

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU**

Dinâmica Folicular em Bovinos.

Ronaldo Luiz Ereno

Monografia apresentada como parte Integrante da disciplina "Seminários", do Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, curso Mestrado, na área de Reprodução Animal

BOTUCATU – SP

2002.

SUMÁRIO

1 Introdução e Objetivo.....	3
2 Revisão de literatura	
A) Regulação hormonal do Ciclo Estral.....	3
B) Ondas Foliculares.....	4
C) Crescimento do Folículos : Emergência da Onda.....	7
D) Mecanismo de Seleção.....	9
E) Mecanismo de Desvio.....	10
F) Turnover.....	15
3 Considerações finais.....	16
4 Referências Bibliográficas.....	17

INTRODUÇÃO E OBJETIVO

O potencial genético da espécie bovina sempre foi limitado, devido ao fato desta espécie ser monovular, o que impossibilita a obtenção de vários descendentes a partir de uma fêmea geneticamente superior.

Após o uso da técnica de ultra-sonografia, conseguiu-se estudar de forma detalhada o modelo de crescimento folicular nesta espécie, tornando os resultados da aplicabilidade de biotécnicas, tais como Inseminação Artificial e Transfêrencia de Embriões mais satisfatórios.

Hoje, podendo manipular o crescimento folicular e a ovulação, desenvolveu-se protocolos, onde a Inseminação Artificial pode ser realizada com tempo predeterminado, ou seja, sem a observação de cio (estro comportamental). Esta conquista tende a ajudar a expansão de programas de Inseminação Artificial, principalmente em zebuínos, onde a maior interferência na obtenção de resultados da implantação de tal técnica, é dificultada pela observação de cio, o que requer mão de obra especializada. Tais conhecimentos melhoraram a aplicabilidade de protocolos superovulatórios empregados na transferência de embriões.

O presente trabalho de revisão tem por objetivo discutir a dinâmica folicular em bovinos durante a fase estral, abordando eventos hormonais, porém não se aprofundando em mecanismos moleculares que também acompanham este evento.

REVISÃO DE LITERATURA

A)Regulação hormonal do ciclo estral.

O ciclo estral (CE) é regulado por mecanismos endócrinos e neuro-endócrinos envolvendo, principalmente, os hormônios hipotalâmicos (GnRH), hipofisários (Hormônios Luteinizante(LH) e Folículo Estimulante (FSH)) e gonadais : Estrógeno (E₂), Progesterona (P₄) e inibina

O GnRH é sintetizado por neurônios hipotalâmicos e após ser liberado sob a forma de pulsos (Clarke, 1988) atinge a adenohipófise através do sistema porta-hipotálamo-hipofisário, onde determina a secreção de LH e FSH, os quais induzem a secreção dos esteróides gonadais.

O LH, secretado pela adenohipófise, é regulado pela P₄ e E₂ ovarianos. Durante a maior parte do CE, ambos hormônios inibem a secreção de LH por meio de retroalimentação negativa sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário (Clarke, 1988; Goodman & Karsh, 1980; Price & Weeb, 1988). O LH é liberado sob a forma de pulsos que variam em frequência e amplitude (Hauger et al., 1977; Rahe et al., 1980; Wright & Malmo, 1992). Após a luteólise, a concentração sérica de P₄ diminui a níveis inferiores a 1 ng/ml, o que permite o aumento na frequência dos pulsos de LH (Goodman & Karsh, 1980; Karsh, 1987).

O aumento na frequência de pulsos de LH estimula a maturação do folículo dominante que passa a secretar quantidades crescentes de 17 α -estradiol (Ireland & Roche, 1987; Fortune et al., 1988). O E₂, na ausência de P₄, estimula a síntese de receptores para GnRH na hipófise (Schoenemann et al., 1985) tornando-a mais sensível ao GnRH (Kesner et al., 1981) ao mesmo tempo que aumenta a frequência e amplitude dos pulsos de GnRH (Hansel & Convey, 1983) e estimula a síntese de gonadotrofinas, o que resulta no pico de LH (Walters & Schallenberger, 1984; Hurnik, 1987) e, conseqüentemente, na ovulação do folículo de Graaf (Karch et al., 1979 e 1997; Clarke, 1988; Mukasa-mugerwa, 1989).

B) Ondas Foliculares.

Até recentemente, os modelos de desenvolvimento folicular em bovinos foram deduzidos indiretamente a partir de modelos cíclicos de gonadotrofinas e esteróides, sendo estudados experimentalmente, usando técnicas tais como: medidas e contagem de folículos em ovários oriundos de matadouros, ou por folículos obtidos por laparoscopia, marcados a tinta; analisando o desenvolvimento folicular após a destruição de folículos de tamanhos selecionados. Embora essas técnicas geraram informações valiosas, elas não foram claras para elucidar o modelo de desenvolvimento folicular em bovinos. Porém somente a poucos anos atrás o modelo de desenvolvimento folicular foi suposto de maneira diferente (Fortune, 1993)

Rajakoski, 1960, baseado em estudos histológicos de ovários, propôs a hipótese da ocorrência de duas ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral de bovinos. Resultados semelhantes foram encontrados por Matton et al, 1981. Em 1983, IRELLAND & ROCHE, encontraram ciclos com ocorrência de 3 ondas

foliculares e que cada uma resultou em um folículo dominante (FD), após analisarem fluído folicular, concentração de esteróides sangüíneo e medidas dos folículos.

Utilizando a tecnologia de imagem por exame ultra-sonográfico, Pierson & Ginther (1987b) relataram que, na média, durante o ciclo estral de bovino, ocorrem 2 ondas de crescimento folicular com folículos de várias categorias em diâmetro. Concluíram também que cada onda envolve um processo de seleção, e que um grande folículo cresce até o diâmetro pré-ovulatório; e alguns dias antes deste acontecimento os folículos menores regridem.

A partir de 1988, em vários estudos realizados, onde se monitorou as mudanças em diâmetros de folículos individuais, alguns pesquisadores encontraram a ocorrência de 2 ondas de crescimento folicular (81%) (Ginther et al, 1989) e outros com 3 ondas (80%) (Savio et al, 1988; Sirois & Fortune, 1988)

Alguns rebanhos têm a predominância de 2 ou 3 ondas de crescimento folicular. Em novilhas de raças zebuínas, a dinâmica folicular foi caracterizada pela presença de 2 ondas (33%) e 3 ondas (57,1%)(Rhodes et al, 1995; Figueredo et al, 1997).

