

FOLICULOGÊNESE EM OVELHAS: FATORES DE ESTÍMULO E INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO FOLICULAR

Márcio Gianordoli Teixeira GOMES^{1*}, Fernando Andrade SOUZA²,
Deborah Alves FERREIRA¹, Marc Roger Jean Marie HENRY³, Iran BORGES³,
Leonardo Costa Tavares COELHO⁴, Karina Almeida MACIEL¹

RESUMO - Os mecanismos de regulação da reprodução de fêmeas são de importância fundamental para o sucesso da reprodução convencional ou assistida. O folículo é a unidade funcional do ovário de fêmeas das espécies mamíferas, tendo como principais funções o crescimento e a maturação dos oócitos, bem como a produção de hormônios esteróides. Vários fatores agem de forma conjunta na regulação destas atividades por meio de mecanismos endócrinos, autócrinos e parácrinos, estimulando a atividade mitogênica de oócitos quiescentes e, atividade esteroidogênica de células da teca e da granulosa. Entre os fatores regulatórios existem alguns que agem de forma estimulante, tais como o receptor da proteína ligante (c-KITL), o sistema de fatores de crescimento ligados à insulina (IGF's), o complexo ativina e follistatina e a superfamília do fator transformador de crescimento- β (TGF- β). Outros fatores agem de forma inibitória, tais como a inhibina, a proteína retinoblastoma, expressa em oócitos, igualmente ao gene de Wilms (WTI). No presente trabalho, objetivou-se abordar os mecanismos regulatórios da foliculogênese e sua importância na fisiologia reprodutiva de ovelhas.

Termos para indexação: c-KITL, endocrinologia, fisiologia, IGF, TGF

FOLLICULOGENESIS IN EWES: ESTIMULATION AND INHIBITION FACTORS OF FOLLICULAR GROWTH

ABSTRACT - The regulatory mechanisms of females' reproduction are crucial to the success of conventional or assisted breeding. The follicle is the functional unit of the ovary of the female mammal species, being its major functions the growth and maturation of oocytes, as well as the production of steroid hormones. Several factors act jointly on the regulation of these activities through endocrine, autocrine and paracrine mechanisms stimulating the mitogenic activity of quiescent oocytes and also steroidogenic activity of the theca cells and of the granulosa. Among the regulatory factors, there are some that act in a stimulant way, such as the receptor of the binding protein (c-KITL), the system of growth factors related to insulin (IGF's), the activin and follistatin complex, and the super family of growth- β transforming factor (TGF- β). Other agents are inhibitory, such as inhibin, the retinoblastoma protein, expressed in oocytes, as the Wilms' gene (WTI). This paper aims to review the regulatory mechanisms of folliculogenesis and its importance in the reproductive physiology of ewes.

Index terms: c-KITL, endocrinology, physiology, IGF, TGF

¹ Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins, Araguaína – TO. Centro de Ciência Animal (EMVZ), BR-153, Km 112, s/n. Caixa Postal 132 – CEP: 77-804-970 - E-mail: mgianordoli@hotmail.com * **Autor para correspondência**

² Escola de Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão, São Luis-MA

³ Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG.

⁴ Universidade Presidente Antônio Carlos – Campus Bom Despacho, Bom Despacho-MG

INTRODUÇÃO

A ovinocultura apresenta um expressivo crescimento mundial, que tem demonstrado maior intensificação nas últimas décadas, ocorrendo, principalmente, nos países em desenvolvimento, detentores dos maiores rebanhos (FONSECA, 2005). O Brasil ocupa o oitavo lugar em contingente ovino no mundo e um desenvolvimento significativo em sua produção (ANUALPEC, 2008).

A compreensão dos mecanismos que regulam a foliculogênese é o pré-requisito básico da eficiência reprodutiva e do melhoramento genético de animais de interesse zootécnico (FORTUNE, 2003), e, dessa forma, avanços nas técnicas de reprodução assistida requerem melhor entendimento da fisiologia ovariana. A regulação do desenvolvimento folicular é complexa, envolvendo fatores endócrinos, parácrinos e autócrinos, direcionados de maneira estágio-dependente a fim de controlar vários processos, tais como, a proliferação e diferenciação de células foliculares, a esteroidogênese, angiogênese/vascularização, e atresia/apoptose (WEBB et al., 2003; FORTUNE et al., 2004).

