC.** Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. *J Reprod Fertil*, v.51, p.3-23, 1997.
- Quirk SM, Cowan RG, Harman RM, Hu CL, Porter DA.** Ovarian follicular growth and atresia: the relationship between cell proliferation and survival. *J Anim Sci*, v.82, p.40-52, 2004.
- Rosenfeld RG, Cohen P.** Disorders of growth hormone/insulinlike growth factor secretion and action. In: Sperling MA (Ed.). *Pediatric endocrinology*. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 2002. p.211-288.
- Rosicka M, Krsek M, Jarkovska Z, Marek J, Schreiber V.** Ghrelin - a new endogenous growth hormone secretagogue. *Physiol Res*, v.51, p.435-41, 2002.
- 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 caprine primordial ovarian follicle development *in vitro*. *Small Rumin Res*, v.78, p.87-95, 2008.
- Saumande J.** La folliculogénèse chez les ruminants. *Rec Med Vét*, v.167, p.205-18, 1991.
- 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.
- Shimizu T, Murayama C, Sudo N, Kawashima C, Tetsuka M, Miyamoto A.** Involvement of insulin and growth hormone (GH) during follicular development in the bovine ovary. *Anim Reprod Sci*, v.106, p.143-152, 2008.
- 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.
- Sjogren K, Liu JL, Blad K, Skrtic S, Vidal O, Wallenius V, LeRoith D, Tprnell J, Isaksson OGP, Jansson JO, Ohlsson C.** Liver-derived insulin-like growth factor I (IGF-I) is the principal source of IGF-I in blood but is not required for postnatal body growth in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.96, p.7088-7092, 1999.
- Swanchara KW, Armstrong JD, Britt JH.** Effects of active immunization against growth-hormone releasing factor on puberty and reproductive development in gilts. *J Anim Sci*, v.77, p.1807-1814, 1999.
- Swanson SM, Kopchick JJ.** Nuclear localization of growth hormone receptor: another age of discovery for cytokine action? *Sci STKE*, v.415, pe69, 2007.
- 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.
- 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.
- Velazquez MA, Zaraza J, Oropeza A, Webb R, Niemann H.** The role of IGF1 in the *in vivo* production of bovine embryos from superovulated donors. *Reproduction*, v.137, p.161-180, 2009.
- Walters KA, Binnie JP, Campbel BK, Armstrong DG, Telfer EE.** The effects of IGF-I on bovine follicle development and IGFBP-2 expression are dose and stage dependent. *Reproduction*, v.131, p.515-523, 2006.
- Webb R, Nicholas B, Gong JG, Campbell BK, Gutierrez CG, Garverick, HA, Armstrong DG.** Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reproduction Suppl*, v.61, p.71-90, 2003.
- Yakar S, Rosen CJ, Beamer WG, Ackert-Bicknell CL, Wu Y, Liu JL, Ooi GT, Setser J, Frystyk J, Boisclair YR, LeRoith D.** Circulating levels of IGF-1 directly regulate bone growth and density. *J Clin Invest*, v.110, p.771-781, 2002.
- Zhao J, Taverne MAM, Van der weijden GC, Bevers, MM, van den Hurk R.** Effect of activin A on *in vitro* development of rat preantral follicles and localization of activin A and activin receptor II. *Biol Reprod*, v.65, p.967-977, 2001.
- Zhou H, Zhang Y.** Effect of growth factors on *in vitro* development of caprine preantral follicle oocytes. *Anim Reprod Sci*, v.90, p.265-272, 2005.
- Zhou J, Adesanya OO, Vatzias G, Hammond JM, Bondy CA.** Selective expression of insulin-like growth factor system components during porcine ovary follicular selection. *Endocrinology*, v.137, p.4893-4901, 1996.
-