

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DA DIVERGÊNCIA FOLICULAR
EM VACAS DA RAÇA TABAPUÃ (*Bos taurus indicus*)
TRATADAS COM SOMATOTROFINA BOVINA**

BIANCA ARNONE

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DA DIVERGÊNCIA FOLICULAR
EM VACAS DA RAÇA TABAPUÃ (*Bos taurus indicus*)
TRATADAS COM SOMATOTROFINA BOVINA**

BIANCA ARNONE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós – Graduação em Ciência Animal, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal

Área de Concentração: Reprodução animal

Orientadora: Prof^a Dr^a Caliê Castilho

636.213
A763c

Arnone, Bianca.

Caracterização morfológica da divergência folicular em vacas da raça Tabapuã (*Bos taurus indicus*) tratadas com Somatotrofina Bovina / Bianca Arnone. – Presidente Prudente: [s.n.], 2008.

50 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) –
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE:
Presidente Prudente – SP, 2008.

Bibliografia

1. IGF. 2. Hormônio do crescimento. 3.
Folículo dominante. 4. Divergência folicular. 5.
Vacas Zebuínas. I. Título.

BIANCA ARNONE

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DA DIVERGÊNCIA FOLICULAR EM VACAS
DA RAÇA TABAPUÃ (*Bos taurus indicus*) TRATADAS COM SOMATROFINA
BOVINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
– Graduação em Ciência Animal como parte
dos requisitos para a obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

Presidente Prudente, 14 de novembro de 2008.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Caliê Castilho
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE
Presidente Prudente - SP

Prof^a Dr^a Inês Cristina Giometti
Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE
Presidente Prudente - SP

Prof^o. Dr. Guilherme de Paula Nogueira
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP
Araçatuba - SP

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Antonio Carlos Arnone e Marize Guimarães Montoni Arnone, por fazerem parte da minha vida e por me darem a oportunidade de realizar mais uma etapa.

Ao meu marido Eduardo Ribeiro, pelo companheirismo, fidelidade e amor dado a cada dia de nossas vidas.

À minha filha Isabella, que mesmo estando dentro do meu ventre já sinto um amor incondicional e uma realização plena como mulher.

AMO VOCÊS!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por realizar mais um sonho da minha vida me dando saúde e força pra superar cada obstáculo.

À minha orientadora Prof^a Dra. Caliê Castilho, pela orientação, carinho e compreensão em cada etapa e principalmente pela sabedoria transmitida por todo o curso. Obrigada por tudo!

Ao aluno da UNOESTE-SP, José Ricardo Macedo, pela disposição em ajudar e ceder sua propriedade e animais para a realização do projeto.

Aos alunos de iniciação científica da UNOESTE-SP, André Sgarbi Lolo e Ana Claudia Prandini, pela disposição em ajudar na realização do projeto.

Aos funcionários da Fazenda Santa Edwiges, pela dedicação e carinho durante toda a estadia.

À aluna da pós-graduação em Ciência Animal da UNOESTE-SP, Iara Rosa, pela nossa amizade conquistada que irei levar pela vida toda.

“Certamente que a bondade e a misericórdia me seguirão todos os dias da minha vida; e habitarei na casa do SENHOR por longos dias”.

Salmo 23: 6

RESUMO

Caracterização morfológica da divergência folicular em vacas da raça Tabapuã (*Bos taurus indicus*) tratadas com somatotrofina bovina

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da somatotrofina bovina na divergência folicular em vacas da raça Tabapuã. Foram utilizadas 16 vacas da raça Tabapuã, inicialmente receberam implante de progestágeno auricular concomitante à aplicação IM de 1mg de benzoato de estradiol (dia 0). No dia 5, dividiram-se as fêmeas em 2 grupos: G-I (controle, n=8) e as vacas do G-II foram tratadas com 500 mg bST (n=8). No dia 10 foi feita a retirada do crestar concomitante a aplicação de 500 µg de PGF2 α e apenas nas vacas com folículos > 9 mm aplicação de 300 µg de GnRH. Foram realizados exames ultra-sonográficos a cada 12 horas por 5 dias. Não houve diferença estatística entre os momentos de divergência folicular, no G-I foi de 2,4 dias e no G-II 2,1 dias. Nesse momento o FD e FS mediram 6,28 \pm 0,42 e 6,26 \pm 0,41 mm no G-I e 6,08 \pm 0,72 e 6,12 \pm 0,39 mm no G-II. O FD atingiu diâmetro máximo após a ovulação em média 110,00 \pm 8,43 horas no GI e 115,20 \pm 8,98 horas no GII. Já o FS atingiu o diâmetro máximo às 55,00 \pm 20,00 e 76,80 \pm 10,46 horas, respectivamente. A média do diâmetro máximo atingido pelo FD e FS no GI foi respectivamente 8,85 \pm 0,41 e 6,50 \pm 0,42 mm e no GII foi 9,83 \pm 0,63 e 6,87 \pm 0,35 mm. Não houve diferença significativa (p>0,05) no diâmetro do FD e FS e nem nas taxas de crescimento (mm/12h) do FD antes e após a divergência folicular. Concluímos que a aplicação de bST não afetou o diâmetro folicular, a taxa de crescimento do FD e FS antes e após a divergência, nem tampouco, o momento da divergência folicular.

Palavras - chave: IGF - Hormônio do crescimento, Folículo dominante, Divergência folicular, Vacas zebuínas

ABSTRACT

Morphological characterization of follicle deviation in the cows breed Tabapuã (*Bos taurus indicus*) treated with bovine somatotropin

The aim of the study was to evaluate the effect of bovine somatotropin in follicular deviation of sixteen Tabapuã cows. The animals received an ear implant of progesterone and 1 mg of estradiol benzoate, IM (day 0). On day 5, the females were divided into 2 groups: GI (control, n=8) and GII (treated with 500 mg bST, n=8). On day 10, the implants were removed and injected 500 µg of PGF2α in all cows. Only cows with follicles bigger 9 mm received 300 µg of GnRH. Ultrasound examinations were performed each 12 hours. There was no statistical difference between the follicular deviation in GI (2.4 days) and GII (2,1 days). At the divergence moment, FD and FS of GI were 6.28±0.42 and 6.26±0.41 mm, respectively, and FD and FS of GII were 6.08±0.72 and 6.12±0.39 mm. The mean maximum diameter of FD after ovulation was at 110.0±8.43 hours in GI and 115.2±8.98 hours in GII. FS reached the maximum diameter at 55.0±20.0 hours in GI and 76.8±10.46 hours in GII. The mean maximum diameter reached by FD and FS in GI was 8.85±0.41 and 6.5±0.42 mm, respectively, and GII 9.83±0.63 and 6.87±0.35 mm. There was no significant difference (p> 0.05) in diameter of FD and FS, neither in growth rates (mm/12 hours) of the FD before and after the deviation, neither in the moment of follicle deviation.

