



Participação de membros da superfamília TGF beta na foliculogênese, luteinização e luteólise

Role of TGF-beta superfamily members during folliculogenesis, luteinization and luteolysis

Cristina Sangoi Haas¹, Monique Tomazele Rovani^{1,2}, Paulo Bayard Dias Gonçalves²,
Bernardo Garziera Gasperin^{1,‡}

¹Universidade Federal de Pelotas, Núcleo de Ensino e Pesquisa em Reprodução Animal (ReproPEL), Capão do Leão, RS, Brasil.

²Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), PPGMV, Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

Fatores produzidos no ovário como os membros da família dos fatores de crescimento transformantes beta (TGFβ) e seus receptores, são essenciais durante o desenvolvimento folicular. Membros desta superfamília desempenham papel chave na fertilidade e diferenças espécie-específicas na regulação desses fatores têm sido descritas, envolvendo as funções ovarianas em condições fisiológicas ou patológicas. A proteína morfogenética óssea 15 (BMP15) e o fator de crescimento e diferenciação 9 (GDF9) destacam-se, pois desempenham papéis importantes na regulação do crescimento e da diferenciação folicular. Ainda, há evidências de que outras BMPs, ativinas, inibinas e seus receptores também possam estar envolvidos no controle da foliculogênese, ovulação/luteinização e luteólise. A maioria dos dados demonstram que os TGFs atuam regulando negativamente a síntese de progesterona, o que sugere envolvimento na inibição da luteinização e promoção da luteólise. O avanço no entendimento das funções destes fatores locais poderá possibilitar o desenvolvimento tanto de novas estratégias contraceptivas, como também para controle do ciclo estral ou menstrual.

Palavras-chave: fatores oocitários, foliculogênese, luteólise.

Abstract

Factors produced in the ovary, such as transforming growth factors beta members (TGFβ) and their receptors, play a key role during follicular development. Members from this family have an important role in female fertility and species-specific differences in their regulation have been described, being involved in ovarian function regulation under both physiological and pathological conditions. Bone morphogenetic protein 15 (BMP15) and growth and differentiation factor 9 (GDF9) are the most studied factors due to their involvement in the regulation of follicular development and differentiation. Besides BMP15 and GDF9, other BMPs, activins, inhibins and their receptors may be involved in the control of folliculogenesis, ovulation/luteinization and luteolysis. Most studies demonstrate that TGFβ members negatively regulate progesterone synthesis, suggesting an involvement in luteolysis. The advance in the knowledge of the function of these local factors may allow the development of new contraceptive strategies as well as new approaches to control the estrous or menstrual cycle.

Keywords: oocyte factors, folliculogenesis, luteolysis.

Introdução

O controle endócrino da diferenciação folicular, ovulação e luteinização é bem estabelecido, principalmente em humanos e animais de produção. Entretanto, fatores produzidos no ovário são reguladores do ambiente folicular de maneira autócrina e/ou parácrina, determinando o destino de cada folículo (Ginther et al., 1996). Da mesma forma, o corpo lúteo (CL), também tem sua função regulada por fatores locais, especialmente no controle da síntese de progesterona (P4) e durante sua regressão (Nio-Kobayashi et al., 2015; Zhang et al., 2015; Gregson et al., 2016). Os TGFs têm despertado a atenção de pesquisadores, sendo a regulação e função destes fatores amplamente descritas no recrutamento e desenvolvimento folicular e pouco investigadas no controle da esteroidogênese, ovulação/luteinização e luteólise (Tab. 1). A superfamília TGFβ é composta por subfamílias, como a das proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs; 20 membros), ativina/inibina, fatores de crescimento e diferenciação (GDFs; 9 membros), hormônio antimulleriano (AMH), além de outras proteínas (revisado por Knight e Glister (2006). Estudos demonstram que a manipulação dos TGFs pode ter aplicação em técnicas de controle do ciclo estral em diversas espécies como ovinos, bovinos, equinos e cervídeos (Galloway et al., 2000; Souza et al., 2001; Hanrahan et al., 2004; Juengel et al., 2009; Eckery et al., 2014; Davis et al., 2018). Além disso, o envolvimento destes fatores na etiopatogenia de transtornos ovarianos, justifica o interesse pelo entendimento da regulação e função dos mesmos. Portanto, essa revisão irá abordar os principais TGFs relacionados à regulação ovariana, especialmente BMPs, GDFs e receptores associados nos processos de luteinização e luteólise em espécies monovulares.

[‡]Correspondência: bggasperin@gmail.com

Recebido: 20 de dezembro de 2018

Aceito: 5 de abril de 2019



Tabela 1. Estudos investigando a regulação e função de membros da superfamília TGF beta na fisiologia ovariana.