Em animais que apresentam ciclo estral com 2 ondas de crescimento folicular, o recrutamento da primeira onda é identificado no dia da ovulação(D0), e pelo dia 3 (D3) o folículo dominante (FD) está presente e alcança o diâmetro ovulatório no D6. Este folículo permanece estático por poucos dias, até que a segunda onda se inicie no D10 (10 dias após a ovulação). O FD da segunda onda, torna-se o folículo ovulatório. Num ciclo de 3 ondas, foi caracterizada uma fase estática mais curta do folículo dominante da primeira onda e por uma fase luteal mais longa. A terceira onda se inicia no D16 e desta originou-se o folículo ovulatório (Sirois & Fortune, 1988; Savio et al, 1988)

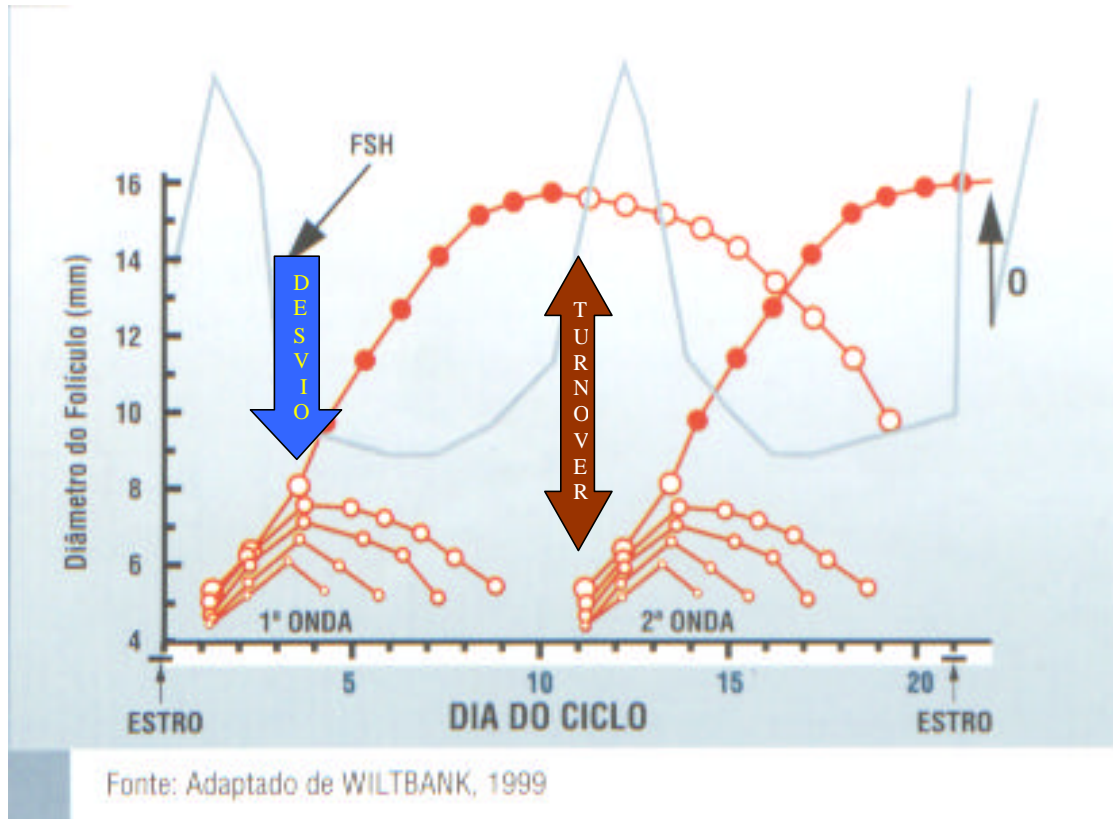
As ondas foliculares não ocorrem apenas em bovinos com atividade cíclica ovariana. Elas também são observadas:

a) Período Pré Púbere – Avaliando ovários, através de imagens por ultrasonografia de novilhas de 2 e 36 semanas de idade, observou-se que o desenvolvimento folicular ocorreu em formas de ondas; e cada uma durou de 7 a 9 dias. Com o decorrer da idade o diâmetro do folículo dominante aumentou de 8,5 para 12mm (Murphy et al, 1990; Savio et al, 1990; Evans et al, 1994)

b) Gestação – A partir de exames ultra-sonográficos repetidos, de ovários de vacas gestantes, observou-se que no início da prenhez houve uma emergência regular de ondas foliculares. O FD esteve presente no ovário contra lateral onde CL da gestação estava presente. Este fato parece ser devido a uma ação inibitória local do concepto. Uma redução no tamanho do folículo dominante foi notado a partir do 4º mês de prenhez (aproximadamente 9 mm) No último mês de gestação houve uma redução máxima do FD (6-7 mm) (Tatcher et al, 1991; Ginther et al, 1996)

c) Anestro Pós Parto – As ondas foliculares reiniciam cedo (geralmente 10 dias após a parição) durante o período pós parto, tanto em bovinos de corte como de leite (Roche & Boland, 1991; Savio et al, 1990). A primeira ovulação, geralmente, é mais tardia (proveniente da segunda, terceira ou quarta onda) em vacas de corte, em comparação com as de leite; e pode ser causada pela amamentação do bezerro ou por um período prolongado de balanço energético inadequado. Vacas com baixo escore corporal pode apresentar um intervalo de até 14 ondas antes da primeira ovulação. (Stagg et al, 1995)

A dieta de um animal pode afetar o padrão de ondas de crescimento folicular. Alguns estudos mostraram que, uma dieta pobre esta associada com baixas concentrações de IGF1 circulantes (Murphy et al, 1991), redução do diâmetro do FD de todas as ondas, e também o tempo de persistência deste folículo na primeira onda (Rhodes et al, 1995). Animais nestas condições tendem a apresentarem ciclos com 3 ondas, bem como vacas que estão predispostas a stress térmico. Esses fatores reduzem o tamanho e a dominância do folículo da primeira onda, acelera o “*turnover*” e a segunda onda é antecipada.(Badinga et al, 1993).