Key words: IGF - Growth hormone, Dominant follicle, Follicle deviation, Zebu cattle

LISTA DE ABREVIATURAS

µg - micrograma

BE - benzoato de estradiol

bST - somatotrofina bovina

D - dia

EPM - erro padrão da média

FD - folículo dominante

FS - folículo subordinado

FSH - hormônio folículo estimulante

GnRH - hormônio liberador de gonadotrofinas

h - hora

hCG - gonadotrofina coriônica humana

IGF - fator de crescimento semelhante a insulina

IGFBP - proteína ligadora de IGF

IM - intramuscular

LH - hormônio luteinizante

LHr - receptor de LH

mg - miligrama

mm - milímetro

n - número de animais

p - nível de significância

PGF2α - prostaglandina F2α

RNA_m - ácido ribonucléico mensageiro

RT-PCR - reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Dinâmica Folicular	12
2.2 Divergência Folicular	14
2.3 fatores Relacionados à Divergência Folicular	15
2.3.1 Hormônio folículo estimulante	15
2.3.2 Estradiol	16
2.3.3 Hormônio luteinizante	17
2.3.4 Activina e inibina	18
2.3.5 Fator de crescimento semelhante à insulina	19
2.3.6 Somatotrofina bovina	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
3 ARTIGO CIENTÍFICO	31

1 INTRODUÇÃO

A dinâmica folicular representa um dos aspectos mais importantes da fisiologia ovariana, sendo estudada desde a década de 80 pela ultra-sonografia diária em raças taurinas e zebuínas. A fisiologia reprodutiva de vacas zebuínas é diferente de vacas taurinas. A principal diferença no desenvolvimento folicular entre fêmeas *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* se refere ao diâmetro máximo atingidos pelos folículo dominante (FD) e ovulatório.

A divergência folicular foi definida como o início na diferença significativa nas taxas de crescimento entre o futuro FD e o maior subordinando ou o exame anterior ao folículo subordinando (FS) atingir seu diâmetro máximo (GINTHER et al., 1996). Associada com eventos endócrinos e celulares (SARTORI et al., 2001).

A somatotrofina bovina (bST) é um hormônio hipofisário com múltiplos efeitos no crescimento e diferenciação celular (GLUKMAN et al., 1987) e têm demonstrado ação nos ovários, sobretudo no crescimento folicular (KIRBY et al., 1997). Em novilhas e vacas européias (GONG et al., 1993; KOZICKI et al., 2005; DE LA SOTA et al., 1993; GONG; BRAMLEY; WEBB, 1991) o tratamento com bST elevou o número de folículos pequenos, assim como em novilhas da raça Nelore (BURATINI Jr. et al., 2000).

As alterações nos ovários de vacas são provavelmente a combinação do efeito direto da bST e indireto do IGF-1 (fator de crescimento semelhante a insulina, KIRBY; WILSON; LUCY, 1997). Os IGFs exercem uma importante função no crescimento folicular através do estímulo à proliferação das células da granulosa, em sinergismo com as gonadotrofinas (GONG et al., 1993; FORTUNE; RIVERA; YANG, 2004). Desse modo, a aplicação de bST induz aumento de IGF-1 e conseqüentemente altera o desenvolvimento folicular, possibilitando melhora no desenvolvimento das biotécnicas reprodutivas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Dinâmica Folicular

Os folículos denominados terciários ou antrais são caracterizados pela organização das células da granulosa em várias camadas com a formação de uma cavidade repleta de líquido folicular, entre as camadas denominada antro. O fluido folicular que preenche esta cavidade contém água, eletrólitos, proteínas séricas e alta concentração de produção de esteróides pelas células da granulosa (BARNETT et al., 2006).

Devido à formação de antro repleto de líquido, o qual na ultra-sonografia apresenta-se como uma imagem anecóica, é possível acompanhar o desenvolvimento do antro folicular por dias sucessivos durante todo o ciclo estral. Os primeiros trabalhos com ultra-sonografia diária para determinar a dinâmica folicular em bovinos iniciaram-se no final da década de 80 caracterizando o crescimento folicular em fêmeas européias. Posteriormente, iniciaram os trabalhos com fêmeas zebuínas e os resultados obtidos nesses estudos, tanto em *Bos taurus* quanto em *Bos indicus* ou seu cruzamento demonstram que a dinâmica folicular ocorre em um padrão de duas (PIERSON; GINTHER, 1988; GINTHER; KNOFF; KASTELIC, 1989; FIGUEIREDO et al., 1997) ou três (SAVIO et al., 1988; GAMBINI et al., 1998; CASTILHO et al., 2000) ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral.

O número de ondas de crescimento folicular pode ser influenciado por vários fatores como: a duração da fase luteínica (BARUSELLI et al., 1997; GINTHER; KNOFF; KASTELIC, 1989), baixa ingestão de nutrientes (MURPHY et al., 1991), concentrações plasmáticas de inibina-A e hormônio folículo estimulante (FSH) (PARKER et al., 2003).

Existem diferenças na dinâmica folicular entre *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*, e uma particularidade observada entre zebuínos e taurinos diz respeito ao número de ondas de crescimento folicular por ciclo estral, que em animais da raça Holandesa demonstraram predomínio de duas e três ondas de crescimento folicular por ciclo estral (SAVIO et al., 1988; SIROIS; FORTUNE, 1988; GINTHER; KNOFF; KASTELIC, 1989; WOLFENSON et al., 2004). Contudo, em zebuínos existem relatos

que descrevem maior incidência de 3 ondas, sendo notificada a presença de até 4 ondas de crescimento folicular por ciclo estral (RHODES; DE'ATH; ENTWITILE, 1995; FIGUEIREDO et al., 1997; VIANA et al., 2000). Recentemente, um estudo envolvendo 91 intervalos interovulatórios correlacionou o número de ondas por ciclo com a duração da dominância folicular na primeira onda, ou seja, maior tempo de dominância na primeira onda está associado ao atraso na obtenção de diâmetro máximo do folículo dominante (FD) da segunda onda e conseqüentemente com o início precoce da luteólise (JAISWAL, 2007).