Autores	Espécie	Fator(es) avaliado(s)	Principais resultados
Spicer et al., 2008	Bovino	GDF9	Regulação da esteroidogênese folicular.
Zhao et al., 2010	Humano	BMP15 e GDF9	Aumento da expressão de GDF9 e BMP15 em pacientes com síndrome do ovário policístico.
Patino et al., 2017	Humano	BMP15	Mutações que afetam os níveis de BMP15 estão associadas com falência ovariana precoce.
Galloway et al., 2000; Hanrahan et al., 2004	Ovino	BMP15 e GDF9	Mutações inativadoras nos genes BMP15 e GDF9 em heterozigose (redução de proteína funcional) induzem a superovulação enquanto que, em homozigose, induzem à esterilidade.
Mcnatty et al., 2009	Ovino	BMP15	Mutação no gene da BMP15 em heterozigose induz maior responsabilidades das CG ao LH.
Foroughinia et al., 2017	Ovino	GDF9 e BMP15	Maior expressão de BMP15 e menor expressão de GDF9 em CCOs de folículos pequenos em comparação com folículos grandes.
Juengel et al., 2004; Juengel et al., 2009	Ovino e bovino	GDF9 e BMP15	Imunizações contra as proteínas alteram a foliculogênese, aumentando a taxa ovulatória ou inibindo o desenvolvimento folicular.
Davis et al., 2018	Equinos	GDF9 e BMP15	Imunização contra GDF9 diminuiu o diâmetro do folículo pré-ovulatório e a manifestação de estro. Imunização contra BMP15 afetou negativamente a taxa ovulatória e induziu luteinização/ovulação de folículos pequenos.
Eckery et al., 2014	Cervídeos	BMP15 e GDF9	Imunização contra BMP15 aumentou o número de nascidos/fêmea. Vacinação contra GDF9 afetou negativamente a fertilidade.
Selvaraju et al., 2013	Bovino	BMP2 e BMPR2	Maior expressão de BMP2 e BMPR2 na fase de dominância folicular e em folículos pré-ovulatórios. BMP2 estimula síntese de E2 e inibe P4.
Yamashita et al., 2010	Bovino	BMP4	Suprime a síntese de P4 inibindo a expressão da enzima StAR.
Kayani et al., 2009	Bovino	BMP6	Inibe a síntese de P4 in vitro, diminuindo a expressão das enzimas CYP11A1, HSD3B1 e CYP19A1
Glister et al., 2005	Bovino	BMP-4, -6 e -7	Inibiram a síntese de andrógenos na teca, diminuindo a enzima HSD17A.
Glister et al., 2004	Bovino	BMP-4, -6 e -7	Aumentam a síntese de E2 estimulada por IGF na CG.
Akiyama et al., 2014	Humano	BMP6	Associada a supressão de inibidores de proteases e leucócitos e ao aumento na atração de neutrófilos pelas CG.
Poole et al., 2016	Bovino	AMH	CG de folículos antrais pequenos expressam mais RNAm de AMH e AMHR2. AMH inibiu a expressão de CYP19A1 na CG in vitro.
Campbell et al., 2012	Ovino	AMH	Imunização contra AMH diminuiu o número de folículos pré-antrais e antrais pequenos e aumentou folículos antrais maiores e a taxa ovulatória.
Mulsant et al., 2001; Souza et al., 2001	Ovino	BMPR1B	Mutação no receptor associada a aumento na taxa ovulatória e ao número de nascidos.
Rajesh et al., 2017	Bubalino	BMP-4 e -7	Estimulam a produção de P4 e a sobrevivência celular.
Chang et al., 2013	Humano	BMP15	Diminui a expressão de StAR e produção de P4.
Myers et al., 2008; Kayani et al., 2009; O'Connell et al., 2016	Humano, ovino e bovino	Ativina A	Reduz a síntese de P4.
Nio-kobayashi et al., 2015	Humano	BMP-2, -4 e -6 e receptores	São mais expressos em CL durante a regressão, sendo negativamente regulados pelo hCG.
Gregson et al., 2016	Bovino	BMP2	CL com produção diminuída de P4 apresentam uma elevação na expressão de BMP2

Abreviações: CG: células da granulosa; CCO: complexo cumulus-oócito; E2: estrógeno; P4: progesterona; CL: corpo lúteo.



Principais membros da superfamília TGF β : as proteínas oocitárias BMP15 e GDF9

A BMP15 e o GDF9 são conhecidos como proteínas oocitárias por terem síntese predominante ou exclusiva nos oócitos, destacando-se por desempenharem papéis importantes na regulação do crescimento e diferenciação folicular desde a foliculogênese pré-antral até a ovulação. À estas proteínas foram atribuídas funções no desenvolvimento folicular, na maturação oocitária, na produção de esteroides, na expressão de receptores de gonadotrofinas e na determinação da taxa ovulatória (Chang et al., 2013), existindo também evidências do envolvimento destas nos processos de ovulação/luteinização (Juengel et al., 2004).

