



Angiogênese, vascularização e uso do ultrassom Doppler colorido na avaliação de estruturas ovarianas

Angiogenesis, vascularization and color Doppler ultrasonography to evaluate ovarian structures

H. Ayres^{1,3}, G.Z. Mingoti²

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ/USP, São Paulo, SP, Brasil.

²Faculdade de Medicina Veterinária, Departamento de Produção e Saúde Animal - FMVA/UNESP, Araçatuba/SP, Brasil.

³Correspondência: hayres65@yahoo.com.br

Resumo

A angiogênese ocorre como um processo fisiológico essencial para o crescimento e o desenvolvimento normal dos tecidos. A adequada formação da rede vascular é um passo limitante para o bom funcionamento do ovário, pois garante a disponibilidade de oxigênio, nutrientes, hormônios e substratos, bem como a transferência de diferentes hormônios para as células-alvo. Nos últimos anos, o fluxo sanguíneo local do ovário tem sido analisado por meio da ultrassonografia com Doppler colorido, técnica que permite analisar individualmente os folículos e o corpo lúteo. Esta revisão de literatura aborda os mais relevantes aspectos da reestruturação vascular do ovário durante o ciclo estral em fêmeas domésticas de grande porte.

Palavras-chave: Angiogênese, vascularização, ultrassom Doppler, ovário.

Abstract

Angiogenesis occurs as a physiologic process and is essential for normal growth and development of tissue. The ovary and its structures need adequate vascular network to ensure the availability of oxygen, nutrients, hormones, substrate, and ensure the transfer of different hormones to target cells. Then, the proper formation of this network is a limiting step for the proper functioning of this organ in general. In recent years, the local blood flow of the ovary, has been examined by color Doppler ultrasound, being able to analyze the individual follicles and the corpus luteum. This review will board the relevant aspects of the restructuring vascular ovary during the estrous cycle in female domestic large.

Keywords: Angiogenesis, vascularization, Doppler ultrasound, ovarian structures.

Introdução

A atividade ovariana é caracterizada pela alternância de fases de crescimento e de regressão, as quais envolvem tanto as estruturas foliculares quanto as luteínicas. Estas alterações cíclicas requerem angiogênese contínua (Fraser e Lunn, 2001). Os principais fatores pró-angiogênicos incluem o fator de crescimento de fibroblastos 2 (FGF2), a família dos fatores de crescimento derivados de plaquetas (PDGF), o sistema angiopoietina (ANGPT) e a família dos fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF), sendo que o subtipo A (VEGFA) é o mais estudado (revisado por Robinson et al., 2009). As células da granulosa representam a principal fonte de fator angiogênico do folículo. Sabe-se que um folículo dominante possui maior vascularização tecal e suprimento sanguíneo do que os folículos subordinados (Zeleznik et al., 1981; Redmer e Reynolds, 1996) e que a diminuição da vascularização no futuro folículo subordinado começa antes da diminuição da taxa de crescimento folicular.

O folículo dominante poderá alcançar o *status* pré-ovulatório e culminar com a ovulação. Isto ocorre como resultado da interação dinâmica entre o hormônio luteinizante (LH) e fatores foliculares locais, os quais promovem complexas mudanças estruturais e funcionais. Neste momento, ocorre alteração no fluxo sanguíneo na parede do folículo pré-ovulatório, aumento na concentração de estradiol plasmático e folicular, bem como de substâncias vasoativas. A transição folicular-luteal é um processo dinâmico, o qual envolve a diferenciação das células da teca e da granulosa em células lúteas, o remodelamento e o crescimento do tecido, o aumento da produção de progesterona, o crescimento de vasos e o estabelecimento de uma rede vascular para melhorar o suprimento sanguíneo.

Não ocorrendo a sinalização de gestação ao útero, tem-se o início da luteólise. Há a liberação dos pulsos de prostaglandina F2 α , que induzem um aumento agudo no fluxo sanguíneo, seguido de posterior queda dele em detrimento da liberação local de peptídeos vasoativos que induzem diminuição do suprimento sanguíneo (fluxo) e, consequentemente, vasoconstrição.