C) Crescimento dos folículos : Emergência da onda.

A emergência de uma onda folicular, em bovinos, foi caracterizada quando, pela imagem do ultra-som se identificou um folículo de aproximadamente 4-5 mm de diâmetro e um grupo de folículos menores de 3 mm, neste momento as concentrações de FSH atingiram seu pico ou platô (Ginther, 2000). Analisando ondas de crescimento foliculares de 8 em 8 horas, encontrou-se em média 24 folículos de 3 mm durante cada emergência; e a viabilidade destes foi estabelecida até que atingissem diâmetro de 4 mm (46%), 5 mm (25%) e 6 mm (29%) (Ginther et al, 1996; Ginther et al, 1996a). O passo de maturação, associado com o recrutamento dos folículos depende da atividade da enzima aromatase na camada das células da granulosa, que permite ao folículo produzir estradiol a partir de precursores de andrógenos secretados pelas células da teca (Driancourt, 2000)

O futuro FD emerge 6 horas antes que o segundo maior folículo (subordinado) e suas médias de crescimento são iguais até o momento do desvio, em média de 0,5 mm a cada 8 horas (Kulick et al, 1999).

Ginther et al (1996), analisando dados obtidos a partir de 33 ondas de crescimento folicular a cada 24 horas, observaram que o FD foi maior (76% das ondas), de igual tamanho (21%) ou menor (3%) que o folículo subordinado(FS) até o início do desvio. Estas descobertas indicam que muitas vezes o FD tem um tamanho avantajado; e portanto este folículo é o primeiro a ter um diâmetro decisivo no momento do desvio. Ocasionalmente, o futuro FS, inicialmente é maior que o futuro FD, mas sua média de crescimento é menor, não conseguindo atingir um diâmetro compatível no início do desvio.

O aumento das concentrações sanguíneas de FSH estimulam a ocorrência de ondas de crescimento folicular em vários estágios reprodutivos (Ginther, 2000).

O FSH é o hormônio chave que induz o recrutamento. A associação entre o pico de FSH e recrutamento, foi demonstrado quando se bloqueou o FSH endógeno e administrou-se FSH exógeno, observou-se o desaparecimento de folículos > 4 mm de diâmetro, porém quando os níveis de FSH aumentaram o recrutamento foi reiniciado. Num segundo experimento a duração e magnitude do pico de FSH foram manipulados em fêmeas cíclicas com fluido folicular e resultou em um adiamento do recrutamento de uma nova onda folicular. (Driancourt, 2001).

O principal efeito do FSH é induzir a atividade da aromatase dentro da camada de células da granulosa, explicando o fato de os folículos ganharem habilidade de produzir estradiol, inibina e folistatina (Knight, 1996).

O LH parece ter envolvimento mínimo no processo de recrutamento, pois observou-se que durante este momento as frequências dos pulsos deste hormônio são reduzidas (início da fase luteal), baixa (meio da fase luteal) ou muita baixa (período da pré-puberdade, anestro pós-parto) (Murphy et al, 1990).

Gong et al (1991) e Singh et al (1997), demonstraram que as IGFs e a folistatina também podem modular o processo de recrutamento, como foi evidenciado quando se administrou hormônio do crescimento (GH), a concentração de IGF-I circulante foi mais alta, aumentando o número de folículos recrutados por onda. Quando a folistatina foi bloqueada por imunização ativa, houve um aumento de folículos por grupo, portanto: a folistatina pode limitar e a IGF-I pode aumentar a quantidade de folículos recrutados por grupo.(Driancourt, 2001).

As concentrações de FSH iniciam seu declínio, após o pico, quando o futuro FD tem aproximadamente 6 mm. (Ginther et al, 2000)

D) Mecanismo de seleção.

Seleção é um termo usado para espécies monovular, indicando que usualmente somente um folículo de uma onda folicular atinge o estágio de dominância, estando apto à ovulação. Não há um consenso no uso do termo seleção para especificar qual o momento durante o crescimento do folículo em que este fenômeno ocorre (Ginther et al, 1990)

A seleção é um processo que tem sido excessivamente estudado e duas teorias geralmente são aceitas para explicar este processo: 1) a seleção é controlada por mecanismos endócrinos somente (redução em FSH “suporte” para os folículos.); 2) produção de componentes pelo folículo maior que diretamente inibem o desenvolvimento dos demais subordinados do grupo (Driancourt, 2001).

A primeira teoria, onde a queda nas concentrações de FSH, que acontece de 2-3 dias após o recrutamento, é o mecanismo chave para o processo de seleção é baseada em vários estudos. Primeiro, em várias espécies, é clara a relação entre seleção e o momento em que as concentrações de FSH alcançam seu nadir. Esta queda de FSH pode ser provocada pela inibina e estrógeno que são produzidos por folículos > 5 mm, por uma ação de retroalimentação negativa na pituitária. Segundo, a administração de FSH exógeno, no intuito de retardar a queda em suas concentrações, resultou num atraso no processo de seleção, em bovinos (Mihm et al, 1997).

Alguns dados, porém, sugerem que o mecanismo operado pelo FSH, não é o único envolvido no processo de seleção. Crowe et al (2001), utilizando vacas imunizadas com GnRH, não conseguiram obter ovulações únicas, somente por manipulação das concentrações de FSH e LH. Estes dados indicam que há fator regulador adicional (independente das concentrações gonadotróficas) no processo de seleção. Outros dados, a partir de trabalhos com a técnica de superovulação, mostraram que a resposta ovariana foi reduzida, quando a administração de gonadotrofinas foi realizada na presença de um folículo dominante. Diante desses dados conclui-se que grandes folículos podem reduzir a sensibilidade para gonadotrofinas de folículos menores (Guilbault et al, 1991; Ko et al, 1991; Wolfsdorf et al, 1997).