O GDF9 parece atuar na regulação da esteroidogênese em bovinos (Spicer et al., 2008), e na ovulação/luteinização em ovinos (Juengel, 2002), sendo observadas funções distintas nas diferentes espécies e modelos utilizados (Mcnatty et al., 2005; Spicer et al., 2006). Em mulheres, após a indução da ovulação, há um aumento da expressão de *GDF9* e *BMP15* nas pacientes com síndrome do ovário policístico (SOP) em comparação ao grupo controle (Zhao et al., 2010). Ainda, recentemente, identificou-se que mutações que afetam os níveis de BMP15 estão associadas com falência ovariana precoce (Patino et al., 2017).

Em ovelhas foi observado que mutações espontâneas inativadoras nos genes *BMP15* e *GDF9* em heterozigose geram redução nos níveis de proteína funcional e induzem a superovulação, enquanto que em homozigose, induzem à esterilidade (Galloway et al., 2000; Hanrahan et al., 2004). Os diferentes genótipos sugerem que estas proteínas são indispensáveis no desenvolvimento folicular inicial mas, posteriormente, atuam como inibidores da diferenciação folicular (Juengel et al., 2009).

Em relação a BMP15, foi observado que quando há diminuição nos níveis funcionais, há também a diferenciação precoce, resultando em maior responsividade ao LH nas células da granulosa (CG) ovina (Mcnatty et al., 2009). Concordando com a hipótese de um efeito inibitório da BMP15 sobre a diferenciação, complexos cumulus-oócitos (CCOs) de folículos pequenos apresentam maior expressão de RNAm de *BMP15* em comparação aos de grandes folículos antrais (Foroughinia et al., 2017).

De forma similar ao observado nas mutações em heterozigose, a imunização contra BMP15 e GDF9 por curto período promoveu aumento na taxa ovulatória em ovinos e bovinos (Juengel et al., 2004; Juengel et al., 2009), sem efeitos negativos na fecundação, desenvolvimento embrionário e gestação em ovinos (Juengel et al., 2004). Por outro lado, a imunização passiva, com anticorpos bloqueadores da atividade de GDF9 ou BMP15, afetou negativamente a ovulação, função luteal e síntese de P4 (Juengel, 2002) e a imunização por períodos prolongados bloqueou o desenvolvimento folicular em ovinos (Mcnatty et al., 2005).

Em éguas foi observado que a imunização contra GDF9 não afetou a taxa de ovulação, porém diminuiu o diâmetro do folículo pré-ovulatório e a manifestação de estro, enquanto a imunização contra BMP15 afetou negativamente a taxa ovulatória e resultou em luteinização/ovulação de folículos pequenos (Davis et al., 2018). Em cervídeos, a imunização contra BMP15 aumentou o número de nascidos/fêmea enquanto que a vacinação contra GDF9 afetou negativamente a fertilidade (Eckery et al., 2014).

Apesar das evidências indicando um potencial uso da imunização contra BMP15 e GDF9 no controle reprodutivo em diferentes espécies, os mecanismos envolvidos ainda não são completamente conhecidos. É possível que os diferentes efeitos observados sejam decorrentes de diferenças específicas e da variabilidade na resposta humoral pelos diferentes peptídeos ou adjuvantes utilizados. Desta maneira, o melhor entendimento da expressão e função do sistema BMP/GDF no ovário são fundamentais para o desenvolvimento de novas tecnologias para o controle da função ovariana, tanto no sentido de promover efeitos contraceptivos como melhorias nas taxas de fertilização.

Expressão e função de TGFs e seus receptores na foliculogênese antral

Uma vez que os TGF β sintetizados no folículo atuam em sinergia, ou muitas vezes como antagonistas, é necessário investigar não apenas as proteínas oocitárias, mas também as produzidas por outros tipos celulares. Enquanto o GDF9 e a BMP15 parecem regular principalmente a diferenciação (Spicer et al., 2008; McNatty et al., 2009), regulando a sensibilidade das células foliculares às gonadotrofinas, as BMPs 4, 6 e 7, parecem regular a esteroidogênese (Glister et al., 2004). Recentemente, nosso grupo investigou a regulação das *BMPs 1, 2, 4 e 6* (dados não publicados), do GDF9 (Haas et al., 2016) e dos receptores de GDF9 e BMP15 (Gasperin et al., 2014), durante a divergência folicular em bovinos. O padrão de expressão da *BMP4* sugere uma função na proliferação celular e/ou esteroidogênese, enquanto que a expressão de *BMP2* está positivamente associada aos níveis de estradiol (E2) entre o pico de LH e a ovulação.