A perfusão vascular dos ovários e folículos, avaliada por ultrassonografia com Doppler colorido, é um indicador do potencial para o sucesso de programas de reprodução em animais de produção. A maior vascularização



do folículo pré-ovulatório tem sido associada com o aumento do diâmetro do folículo em éguas (Silva et al., 2006) e em novilhas (Siddiqui et al., 2009).

Assim, neste artigo, serão descritas as alterações do fluxo sanguíneo no crescimento folicular, na ovulação, na formação e manutenção do CL e na luteólise.

Alterações do fluxo sanguíneo durante o crescimento folicular

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. Os mecanismos precisos envolvidos no controle do crescimento de folículos primordiais ainda não estão bem estabelecidos, mas estudos recentes demonstram 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, c-KIT/KIT ligante, 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 Glistler, 2001; Smitz e Cortvindt, 2002; Webb et al., 2003; revisado por Oliveira et al., 2011). 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 do hormônio folículo estimulante (FSH; Adams, 1999). Estes folículos irão apresentar taxa de crescimento semelhante até o momento do desvio folicular, quando apenas um dentre estes será selecionado, tornando-se o futuro folículo dominante. A partir deste momento, o folículo dominante perde a dependência do FSH e passa a ser dependente do hormônio luteinizante (LH). O folículo selecionado poderá atingir o *status* pré-ovulatório, culminando, conseqüentemente, com a ovulação, ou então entrará em atresia como os demais (Ginther et al., 2003).

Tanto os folículos primordiais como os primários recebem nutrientes e oxigênio por difusão passiva dos vasos sanguíneos do estroma ovariano. No entanto, a formação de uma rede individual capilar em torno de cada folículo é necessária para que estes folículos possam crescer para além destas fases (Robinson et al., 2009; Araújo et al., 2011). Há poucas informações a respeito de como o folículo inicialmente recruta sua rede vascular. O provável candidato é VEGFA, que é detectado pela primeira vez nas camadas da granulosa e da teca de folículos secundários em vacas (Yang e Fortune, 2007).

A neovascularização é crucial para crescimento de folículos antrais, dominância e desenvolvimento pré-ovulatório, uma vez que numerosos estudos demonstraram que compostos antiangiogênicos reduzem a vascularização tecal e, conseqüentemente, comprometem severamente o desenvolvimento folicular (Robinson et al., 2009). Assim, para que o crescimento folicular seja adequado, são necessários eficientes mecanismos compensatórios que adequem a rede vascular às crescentes necessidades dos folículos. Na fase secundária ou mais tarde, as células estromais que rodeiam os folículos se organizam em camadas da teca, em que a parte mais interna (teca interna) contém muitos vasos sanguíneos, enquanto a camada exterior (teca externa) é composta principalmente de tecido conjuntivo fibroso (Araújo et al., 2011). Posteriormente, durante o aparecimento da cavidade antral, os folículos tornam-se rodeados por uma rede capilar, que promove a sua nutrição, inclusive das células da granulosa.

As células da granulosa representam a principal fonte de fator angiogênico (VEGF) em resposta ao estímulo do FSH e, como resultado, o VEGF secretado tende a se acumular no antro do folículo. Sabe-se que quanto maior é o diâmetro folicular, maior é sua concentração de VEGF (bovinos: Berisha et al., 2000; suínos: Barboni et al., 2000); ainda, a concentração de VEGF é maior no folículo dominante do que nos subordinados (Ginther et al., 2004). Assim, o VEGF produzido pelo folículo e presente em grandes quantidades no fluido folicular é um potencial candidato a explicar um possível papel vascular do folículo durante o desvio.

É intrigante que VEGFA esteja localizado principalmente nas células da granulosa avasculares (Greenaway et al., 2005). Desta forma, o acúmulo de VEGF no folículo e a conseqüente difusão para os capilares cria um gradiente angiogênico que regula o desenvolvimento da rede de vasos sanguíneos e sua arquitetura dentro da parede do folículo (Mattioli et al., 2001). Um extenso plexo vascular se desenvolve na camada de células da teca, localizada entre a membrana basal e a camada granulosa avascular (O'Shea et al., 1978). Como conseqüência, há maximização do fornecimento de oxigênio, nutrientes e hormônios para as células da granulosa (Robinson et al., 2009). Portanto, a capacidade de um folículo produzir VEGF pode representar um fator essencial ao seu desenvolvimento, sendo uma característica distinta dos folículos que superam a seleção e entram em crescimento.