Em animais que apresentam duas ondas de crescimento folicular, o intervalo interovulatório em *Bos taurus indicus* (nulíparas e multíparas da raça Nelore e nulíparas da raça Brahman) foi de 20,2 a 20,7 dias (FIGUEIREDO et al., 1997; RHODES; DE'ATH; ENTWISTLE, 1995) e *Bos taurus taurus* (nulíparas da raça Holandesa) foi de 20,4 dias (GINTHER; KNOPF; KASTELIC, 1989). Nos casos de três ondas, *Bos taurus indicus* é de 21,9 a 22,0 dias (FIGUEIREDO et al., 1997), e *Bos taurus taurus* de 22,8 dias (GINTHER; KNOPF; KASTELIC, 1989). A duração da fase luteínica em *Bos taurus indicus* com duas ondas de crescimento folicular é de 11,8 dias e em animais com três ondas é de 14,2 dias (RHODES; DE'ATH; ENTWISTLE, 1995).

A principal diferença no desenvolvimento folicular entre fêmeas *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* se refere ao diâmetro máximo atingidos pelos FD e ovulatório. O diâmetro do folículo ovulatório em fêmeas zebuínas ou cruzadas é em torno de 10 mm (FIGUEIREDO et al., 1997; GAMBINI et al., 1998; CASTILHO et al., 2000). Em relação aos diâmetros máximos de FD em *Bos taurus indicus* com duas ondas de crescimento folicular, são de 11,3 e 12,1 mm (FIGUERIREDO et al., 1997), e em *Bos taurus taurus* são de 17,1 e 16,5 mm (GINTHER; KNOPF; KASTELIC, 1989). E naqueles com três ondas de crescimento folicular, são de 10,4; 9,4; 11,6 mm em *Bos taurus indicus* (FIGUERIREDO et al., 1997), e 16,0; 12,9; 13,9 mm em *Bos taurus taurus* (GINTHER; KNOPF; KASTELIC, 1989).

2.2 Divergência Folicular

Cada onda de crescimento folicular é composta por três fases: recrutamento, seleção e atresia. No início da onda um grupo de folículos é recrutado exibindo crescimento simultâneo (Fase de Recrutamento), dentre eles apenas um é selecionado (Fase de Seleção) e passa a exercer dominância sobre os demais folículos, suprimindo o crescimento dos mesmos e inibindo o recrutamento de um novo grupo de folículos e na presença de altos níveis de progesterona o FD torna-se anovulatório, devido à baixa frequência na pulsatilidade de LH (Fase de Atresia) (GINTHER et al., 1996; GINTHER; KNOPF; KASTELIC, 1989; SIROIS; FORTUNE, 1988).

A fase de seleção folicular pode ser observada pela ultra-sonografia seriada como uma divergência no crescimento entre os dois maiores folículos ovariano após um período de crescimento comum. A partir dessa constatação, Ginther et al. (1996) foram os primeiros a propor e definir a divergência folicular, como o início na diferença significativa nas taxas de crescimento entre o futuro FD e o maior FS ou o exame anterior ao FS atingir seu diâmetro máximo. Castilho et al. (2007), confirmaram em estudo realizado com novilhas da raça Nelore que a divergência folicular foi caracterizada por uma diminuição na taxa de crescimento do FS e aumento na taxa de crescimento do FD.

O FS cessa o crescimento e eventualmente diminui seu tamanho associado com a diminuição nos sítios de ligação das gonadotrofinas nas células da teca e da granulosa, limitando a capacidade de produção de estradiol (IRELAND; ROCHE, 1983) e dá início à apoptose nas células da granulosa coincidindo com a atresia nos folículos ovarianos (JOLLY et al., 1997). Já o FD é caracterizado pelo aumento na capacidade de sintetizar estradiol (SUNDERLAND et al., 1994; CARRIÈRE, HARVEY; COOKE, 1996) e provavelmente aumento na expressão de RNAm para receptor do hormônio luteinizante (LH) nas células da granulosa (GINTHER et al., 1996).

Em estudo realizado com novinhas da raça Holandesa, foi observado que a divergência folicular ocorreu 2,8 dias pós-ovulação apresentando diâmetro do FD de 8,5 mm e do FS de 7,2 mm (GINTHER et al., 1996). Já Sartorelli et al. (2005) em estudo com novilhas da raça Nelore descrevem que o momento da divergência

ocorre 2,5 dias pós-ovulação com diâmetros 5,7 mm para o FD e 5,5 mm para o FS. Resultado semelhante foi observado por Castilho et al. (2007), estudando também novilhas da raça Nelore, onde a divergência folicular ocorre com 2,7 dias pós-ovulação, quando o FD apresentou 5,4 mm e o FS 5,3 mm. Gimenes et al. (2008) observaram que o momento da divergência folicular, em relação à ovulação, é de 2,5 dias para novilhas zebuínas, com os diâmetros do FD e maior FS de 6,2 mm e 5,9 mm, respectivamente.

A divergência folicular está associada com eventos endócrinos e celulares, como o decréscimo dos níveis de FSH, aumento das concentrações circulantes de 17β -estradiol, aumento de IGF-1 e na expressão de receptores de LH (SARTORI et al., 2001).

2.3 Fatores Relacionados à Divergência Folicular

2.3.1 Hormônio folículo estimulante

O hormônio gonadotrófico FSH é muito importante para a manutenção da função ovariana. A atuação do FSH é direcionada às células da granulosa e resulta em uma variedade de reações, tais como: a estimulação da proliferação celular, a síntese de esteróides e a expressão de receptores para Fator de Crescimento Epidermal (EGF) e LH (MARTINS et al., 2005). Além disso, Ginther et al. (2003a) verificaram em estudos *in vitro*, que o FSH estimula a produção de estradiol, IGF-1, activina-A e inibina-A.