A maior expressão de *BMP2* e *BMPR2* foi observada na fase de dominância folicular e em folículos pré-ovulatórios, sendo que a adição de BMP2 ao cultivo de CG bovina aumenta a síntese de E2 e diminui a de P4 (Selvaraju et al., 2013). Estudos funcionais demonstram que a BMP4 suprime a síntese de progesterona inibindo a expressão do gene da enzima StAR (Yamashita et al., 2010), responsável pela internalização de colesterol na mitocôndria. À BMP6 também foi atribuída uma função inibitória na luteinização, uma vez que inibe a síntese de P4 *in vitro*, diminuindo a expressão das enzimas esteroidogênicas CYP11A1, HSD3B1 e CYP19A1 (Kayani et al., 2009).

Em cultivo de células da teca bovina, as BMPs 4, 6 e 7 inibiram a síntese de andrógenos, diminuindo a



enzima HSD17A (Glister et al., 2005). Em cultivo de CG, as BMPs 4, 6 e 7, aumentam a síntese de E2 estimulada por IGF (Glister et al., 2004) e suprimem a secreção de P4. Acredita-se que a BMP6 possa estar envolvida no processo ovulatório, já que esta fora relacionada com a supressão de inibidores de proteases e leucócitos e com aumento na atração de neutrófilos pelas CG humanas *in vitro* (Akiyama et al., 2014).

Outro importante membro da família β TGFAMH, marcador da reserva ovariana expresso exclusivamente nas CG, reduz a responsividade de folículos antrais pequenos ao FSH (Knight e Glister, 2006). As CG bovina provenientes de folículos antrais pequenos expressam maiores níveis de RNAm de *AMH* e *AMHR2* (Poole et al., 2016), sendo que nosso grupo detectou maiores níveis de RNAm dos dois genes na CG de folículos dominantes saudáveis, em comparação aos subordinados (Ilha et al., 2016). Em CG bovina o tratamento *in vitro* com BMP-2, -6 ou -15 aumenta a expressão de *AMH* e *AMHR2* (Poole et al., 2016), enquanto que o tratamento com AMH inibiu a expressão de RNAm da enzima *CYP19A1* nas células da granulosa.

Conforme relatado para BMP15 e GDF9, a imunização contra AMH alterou o desenvolvimento folicular em ovelhas, sendo observada diminuição de folículos pré-antrais e antrais pequenos, aumento de folículos antrais maiores e da taxa ovulatória (Campbell et al., 2012). Os estudos sugerem que BMP15, GDF9 e AMH são essenciais para o desenvolvimento folicular inicial, mas atuam como inibidores da diferenciação no crescimento folicular final, enquanto que as demais BMPs parecem estar mais envolvidas na regulação da esteroidogênese ovariana.

A sinalização das proteínas BMP15 e GDF9 é iniciada através da ligação ao receptor BMPR2. Após a ligação das proteínas a este receptor, a sinalização da BMP15 é continuada através do receptor BMPR1B (ALK6), enquanto que o GDF9 ativa o receptor TGFBR1 (ALK5). Após, a sinalização ocorre a partir da ativação das R-SMADs, que regulam a expressão gênica (revisado por Knight and Glister (2006).

Importantes funções no controle da foliculogênese foram atribuídas ao BMPR1B, envolvido na sinalização da BMP15, e das BMPs 2 e 4. Uma mutação neste receptor está associada a aumento na taxa ovulatória em ovinos (Mulsant et al., 2001; Souza et al., 2001), sendo que a introdução desta mutação em rebanhos aumenta o número de cordeiros nascidos por fêmea. Além disto, ambos BMPR-1A e -1B parecem atuar no controle do crescimento e regressão folicular, evitando a formação de tumores (Edson et al., 2010). A expressão dos receptores (*BMPR1A*, *BMPR1B*, *BMPR2* e *TGFBR1*) está negativamente correlacionada aos níveis de P4, o que sugere uma inibição da luteinização (dados não publicados).

A expressão de RNAm dos receptores do GDF9 (*BMPR2* e *TGFRB1*) não é diferentemente regulada nas CG de folículos dominantes e subordinados (Gasperin et al., 2014). No mesmo estudo, demonstrou-se que o *BMPR1B* é mais expresso em folículos subordinados atresicos e após o tratamento intrafolicular com inibidores do desenvolvimento folicular. Portanto, pode-se inferir que o receptor BMPR1B, além de regular a responsividade ao LH, também pode influenciar a atresia.

Fatores da superfamília TGF β na luteinização e luteólise

A luteinização folicular é caracterizada pela diminuição na expressão de aromatase (*CYP19A1*) nas CG e aumento na expressão de HSD3B1, o que repercute em diminuição da síntese de E2 e aumento da síntese de P4, respectivamente. Este processo é crucial para a formação do CL e, conseqüentemente, estabelecimento e manutenção de gestação. Estudos *in vitro* demonstraram que as BMPs podem possuir efeitos opostos à gonadotrofina coriônica humana (hCG), suprimindo a produção de progesterona nas CG humana luteinizadas (Chang et al., 2013; Nio-Kobayashi et al., 2015; Zhang et al., 2015). Além disso, em CG bovina a BMP2 aumenta a síntese de E2 e diminui a de P4 (Selvaraju et al., 2013) e, em humanos, eleva a expressão de aromatase (Yamashita et al., 2010). O tratamento com GDF8 em CG humana regula negativamente a expressão da enzima *STAR*, diminuindo a produção de P4 (Fang et al., 2015).