Em éguas, o desvio folicular é indicado morfologicamente pela taxa de crescimento diferencial entre o folículo dominante e os subordinados, quando se observa, por ultrassonografia, uma aparente expansão da camada anecoica em torno das células da granulosa do folículo dominante (Gastal et al., 1999). Esta mudança na ecogeinidade é atribuída ao aumento da vascularização e da área de fluxo sanguíneo (Acosta et al., 2003), podendo-se distinguir o futuro folículo dominante dos folículos subordinados cerca de um dia antes do início do desvio do diâmetro. Adicionalmente, observa-se diferença de velocidade do fluxo sanguíneo (desvio de velocidade) entre o maior folículo (F1; aumento contínuo da velocidade do fluxo) e o segundo maior folículo



(F2; diminuição do fluxo), em média, dois dias antes do desvio de diâmetro. A redução da velocidade do fluxo sanguíneo ou da vascularização do folículo subordinado é coerente com os relatos que demonstram redução da proliferação de células endoteliais capilares nesse folículo e redução da vascularização da teca, que ocorre antes da atresia folicular em bovinos (Jiang et al., 2003) e ovinos (Jablonka-Sharif et al., 1994). Assim, o futuro folículo dominante deve possibilitar um contínuo aumento da irrigação sanguínea, bem como aumentar a responsividade às gonadotrofinas para poder continuar crescendo mesmo em ambiente de menores concentrações de FSH (Ginther et al., 2003). Por outro lado, a diminuição da vascularização no futuro folículo subordinado, a qual começa antes da diminuição da taxa de crescimento folicular, culmina com sua regressão (Acosta et al., 2003).

Outro fator positivamente correlacionado com a vascularização folicular é a concentração intrafolicular de 17β -estradiol (Mattioli et al., 2001). Segundo Robinson et al. (2009), a hipótese de que a dominância é devido à maior extensão da vasculatura do folículo, o qual recebe assim maior suporte hormonal (Zeleznik et al., 1981), é apoiada pela observação de que, durante a seleção do folículo dominante, os folículos que possuem maiores concentrações de estrogênio têm maior vascularização e elevadas concentrações de VEGFA (Grazul-Bilska et al., 2007).

Existe também uma forte evidência de que, logo após seleção, há uma rápida degeneração da vasculatura tecal, uma vez que já foi observado início da atresia nos folículos subordinados (Macchiarelli et al., 2006). Em vacas, a ultrassonografia transretal com Doppler colorido demonstrou uma clara diferença na vascularização da parede de folículos pré-ovulatórios em comparação com folículos anovulatórios (Acosta et al., 2003). Estes resultados sugerem que o uso do Doppler colorido tem potencial uso para auxiliar a investigação da vascularização do folículo antes e durante o desvio, assim como no processo de ovulação. O estudo da evolução da vascularização dos folículos por ultrassonografia com Doppler colorido pode esclarecer as alterações na posição dos vasos que ocorrem na sequência de eventos relacionados com a seleção do folículo dominante.

Alterações do fluxo sanguíneo na ovulação

O processo de ovulação é o resultado da interação dinâmica entre o LH e fatores foliculares locais, incluindo hormônios esteroides, prostaglandinas, peptídeos vasoativos e fatores de crescimento, em um processo tempo-dependente (Fortune, 1994; Berisha e Schams, 2005; Richards, 2005).

O pico de secreção de LH acarreta complexas alterações estruturais e funcionais no folículo maduro, as quais estão estreitamente associadas ao aumento do fluxo sanguíneo na parede do folículo pré-ovulatório (Acosta et al., 2003). Sabe-se que o primeiro aumento detectável na concentração de estradiol plasmático coincide com o aumento da vascularização (área de fluxo sanguíneo) na parede do folículo maduro (Acosta e Miyamoto, 2004). Assim, parece haver uma íntima associação entre diâmetro folicular, concentração de estradiol no fluido folicular e área vascular (Mattioli et al., 2001).