Aumento na concentração plasmática de FSH tem início 1 a 2 dias antes da emergência folicular (ADAMS et al., 1992), atinge concentrações máximas quando os folículos recrutados apresentam diâmetro médio de 4mm (GINTHER, 2000b), no entanto, ocorre uma diminuição nas concentrações de FSH após a seleção do FD e esta se mantém em níveis basais até que o FD perca a sua dominância, resultando em um novo aumento nos níveis de FSH e emergência da onda subsequente (BODENSTEINER et al., 1996). Castilho et al. (2007) observaram

em novilhas da raça Nelore, que os menores níveis de FSH ocorreram 24 horas antes do momento da divergência folicular.

A queda nos níveis de FSH é causada pela ação combinada da inibina e do estradiol, produzidos pelos folículos maiores de 5 mm (GIBBONS; WILTBANK; GINTHER, 1999), resultando na retroalimentação negativa (WEBB et al., 1999; FORTUNE; RIVERA; YANG, 2004) sobre a hipófise. Entretanto, essa ação conjunta dos folículos ocorre somente até a fase de crescimento comum, pois após a divergência folicular apenas o FD é o responsável pela inibição do FSH (GINTHER et al., 2003a), sobretudo pela produção de estradiol (GINTHER et al., 2000a; GINTHER et al., 2001a).

2.3.2 Estradiol

O estradiol é um hormônio produzido pelas células da granulosa de folículos em crescimento (GINTHER et al., 2003b), e sua síntese depende do aumento na expressão e atividade dos receptores de gonadotrofinas, enzimas esteroidogênicas e fatores de crescimento (MIHM; AUSTIN, 2002).

O estradiol circulante começa a aumentar no momento da divergência folicular, estando associado à elevação transitória de LH que acompanha a seleção folicular (GINTHER et al., 2001b; KULICK et al., 1999). Baseado em estudos *in vitro*, o estradiol aumenta sob atividade da aromatase, aumentando a sensibilidade das células da granulosa para LH e FSH, potencializando a expressão de receptores de gonadotrofinas (ROSENFELD et al., 2001), e aumentando a síntese de IGF-1 nas células da granulosa (HSU; HAMMOND, 1987).

Em experimento realizado com novilhas taurinas, Gibbons; Wiltbank e Ginther (1999) observaram que o nível de estradiol foi maior durante a fase de crescimento do FD (aproximadamente 2,5 dias após a ovulação) quando comparado à fase de platô (aproximadamente 5,6 dias após a ovulação).

De acordo com Fortune et al. (2001), folículos selecionados apresentam concentração de estradiol no fluido folicular significativamente maior que nos folículos em recrutamento ou regressão. Já em outros estudos detectaram no fluido folicular que a diferença nas concentrações de estradiol entre os dois maiores

folículos é simultânea à diferença nos diâmetros entre os mesmos (BEG et al., 2001; FORTUNE et al, 2001; GINTHER et al., 2001 b).

2.3.3 Hormônio luteinizante

O hormônio luteinizante (LH) é uma glicoproteína secretada pela hipófise anterior, sendo um regulador primário da função ovariana. O LH pode apresentar múltiplos papéis sobre o desenvolvimento folicular, porém, grande parte dos estudos tem focado sua ação em folículos em estádios mais avançados de desenvolvimento, sobretudo durante a fase pré-ovulatória (WU et al., 2000).

Os folículos são considerados dependentes de FSH até a ocorrência da divergência, sendo que após essa fase eles se tornam dependentes de LH (FORTUNE et al., 2001) A expressão de receptores de LH (LHR) em células da granulosa está associada à dominância folicular (XU et al., 1995; BAO; GARVERICK, 1998), o que condiz com o aumento proporcional do diâmetro com a capacidade de ligação de células da granulosa de FD a gonadotrofina coriônica equina (hCG) (IRELAND; ROCHE, 1983). Entretanto, Evans e Fortune (1997) não observaram o RNAm do LHR por meio de hibridização *in situ* nas células da granulosa do FD ou do FS no segundo e terceiro dias da onda folicular (momento da divergência folicular), corroborando resultados anteriores em que o LHR não foi detectado em células da granulosa antes dos 9 mm de diâmetro por meio da mesma técnica (XU et al., 1995).

Em estudos utilizando RT-PCR, Beg et al. (2001) detectaram maior concentração do RNAm do LHR em futuros FD comparados com seus subordinados antes da divergência folicular, o que os levou a sugerir que a expressão precoce do LHR em células da granulosa seria um evento importante para a seleção folicular. Contudo, Robert et al. (2003), também utilizando RT-PCR, relataram expressão do RNAm do LHR em células da granulosa de folículos menores que 5 mm, no entanto a expressão do LHR não foi observada em células da teca.

Nogueira et al. (2006) relataram que a expressão do RNAm do LHR em células da granulosa mostrou-se correlacionada com o diâmetro folicular, tendo sido observada apenas após o diâmetro de 7 mm. Considerando-se que a divergência folicular ocorre ao redor de 5,4 mm de diâmetro na raça Nelore (SARTORELLI et al.,

2005; CASTILHO et al., 2007), conclui-se que a expressão do gene para LHR nas células da granulosa foi detectada já na fase de dominância, portanto, após a seleção folicular. Além disso, Gimenes et al. (2008) não comprovaram a hipótese da elevação transitória nas concentrações de LH próximo ao momento da divergência folicular.

Ainda não está claro se o aumento observado na expressão de LHR no FD é a causa ou consequência do processo de seleção da dominância (ADAMS; JAISWAL, 2008).

2.3.4 Activina e inibina

As inibinas são glicoproteínas diméricas consistindo de uma unidade α e uma β , produzida pelas células da granulosa de folículos em crescimento, e podem se apresentar no fluido folicular bovino sob diversas formas diméricas e monoméricas (MIHM; AUSTIN, 2002). Estudos demonstraram que existem pelo menos sete formas diferentes de inibinas no fluido folicular de bovino, sendo que as quantidades e proporções variam de acordo com a fase folicular ou luteínica do folículo (IRELAND et al., 1994). Todas as formas diméricas suprimem a síntese e liberação do FSH na adenohipófise (GOOD et al., 1995), afetando diretamente o crescimento folicular e a esteroidogênese (WRATHALL; KNIGHT, 1995). Assim, o FD suprime ativamente o crescimento dos subordinados pela secreção de estradiol e inibina (FORTUNE, 1994; GINTHER et al. 1996). No entanto, a inibina-A produzida por todos os pequenos folículos em crescimento no início da onda parece ser o supressor mais importante do FSH durante os dois primeiros dias da onda emergente, a partir desse ponto o estradiol sintetizado pelo FD é o mais importante supressor de FSH (GINTHER et al., 2000a; GINTHER et al., 2001a).