De forma similar ao observado para a BMP2, *in vitro*, as BMPs 4 e 7 suprimem a secreção de progesterona pelas CG bovina (Glister et al., 2004), inibindo a expressão da *STAR* (Yamashita et al., 2010; Zhang et al., 2015). O efeito inibidor da luteinização parece ser mediado pelo BMPR1A (Zhang et al., 2015). Contrariando os dados acima descritos, em cultivo de células luteais de búfalas, as BMPs 4 e 7 estimulam a produção de progesterona e a sobrevivência celular, sugerindo que estas BMPs regulam positivamente a função luteal através das enzimas *CYP11A1*, *STAR* e *3BHSD* (Rajesh et al., 2017).

Aparentemente, fatores produzidos pelos oócitos também previnem a luteinização prematura. Em CG de mulheres submetidas à aspiração folicular, demonstrou-se que a BMP15 diminui os níveis e expressão de *STAR* e produção de progesterona (Chang et al., 2013). Em bovinos, Chang et al. (2013) demonstraram que o efeito supressor da BMP15 sobre a síntese de P4 é inibido após bloqueio do BMPR1A.

Assim como algumas BMPs, as ativinas (A, B e AB) regulam a esteroidogênese ovariana, aumentando os níveis da aromatase e diminuindo a expressão de *STAR* e síntese de P4 em cultivo de CG humana luteinizadas (Chang et al., 2014). A ativina A reduz a luteinização de CG *in vitro* em humanos e bovinos (Myers et al., 2008; Kayani et al., 2009; O'Connell et al., 2016), diminuindo a produção de P4 (Yamashita et al., 2010). A elevação da ativina pode contribuir para a persistência folicular prolongada, baixos níveis de apoptose e alterações endócrinas em bovinos com cistos ovarianos (Stangaferro et al., 2014). Observa-se maiores níveis sistêmicos de ativina em ovelhas com baixa sobrevivência embrionária e CG luteinizadas tratadas com ativina A possuem reduzida secreção de P4 (O'Connell et al., 2016).



As inibinas também são reguladas ao longo do ciclo menstrual em mulheres, sendo que a inibina B parece ser formada no folículo pré-ovulatório tendo valores significativamente mais baixos na fase luteal, enquanto que a inibina A está mais elevada no meio da fase luteal (Groome et al., 1996). O tratamento com BMPs em CG bovina cultivadas *in vitro* aumenta a secreção de inibina e ativina (Glister et al., 2004), enquanto que as BMPs 4 e 6 estimulam a expressão da inibina (inhBB) em células luteais humanas (Nio-Kobayashi et al., 2015), demonstrando a interação entre os fatores.

Há também evidências da participação de membros da superfamília TGF beta na luteólise, ou seja, na regressão do CL quando não há o estabelecimento da gestação, oportunizando nova chance de concepção. O tratamento *in vivo* e *in vitro* com prostaglandina F2 alfa (PGF), principal agente luteolítico nas espécies domésticas, induz a expressão do TGFβ1 no CL bovino (Hou et al., 2008). Este fator antagoniza as ações de fatores de sobrevivência, aumentando a sensibilidade do CL aos estímulos apoptóticos, induzindo a luteólise. Do mesmo modo, as BMPs 2, 4 e 6 e seus receptores são mais expressos em CL de mulheres durante a regressão, sendo negativamente reguladas pelo hCG (Nio-Kobayashi et al., 2015), sugerindo envolvimento na luteólise. Recentemente, observou-se que os genes das BMPs 1, 2, 3, 4 e 6 e receptores associados são regulados na luteólise funcional e morfológica em bovinos (autor, instituição, ano dados não publicados).

Corpos lúteos bovinos com produção diminuída de P4 (oriundos da indução da ovulação de folículos da primeira onda folicular), apresentam uma elevação na expressão de transcritos associados à luteólise como o BMP2 (Gregson et al., 2016). Esta expressão aumentada de BMP2 também foi relacionada à regressão da estrutura luteal em humanos (Nio-Kobayashi et al., 2015). O aumento da expressão da BMP2 no CL em regressão pode ser inibido pela hCG, um potente fator luteotrófico, tanto em sistemas *in vivo* como *in vitro* (Nio-Kobayashi et al., 2015). A BMP2 diminui a comunicação intercelular (junções GAP) em CG humana luteinizadas, diminuindo a expressão de Cx43, facilitando a luteólise (Wu et al., 2017).