O efeito inibitório direto do fluído folicular no crescimento e maturação folicular tem sido confirmados por estudos *in vivo* e *in vitro*. Os fatores que controlam o

aumento e a diminuição nas concentrações de FSH, ainda não estão bem definidos. Componentes proteicos do fluido folicular, incluindo a inibina, tem um notável efeito inibitório sobre o FSH e no crescimento de folículos, quando administrado em bovinos (Kastelic et al, 1990). Kaneko et al (1995), em experimento onde se administrou anti-soro contra inibina, observou um aumento nas concentrações de FSH. O efeito supressor sobre os folículos, quando se injetou fluido folicular, não foi notado com a administração concomitante de FSH (Bergfelt et al, 1994). Analisando estes dados, observa-se que a inibina ou outros fatores proteicos presentes no fluido folicular possivelmente exerça algum efeito nas concentrações declinantes de FSH, porém ainda não se sabe se o momento em que a inibina atinge o sistema circulatório, coincide com a queda do FSH (Ginther et al, 1996).

Devido ao fato do maior folículo ter uma vantagem em diâmetro, pode-se concluir que a seleção ocorre antes do início da detecção ultra-sonográfica da emergência da onda. Com este raciocínio, entretanto, o início da seleção poderia não ser definido, desde que outros fatores poderiam determinar qual dos folículos tornariam sensíveis a uma onda de FSH. Uma outra observação para o termo seleção antes do desvio, é fato que folículos em crescimento (5mm) serem capazes de tornar-se dominantes numa escolha aleatória, se os demais forem destruídos; e o futuro folículo subordinado retém sua capacidade de se tornar dominante após o desvio (Driancourt, 2001).

Tem sido proposto que a expressão de receptor para LH (LHr) pode ser associado com a seleção dos folículos. Este fato foi primeiro detectado nas células granulosas de folículos com 8 mm de diâmetro, e foi significativamente maior no folículo dominante com média de 10,8 mm (Beg et al, 2001)

E) Mecanismo de Desvio.

O desvio é caracterizado pelo início da diferença na média de crescimento entre os dois maiores folículos (Ginther et al, 1997) ou pela continuidade de crescimento do maior folículo, que se tornará o dominante e a parada no crescimento dos outros remanescentes (folículos subordinados) (Beg et al, 2001)

Aparentemente, quando o maior folículo atinge um estágio de desenvolvimento decisivo, ocorre a ativação rápida do mecanismo de desvio, bloqueando o desenvolvimento do segundo maior folículo, antes que este adquira um estágio

similar. Então, considerando a diferença em diâmetro entre os dois maiores folículos, conclui-se que o menor pode ser inibido, pelo futuro FD, em menos de 8 horas, (equivalente para uma diferença de diâmetro de 0,5 mm). O diâmetro de desvio foi de 8,5mm e 7,7mm para o futuro FD e FS, respectivamente; e se iniciou por volta de 2,5 dias após a emergência da onda (Ginther et al, 2000).

Ginther et al, (1997), estudando ondas foliculares de 33 novilhas, observaram que o FS cessou seu crescimento aproximadamente no dia 4 (D0=início da onda), quando apresentou um diâmetro médio de 8 mm. Então, o FS pode continuar a crescer, na média, após o dia do desvio. Em algumas ondas, ocorreu uma parada imediata de crescimento do folículo subordinado em associação com o desvio (30% das ondas) e outras (70%), observou-se uma baixa média de crescimento iniciando entre os dias 1 a 4, antes deste folículo atingir seu diâmetro máximo. O FS, mesmo tendo uma redução de crescimento após este evento, pode permanecer viável e ser estimulado até o dia 3 da onda, se o dominante for destruído ou administrando-se FSH. Aproximadamente, no dia 5,5 da onda (3 dias após o desvio ou 2 dias após atingir o diâmetro máximo), observou-se o primeiro decréscimo no diâmetro do FS. Para algumas ondas o tempo de desvio pode não ser óbvio, especialmente porque o FS pode continuar a crescer por mais um dia, porém com uma média reduzida.

O futuro FD emerge com 6 horas de antecedência e com 3 mm de diâmetro, antes que o segundo maior folículo(subordinado), seja detectado. Esses dois maiores folículos têm um crescimento paralelo, mas o maior tem uma vantagem de 0,5 mm até o desvio. Em algumas situações ocasionais, o maior folículo obteve um diâmetro compatível até o momento do desvio e então seu crescimento ficou estagnado. (Ginther et al, 1996b; Kulick et al, 1999).É discutível se essa vantagem em diâmetro tem um papel fundamental no momento do desvio (Ginther, 2000).

A queda nas concentrações de FSH acompanham o momento de desvio, em bovinos (Ginther et al, 1997b, 1998, 1999). Este fato foi demonstrado num recente estudo, onde a obtenção de um diâmetro de 8,5 mm pelo maior folículo, foi usado como uma referência para o início esperado do desvio (hora 0), as concentrações de FSH foram determinadas por -16h, -8h, 0h, 8h e 16h. As concentrações de FSH foram diminuindo entre as horas -16 e 0, e continuaram baixando até a hora 10, aumentando a partir da hora 16. Esses resultado indicam uma associação próxima entre a obtenção de um diâmetro 8,5 mm pelo folículo maior e um decréscimo contínuo nas concentrações de FSH num curto espaço de tempo. O

papel da queda dos níveis de FSH no mecanismo de desvio é consistente com os resultados de GINTHER et al (2000), onde se atrasou ou se previu o mecanismo de desvio após a administração de FSH .

Ginther et al (1999), trabalhando com 3 grupos de novilhas, realizaram a aspiração do folículo maior, quando este tinha diâmetro de 8,5 mm (início esperado do desvio) , grupo I, ou então administraram um depressor de FSH, grupo II. No grupo I, a aspiração do folículo de 8,5 mm (hora 0) resultou num aumento das concentrações circulante de FSH entre as horas 5 e 8. A média de crescimento do segundo maior folículo restante, aumentou entre as horas 0 e 8, em relação ao grupo controle. A administração de depressor de FSH (4,4 ml de fluido folicular) antes do desvio esperado, resultou num decréscimo nas concentrações de FSH na hora 6. Os resultados encontrados foram uma redução na média de crescimento do folículo maior, 6 horas após esta administração. A depressão nas concentrações de FSH pode ser o evento principal no mecanismo de desvio, quando este hormônio encontra-se na circulação em quantidades abaixo daquelas requeridas por folículos menores, mas não para o maior. Portanto, mudanças nas concentrações de FSH e crescimento folicular, estão intimamente relacionados. O folículo maior afeta as concentrações de FSH, e deste modo influencia o crescimento de outros folículos. (Ginther et al,2000).