A administração de inibina bovina em novilhas ovariectomizadas reduz a concentração plasmática de FSH (BEAR et al., 1990 apud ARMSTRONG et al., 1998). Além disso, anticorpos contra inibina ou fragmentos da inibina neutralizam sua atividade biológica resultando em um aumento nas concentrações plasmáticas de FSH (KANEKO et al., 1993; GLENCROSS et al., 1994 apud ARMSTRONG et al., 1998).

A activina, que é um homodímero da subunidade β da inibina, tem ações opostas à deste peptídeo tanto na hipófise quanto nos ovários. A activina aumenta as aquisições de receptores de FSH e a síntese de inibina pelas células da granulosa promovendo a proliferação das células da granulosa e a esteroidogênese durante o desenvolvimento folicular inicial (MIHM; AUSTIN, 2002). As activinas e inibinas são provenientes de células da granulosa e estão envolvidas com a produção de andrógenos pelas células da teca. Sabe-se que a produção de inibina é estimulada pelo hormônio luteinizante (LH) *in vitro*, através do AMP cíclico (FINDLAY et al., 1993).

A activina-A parece estar envolvida no processo de divergência, pois a elevação transitória nas concentrações deste peptídeo foi associada ao aumento de estradiol e IGF-1 em bovinos (GINTHER et al., 2003a). Utilizando-se o momento da divergência para avaliar as concentrações de Inibina no fluido folicular constatou-se que não houve diferença nas concentrações de inibina entre o maior folículo e o segundo maior folículo analisados antes e durante o momento da divergência (BEG et al., 2001).

2.3.5 Fator de crescimento semelhante à insulina

O fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) é encontrado no fígado em maior quantidade, sendo reconhecido como o principal sítio de síntese desse fator, expressando grande quantidade de receptores para a bST e produzindo IGF-1 em resposta ao tratamento com bST (GLUCKMAN; BREIER; DAVIS, 1987).

O IGF-1 é um fator de crescimento que estimula o crescimento e desenvolvimento em vários tipos de células. O IGF-2 é similar ao IGF-1 em estrutura e função, entretanto a bST não controla esta secreção (VICINI et al., 1991).

Os IGFs exercem uma importante função no crescimento folicular através do estímulo à proliferação das células da granulosa, em sinergismo com as gonadotrofinas (GONG et al., 1993; FORTUNE; RIVERA; YANG, 2004). E confirmando esta idéia, estudos *in vivo* têm indicado que a injeção intrafolicular de IGF-1 aumenta o diâmetro folicular (SPICER et al., 2000) e a produção de estradiol

(GINTHER et al., 2004), demonstrando a estrita relação com o desenvolvimento dos folículos.

Em algumas espécies, o IGF-1 estimula a mitogênese das células da granulosa e da teca na ausência de gonadotrofinas, uma vez que na presença de gonadotrofinas, IGF-1 estimula a esteroidogênese destas células (revisado por SPICER; ENCTERNKAMP, 1995, GIUDICE, 1992). Apesar da expressão gênica do IGF-1 e 2 ter sido localizada em células da granulosa e da teca, respectivamente, o IGF-2 tem sido apontado como o principal IGF intra-ovariano, enquanto que o IGF-1 atua de forma endócrina (YUAN et al., 1998; ARMSTRONG et al., 2000).

Os efeitos biológicos dos IGFs são modulados pelas proteínas ligadoras de IGF (IGFBPs) cujos níveis no fluido folicular alteram-se durante a foliculogênese (MONGET et al., 1996).

A manutenção de baixa atividade das IGFBPs totais no grupo de folículos é, pelo menos em parte, regulado pelo FSH e por dois outros mecanismos identificados até o momento como, a redução na expressão do gene de IGBP-2 (ARMSTRONG et al., 1998) e a indução de atividade proteolítica contra a IGBP-4 (RIVERA et al. 2001; FORTUNE et al., 2001).

O FD possui maior atividade das proteases específicas para IGFBP-4, quando comparado aos subordinados, liberando IGF-1 o que provavelmente potencializa ou permite a ação das gonadotrofinas na estimulação do crescimento e na diferenciação folicular resultando no estabelecimento da dominância (MIHM et al., 2000; RIVERA et al., 2001; FORTUNE et al., 2001). Ginther et al. (2001a), confirmaram que a concentração de IGFBP-2, 4, 5 no fluido folicular é menor ou nula no FD e maior no FS.

Peptídeos intra-ovarianos como o IGF-2, as IGFBPs e os FGFs (Fatores de crescimento fibroblástico) participam de mecanismos de controle que, associados à ação gonadotrópica, determinam o recrutamento, seleção e dominância folicular (BURATINI JR., 2007).

2.3.6 Somatotrofina bovina

A somatotrofina ou hormônio do crescimento (bST) produzido pela hipófise anterior foi reconhecido primeiro pela sua capacidade de promover o crescimento do esqueleto e o aumento do peso corporal em animais jovens, também pelos profundos efeitos no metabolismo de carboidratos. É um polipeptídeo com 191 resíduos e peso molecular (PM) 21000, sendo obtido artificialmente pela técnica do DNA recombinante originando a somatotrofina recombinante bovina (rbST) e a maioria dos receptores para a bST em vacas está localizado no fígado (HAUSER et al., 1990). No entanto, seus receptores também foram observados em órgãos envolvidos na reprodução tais como: hipotálamo, hipófise, corpo lúteo (CL), folículo ovariano, oviduto, miométrio, endométrio e placenta (revisado por LUCY, 2000) sugerindo sua ação na reprodução.

A bST é muito utilizada visando aumentar a produção leiteira (BAUMAN, 1992). Em estudo realizado por Moreira et al. (2000) a bST aumentou as taxas de prenhez em vacas leiteiras quando utilizado juntamente com o protocolo de inseminação artificial em tempo fixo.

Os efeitos da bST ligados ao crescimento (GLUCKMAN; BREIER; DAVIS, 1987), regulação de processos fisiológicos e metabólicos dos animais são realizados pela síntese de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) e proteínas ligadoras do IGF (IGFBP) que são mediadores hormonais nos processos metabólicos (LUCY et al., 1994).