Neste contexto, de posse das informações reveladas acerca da expressão diferencial para fatores de crescimento e/ou hormonais, relacionados direta ou indiretamente com a foliculogênese podem-se elaborar estratégias de intervenção para o desenvolvimento de oócitos, visando melhorar as taxas de viabilidade, crescimento e maturação dos mesmos (ALMEIDA et al., 2010). Diante do exposto, esta revisão almeja apresentar conceitos sobre a foliculogênese que possam auxiliar técnicos na elucidação da fisiologia reprodutiva de ovelhas, proporcionando uma melhor elaboração de biotécnicas da reprodução nesta espécie.

CLASSIFICAÇÃO DOS FOLÍCULOS OVARIANOS

Aos processos de formação, crescimento e maturação folicular dá-se o nome de foliculogênese, que tem início com a formação do folículo primordial, culminando com a formação do folículo pré-ovulatório (VAN DEN HURK e ZHAO, 2005).

A população folicular ovariana é bastante heterogênea. Segundo o estágio de desenvolvimento, os folículos podem ser divididos em: a) folículos pré-antrais ou não cavitários, abrangendo os folículos primordiais, primários e secundários e b) folículos antrais ou cavitários, compreendendo os folículos terciários e de Graaf ou pré-ovulatórios (HULSHOF et al., 1994).

Dentro deste contexto, a foliculogênese pode então ser dividida em duas fases: 1) Fase pré-antral, subdividida em ativação dos folículos primordiais e crescimento dos folículos primários e secundários; 2) Fase antral, subdividida nas fases de crescimento inicial e terminal dos folículos terciários (FIGUEIREDO et al., 2008).

Os folículos primordiais *in vivo* são rodeados por um ambiente extra-folicular complexo, incluindo o estroma ovariano, células da teca em várias fases de diferenciação, ramos do sistema circulatório, sistema nervoso e outros tipos celulares (e.g., macrófagos). A influência que estes diferentes tipos celulares exercem nos eventos intrafoliculares ao longo da foliculogênese vem sendo estudada, porém os mecanismos envolvidos ainda permanecem obscuros (McNATTY et al., 1999).

Os folículos em crescimento se encontram na porção córtico-medular, que é ricamente vascularizada, sugerindo que a ativação e o crescimento dos folículos primordiais dependem de nutrientes, hormônios e fatores de crescimento. Porém, nem todos os folículos primordiais iniciam seu crescimento ao mesmo tempo, devido a alguns fatores que podem estar retendo

alguns desses folículos na fase de quiescência, para serem ativados posteriormente ao longo dos anos (VAN WEZEL e RODGERS, 1996).

CRESCIMENTO FOLICULAR

O hipotálamo produz o hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH) no sistema porta hipotalâmico-hipofisário, a fim de estimular a síntese e a liberação de gonadotropinas: hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH), responsáveis pela maturação folicular, produção de estrógeno, ovulação e luteinização do corpo lúteo (CL) (ALJARRAH, 2004).

As gonadotrofinas aumentam a atividade esteroidogênica nas células da granulosa e células da teca, resultando em aumento na síntese e acúmulo de esteróides, especialmente o estradiol, na circulação geral e no fluido folicular onde o estradiol é elemento essencial à foliculogênese e aos eventos fisiológicos necessários à reprodução. Neste período do crescimento folicular, mudanças funcionais podem ser observadas, como por exemplo: a) aumento de sensibilidade nas células da granulosa ao FSH; b) aparecimento dos receptores de LH nas células da granulosa em folículos acima de 3mm e c) aumento da atividade da aromatase nas células da granulosa (MONNIAUX et al., 1997).

Os folículos, ao atingirem o diâmetro no qual são considerados pré-antrais, tornam-se responsivos a hormônios endócrinos. Esta fase tem início quando o folículo atinge um diâmetro de 0,216mm a 0,220mm e termina quando apresenta diâmetro acima de 2mm. O crescimento dos folículos, nesta fase, pode ser atribuído a um aumento no tamanho do ovócito, ao número de células da granulosa e, conseqüentemente, a um aumento no número de camadas de células e a um pequeno aumento do antro (DUFOR et al., 1979).

O crescimento dos folículos ovarianos

ao atingirem até 2mm de diâmetro é pouco sensível às variações de gonadotrofinas cíclicas. Suas necessidades em FSH e LH são baixas (DRIANCOURT et al., 1991), significando que os hormônios gonadotróficos não são absolutamente necessários à proliferação das células da granulosa e da teca (HIRSHFIELD, 1991).

Nos folículos apresentando diâmetro superior a 2mm, designados antrais, o crescimento folicular parece resultar do desenvolvimento do antro (LUSSIER et al., 1987), essencialmente dependente de gonadotrofinas hipofisárias (MONNIAUX et al., 1997), sendo esta fase de crescimento conhecida como foliculogênese tônica (DRIANCOURT et al., 1991).