O futuro folículo dominante adquire algumas habilidades quando atinge o diâmetro esperado ao desvio: suprime as concentrações de FSH circulantes, abaixo daquelas requeridas por outros folículos, torna-se responsivo ao FSH, mesmo este estando em baixas quantidades circulantes, para a continuidade de seu crescimento (Driancourt, 2001)

Durante o desvio, ocorre uma mudança na dependência de gonadotrofina no folículo selecionado dominante, pois seu crescimento passa a ser direcionado pelo LH circulante (Ginther et al, 1996), Este fato pode ser comprovado por alguns estudos:

- a) quando o LH foi suprimido, os folículos não cresceram acima de 7-9 mm (Gong et al, 1996).
- b) a fase de crescimento do folículo dominante foi associado com alta frequência dos pulsos de LH, e não com a fase de platô (Rhodes et al, 1995).

- c) a “vida” do folículo dominante pode ser prolongada pelo aumento da frequência dos pulsos de LH (Fortune et al, 1991; Savio et al, 1993).
- d) O folículo maior adquire receptores para LH entre os dias 2 e 4 após a emergência da onda (Xu et al, 1995; Evans & Fortune, 1997)
- e) Vacas lactantes sob dieta com baixa energia, apresentam uma baixa frequência dos pulsos de LH, ocasionando uma redução no diâmetro do folículo maior, em relação ao grupo controle (Grinard et al, 1995)
- f) as concentrações de LH aumentam do nível de platô antes do desvio, e permanecem elevadas (sem mudanças significativas) até depois deste evento, e então decrescem; indicando que o LH elevado, bem como baixas concentrações de FSH, abrangem o tempo de desvio. (Ginther et al, 1999)

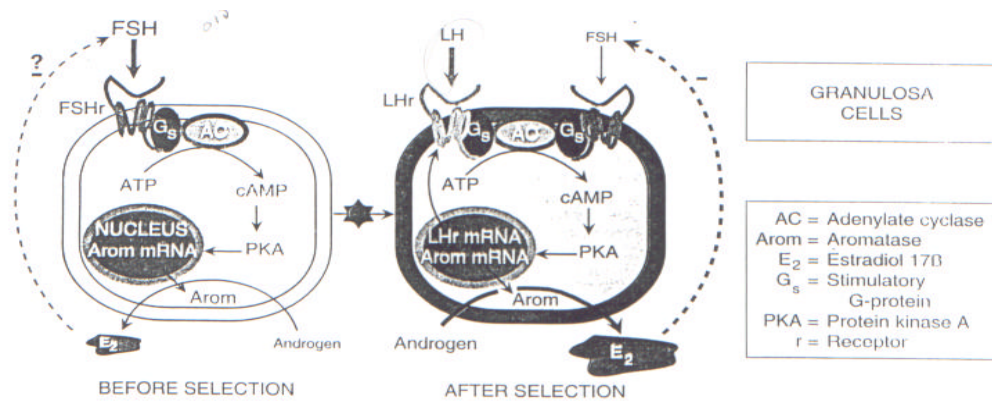
A expressão de RNAm LHR foi primeiro detectado nas células da granulosa de folículos com 8 mm de diâmetro; e foi significativamente maior no FD com 10,8 mm. Receptores para LH não foram detectados em células da granulosa de folículos < 8 mm ou em subordinados, mas em ovários oriundos de matadouros, conseguiu-se identificar tais receptores em folículos < 4 mm (Sirard et al, 2000). Supõem-se que RNAm para LHR estão presentes em células da granulosa de folículos antrais em fase inicial de desenvolvimento. Porém não se sabe se as quantidades desses receptores diferem entre os folículos em associação com o desvio, principalmente em se tratando do dominante e subordinado (Beg et al, 2000)

Crowe et al (2001), utilizando vacas imunizadas com GnRH, suplementadas com gonadotrofinas exógenas, observou que a administração de LH é requerida, uma vez que o folículo tenha alcançado 8 mm de diâmetro até atingir o tamanho ovulatório. Estes resultados confirmam outros dados, onde se demonstrado a presença de RNAm para receptores de LH nas células da granulosa (Xu et al, 1995), tão logo o folículo atinja 8 mm de diâmetro. Portanto em bovinos o desenvolvimento de receptores de LH nas células da granulosa coincide com o início da dominância folicular, concluindo-se que o primeiro folículo a assumir um estágio decisivo, em que tais receptores estão presentes, pode ser o que se tornará dominante (Driancourt, 2001).

Chase et al (1998), mostraram que fatores locais também determinam a dominância folicular, tais como IGFI e VEGF. Analisando vacas com déficit GnRH, observaram uma produção limitada de IGFI, a dominância folicular não ocorreu e os folículos ficaram estacionários em 8 mm de diâmetro. Concluíram então, que a

indução de receptores para LH, pode ser mediado pela IGFI. Em outro estudo (Garrido et al, 1993), mostraram que o LH estimula a produção de VEGF (fator de crescimento vascular endotelial), um potente estimulador da angiogênese; e a IGFI pode reforçar a ação do LH nesta etapa. O IGFI tem sido implicado como hormônio estimulador na produção de andrógenos e amplificador gonadotrófico nas células tecais intersticiais. (Cordano et al, 2000). O GH, FSH e E2 estimulam a expressão de IGFI nas células da granulosa (Makarevich et al, 2000); e este hormônio (IGFI) estimula a produção de andrógeno dependente de LH, aumenta a expressão dos genes da enzima citocromo P450_{scc} e da P450_{c17} (Magoffin e Weitsman, 1994).