Adicionalmente, foi verificada a elevação do fluxo sanguíneo folicular e das concentrações plasmáticas de estradiol e LH em resposta à elevação de GnRH, seja endógeno ou após administração exógena (Acosta et al., 2003). Este fenômeno pode induzir uma modificação aguda na função metabólica das células foliculares, resultando em aumento da produção de esteroides e substâncias vasoativas (Acosta e Miyamoto, 2004), como, por exemplo, o óxido nítrico, uma substância vasodilatadora local que age diretamente na regulação do fluxo sanguíneo no ovário. Acredita-se que o aumento do fluxo sanguíneo nas células da parede do folículo pré-ovulatório possa aumentar a oferta de gonadotrofinas, nutrientes, substratos hormonais e outros componentes do sangue necessários para a ovulação (Acosta e Miyamoto, 2004). A complexidade estrutural e secretória e outras modificações funcionais que ocorrem no ovário próximo ao momento da ovulação estão intimamente associadas às mudanças no fluxo sanguíneo no interior da parede do folículo pré-ovulatório.

Alterações do fluxo sanguíneo na formação e manutenção do corpo lúteo

A transição folicular-luteal é um processo dinâmico que envolve uma série de mudanças bioquímicas e estruturais do folículo pré-ovulatório após o pico de LH (Reynolds e Redmer, 1999; Niswender et al., 2000). Isto inclui a diferenciação das células da teca e da granulosa em células luteinizadas, o remodelamento e o crescimento do tecido e o aumento da produção de progesterona (P4). Para suprir esta demanda, é essencial que haja crescimento de vasos e estabelecimento de uma rede de suprimento sanguíneo (Reynolds e Redmer, 1999; Niswender et al., 2000).

Após a ovulação, o novo corpo lúteo (CL) se desenvolve rapidamente a partir da ruptura da parede do folículo e, dentro de alguns dias, aumenta gradualmente a secreção de P4 (Acosta et al., 2002). O desenvolvimento do CL é caracterizado pela alta vascularização ativa e pela ocorrência de repetidas mitoses das células esteroideogênicas. A intensidade do processo angiogênico dentro do CL atinge um pico em dois a três dias após a ovulação (Reynolds et al., 2000), o que acarreta um aumento do fluxo sanguíneo (área e velocidade; Acosta et al., 2003), indicando desenvolvimento luteal normal. Assim, a maioria das células esteroideogênicas maduras do CL estão em contato com um ou mais capilares (Reynolds et al., 1992). O surgimento de novos



capilares sanguíneos para apoiar o desenvolvimento das células luteais parece ser localmente potencializado pela angiotensina II (Ang II) e por fatores de crescimento que induzem a angiogênese e apoiam a síntese de P4 (Kobayashi et al., 2001a).

O óxido nítrico é um mediador derivado de células endoteliais (eNOS) e tem como função regular o tônus vascular (revisado por Robinson et al., 2009). As eNOS estão localizadas em células derivadas da teca e estão presentes em altas concentrações durante a fase luteal inicial em ovelhas (Grazul-Bilska et al., 2006) e vacas (Rosiansky-Sultan et al., 2006). Por outro lado, a expressão de endotelina-1 (ET-1), um vasoconstritor, é mínima durante a fase luteal inicial. Isso provavelmente significa que os vasos sanguíneos luteais possam estar predominantemente vasodilatados, maximizando o fluxo de sangue. VEGFA parece regular positivamente a expressão de eNOS (Grazul-Bilska et al., 2006), enquanto o óxido nítrico aumenta a expressão de FGF2 e VEGFA em pericitos luteais, de maneira dose-dependente (Beckman et al., 2006). Por sua vez, estes fatores poderiam promover ainda mais a angiogênese lútea (Robinson et al., 2009).

Como resultado deste processo, o CL torna-se uma das estruturas mais vascularizadas (Gaytan et al., 1999) e recebe a maior taxa de fluxo sanguíneo por unidade de tecido de todo o organismo (Wiltbank et al., 1988). O fluxo sanguíneo ovariano está altamente correlacionado com a taxa de secreção de P4 (Fraser e Lunn, 2001; Acosta et al., 2003; Schams e Berisha, 2004). O sistema de vascularização do CL serve como uma rota de entrega de substâncias biológicas ao fornecer nutrientes para as células lúteas, substratos para produção de hormônios e hormônios estimuladores e/ou reguladores, que são indispensáveis para a manutenção da secreção de P4.