Os avanços no estudo da endocrinologia reprodutiva demonstraram que o FSH tem relação temporal com os eventos reprodutivos e está associado ao padrão de crescimento folicular em ondas. Estima-se que, na ovelha, após formação de um pool de reserva, o folículo levaria aproximadamente 180 dias para atingir o estágio pré-ovulatório, sendo 135 dias até o aparecimento do antro, e, mais de 45 dias até a ovulação (CAHILL et al., 1979). A secreção pulsátil de FSH ocorre a cada 5-6 dias, o que resulta em três pulsos de gonadotrofina durante o ciclo estral de 17 dias, que de acordo com Bister e Paquay (1983), resultam em três ondas de crescimento na maioria das ovelhas e estão relacionados à emergência folicular.

INIBIDORES DO CRESCIMENTO FOLICULAR

A inibina ou foliculostatina é composta por dímeros α - β , levando a formação da inibina-A (α - β A) e inibina B (α - β B) (PANGAS e WOODRUFF, 2000). O folículo dominante produz a inibina na granulosa, que interrompe o crescimento folicular devido a progressiva inibição da síntese e liberação do FSH provocando *feedback* negativo

na hipófise, juntamente com estradiol no hipotálamo impedindo o desenvolvimento de novos folículos. Todavia, o folículo dominante só se tornará ovulatório, se os níveis de progesterona (P4) estiverem baixos, pois a progesterona bloqueia a liberação de LH e a ovulação (STABENFELDT e EDQVIST, 1996).

Apesar dos efeitos de estimulação no início do crescimento folicular primordial, a presença de pulsos de inibidores de crescimento pode ajudar a manter a quiescência do *pool* de folículos primordiais. Após a ativação do crescimento do folículo primordial, ocorre um aumento da proteína retinoblastoma (pRb) pela proliferação das células da granulosa. Por outro lado, o aumento no tamanho do oócito provoca uma depleção dessa proteína (BUKOVSKY et al., 1995).

A expressão da pRb no nucléolo do oócito pode estar associada com a produção de um inibidor autócrino de proliferação, que pode prevenir a proliferação das células da granulosa. Como a pRb, o gene supressor de tumor de Wilms (WTI) pode ser um inibidor genético envolvido na diferenciação folicular agindo em células da granulosa de folículos primordiais, primários e secundários, como por exemplo, a supressão do receptor para o fator de crescimento semelhante à insulina do tipo I, IGF-I-R (WERNER et al., 1993). Foi demonstrado que a expressão do WTI no ovário pode ser controlada da mesma forma que a pRb (HSU et al., 1995).

ESTIMULADORES DO CRESCIMENTO FOLICULAR

O início do desenvolvimento folicular, incluindo a transição dos folículos primordiais para primários, é independente de gonadotropinas e é regulado principalmente por fatores intraovarianos (VAN DEN HURK e ZHAO, 2005).

A zona pelúcida (ZP) é uma matriz extracelular que cerca o oócito e promove um

tipo de junção especializada para dentro da camada interna das células da granulosa (células do *cumulus*). Embora nos folículos primordiais ainda não exista a ZP, o início do crescimento dos folículos primordiais está associado à expressão genética coordenada da ZP-1 oócito-específico, ZP-2 e ZP-3, formando a ZP em folículos jovens. Durante este crescimento inicial, as células da granulosa se dividem e tornam-se metabolicamente unidas entre si, além de formarem junções gap heterólogas com o oócito chegando até eles através da ZP (GREEN, 1997).

As projeções transzonais da zona pelúcida (TZPs) são extensões de células foliculares que atravessam a zona pelúcida e terminam na superfície celular do oócito e estão presentes em maior número durante o desenvolvimento folicular. As TZPs estão ligadas à captura e ao transporte transcitótico de fatores, assim como a secreção entre os oócitos, a granulosa e as células da teca (ALBERTINI et al., 2001).

A ativação dos folículos primordiais é regulada pelo balanço entre os fatores inibitórios e estimulatórios de origem local. Alguns estudos, especialmente com roedores, demonstraram que dentre os fatores estimulatórios para ativação dos folículos está o sistema KIT ligante (KIT-L) ou fator de crescimento de células tronco (PARROTT e SKINNER, 1999).