Diferenças nos níveis totais de IGFI foram relatadas no fluido folicular de folículos grandes (8mm), folículos com atividade estrogênica e pequenos folículos (5 mm) (Echternkamp et al, 1990) Entretanto, em outro estudo não houve diferença entre os níveis totais de IGFI no fluido folicular de folículos de diferentes tamanhos, ou entre o dominante e o subordinado (Beg et al, 2001)



Ginther et al, 1996

O estradiol parece não ser um pré requisito para um folículo tornar-se dominante. Utilizando ovelhas (Oussaid et al, 1999) ou primatas (Zelinski et al, 1993), onde se administrou um inibidor da aromatase, que notadamente reduz a produção de estradiol, no meio da fase folicular, não se observou bloqueio no desenvolvimento do folículo dominante. A administração de epostane (inibidor sintético de esteróide), provocou queda na produção de esteróide pelo folículos

maiores, mas não impediu o desenvolvimento do folículo dominante (Webb et al, 1992).

Aparentemente, quando o maior folículo atinge um estágio de desenvolvimento decisivo, ocorre a ativação rápida do mecanismo de desvio, bloqueando e desenvolvendo o segundo maior folículo, antes que este adquira um estágio similar. Então, considerando a diferença em diâmetro entre os dois maiores folículos, conclui-se que o menor pode ser inibido, pelo futuro FD, em menos de 8 horas, (equivalente para uma diferença de diâmetro de 0,5 mm). O diâmetro de desvio é provavelmente precedido por desvio funcional ou bioquímico.

F) Turnover

O folículo dominante é sensível ao LH, então mudanças nos moldes de secreção pulsátil de LH podem alterar seu destino, induzindo o *turnover* da onda. (Driancourt, 2001). Induzindo o modelo de persistência do folículo (com dispositivos intravaginais), (Stock & Fortune, 1993), relataram que a “morte” do folículo dominante pode ser induzida pela duplicação das concentrações de progesterona circulante, o que provoca uma redução de 50% na frequência dos pulsos de LH. Este fato é condizente com o tempo de *turnover* observado na primeira onda de crescimento folicular (D7 ao D10) que coincide com o pico das concentrações progesterona e frequências mínimas de LH.

Se a luteólise não ocorre durante a fase de crescimento do folículo dominante, este está fadado à atresia. A expressão de RNAm para receptores de gonadotrofinas, enzimas esteroidogênicas e *STAR* diminuem rapidamente com a atresia, e estes declínios ocorrem antes que sinais morfológicos deste evento são observados (Xu et al, 1995a,b). A expressão de RNAm para receptores de FSH (FSHr) nas células da granulosa, LHr nas células da teca, P450_{sc} em ambas as células e P450_{c17} nas células tecais, diminuem extraordinariamente entre os dias 4 e 6 da onda folicular. Curiosamente, a expressão de RNAm para receptores de LH e P450 aromatase nas células da granulosa ainda são elevadas no dia 6, mas declinam pelo dia 8 da onda folicular (Xu et al, 1995a,b).

Na presença da progesterona da fase luteal que reduz a frequência dos pulso de LH para um pulso a cada 3-4 horas, o FD perde sua dominância e ocorre um novo pico de FSH. Este aumento de FSH é responsável pela emergência de um novo grupo de folículos no dia 10-12 do ciclo, com a seleção de um FD

aproximadamente 3 dias depois. Porém, uma vez ocorrendo a luteólise, as freqüências dos pulsos de LH aumentam, o FD é estimulado a produzir estradiol, que induz o pico de LH responsável pela ovulação. (Mihm et al, 1996)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O crescimento folicular em bovinos ocorre em modelos de ondas; e cada ciclo estral pode apresentar de 2 a 3 ondas foliculares, podendo esta quantidade variar em função de alguns fatores, como a dieta, por exemplo.

Uma onda de crescimento folicular é caracterizada pelo crescimento sincrônico de um grupo de pequenos folículos, de onde se origina um que se torna dominante e provoca a atresia dos demais subordinados.

O desenvolvimento folicular é controlado pela secreção de hormônios provenientes da hipófise, Corpo Lúteo e dos folículos. Observou-se que o início de cada onda folicular é precedido por uma pico de FSH, e que este é fundamental para que os folículos sejam recrutados. O folículo maior (futuro FD) começa a produzir grandes quantidades de estradiol e inibina, que atuam a nível de hipotálamo e hipófise, fazendo com que os níveis de FSH declinem, ocasionando a atresia de folículos menores. Ao mesmo tempo o FD pode continuar crescendo, pois torna-se mais eficiente na utilização de FSH mesmo em baixas concentrações, e adquire capacidade de ser responsivo ao LH, pois adquire LHr nas células da granulosa.

Durante a fase de diestro, os altos níveis de progesterona afetam a freqüência dos pulsos de LH e induzem a regressão do FD. Porém, quando a luteólise ocorre, os pulsos de LH aumentam, ocorre maior produção de estradiol pelo FD, induzindo um pico pré ovulatório de LH.

Ainda se discute sobre os fatores foliculares que têm importante papel no controle autócrino e/ou parácrino na função ovariana. Em geral se pensa que estes fatores intraováricos modulam o número e desenvolvimento de folículos em crescimento, basicamente através da regulação e respostas às gonadotrofinas .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

BADINGA, L.; TATCHER, W.W; DIAZ T; DROST M; WOLFENSON D. Effect of environmental heat stress on follicular development in lactating Holstein cows. **Theriogenology**. V.39, p. 797-810, 1993.

BEG, M.A; BERGFELT, D.R; KOT, K; WILTBANK, M.C; GINTHER, O.J. Follicular-fluid factors and granulosa cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. **Biology of Reproduction**.v.64, p.432-441, 2001.

BERGFELT, D.R; PLATA-MADRID, H; GINTHER, O.J. Counteraction of the follicular inhibitory effect of follicular fluid by administration of FSH in heifers. **Journal of Animal Science**, v.74, p.633-639, 1994.

CHASE, C.C; KIRBY, C.J; HAMMOND, A.C; OLSON, T.A; LUCY, M.C. Patterns of ovarian growth and development in cattle with a growth hormone deficiency. **Journal Animal Science**. V.76, p.212-219, 1998.

CLARKE, J.J. GnRH secretion. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 5, 1988. **Anais....**Dublin, 1988,p.1-9.

CROWE, M.A; KELLY, P; DRIANCOURT, M.A; BOLAND, M.P; ROCHE, J.F. Effects of FSH with and without LH on serum hormone concentrations and follicular responses in GnRH immunized heifers. **Biology of Reproduction**.v.64, p.368-374, 2001.