De um modo geral, pode-se supor que as BMPs têm função de prevenir a luteinização durante a fase folicular do ciclo estral e promover a luteólise (Chang et al., 2014; Wu et al., 2017). No entanto, as funções dos TGFβ variam conforme o fator utilizado, a espécie de origem e o tipo de célula avaliada. Ainda, dados obtidos em modelos *in vivo* e *in vitro* são, às vezes, conflitantes. Por isso, estudos funcionais *in vivo* são necessários para identificar as funções precisas de cada componente no ovário.

Conclusão

A regulação e função dos TGFs estão mais estabelecidas ao longo do desenvolvimento folicular, sendo que a maior parte do conhecimento em espécies monovulatórias foi obtido nas espécies bovina, humana e, principalmente, ovina. Uma vez que marcadas diferenças foram descritas, o estudo em outras espécies, se faz necessário. Há também evidências suficientes para suportar a participação dos TGF na regulação da esteroidogênese, em eventos como luteinização e luteólise, especialmente em humanos e bovinos. A maioria dos dados demonstram que os TGF e seus receptores atuam regulando negativamente a síntese de progesterona, embora experimentos funcionais *in vivo* sejam necessários para melhor estabelecer a função fisiológica na ovulação/formação do CL e luteólise. A elucidação do papel dos fatores locais na fisiologia ovariana pode contribuir com o entendimento de processos patológicos bem como no desenvolvimento de tecnologias que tenham por objetivo a contracepção ou aumento da taxa ovulatória.

Agradecimentos

Este estudo foi apoiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; 309138/2017-5), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil - Código de Financiamento 001 (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS – Edital PRONEX 12/2014 -FAPERGS/CNPq, 16/2551-0000494-3).

Referências

- Akiyama I, Yoshino O, Osuga Y, Shi J, Takamura M, Harada M, Koga K, Hirota Y, Hirata T, Fujii T, Saito S, Kozuma S. The Role of Bone Morphogenetic Protein 6 in Accumulation and Regulation of Neutrophils in the Human Ovary. *Reprod Sci*, v.21, n.6, p.772-777, 2014.
- Campbell BK, Clinton M, Webb R. The role of anti-Mullerian hormone (AMH) during follicle development in a monovulatory species (sheep). *Endocrinology*, v.153, n.9, p.4533-43, 2012.
- Chang H-M, Cheng J-C, Klausen C, Leung PCK. BMP15 Suppresses Progesterone Production by Down-Regulating STAR via ALK3 in Human Granulosa Cells. *Mol Endocrinol*, v.27, n.12, p.2093-2104, 2013.
- Chang H-M, Cheng J-C, Klausen C, Taylor EL, Leung PC. Effects of recombinant activins on steroidogenesis in human granulosa-lutein cells. *J Clin Endocrinol Metab*, v.99, n.10, p.E1922-E1932, 2014.
- Davis KA, Klohonatz KM, Mora DSO, Twenter HM, Graham PE, Pinedo P, Eckery DC, Bruemmer JE. Effects of immunization against bone morphogenetic protein-15 and growth differentiation factor-9 on ovarian function in mares. *Anim Reprod Sci*, v.192, p.69-77, 2018.