O fator de crescimento mastocitário (MGF), codifica a proteína ligante (KL) que possui duas formas presentes nas membranas (KL-1 e KL-2), as quais podem estar dissociadas, produzindo uma forma solúvel do KIT-L (DRIANCOURT et al., 2000). O gene KIT codifica o receptor de tirosina quinase (c-KIT,) pertencente à família de receptores transmembrana tirosina quinase do tipo III, família que inclui o receptor para o fator estimulante de colônia tipo 1 e os fatores de crescimento a e b derivados das plaquetas, e sua transcrição codifica uma proteína de 975 aminoácidos, que pode ser

glicosilada (FLEISCHMAN, 1993).

Culturas *in vitro* de folículos e de oócitos retirados de gônadas fetais têm identificado objetivos específicos para interação c-KIT/KL. Na gônada fetal, tem-se demonstrado um efeito anti-apoptótico da interação entre esse receptor e sua proteína ligadora sobre as células germinativas, oogônias e oócitos. Em ovários, na vida pós-natal, a iniciação do crescimento folicular do grupo primordial e sua progressão além do estágio de folículo primário parecem envolver a interação do c-KIT/KL. Durante o início da foliculogênese o c-KIT junto com o KL controlam o crescimento do oócito e a diferenciação das células da teca, além de proteger os folículos pré-antrais da apoptose. A formação da cavidade antral requer um sistema c-KIT/KL funcional. Em grandes folículos antrais, a interação do c-KIT/KL modula a habilidade do oócito em sofrer maturação citoplasmática e ajuda a maximizar a produção de andrógeno. Consequentemente, muitos passos da oogênese e da foliculogênese parecem ser, em parte, controlados pela interação parácrina entre essas duas proteínas (DRIANCOURT et al., 2000).

Em ovelhas, Tisdall et al. (1999) relataram a expressão do gene KIT no início dos estádios da oogênese e mostraram que seu mensageiro é expresso no embrião de 24 dias. A expressão apresenta-se alta no embrião até o dia 55, e para, quando a meiose se inicia. Esses resultados estão de acordo com relatos de Clark et al. (1996) que usaram hibridização *in situ* para demonstrar que as células meióticas não expressam KIT, enquanto oócitos que tem alcançado o estágio de diplóteno da meiose e estão inclusos nos folículos primordiais reiniciam a expressão do mesmo.

Em embriões de 90 dias, a KL é expressa nas células mesenquimais do córtex ovariano e, em embriões de 100 dias, áreas de expressão são vistas em grupos de células isoladas em volta dos oócitos e nos folículos primordiais. Desta forma, pode-se concluir

que, em ovário fetal ovino, tão cedo quanto 90-100 dias de vida embrionária, as células germinativas e somáticas expressam KIT e MGF, respectivamente. Contudo, a expressão no oócito parece acontecer através da oogênese e foliculogênese (DRIANCOURT et al., 2000).

Os mecanismos que envolvem a ação dessas proteínas ainda não foram esclarecidos, permanecendo a pergunta: por que a expressão do KIT cessa quando as células germinativas entram em meiose, e recomeçam após o bloqueio diplóteno? Uma hipótese é a de que a cessação de sua expressão pode envolver a produção de proteínas da família ativina-inibina pelas gônadas fetais nesta fase, já que há evidências de que outras linhagens celulares (mastócitos, células hematopoiéticas) possam reduzir a expressão do KIT (JOYCE et al., 1999).

A expressão de KIT nas células da teca parece ser iniciada quando as formas da teca e sua regulação envolverem o LH, visto que, a gonadotrofina coriônica humana (hCG) ou o pico de LH ovulatório têm a capacidade de diminuir a expressão de KIT nestas células. Além disso, o FSH também tem a capacidade de estimular a expressão de KL-1 e KL-2 de forma dose-dependente. Nos folículos antrais finais, um efeito inibitório parácrino dos oócitos completamente crescidos, provavelmente, explica por que nenhuma expressão da KL é detectada nas células do *cumulus* (JOYCE et al., 1999).

Um possível mediador desse efeito é o fator de crescimento e diferenciação recombinante-9 (GDF-9), presente em grandes quantidades em oócitos grandes e que são inversamente proporcionais à quantidade de KL (ELVIN et al., 1999).

A observação de que a expressão da KL é restrita às células murais da granulosa nesses folículos, pode ser atribuída à testosterona, que estimula a expressão do KL-1 e KL-2 (JOYCE et al., 1999), produzida por células circunvizinhas da teca. Alter-

nativamente, o FSH pode estar envolvido, uma vez que as células próximas à lâmina basal expressam mais receptores para FSH do que as células mais interiores, podendo este hormônio regular a expressão da KL-1 e KL-2 (MONNIAUX e De REVIERS, 1989).