Um estudo de microdiálise em CL inicial da espécie bovina demonstrou que fatores angiogênicos, tais como o fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF) e o VEGF, estimulam a secreção *in vitro* de Ang II, PGF_{2α} e P4 (Kobayashi et al. 2001c). Além disso, Ang II e ocitocina também estimulam a secreção de PGF_{2α}, e a Ang II, juntamente com PGF_{2α} estimula altamente a secreção de P4. Estes resultados sugerem que a interação entre PGF_{2α} e Ang II, mas não entre ET-1, aumenta a produção de P4 em CL iniciais e apoia o conceito de que mecanismos locais de regulação estão envolvidos ativamente na angiogênese, garantindo a secreção de P4 pelo CL em desenvolvimento.

Alterações do fluxo sanguíneo durante a luteólise

A rápida diminuição no fluxo sanguíneo tem sido considerada uma das principais ações luteolíticas da PGF_{2α}. Esta diminuição ocorre tanto na luteólise natural quanto na induzida por administração exógena de PGF_{2α} (Azmi et al., 1982; Knickerbocker et al., 1988). Em vacas, caso o conceito não esteja presente no útero entre os dias 14 e 17 após a ovulação, ou ocorra secreção inadequada de interferon- τ (proteína secretada pelo trofoderma do conceito, que é responsável pelo reconhecimento materno da gestação), dá-se a liberação de PGF_{2α} e a queda dos níveis plasmáticos de P4 (Binelli et al., 2001; Rathbone et al., 2001), que são fatores associados com a luteólise (Wolfenson et al., 1985). Acosta et al. (2002) demonstraram que a administração de um análogo de PGF_{2α} em vacas, no meio do ciclo estral, aumenta a produção intraluteal de substâncias vasoativas, como a ET-1 (Ohtani et al., 1998) e a Ang II (Hayashi et al., 2001), sendo ambas substâncias importantes na cascata da luteólise (Girsh et al., 1996a, b; Miyamoto et al., 1997a, b; Ohtani et al., 1998; Hayashi et al., 1999; Meidan et al., 1999).

As alterações vasculares que ocorrem durante a luteólise inicial incluem aumento agudo no fluxo sanguíneo, que, pela análise pelo Doppler, é expresso por aumento da área colorida quando comparada à de um CL que não está em luteólise (Acosta et al., 2002). No entanto, essa mudança não é observada após a injeção de PGF_{2α} em CL inicial. De acordo com Acosta et al. (2002), estes achados sugerem que tais alterações vasculares são estágio e PGF_{2α}-dependentes. Ainda, é necessário que haja a indução de liberação local de peptídeos vasoativos (ET-1 e Ang II) que induzam diminuição do suprimento sanguíneo (fluxo) e, conseqüentemente, resultem em vasoconstrição.

O aumento do fluxo sanguíneo intraluteal, que ocorre inicialmente de maneira aguda de meia hora a duas horas após a administração de PGF_{2α}, pode ser crucial para estimular as células endoteliais luteais a produzirem e liberarem substâncias vasoativas necessárias para desencadear a cascata de luteólise. Esta hipótese é suportada pelo fato de a liberação local de ET-1 (Ohtani et al., 1998) e a de Ang II (Hayashi et al., 2001) no CL maduro aumentarem de duas a quatro horas após a administração de PGF_{2α} *in vivo*, quando o aumento do fluxo sanguíneo intraluteal é proeminente. Além disso, a ET-1 inibe a liberação P4 em cultura de células luteínicas (Girsh et al., 1996a; Miyamoto et al., 1997a). Do mesmo modo, a Ang II também inibe a secreção local de P4 em CL maduro (Hayashi et al., 1999), mas estimula a liberação desse esteroide em CL inicial (Kobayashi et al., 2001b; Acosta et al., 2003).

Perspectivas futuras e conclusão

A vascularização e seus fatores possuem um papel fundamental em todo o processo de formação, manutenção e regressão das estruturas ovarianas, além de constituírem potenciais candidatos a explicar o desvio



folicular e outras mudanças no ovário.

O uso do Doppler colorido tem potencial uso para auxiliar a investigação da vascularização do foliculo antes e durante o desvio, assim como no processo de ovulação. Esta é uma ferramenta que apresenta alta sensibilidade e acurácia, além do fato de ser uma técnica pouco invasiva, que permite manter o animal e não requer procedimentos cirúrgicos para monitoramento.