- Eckery DC, Miller LA, Killian GJ, Denicola AJ.** Effects of Vaccination against GDF9 and BMP15 on Fertility and Ovarian Function in the White-tailed Deer. *Proceedings 26th Vertebr. Pest Conf.* R.M. Timm and J.M. O'Brien, Eds. Published at University of California, Davis, 2014, pp.391-395.
- Edson MA, Nalam RL, Clementi C, Franco HL, Demayo FJ, Lyons KM, Pangas SA, Matzuk MM.** Granulosa Cell-Expressed BMPR1A and BMPR1B Have Unique Functions in Regulating Fertility but Act Redundantly to Suppress Ovarian Tumor Development. *Mol Endocrinol*, v.24, n.6, p.1251-1266, 2010.
- Fang L, Chang H-M, Cheng J-C, Yu Y, Leung PCK, Sun Y-P.** Growth Differentiation Factor-8 Decreases StAR Expression Through ALK5-Mediated Smad3 and ERK1/2 Signaling Pathways in Luteinized Human Granulosa Cells. *Endocrinology*, v.156, n.12, p.4684-4694, 2015.
- Foroughinia G, Fazileh A, Eghbalsaid S.** Expression of genes involved in BMP and estrogen signaling and AMPK production can be important factors affecting total number of antral follicles in ewes. *Theriogenology*, v.91, p.36-43, 2017.
- Galloway SM, McNatty KP, Cambridge LM, Laitinen MP, Juengel JL, Jokiranta TS, McLaren RJ, LUIRO K, Dodds KG, Montgomery GW, Beattie AE, Davis GH, Ritvos O.** Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nat Genet*, v.25, n.3, p.279-83, 2000.
- Gasparin BG, Ferreira R, Rovani MT, Bordignon V, Duggavathi R, Buratini J, Oliveira JFC, Gonçalves PBD.** Expression of receptors for BMP15 is differentially regulated in dominant and subordinate follicles during follicle deviation in cattle. *Anim Reprod Sci*, v.144, n.3-4, p.72-78, 2014.
- Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K.** Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod*, v.55, n.6, p.1187-1194, 1996.
- 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, n.2, p.239-254, 2004.
- Glister C, Richards SL, Knight PG.** Bone Morphogenetic Proteins (BMP) -4, -6, and -7 Potently Suppress Basal and Luteinizing Hormone-Induced Androgen Production by Bovine Theca Interna Cells in Primary Culture: Could Ovarian Hyperandrogenic Dysfunction Be Caused by a Defect in Thecal BMP Signaling? *Endocrinology*, v.146, n.4, p.1883-1892, 2005.
- Gregson E, Webb R, Sheldrick EL, Campbell BK, Mann GE, Liddell S, Sinclair KD.** Molecular determinants of a competent bovine corpus luteum: first-vs final-wave dominant follicles. *Reproduction*, v.151, n.6, p.563-575, 2016.
- Groome NP, Illingworth PJ, O'brien M, Pai R, Rodger FE, Mather JP, Mcneilly AS.** Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*, v.81, n.4, p.1401-1405, 1996.
- Haas C, Rovani M, Oliveira F, Vieira A, Bordignon V, Gonçalves P, Ferreira R, Gasparin B.** Expression of growth and differentiation Factor 9 and cognate receptors during final follicular growth in cattle. *Anim Reprod*, v.13, n.4, p.756-761, 2016.
- Hanrahan JP, Grogan SM, Mulsant P, Mullen M, Davis GH, Powell R, Galloway SM.** Mutations in the Genes for Oocyte-Derived Growth Factors GDF9 and BMP15 Are Associated with Both Increased Ovulation Rate and Sterility in Cambridge and Belclare Sheep (*Ovis aries*). *Biol Reprod*, v.70, n.4, p.900-909, 2004.
- Hou X, Arvais EW, Jiang C, Chen D-B, Roy SK, Pate JL, Hansen TR, Rueda BR, Davis JS.** Prostaglandin F2 α Stimulates the Expression and Secretion of Transforming Growth Factor B1 Via Induction of the Early Growth Response 1 Gene (EGR1) in the Bovine Corpus Luteum. *Mol Endocrinol*, v.22, n.2, p.403-414, 2008.
- Ilha GF, Rovani MT, Gasparin BG, Ferreira R, de Macedo MP, Neto OA, Duggavathi R, Bordignon V, Gonçalves PB.** Regulation of Anti-Mullerian Hormone and Its Receptor Expression around Follicle Deviation in Cattle. *Reprod Domest Anim*, v.51, n.2, p.188-94, 2016.
- Juengel JL.** Growth Differentiation Factor 9 and Bone Morphogenetic Protein 15 Are Essential for Ovarian Follicular Development in Sheep. *Biol Reprod*, v.67, n.6, p.1777-1789, 2002.
- Juengel JL, Bodensteiner KJ, Heath DA, Hudson NL, Moeller CL, Smith P, Galloway SM, Davis GH, Sawyer HR, McNatty KP.** Physiology of GDF9 and BMP15 signalling molecules. *Anim Reprod Sci*, v.82-83, p.447-460, 2004.
- Juengel JL, Hudson NL, Berg M, Hamel K, Smith P, Lawrence SB, Whiting L, McNatty KP.** Effects of active immunization against growth differentiation factor 9 and/or bone morphogenetic protein 15 on ovarian function in cattle. *Reproduction*, v.138, n.1, p.107-114, 2009.
- Kayani AR, Glister C, Knight PG.** Evidence for an inhibitory role of bone morphogenetic protein(s) in the follicular-luteal transition in cattle. *Reproduction*, v.137, n.1, p.67-78, 2009.
- Knight PG, Glister C.** TGF- β superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction*, v.132, n.2, p.191-206, 2006.
- McNatty KP, Heath DA, Hudson NL, Lun S, Juengel JL, Moore LG.** Gonadotrophin-responsiveness of granulosa cells from bone morphogenetic protein 15 heterozygous mutant sheep. *Reproduction*, v.138, n.3, p.545-551, 2009.
- McNatty KP, Juengel JL, Reader KL, Lun S, Myllymaa S, Lawrence SB, Western A, Meerasahib MF, Mottershead DG, Groome NP, Ritvos O, Laitinen MPE.** Bone morphogenetic protein 15 and growth