Vários estudos têm contribuído para a elucidação do padrão de sinalização do c-KIT/KL, destacando-se a via da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)-Akt-FKHRL1, sendo esta via um caminho de sinalização fundamental para a regulação da proliferação celular, sobrevivência, migração e metabolismo, e desempenhar papel importante na regulação da ativação de folículos primordiais (CELESTINO et al., 2009).

Estudos de Reddy et al. (2005), utilizando ovários de camundongos e ratos na vida pós-natal, revelaram que a via da PI3K no oócito é regulada pela KL das células da granulosa, sendo de grande importância para o início do desenvolvimento folicular. Este estudo sugeriu que a ação do KL sobre a transição de folículos primordiais para primários, e o subsequente desenvolvimento folicular, pode envolver a fosforilação Akt quinase serina/treonina.

Akt é uma molécula sinalizadora, que aumenta a proliferação celular, sobrevivência e síntese de glicogênio, de proteína (BLUME-JENSEN e HUNTER, 2001) e a transcrição do fator FKHRL1, sendo esta última, membro da subfamília de fatores de transcrição FOXO forkhead, que consiste em Foxo3a, Foxo1 e Foxo4, todos, efetores da via PTEN/PI3K/Akt (TRAN et al., 2003), responsáveis por ações que provavelmente provocam o gatilho da Akt e inibe as atividades do FKHRL1 nos oócitos. O FKHRL1 é um substrato da proteína Akt, assim como um fator de transcrição que leva a apoptose e parada do ciclo celular. Portanto, sugere-se que Akt estimule o desenvolvimento do oócito, enquanto FKHRL1 inibe (CELESTINO et al., 2009), esclarecendo, em parte, a via de sinalização do c-KIT/KL.

Silva et al. (2009) citaram que a família

desses fatores de crescimento é composta por mais de 40 membros, agrupados de acordo com sua homologia estrutural, sendo que diversos estudos demonstraram que várias proteínas pertencentes à família TGF- β são expressas em oócitos, células da granulosa e da teca e funcionam como reguladores intraovarianos dos processos de ativação de folículos primordiais, proliferação de células da granulosa e da teca, esteroidogênese e maturação oocitária, bem como no processo de atresia. Os principais fatores desta família, que exercem funções no controle dos processos reprodutivos, são as proteínas morfogenéticas ósseas dos tipos 2 (BMP-2), 4 (BMP-4), 6 (BMP-6), 7 (BMP-7), 15 (BMP-15), o fator de diferenciação do crescimento-9 (GDF-9), a ativina-A, a inibina, o hormônio anti-Mulleriano (AMH) e o própio fator transformador- β de crescimento (TGF- β).

Deve-se ainda lembrar, que o processo de seleção do folículo, também é dependente de sinais endócrinos, devidamente sincronizados, oriundos das gonadotrofinas hipofisárias e dos hormônios metabólicos. Contudo, estes hormônios agem sobre os receptores dos dois tipos de células somáticas e interagem com uma miríade de fatores produzidos localmente, operando de forma parácrina/autócrina para coordenar e controlar a função celular, demonstrando que os membros da superfamília TGF- β destacam-se entre os fatores produzidos localmente (KNIGHT e GLISTER, 2003).

A multiplicidade de fatores de crescimento pertencentes à superfamília TGF- β é expressa pelas células somáticas ovarianas e oócitos em desenvolvimento, de forma estágio-relacionada, funcionando como regulador intraovariano da foliculogênese (GILCHRIST et al., 2004).

Fatores como as proteínas ósseas morfogenéticas, bone morphogenetic protein 4 e 7 (BMP-4 e BMP-7) são expressas pelas células do estroma ovariano e/ou pelas células da teca e foram recentemente

te implicadas como reguladoras positivas da transição de folículos primordiais para folículos primários (GLISTER et al., 2005). Em contraste, evidências indicam um papel negativo para o hormônio anti-mülleriano (AMH), também conhecido como substância inibidora Mülleriana, com origem nas células pré-granulosa/granulosa neste evento-chave e posterior progressão para a fase antral (DURLINGER et al., 2002).

Dois outros membros da superfamília TGF- β , fator de crescimento e diferenciação-9 e BMP-15 (também conhecida como GDF-9B) que são expressos de uma forma específica em oócitos a partir de uma fase muito precoce e desempenham um papel fundamental na promoção do crescimento do folículo, além do estágio primário. Ratos com mutações nulas no gene GDF-9 ou ovelhas com mutações inativadoras nos genes GDF-9 e BMP-15 são inférteis, com desenvolvimento folicular estacionado no estágio primário (HAYASHI et al., 1999).