DRIANCOURT, M.A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implication for manipulation of reproduction. **Theriogenology**. V.55, p.1211-1230; 2001.

ECHTERNKAMP, S.E; SPICER, L.J; GREGORY, K.E; CHANNING, S.F; HAMMOND, J.M. Concentrations of insulin-like growth factor-I in blood and ovarian follicular fluid of cattle selected for twins. **Biology of Reproduction**, v.43, p. 08-14, 1990.

EVANS, A.C.D; ADAMS, G.P; RAWLINGS, N.C. Follicular and hormonal development in prepuberal heifers from 2 to 36 weeks of age. **Journal of Reproduction and Fertility**. V. 102, p.463-470; 1994.

FIGUEREDO, R.A; BARROS, C.M; PINHEIRO, O.L, SOLER, J.M.P. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos Indicus*) cattle. **Theriogenology**, v.47, p.1489-1505, 1997.

FORTUNE, J.E. Follicular dynamics during the bovine estrous cycle: A limiting factor in improvement of fertility? **Animal Reproduction Science**, v.33, p.111-125, 1993.

GARRIDO, C; SAULE, S; GOSPODAROWIEZ, D. Transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor gene expression in bovine granulosa cells. **Growth Factors**. v.8, p.109-117; 1993.

GIBBONS, J.R; WILTBANK, M.C; GINTHER, O.J. Functional interrelationships between follicles greater than 4 mm and the follicle-stimulating hormone surge in heifers. **Biology of Reproduction**, v.57, p.1066-1073, 1997.

¹ ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023** :informação e documentação- Referências- Elaboração. Rio de Janeiro, 2000, 20p.

GINTHER, O.J; KOT, K; KULICK, L.J; MARTINS, S; WILTBANK, M.C. Relationships between FSH and ovarian follicular waves in the last six months of pregnancy in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**.v.108, p.271-279; 1996a.

GINTHER, O.J; WILTBANK, M.C; FRICKE, P.M; GIBBONS, J.R; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 55, p.1187-1194, 1996b.

GINTHER, O.J; KOT, K; KULICK, L.J; WILTBANK, M.C. Sampling follicular fluid without altering follicular status in cattle: oestradiol concentrations early in a follicular wave. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.109, p181-186; 1997.

GINTHER, O.J; BERGFELT, D.R; KULICK, L.J, KOT, K. Pulsatility of systemic FSH and LH concentrations during follicular wave development in cattle. **Theriogenology**, v.50, p.507-519, 1998.

GINTHER, O.J, BERGFELT, D.R, KULICK, L.J, KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 h through depression of FSH concentrations. **Theriogenology**, v.52, p.1079-1093, 1999.

GINTHER, O .J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p. 61-79, 2000.

GONG, J.G; BRAMLEY, T.A; WEBB, R. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers: follicular populations and peripheral hormones. **Biology of Reproduction**.v.45, p.941-949; 1991.

GOODMAN, R.L; KARSCH, F.J. Pulsatile secretion luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids. **Endocrinology**, v.107, p.1286-1290, 1980.

GRIMARD, B; HUMBLLOT, P; PONTER, A.A; MIALOT, J.P; SAUVANT, D; THIBIER, M. Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and oestradiol secretion and follicular development in suckled beef cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.104, p.173-179, 1995.

GUILBAULT, L.A; GRASSO, F; LUSSIER, J; ROUILLIER, P; MATTON, P. Decreased superovulatory responses in heifers superovulated in the presence of a dominant follicle. **Journal of Reproduction and Fertility**. V.91, p.81-89; 1991.

HANSEL, W; CONVEY, E.M. Physiology of the estrus cycle. **Journal Animal Science**, v.57, p.404-424, 1983.

HAUGER, R.L; KARSCH, F.J; FOSTER, D.L. A new concept for the control of the estrous cycle in the ewe on temporal relationship between luteinizing hormone, estradiol and progesterone in peripheral serum and evidence that progesterone inhibits tonic LH secretion. **Endocrinology**, v.101, p.807-817, 1977.

HURNIK, J.F. Sexual behavior of female domestic mammals. *Vet. Clin. North Am: Food Animal Pract*, v.3, p.423-461, 1987.

IRELAND, J.J; ROCHE, J.F. Hypotheses regarding development of dominant follicles during a bovine estrous cycle. In: Roche J.F., O' Callaghan, D (Eds) **Follicular growth and ovulation rate in farm animals**. Boston: Martinus Nijhoff Publishers, MA, p.1-18, 1987.

KASTELIC, J.P; KO, J.C.H; GINTHER, O.J. Suppression of dominant and subordinate ovarian follicle by a proteinaceous fraction of follicular fluid in heifers. **Theriogenology**, v.34, p.499-509, 1990.

KANEKO, H; NAKANISHI, Y; AKAGI, S; ARAI, K; TAYA K; WATANABE, G; SASAMOTO S; HASEGAWA Y. Immunoneutralization of inhibin and estradiol during the follicular phase of the estrous cycle in cows. **Biology of Reproduction**, v.53, p.931-939, 1995.

KARSH, F.J. Central actions of ovarian steroids in feed back regulation of pulsatile secretion of luteinizing hormone. *Ann. Rev. Physiol.*,v.105, p.365-382, 1987.

KESNER J.S, CONVEY, E.M; ANDEERSOM, C.R. Evidence that estradiol induces the pre-ovulatory LH surge in cattle by increasing pituitary sensitivity to LHRH and then increasing LHRH release. **Endocrinology**, v.108, p.1386-1391, 1981.

KNIGHT, P.G. Roles of inhibin, activins and follistatin in the female reproductive systems. **Frontiers of Neuroendocrinology**. V. 17, p.476-509, 1996.

KO, J.C.H; KASTELICK, J.P; DEL CAMPO, M.R; GINTHER, O.J. Effects of a dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrus cycle in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.91, p.511-519, 1991.

MAGOFFIN, D.A; WEITSMAN, S.R. Insulin-like growth factor-I regulation of luteinizing hormone (LH) receptor messenger ribonucleic acid expression and LH-stimulated signal transduction in rat ovarian theca interstitial cells. **Biology of Reproduction**, v.51, p.766-775, 1994.