A bST age no ovário (TANNER; HAUSER, 1989) aumentando o número de folículos recrutados entre 2 e 5 mm (PAVLOK et al., 1996; HWANG; LEE; LEE, 1997; WEBB; GONG; BRAMLEY, 1994), estimulando o desenvolvimento folicular (WEBB; GONG; BRAMLEY, 1994) e controlando os níveis de progesterona pelo corpo lúteo (LUCY et al. 1994).

Em estudos realizados com novilhas e vacas européias (GONG et al., 1993; KOZICKI et al., 2005; DE LA SOTA et al., 1993, GONG; BRAMLEY; WEBB, 1991) foi constatado que o tratamento com bST aumenta o recrutamento dos folículos ovarianos, assim como em novilhas da raça Nelore (BURATINI Jr. et al., 2000).

A bST causa aumento na síntese e secreção de IGF-1 tanto quanto na principal proteína carreadora de IGF, a proteína ligadora de IGF (IGFBP) (JONES;

CLEMMONS, 1995), e segundo Lucy et al. (1993), as alterações nos ovários de vacas são provavelmente a combinação do efeito direto da bST e indireto do IGF-1 (KIRBY; WILSON; LUCY, 1997).

Em vacas com baixa condição corporal, a concentração de bST no soro são maiores em fêmeas com baixa concentração sanguínea de IGF-1, e esta aparente discrepância pode ser explicada pela retroalimentação negativa de IGF-1 no hipotálamo e hipófise no controle da secreção de bST. Portanto, quando a deficiência nutricional é corrigida, o IGF-1 aumenta no soro e devido às ações no hipotálamo e hipófise ocorre à diminuição da secreção de bST (LUCY et al., 1993).

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da bST na divergência folicular em vacas da raça Tabapuã para testar a hipótese de que a aplicação de bST induz aumento de IGF-1 e conseqüentemente altera o desenvolvimento folicular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G. P. et al. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Journal Reproduction Fertilization**, v. 94, p. 177-88, 1992.

ADAMS, G. P.; JAISWAL, R. Follicular dynamic in cattle: historical overview and research update. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, p. 377-396, 2008.

ARMSTRONG, D. G. et al. Insulin-like growth factor binding protein -2 and -4 messenger ribonucleic acid expression in bovine ovarian follicles: effect of gonadotropins and developmental status. **Endocrinology**, v. 139, p. 2146-2154, 1998.

ARMSTRONG, D. G. et al. Expression of mRNA encoding IGF-I, IGF-II and type 1 IGF receptor in bovine ovarian follicles. **Journal of Endocrinology**, v. 165, p. 101-113, 2000.

BAO, B.; GARVERICK, H. A. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. **Journal Animal Science**, v. 76, p. 1903-1921, 1998.

BARNETT, K. R. et al. Ovarian follicle development and transgenic mouse models. **Human Reproduction**, v. 10, p. 1-19, 2006.

BARUSELLI, P. S. et al. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v. 47, p. 1531- 1547, 1997.

BAUMAN, D. E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. **Journal Dairy Science**, v. 75, p. 3432, 1992.

BEG, M. A. et al. Follicular-fluid factors and granulosa-cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 432-441, 2001.

BODENSTEINER, K. J. et al. Synchronization of emergence of follicular waves in cattle. **Theriogenology**, v. 45, p. 1115-1128, 1996.

BURATINI, J. Jr. et al. Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant somatotropin (BST) on ovarian follicular development in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Theriogenology**, v. 54, p.421-43, 2000.

BURATINI, J.Jr. Controle endócrino e local da foliculogênese em bovinos. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 31, n. 2, p.190-196, 2007.

CARRIÈRE, P. D.; HARVEY, D.; COOKE, G. M. The role of pregnenolone-metabolizing enzymes in the regulation of oestradiol biosynthesis during development of the first wave dominant follicle in the cow. **Journal Endocrinology**, v. 149, p. 233-242, 1996.

CASTILHO, C. et al. Synchronization of ovulation in crossbred dairy heifers using gonadotrophin-releasing hormone agonist, prostaglandin F_{2α} and human chorionic gonadotrophin or estradiol benzoate. **Brazilian Journal Medical Biology Res**, v. 33, p. 91-101, 2000.

CASTILHO, C. et al. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 98, p. 189-96, 2007.

DE LA SOTA, R. L. Et al. Effects of recombinant bovine somatotropin (sometribove) on ovarian function in lactating and nonlactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 76, p. 1002-1013, 1993.

EVANS, A. C. O.; FORTUNE, J. E. Selection of the dominant follicle in cattle occurs in the absence of differences in the expression of messenger ribonucleic acid for gonadotropin receptors. **Endocrinology**, v. 138, p. 2936-2971, 1997.

FIGUEIREDO, R. A. et al. Ovarian follicular dynamics in Nelore Breed (*Bos indicus*). **Theriogenology**, v. 47, p. 1489-1505, 1997.

FINDLAY, J. K. An update on the roles of inhibin, activin, and follistatin as local regulators of folliculogenesis. **Biology of Reproduction**, v. 48, p. 15-23, 1993.

FORTUNE, J. E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of Reproduction**, v. 50, p. 225, 1994.

FORTUNE, J. E. et al. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 65, p. 648-654, 2001.

FORTUNE, J. E.; RIVERA, G. M.; YANG, M. Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal Reproduction Science**, v. 82, p. 109–126, 2004.

GAMBINI, A. L. G. et al. Dinâmica folicular e sincronização da ovulação em vacas da raça Gir. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 22, p. 201-210, 1998.

GIBBONS, J. R.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J. Relationship between follicular development and the decline in the follicle-stimulating hormone surge in heifers. **Biology of Reproduction**, v. 60, p. 72-77, 1999.

GIMENES, L. U et al. Perfil de FSH e LH na divergência folicular em novilhas Nelore (*Bos indicus*). **Brazilian Journal Veterinary Res. Animal Science**, v. 45, p. 11-16, 2008.

GINTHER, O. J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycles with two or three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 87, p. 223-230, 1989.

GINTHER, O. J. et al. Selection of the dominant follicles in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 55, p. 1187-1194, 1996.

GINTHER, O. J. et al. Selection of the dominant follicle in cattle: role of two-way functional coupling between follicle-stimulating hormone and the follicles. **Biology of Reproduction**, v. 62, p. 920-927, 2000a.

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

GINTHER, O. J. et al. Follicle selection in monovular species. **Biology of Reproduction**, v. 65, p.638-647, 2001a.