Estudos sobre as fases posteriores do desenvolvimento folicular indicam papéis positivos para a ativina derivada das células da granulosa, as BMP-2, BMF-5 e BMF-6, e derivadas das células da teca, BMF-4 e BMF-7, na proliferação das próprias células da granulosa, sobrevivência do folículo e da prevenção da luteinização prematura e/ou atresia. Concomitantemente, ativina, TGF- β e os vários BMPs podem exercer diversas ações parácrina sobre as células da teca para atenuar a produção de andrógenos, LH-dependente, nos pequenos e médios folículos antrais (GLISTER et al., 2005).

A ativina também pode desempenhar um papel positivo na maturação dos oócitos e na aquisição da sua competência de desenvolvimento (KNIGHT e GLISTER, 2003). Quatro tipos de receptores de ativina têm sido identificados nos folículos, sendo denominados de receptores de ativina tipo IA, IB, IIA e IIB. A ativina-A liga-se primeiro aos receptores de ativina IIA (ActR-IIA) ou IIB (ActR-IIB) e depois então, ao IB (ActR-

-IB). O complexo ativado da ativina e seus receptores estimulam as moléculas de sinalização intracelular que são deslocadas para o núcleo de regulação da transcrição gênica (PANGAS e WOODRUFF, 2000).

A folistatina, outro hormônio protéico encontrado no fluido folicular, não somente inibe a secreção de FSH, mas também se liga as ativinas e neutraliza sua atividade biológica. É, portanto, um modulador da secreção de FSH. Existem duas formas de folistatina (folistatina-315 e folistatina-288), e diferem estruturalmente no aminoácido 27 adicional, na extremidade terminal carboxila da folistatina-315. A folistatina não é relacionada estruturalmente a ativina e inibina, mas se liga com alta afinidade à subunidade- β , capaz de neutralizar a atividade da inibina, e mais particularmente, as formas da ativina (LIN et al., 2003).

Vários estudos têm demonstrado a importância do sistema ativina-folistatina no controle da função ovariana (VAN DEN HURK e ZHAO, 2005). *In vitro*, a ativina-A estimula a proliferação das células da granulosa nos folículos pré-antrais e início do antro nestes folículos, além de regular os receptores de FSH e a atividade da aromatase induzida por este hormônio. Em adição, a ativina-A retarda a luteinização e a atresia nos grandes folículos antrais elevando a maturação do oócito. Por outro lado, a folistatina atenua as ações da ativina-A e pode promover a luteinização e atresia dos grandes folículos antrais. A expressão da ativina-A e folistatina é, dependente da espécie, sendo encontrada em oócitos, nas células da granulosa e/ou teca (KNIGHT e GLISTER, 2003).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A compreensão dos mecanismos de regulação da foliculogênese em ovelhas envolve fatores estimuladores e inibidores do crescimento folicular. Portanto, torna-se indispensável o estudo e acompanhamento

da fisiologia e do desenvolvimento da biologia celular e molecular para atualização e melhor entendimento da regulação endócrina e modulação da foliculogênese na reprodução desta espécie.