MAKAREVICH, A; SIROTKIN, A; CHRENEK, P; BULLA, J; HETENYL, L. The role of IGF-I, cAMP/ protein kinase A and MAP-kinase in the control of steroid secretion, cyclic nucleotide production, granulosa cell proliferation and preimplantation embryo development in rabbits. **Journal Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v.73, p.123-133, 2000.

MIHM, M; GOOD, T.E.M; IRELAND, J.L.H; IRELAND, J.J; KNIGHT, P.G; ROCHE, J.F. Decline in serum follicle-stimulating hormone concentrations alters key intrafollicular growth factors involved in selection of the dominant follicle in heifers. **Biology of Reproduction**, v.57, p.1328-1337; 1997.

MUKASA-MUGERWA, E.A Review of reproductive performance of female Bos indicus (Zebu) cattle. **ILCA monog.** v.6, p.1-34, 1989.

MURPHY, M.G; BOLAND, M.P; ROCHE, J.F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post partum beef suckler cows. **Journal and Reproduction and Fertility**, v.90, p.523-533, 1990.

OUSSAID,B; MARIANA, J.C; POULIN, N; FONTAINE, J; LONERGAN, P; BECKERS, J.F; COGNIE,Y. Reduction of the developmental competence of sheep oocytes by inhibition of LH pulses during the follicular phase with a GnRH antagonist. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.117, p. 71-77, 1999.

PRICE, C.A; WEBB,R. Steroid control of gonadotropin secretion and ovarian function in heifers. **Endocrinology**, v.122, p.2222-2231, 1988.

RAHE, C.H; OWENS, R.E; FLEEGER, J.L; NEWTON, H.J; HARMS, P.G. Patterns of luteinizing hormone in the cycling cow dependence upon period of the cycle. **Endocrinology**, v.107, p.498-503, 1980.

RHODES, F.M; FITZPATRICK, L.A; ENTWISTLE, K.W; DE'ATH G. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in Bos indicus heifers before and after nutritional anoestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**.v.104, p.41-49, 1995.

ROCHE, J.F; BOLAND, M.P. Turnover of dominant follicles in cattle of different reproductive states. **Theriogenology**. v.35, p.81-90, 1991.

SARTORI, R; FRICKE, M.P; FERREIRA, C.P.J; GINTHER, O J; WILTBANK, M.C. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v.65, p.1403-1409, 2001.

SAVIO, J.D; BOLAND, M.P; HYNES, N; ROCHE, J.F. Resumption of follicular activity in the early post partum period of dairy cows. **Journal of Reproduction and Fertility**. V.88, p.569-579, 1990.

SAVIO, J.D; KEENAN, L; BOLAND, M.P; ROCHE, J.F. Pattern of growth of dominant follicles during oestrus cycle in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**. V.83, p.663-671, 1988.

- SCHOENEMANN, H.M; HUMPHREY, W.D; CROWDER, M.E; NETT, T.M; REEVES, J.J. Pituitary luteinizing hormone releasing receptors in ovarioectomized cows after challenge with ovarian steroids. **Biology of Reproduction**, v32, p.574-583, 1985.
- SINGH, J; BROGLIATTI, G.M; CHRISTIENSEN, C.R; ADAMS, G.P. Active immunization against follistatin and its effects on FSH, follicle development and superovulation in heifers. **Theriogenology**.v. 52, p.49-66, 1997.
- SIRIOIS, J; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the oestrus cycle in heifers monitored by real time ultrasonography. **Biology of Reproduction**. V.39, p.308-317, 1988.
- STAGG, K; SPICER, L.J; SREENAN, J.M; ROCHE, J.F; DISKIN, M.G. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, and metabolic hormone changes and interval to first ovulation in beef cows fed either of two levels of energy post partum. **Biology of Reproduction**.v. 59, p.777-783, 1995.
- STOCK, A.E; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dominance in cattle: relationships between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. **Endocrinology**. V.132, p.1108-1114, 1993.
- TATCHER, W.W; DRIANCOURT, M.A; TERQUI, M; BADINGA, L. Dynamics of ovarian follicular development in cattle following hysterectomy and during early pregnancy. **Domestic Animal Endocrinology**. V.8, p. 223-234, 1991.
- WALTERS, D.L; SCHALLENBERGER, E. Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during the periovulatory phase of the oestrus cycle in the cow. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.17, p.503-512, 1984.
- WEBB, R; BAXTER, G; McBRIDE, D; McNEILLY, A.S. 3 beta hydroxysteroid dehydrogenase inhibition reduces ovarian steroid production but increases ovulation rate in the ewe: interactions with gonadotrophins and inhibin. **Journal of Endocrinology**. V. 134, p. 115-125, 1992.
- WOLFENSON, D; THATCHER, W.W; BADINGA, L; SAVIO, J.D; MEIDAN, R; LEW, B.J; BRAW TAL, R; BERMAN, A. Effects of heat stress on follicular development during the oestrus cycle in lactating dairy cattle. **Biology of Reproduction**. V.52, p.1106-1113, 1995.
- WOLFSDORF, K.E; DIAZ, T; SCHIMT, E.J.P; THATCHER, M.J; DROST, M; THATCHER, W.W. The dominant follicle exerts an interovarian inhibition on FSH induced follicular development. **Theriogenology**. v.48, p.435-447, 1997.
- WRIGHT, P.J; MALMO, J. Pharmacological manipulation of fertility. **Food Animal Pract**, v.8, p.57-89, 1992.
- XU, Z.Z; GARVERICK, H.Á; SMITH, G.W; SMITH, M.F; HAMILTON, A.S; YOUNGQUIST, R.S. Expression of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. **Biology of Reproduction**. V.35, p.951-957, 1995.
- ZELINSKI WOOTEN, M.B; HESS, D.L; BAUGHMAN, W.L; MOLSKNESS, T.A; WOLF, D.P; STOUFFER, R.L. Administration of an aromatase inhibitor during the late follicular phase of gonadotropin treated cycles in rhesus monkeys. *Journal of Clinical and Endocrinology Metabolic*. v. 76, p.988-995, 1993.