GINTHER, O. J. et al. Effect of LH on circulating oestradiol and follicular fluid factor concentrations during follicle deviation in cattle. **Reproduction**, v. 122, p. 103-110, 2001b.

GINTHER, O. J. et al. Associated and independent comparisons between the two largest follicles preceding follicle deviation in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 68, p. 524- 529, 2003a.

GINTHER, O. J. et al. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 239-257, 2003 b.

GINTHER, O. J. et al. In vivo effects of na intrafollicular injection of insulin-like growth factor 1 on the mechanism of follicle deviation in heifers and mares. **Biology of Reproduction**, v. 70, p. 99-105, 2004.

GIUDICE, L. C. Insulin-like growth factors and ovarian follicular development. **Endocrinology**, v. 13, p. 641-669, 1992.

GLUCKMAN, P. D; BREIER, B. H; DAVIS, S. R. Physiology of the somatotropic axis with particular reference to the ruminant. **Journal Dairy Science**, v. 70, p. 442-466, 1987.

GONG, J. G; BRAMLEY, T.; WEBB, R. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers: follicular populations and peripheral hormones. **Biology of Reproduction**, v. 45, p. 941-9, 1991.

GONG, J. G. et al. Effect of recombinant bovine somatotropin on the superovulatory response to pregnant mare serum gonadotropin in heifers. **Biology of Reproduction**, v. 48, p. 1141- 1149, 1993.

GOOD, T.E.M. et al. Isolation of nine different biologically and immunologically active molecular variants of bovine follicular inhibin. **Biology of Reproduction**, v. 53, p. 1478-1488, 1995.

HAUSER, S. D. et al. Cloning and in vivo expression of bovine growth hormone receptor mRNA. **Molecular Cell Endocrinology**, v. 72, p. 187, 1990.

HSU, C. J.; HAMMOND, J. M. Gonadotropins and estradiol stimulate immunoreactive insulin-like growth factor-I production by porcine granulosa cells in vitro. **Endocrinology**, v. 120, p. 198-207, 1987.

HWANG, W .S.; LEE, K. N.; LEE, B. C. Effect of bst cotreatment with FSH or PMSG on transvaginal ultrasound guided oocyte retrieval in calves. **Theriogenology**, v. 47, p. 159-166, 1997.

IRELAND, J. J.; ROCHE, J. F. Development of nonovulatory antral follicles in heifers: changes in steroids in follicular fluid and receptors for gonadotropins. **Endocrinology**, v. 112, p. 150-156, 1983.

IRELAND, J. L. H. et al. Alterations in amounts of different forms of inhibin during follicular atresia. **Biology of Reproduction**, v. 50, p. 1265-1276, 1994.

JAISWAL, R. **Regulation of follicular waves patterns in cattle**. Saskatchewan: University of Saskatchewan, 2007. p. 169.

JOLLY, P. D. Morphological evidence of apoptosis and the prevalence of apoptotic versus mitotic cells the membrane granulosa of ovarian follicles during spontaneous and induced atresia in ewes. **Biology of Reproduction**, v. 56, p. 837-846, 1997.

JONES, J. I.; CLEMMONS, D. R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. **Endocrinology**, v. 16, p. 3-34, 1995.

KIRBY, C. J; WILSON, S. J; LUCY, M. C. Response of dairy cows treated with bovine somatotropin to a luteolytic dose of prostaglandin F2 alpha. **Journal Dairy Science**, v. 80, p. 286-94, 1997.

KOZICKI, L. E. A somatotrofina bovina (bST) e sua relação com o recrutamento folicular ovariano durante o ciclo estral de vacas. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, p. 35-44, 2005.

KULICK, L. J. Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. **Theriogenology**, v. 52, p. 913-921, 1999.

LUCY, M. C. Ovarian follicular populations in lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin (sometribove) or saline and fed diets differing in fat content and energy. **Journal Dairy Science**, v. 76, p. 1014, 1993.

LUCY, M. C. et al. Extend function of the corpus luteum and earlier development of the second follicular wave in heifers treated with bovine somatotropin, **Theriogenology**, v. 41, p. 561- 572, 1994.

LUCY, M. C. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. **Journal Dairy Science**, v. 83, p. 1635-1647, 2000.

MARTINS, C. M. et al. Produção embrionária de vacas Holandesas a diferentes protocolos de superovulação com inseminação artificial em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 227, 2005.

MIHM, M.; AUSTIN, E. J. The final stages of dominant follicle selection in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, p. 155-166, 2002.

MIHM, M. et al. Identification of potential intrafollicular factors involved in selection of dominant follicles in heifers. **Biology of Reproduction**, v. 63, p. 811-819, 2000.

MONGET, P. Insulin-like growth factor-binding proteins and ovarian folliculogenesis. **Hormone Research (Basel)**, v. 45, n. 3-5, p. 211-7, 1996.

MOREIRA, F. et al. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. **Journal Dairy Science**, v. 83, p. 1237- 1247, 2000.

MURPHY, M. G. et al. Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle in beef heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 92, p. 333-338, 1991.

NOGUEIRA, M. F. G. et al. Expression of LH receptor mRNA splice variants in bovine granulosa cells: changes with follicle size and regulation by FSH in vitro. **Molecular Reproduction Dev.**, v. 74, p. 680-686, 2006.

PARKER, K. I. Et al. Plasma concentrations of inhibin a and follicle- stimulating hormone differ between cows with two or three waves of ovarian follicular development in a single estrous cycle. **Biology of Reproduction**, v. 68, p. 822- 828, 2003.

PAVLOK, A. et al. Effect of recombinant bovine somatotropin on follicular growth and quality of cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 41, p. 183-192, 1996.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonographic imaging of the ovaries and uterus in cattle. **Theriogenology**, v. 29, p. 21-37, 1988.

RHODES, F. M.; DE'ATH, G.; ENTWITLE, K. W. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 38, p. 265-277, 1995.

RIVERA, G. M. et al. A potential role for insulin-like growth factor binding protein-4 proteolysis in the establishment of ovarian follicular dominance in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 65, p. 102-111, 2001.

ROBERT, C. et al. Presence of LH receptor mRNA in granulosa cells as a potential marker of oocyte developmental competence and characterization of the bovine splicing isoforms. **Reproduction**, v. 125, p. 437-446, 2003.