Os mecanismos que regulam a foliculogênese torna-se pré-requisito básico na promoção da eficiência reprodutiva e do melhoramento genético de animais de interesse zootécnico, e, dessa forma, avanços nas biotécnicas de reprodução assistida requerem melhor entendimento da fisiologia ovariana. Neste contexto, os estudos relativos à expressão de fatores de crescimento e/ou hormonais, relacionados direta ou indiretamente com a foliculogênese e sua modulação, bem como aqueles envolvendo fatores endócrinos, parácrinos e/ou autócrinos, que possam contribuir na elaboração de estratégias de intervenção para o desenvolvimento dos oócitos, visando melhorar as taxas de viabilidade, crescimento e maturação dos mesmos tornam-se imprescindíveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERTINI, D.F.; COMBELLES, C.M.; BENECHCHI, E. et al. Cellular basis for paracrine regulation of ovarian follicle development. **Reproduction**, Cambridge, v. 121, p. 647-53, 2001.
- ALJARRAH, A.H. **Methods to induce earlier onset of cyclicity in transitional mares**. 2004. 65f. (Dissertation) - Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, Louisiana, USA.
- ALMEIDA, A.P.; CELESTINO, J.J.H.; SARAIVA, M.V.A. et al. Aplicabilidade das técnicas de biologia molecular para a compreensão da foliculogênese inicial em mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 34, n. 3, p. 133-148, 2010.
- ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: FNP, 2008. 385p.
- BISTER, J.L.; PAQUAY, R. Fluctuations in the plasma levels of follicle-stimulating hormone during estrous cycle, anestrus gestation and lactation: evidence for an endogenous rhythm of FSH release. **Theriogenology**, Stoneham, v. 19, p. 565-582, 1983.
- BLUME-JENSEN, P.; HUNTER, T. Oncogenic kinase signalling. **Nature**, London, v. 411, p. 355-365, 2001.
- BRANKIN, V.; QUINN, R.L.; WEBB, R. et al. Evidence for a functional bone morphogenetic protein (BMP) system in the porcine ovary. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 28, p. 367-379, 2005.
- BUKOVSKY, A.; CAUDLE, M.R.; KEENAN, J.A. et al. Quantitative evaluation of the cell cycle-related retinoblastoma protein and localization of Thy-1 differentiation protein macrophages during follicular development and atresia, and in human corpora lutea. **Biology Reproduction**, New York, v. 52, p. 776-792, 1995.
- CAHILL, L.P.; MARIANA, J.C.; MAULÉON, P. Total follicular populations in ewes of high and low ovulation rates. **Journal Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 55, p. 27-36, 1979.
- CELESTINO, J.J.H.; MATOS, M.H.T.; SARAIVA, M.V.A. et al. Regulation of ovarian folliculogenesis by Kit Ligand and the c-Kit system in mammals. **Animal Reproduction**, Amsterdam, v. 6, n. 3, p. 431-439, 2009.
- CLARK, D.E.; TISDALL, D.J.; FIDLER, A.E. et al. Localization of mRNA encoding c-kit during the initiation of folliculogenesis in ovine fetal ovaries. **Journal Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.106, p. 329-335, 1996.
- DRIANCOURT, M.A.; WEBB, R.; FRY, R.C. Does follicular dominance occur in ewes? **Journal Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 93, p. 63-70, 1991.
- DRIANCOURT, M.A.; REYNAUD, K.; CORTVRINDT, R. et al. Roles of KIT and KIT LIGAND in ovarian function. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 5, p. 143-152, 2000.
- DUFOUR, J.J.; CAHILL, L.P.; MÁULEON, P. Short and long term effects of hypofisectomy and unilateral ovariectomy on ovarian follicular populations in sheep. **Journal Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 57, p. 301-309,

1979.

DURLINGER, A.L.; VISSER, J.A.; THEMEN, A.P. Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. **Reproduction**, Cambridge, v. 124, p. 601–609, 2002.

ELVIN, J.A.; YAN, C.; WANG, P. et al. Molecular characterization of the follicle defects in the growth differentiation factor 9-deficient ovary. **Molecular Endocrinology**, Bethesda, v. 13, p. 1018–1034, 1999.

FLEISCHMAN, R.A. From white spots to stem cells: the role of the kit receptor in mammalian development. **Trends in Genetics**, Cambridge, v. 9, p. 285–290, 1993.

FIGUEIREDO, J.R.; RODRIGUES, A.P.R.; AMORIM, C.A. et al. Manipulação de oócitos inclusos em folículos ovarianos pré-antrais – MOIFOPA. In: GONÇALVES, P.B.D., FIGUEIREDO, J.R., FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo, Roca, p. 303-327, 2008.

FONSECA, J.F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16, 2005, Goiânia. **Anais...** [s.l.]: Belo Horizonte, CBRA, 2005. p. 16-25.

FORTUNE, J.E. The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 78, n. 3-4, p. 135-163, 2003.

FORTUNE, J.E.; RIVERS, G.M.; YANG, M.Y. Follicular development: The role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 82, p. 82-83, 2004.

GILCHRIST, R.B.; RITTER, L.J.; ARMSTRONG, D.T. Oocyte-somatic cell interactions during follicle development in mammals. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 82, p. 431–446, 2004.

GLISTER, C.; RICHARDS, S.L.; KNIGHT, P.G. Bone morphogenetic proteins (BMP) -4, -6, and -7 potently suppress basal and luteinizing hormone-induced androgen production by bovi-

ne theca internal cells in primary culture: could ovarian hyperandrogenic dysfunction be caused by a defect in thecal BMP signaling? **Endocrinology**, Auburn, v. 146, p. 1883–1892, 2005.

GREEN, D.P.L. Three dimensional structure of the zona pellucida. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 2, p. 147-156, 1997.