Com o desenvolvimento da tecnologia de fabricação e aumento do volume de comercialização do Doppler colorido, o seu custo tende a ser barateado, permitindo sua utilização de forma mais ampla a campo. Assim, esta é uma potencial ferramenta que poderá antecipar e indicar, com maior precisão, futuras perdas gestacionais, sejam elas devido à deficiência de vascularização do CL ou do embrião. Outra aplicação desta ferramenta inclui, por exemplo, uma avaliação adicional do CL de receptoras de embrião, no momento da inovulação.

Referências

- Acosta TJ, Hayashi KG, Ohtani M, Miyamoto A.** Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reproduction*, v.125, p.759-767, 2003.
- Acosta TJ, Miyamoto A.** Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. *Anim Reprod Sci*, v.82/83, p.127-140, 2004.
- Acosta TJ, Yoshizawa N, Ohtani M, Miyamoto A.** Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F₂ α injection in the cow. *Biol Reprod*, v.66, p.651-658, 2002.
- Adams GP.** Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J Reprod Fertil Suppl*, n.54, p.17-32, 1999.
- Araújo VR, Duarte AB, Bruno JB, Pinho Lopes CA, Figueiredo JR.** Importance of vascular endothelial growth factor (VEGF) in ovarian physiology of mammals. *Zygote*, Oct 13:1-10, 2011.
- Azmi TI, O'Shea JD, Lee CS, Rodgers RJ.** Effects of a synthetic prostaglandin analogue, cloprostenol, on the corpus luteum of the guinea pig. *Prostaglandins*, v.24, p.519-526, 1982.
- Barboni B, Turriani M, Galeati G, Spinaci M, Bacci ML, Forni M, Mattioli M.** Vascular endothelial growth factor production in growing pig antral follicles. *Biol Reprod*, v.63, p.858-864, 2000.
- Beckman JD, Grazul-Bilska AT, Johnson ML, Reynolds LP, Redmer DA.** Isolation and characterization of ovine luteal pericytes and effects of nitric oxide on pericyte expression of angiogenic factors. *Endocrine*, v.29, p.467-476, 2006.
- Berisha B, Schams D.** Ovarian function in ruminants. *Domest Anim Endocrinol*, v.29, p.305-317, 2005.
- Berisha B, Schams D, Kosmann M, Amselgruber W.** Expression and localisation of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor during the final growth of bovine ovarian follicles. *J Endocrinol*, v.167, p.371-382, 2000.
- Binelli M, Thatcher WW, Mattos R, Baruselli PS.** Anti-luteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology*, v.56, p.1451-1463, 2001.
- Campbell BK, Scaramuzzi RJ, Webb R.** Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *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.
- Fortune JE.** Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol Reprod*, v.50, p.225-232, 1994.
- Fraser HM, Lunn SF.** Regulation and manipulation of angiogenesis in the primate corpus luteum. *Reproduction*, v.121, p.355-362, 2001.
- Gastal EL, Donadeu FX, Gastal MO, Ginther OJ.** Echotextural changes in the follicular wall during follicle deviation in mares. *Theriogenology*, v.52, p.803-814, 1999.
- Gaytan F, Morales C, Garcia-Pardo L, Reymundo C, Bellido C, Sanchez-Criado JE.** A quantitative study of changes in the human corpus luteum microvasculature during the menstrual cycle. *Biol Reprod*, v.60, p.914-919, 1999.
- 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, Checure CM, Beg MA.** Dose response study of intrafollicular injection of insulin-like growth factor-1 on follicular-fluid factors and follicle dominance in mares. *Biol Reprod*, v.70, p.1063-1069, 2004.
- Girsh E, Milvae R, Wang W, Meidan R.** Effects of endothelin-1 on bovine luteal cell function; role in prostaglandin F₂ α -induced antisteroidogenic action. *Endocrinology*, v.137, p.1306-1312, 1996a.
- Girsh E, Wang W, Mamluk R, Arditi F, Friedman A, Milvae RA, Meidan R.** Regulation of endothelin-1 expression in the bovine corpus luteum: elevation by prostaglandin F₂ α . *Endocrinology*, v.137, p.5191-5196, 1996b.
- Grazul-Bilska A, Navanukraw C, Johnson M, Arnold D, Reynolds L, Redmer D.** Expression of endothelial