- differentiation factor 9 co-operate to regulate granulosa cell function. *Reproduction*, v.129, n.4, p.473-480, 2005.
- Mulsant P, Lecerf F, Fabre S, Schibler L, Monget P, Lanneluc I, Pisselet C, Riquet J, Monniaux D, Callebaut I, Cribiu E, Thimonier J, Teyssier J, Bodin L, Cognié Y, Chitour N, Elsen J-M.** Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in Booroola Mérino ewes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v.98, n.9, p.5104-5109, 2001.
- Myers M, Van Den Driesche S, Mcneilly AS, Duncan WC.** Activin A reduces luteinisation of human luteinised granulosa cells and has opposing effects to human chorionic gonadotropin in vitro. *J Endocrinol*, v.199, n.2, p.201-212, 2008.
- Nio-Kobayashi J, Trendell J, Giakoumelou S, Boswell L, NICOL L, Kudo M, Sakuragi N, Iwanaga T, Duncan WC.** Bone Morphogenetic Proteins Are Mediators of Luteolysis in the Human Corpus Luteum. *Endocrinology*, v.156, n.4, p.1494-1503, 2015.
- O'Connell AR, McNatty KP, Hurst PR, Spencer TE, Bazer FW, Reader KL, Johnstone PD, Davis GH, Juengel JL.** Activin A and follistatin during the oestrous cycle and early pregnancy in ewes. *J Endocrinology*, v.228, n.3, p.193-203, 2016.
- Patino LC, Walton KL, Mueller TD, Johnson KE, Stocker W, Richani D, Agapiou D, Gilchrist RB, Laissue P, Harrison CA.** BMP15 Mutations Associated With Primary Ovarian Insufficiency Reduce Expression, Activity, or Synergy With GDF9. *J Clin Endocrinol Metab*, v.102, n.3, p.1009-1019, 2017.
- Poole DH, Ocón-Grove OM, Johnson AL.** Anti-Müllerian hormone (AMH) receptor type II expression and AMH activity in bovine granulosa cells. *Theriogenology*, v.86, n.5, p.1353-1360, 2016.
- Rajesh G, PAUL A, Mishra S, Bharati J, Thakur N, Mondal T, Soren S, Harikumar S, Narayanan K, Chouhan V.** Expression and functional role of Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) in cyclical corpus luteum in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Gen Comp Endocrinol*, v.240, p.198-213, 2017.
- Selvaraju S, Folger JK, Gupta PSP, Ireland JJ, Smith GW.** Stage-specific expression and effect of bone morphogenetic protein 2 on bovine granulosa cell estradiol production: regulation by cocaine and amphetamine regulated transcript. *Domest Anim Endocrinol*, v.44, n.3, p.115-120, 2013.
- Souza C, Macdougall C, Campbell B, Mcneilly A, Baird D.** The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPRI1B) gene. *J Endocrinol*, v.169, n.2, p.R1-6, 2001.
- Spicer LJ, Aad PY, Allen D, Mazerbourg S, Hsueh AJ.** Growth differentiation factor-9 has divergent effects on proliferation and steroidogenesis of bovine granulosa cells. *J Endocrinol*, v.189, n.2, p.329-39, 2006.
- Spicer LJ, Aad PY, Allen DT, Mazerbourg S, Payne AH, Hsueh AJ.** Growth Differentiation Factor 9 (GDF9) Stimulates Proliferation and Inhibits Steroidogenesis by Bovine Theca Cells: Influence of Follicle Size on Responses to GDF9. *Biol Reprod*, v.78, n.2, p.243-253, 2008.
- Stangaferro ML, Matiller V, Díaz PU, Ortega HH, Rey F, Rodríguez FM, Silva MA, Salvetti NR.** Role of activin, inhibin, and follistatin in the pathogenesis of bovine cystic ovarian disease. *Anim Reprod Sci*, v.148, n.3, p.97-108, 2014.
- Wu Y-T, Chang H-M, Huang H-F, Sheng J-Z, Leung PC.** Bone morphogenetic protein 2 regulates cell-cell communication by down-regulating connexin43 expression in luteinized human granulosa cells. *Mol Hum Reprod*, v.23, p.155-165, 2017.
- Yamashita H, Murayama C, Takasugi R, Miyamoto A, Shimizu T.** BMP-4 suppresses progesterone production by inhibiting histone H3 acetylation of StAR in bovine granulosa cells in vitro. *Mol Cell Biochem*, v.348, p.1-8, 2010.
- Zhang H, Klausen C, Zhu H, Chang H-M, LEUNG PCK.** BMP4 and BMP7 suppress StAR and progesterone production via ALK3 and SMAD1/5/8-SMAD4 in human granulosa-lutein cells. *Endocrinology*, v.156, n.4269-4280, 2015.
- Zhao S-Y, Qiao J, Chen Y-J, Liu P, Li J, Yan J.** Expression of growth differentiation factor-9 and bone morphogenetic protein-15 in oocytes and cumulus granulosa cells of patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, v.94, n.1, p.261-267, 2010.
-