HAYASHI, M.; MCGEE, E.A.; MIN, G. et al. Recombinant growth differentiation factor-9 (GDF-9) enhances growth and differentiation of cultured early ovarian follicles. **Endocrinology**, Auburn, v. 140, p. 1236–1244, 1999.

HIRSHFIELD, A.N. Development of follicles in the mammalian ovary. **International Review of Cytology**, Knoxville, v. 124, p. 43-101, 1991.

HSU, S.Y.; KUBO, M.; CHUN, S.-Y. et al. Wilms tumor protein WTI as an ovarian transcription factor: decreases in expression during follicle development and repression of inhibin-a gene promoter. **Molecular Endocrinology**, Bethesda, v. 9, p. 1356-1366, 1995.

HULSHOF, S.C.J.; FIGUEIREDO, J.R.; BEKERS, J.F. et al. Isolation and Characterization of preantral follicles from foetal bovine ovaries. **Veterinary Questions and Answers Archive**, New York, v. 2, n. 16, p. 78-80, 1994.

JOYCE, I.M.; PENDOLA, F.L.; WIGGLESWORTH, K. et al. Oocyte regulation of kit ligand expression in mouse ovarian follicles. **Development of Biology**, Bethesda, v. 214, p. 342–353, 1999.

KNIGHT, P.G.; GLISTER, C. Local roles of TGF- β superfamily members in the control of ovarian follicle development. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 78, p. 165-183, 2003.

LIN, S.Y.; NORRISON, J.R.; PHILLIPS, D.J. et al. Regulation of ovarian function by TGF- β superfamily and follistatin. **Reproduction**, Cambridge, v. 126, p. 133-148, 2003.

LUSSIER, J.G.; MATTON, P.; DUFOUR, J.J. Growth rates of follicles in the ovary of the cow. **Journal Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 81, p. 301-307, 1987.

McNATTY, K.P.; HEATH, D.A.; LUNDY, T. et al.

- Control of early ovarian follicular development. **Journal Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 54, p. 3-16, 1999.
- MONNIAUX, D.; De REVIERS, M.M. Quantitative autoradiographic study of FSH binding sites in prepubertal ovaries of three strains of rats, **Journal Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 85, p. 151-162, 1989.
- MONNIAUX, D.; HUET, C.; BESNARD, N. et al. Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. **Journal Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 51, p. 3-23, 1997.
- PANGAS, S.A.; WOODRUFF, T.K. Activin signal transduction pathways. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, New York, v. 11, p. 309-314, 2000.
- PARROTT, J.A.; SKINNER, M.K. Kit-ligand/stem cell factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. **Endocrinology**, Auburn, v. 140, p. 4262-4271, 1999.
- REDDY, P.; SHEN, L.; REN, C. et al. Activation of Akt (PKB) and suppression of FKHL1 in mouse and rat oocytes by stem cell factor during follicular activation and development. **Development of Biology**, Bethesda, v. 281, p. 160-170, 2005.
- SILVA, J.R.V.; LEITÃO, C.C.F.; BRITO, I.R. A superfamília dos fatores de crescimento transformante- β e o controle da foliculogênese em mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 33, n. 3, p. 149-160, 2009.
- STABENFELDT, G.H.; EDQVIST, L.E. Processos reprodutivos da fêmea. In: SWENSON, M.J.; REECE, W. **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 615-644.
- TISDALL, D.J.; FIDLER, A.E.; SMITH, P. et al. Stem cell factor and c-kit gene expression and protein localization in the sheep ovary during fetal development. **Journal Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 116, p. 277-291, 1999.
- TRAN, H.; BRUNET, A.; GRIFFITH, E.C. et al. The many forks in FOXO's road. **Science Signaling**, Washington, n. 172, p. RE5, 2003.
- VAN DEN HURK, R.; ZHAO, J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology, Stoneham**, v. 63, p. 1717-1751, 2005.
- VAN WEZEL, I.L.; RODGERS, R.J. Morphological characterization of bovine follicles and their environment in vivo. **Biology Reproduction**, New York, v. 55, p. 1003-1011, 1996.
- WEBB, R.; NICHOLAS, B.; GONG, J.G. et al. Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. **Reproduction Supplement**, Cambridge, v. 61, p. 71-90, 2003.
- WERNER, H.; ROBERTS J.R., C.T.; LEROITH, D. The regulation of IGF-I receptor gene expression by positive and negative zinc-finger transcription factors. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, Heidelberg, v. 343, p. 91-103, 1993.