- nitric oxide synthase in the ovine ovary throughout the estrous cycle. *Reproduction*, v.132, p.579-587, 2006.
- Grazul-Bilska AT, Navanukraw C, Johnson ML, Vonnahme KA, Ford SP, Reynolds LP, Redmer DA.** Vascularity and expression of angiogenic factors in bovine dominant follicles of the first follicular wave. *J Anim Sci*, v.85, p.1914-1922, 2007.
- Greenaway J, Gentry PA, Feige JJ, LaMarre J, Petrik JJ.** Thrombospondin and vascular endothelial growth factor are cyclically expressed in an inverse pattern during bovine ovarian follicle development. *Biol Reprod*, v.72, p.1071-1078, 2005.
- Hayashi K, Acosta TJ, Berisha B, Kobayashi S, Ozawa T, Fukuda R, Kojima A, Othani M, Schams D, Miyamoto A.** Real-time changes in the local angiotensin system and prostaglandin production in the regressing corpus luteum in the cow. *Biol Reprod*, v.64(suppl 1), p.132, 2001. (abstract 66).
- Hayashi K, Miyamoto A.** Angiotensin II interacts with prostaglandin F2a and endothelin-1 as a local luteolytic factor in the bovine corpus luteum in vitro. *Biol Reprod*, v.60, p.1104-1109, 1999.
- Jablonka-Sharif A, Fricke PM, Grazul-Bilska AT, Reynolds LP, Redmer DA.** Size, number, cellular proliferation and atresia of gonadotropin-induced follicles in ewes. *Biol Reprod*, v.51, p.531-540, 1994.
- Jiang JY, Macchiarelli G, Tsang BK, Sato E.** Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles. *Reproduction*, v.125, p.211-223, 2003.
- Knickerbocker JJ, Wiltbank MC, Niswender GD.** Mechanisms of luteolysis in domestic livestock. *Domest Anim Endocrinol*, v.5, p.91-107, 1988.
- Knight PG, Glister C.** Potential local regulatory functions of inhibins, activins and follistatins in the ovary. *Reproduction*, v.121, p.503-512, 2001.
- Kobayashi S, Acosta TJ, Hayashi K, Berisha B, Ozawa T, Ohtani M, Schams D, Miyamoto A.** Intraluteal release of prostaglandin F2 and E2 during corpora lutea development in the cow. *J Reprod Dev*, v.48, p.583-590, 2001a.
- Kobayashi S, Berisha B, Amselburger W, Schams D, Miyamoto A.** Production and localisation of angiotensin II in the bovine early corpus luteum: a possible interaction with luteal angiogenic factors and prostaglandin F2a. *J Endocrinol*, v.170, p.369-380, 2001b.
- Kobayashi S, Miyamoto A, Berisha B, Schams D.** Growth hormone, but not luteinizing hormone, acts with luteal peptides on prostaglandin F2 and progesterone secretion by bovine corpora lutea in vitro. *Prostaglandins Lipid Mediat*, v.63, p.79-92, 2001c.
- Macchiarelli G, Jiang JY, Nottola SA, Sato E.** Morphological patterns of angiogenesis in ovarian follicle capillary networks. A scanning electron microscopy study of corrosion cast. *Microsc Res Tech*, v.69, p.459-468, 2006.
- Mattioli M, Barboni B, Turriani M, Galeati G, Zannoni A, Castellani G, Berardinelli P, Scapolo PA.** Follicle activation involves vascular endothelial growth factor production and increased blood vessel extension. *Biol Reprod*, v.65, p.1014-1019, 2001.
- 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*, v.54, p.3-16, 1999.
- Meidan R, Milvae RA, Weiss S, Levy N, Friedman A.** Intraovarian regulation of luteolysis. *J Reprod Fertil Suppl*, v.54, p.217-228, 1999.
- Miyamoto A, Kobayashi S, Arata S, Ohtani M, Fukui Y, Schams D.** Prostaglandin F2a promotes the inhibitory action of endothelin-1 on the bovine luteal function in vitro. *J Endocrinol*, v.152, p.R7-R11, 1997a.
- Miyamoto A, Ohtani M, Kobayashi S, Hayashi K, Sakai A, Acosta TJ, Ozawa T, Fukui Y.** Mechanisms of luteolysis during the estrous cycle in ruminants. *J Reprod Dev*, v.43, p.j75-j81, 1997b.
- Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW.** Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev*, v.80, p.1-29, 2000.
- Ohtani M, Kobayashi S, Miyamoto A, Hayashi K, Fukui Y.** Real-time relationships between intraluteal and plasma concentrations of endothelin, oxytocin and progesterone during prostaglandin F2a-induced luteolysis in the cow. *Biol Reprod*, v.58, p.103-108, 1998.
- Oliveira MEF, Ferreira RM, Mingoti GZ.** Controle do crescimento e da seleção folicular por fatores locais e sistêmicos na espécie bovina. *Rev Bras Reprod Anim*, v.35, p.418-432, 2011
- O'Shea JD, Hay MF, Cran DG.** Ultrastructural changes in the theca interna during follicular atresia in sheep. *J Reprod Fertil*, v.54, p.183-187, 1978.
- Rathbone MJ, Kinder JE, Fike K, Kojima F, Clopton D, Ogle CR, Bunt CR.** Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. *Adv Drug Deliv Rev*, v.50, p.277-320, 2001.
- Redmer DA, Reynolds LP.** Angiogenesis in the ovary. *Rev Reprod*, v.1, p.182-192, 1996.
- Reynolds L, Grazul-Bilska A, Redmer D.** Angiogenesis in the corpus luteum. *Endocrine*, v.12, p.1-9, 2000.
- Reynolds LP, Killilea SD, Redmer DA.** Angiogenesis in the female reproductive system. *FASEB J*, 6, 886-892, 1992.
- Reynolds LP, Redmer DA.** Growth and development of the corpus luteum. *J Reprod Fertil Suppl*, v.54, p.181-191, 1999.



- Richards JS.** Ovulation: new factors that prepare the oocyte for fertilization. *Mol Cell Endocrinol*, v.234, p.75-79, 2005.
- Robinson RS, Woad KJ, Hammond AJ, Laird M, Hunter MG, Mann GE.** Angiogenesis and vascular function in the ovary. *Reproduction*, v.138, p.869-881, 2009.
- Rosiansky-Sultan M, Klipper E, Spanel-Borowski K, Meidan R.** Inverse relationship between nitric oxide synthases and endothelin-1 synthesis in bovine corpus luteum: interactions at the level of luteal endothelial cell. *Endocrinology*, v.147, p.5228-5235, 2006.
- Schams D, Berisha B.** Regulation of corpus luteum function in cattle-an overview. *Reprod Domest Anim*, v.39, p.241-251, 2004.
- Siddiqui MAR, Almamun M, Ginther OJ.** Blood flow in the wall of the preovulatory follicle and its relationship to pregnancy establishment in heifers. *Anim Reprod Sci*, v.113, p.287-292, 2009
- Silva LA, Gastal EL, Gastal MO, Beg MA, Ginther OJ.** Relationship between vascularity of the preovulatory follicle and establishment of pregnancy in mares. *Anim Reprod*, v.3, p.339-346, 2006.
- Smitz JE, Cortvindt RG.** The earliest stages of folliculogenesis in vitro. *Reproduction*, v.123, p.185-202, 2002.
- 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*, v.61, p.71-90, 2003.
- Wiltbank MC, Dysko RC, Gallagher KP, Keyes PL.** Relationship between blood flow and steroidogenesis in the rabbit corpus luteum. *J Reprod Fertil*, v.84, p.513-520, 1988.
- Wolfenson D, Thatcher WW, Drost M, Caton D, Foster DB, LeBlanc MM.** Characteristics of prostaglandin F measurements in the ovarian circulation during the oestrous cycle and early pregnancy in the cow. *J Reprod Fertil*, v.75, p.491-499, 1985.
- Yang MY, Fortune JE.** Vascular endothelial growth factor stimulates the primary to secondary follicle transition in bovine follicles in vitro. *Mol Reprod Dev*, v.74, p.1095-1104, 2007.
- Zeleznik AJ, Schuler HM, Reichert LE.** Gonadotropin-binding sites in the rhesus monkey ovary: role of the vasculature in the selective distribution of human chorionic gonadotropin to the preovulatory follicle. *Endocrinology*, v.109, p.356-362, 1981.
-