ROSENFELD, C. S. et al. Intraovarian actions of oestrogen. **Reproduction**, v. 122, p. 215-226, 2001.

SARTORELLI, E. S. et al. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology**, v. 63, p. 2382-2394, 2005.

SARTORI, R. et al. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v. 65, p. 1403- 1409, 2001.

SAVIO, J. D. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. **Journal Reproduction Fertility**, v. 83, p. 663-671, 1988.

SIROIS J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of Reproduction**, v. 39, p. 308-317, 1988.

SPICER, L. J.; ENCTERNKAMP, S. E. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 12, p. 223-245, 1995.

SPICER, L. J. et al. Effects of intraovarian infusion of insulin-like growth factor-I on ovarian follicular function in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 18, p. 265-278, 2000.

SUNDERLAND, S.J. et al. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. **Journal Reproduction Fertility**, v. 101, p. 547-555, 1994.

TANNER, J. W.; HAUSER, S. D. Molecular evidence for the presence of the somatotropin receptor in the bovine ovary. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 413-420, 1989.

VIANA, J. H. M. et al. Follicular dynamics in zebu cattle. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 2501-2509, 2000.

VICINI, J. L. et al. Nutrient balance and stage of lactation affect responses of insulin, insulin-like growth factor I and II, and insulin-like growth factor-binding protein 2 to somatotropin administration in dairy cows. **Journal Nutrition**, v. 121, p. 1656-1664, 1991.

XU, Z. Expression of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. **Biology of Reproduction**, v. 53, p. 951-957, 1995.

WEBB, R.; GONG, J. G.; BRAMLEY, T. A. Role of growth hormone and intrafollicular peptides in follicle development in cattle. **Theriogenology**, v. 41, p. 25-30, 1994.

WEBB, R. Factors affecting folliculogenesis in ruminants. **Animal Science**, v. 68, p. 257-284, 1999.

WOLFENSON, D. et al. Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. **Theriogenology**, v. 62, p. 1042-1055, 2004.

WRATHALL, J. H.; KNIGHT, P. G. Effects of inhibin- related peptides and oestradiol on androstenedione and progesterone secretion by bovine theca cells in vitro. **Journal of Endocrinology**, v. 145, p. 491-500, 1995.

WU, J. et al. Luteinizing Hormone has a stage-limited effect on preantral follicle development in vitro. **Biology of Reproduction**, v. 63, p. 320-327, 2000.

YUAN, W. et al. Follicular dominance in cattle is associated with divergent patterns of ovarian gene expression for insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-II binding protein-2 in dominant and subordinate follicles. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 15, p. 55-63, 1998.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DA DIVERGÊNCIA FOLICULAR EM VACAS DA RAÇA TABAPUÃ (*Bos taurus indicus*) TRATADAS COM SOMATOTROFINA BOVINA

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF FOLLICLE DESVIATION IN THE COWS BREED TABAPUÃ (*Bos taurus indicus*) TREATED WITH BOVINE SOMATOTROPIN

B. Arnone¹, C. Negrão², L.R.A. Gabriel Filho³, C.Castilho⁴.

¹Aluna do Mestrado em Ciência Animal da UNOESTE-SP

²Médica Veterinária de Presidente Prudente-SP

³Docente do Mestrado em Ciência Animal da UNOESTE-SP

⁴Docente do Mestrado em Ciência Animal e da Graduação em Medicina Veterinária da UNOESTE-SP

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da somatotrofina bovina na divergência folicular em vacas da raça Tabapuã. Foram utilizadas 16 vacas da raça Tabapuã, inicialmente receberam implante de progestágeno auricular concomitante à aplicação IM de 1mg de benzoato de estradiol (dia 0). No dia 5, dividiram-se as fêmeas em 2 grupos: G-I (controle, n=8) e as vacas do G-II foram tratadas com 500 mg bST (n=8). No dia 10 foi feita a retirada do crestar concomitante a aplicação de 500 µg de PGF2α e apenas nas vacas com folículos > 9 mm aplicação de 300 µg de GnRH. Foram realizados exames ultra-sonográficos a cada 12 horas por 5 dias. Não houve diferença estatística entre os momentos de divergência folicular, no G-I foi de 2,4 dias e no G-II 2,1 dias. Nesse momento o FD e FS mediram $6,28 \pm 0,42$ e $6,26 \pm 0,41$ mm no G-I e $6,08 \pm 0,72$ e $6,12 \pm 0,39$ mm no G-II. O FD atingiu diâmetro máximo após a ovulação em média $110,00 \pm 8,43$ horas no GI e $115,20 \pm 8,98$ horas no GII. Já o FS atingiu o diâmetro máximo às $55,00 \pm 20,00$ e $76,80 \pm 10,46$ horas, respectivamente. A média do diâmetro máximo atingido pelo FD e FS no GI foi respectivamente $8,85 \pm 0,41$ e $6,50 \pm 0,42$ mm e no GII foi $9,83 \pm 0,63$ e $6,87 \pm 0,35$ mm. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) no diâmetro do FD e FS e nem nas taxas de crescimento (mm/12h) do FD antes e após a divergência folicular. Concluímos que a aplicação de bST não afetou o diâmetro folicular, a taxa de crescimento do FD e FS antes e após a divergência, nem tampouco, o momento da divergência folicular.

Palavras - chave: IGF, hormônio do crescimento, folículo dominante, divergência folicular, vacas zebuínas.

ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the effect of bovine somatotropin in follicular deviation of sixteen Tabapuã cows. The animals received an ear implant of progesterone and 1 mg of estradiol benzoate, IM (day 0). On day 5, the females were divided into 2 groups: GI (control, n=8) and GII (treated with 500 mg bST, n=8). On day 10, the implants were removed and injected 500 µg of PGF2α in all cows. Only cows with follicles bigger 9 mm received 300 µg of GnRH. Ultrasound examinations were performed each 12 hours. There was no statistical difference between the follicular deviation in GI (2.4 days) and GII (2,1 days). At the divergence moment, FD and FS of GI were 6.28±0.42 and 6.26±0.41 mm, respectively, and FD and FS of GII were 6.08±0.72 and 6.12±0.39 mm. The mean maximum diameter of FD after ovulation was at 110.0±8.43 hours in GI and 115.2±8.98 hours in GII. FS reached the maximum diameter at 55.0±20.0 hours in GI and 76.8±10.46 hours in GII. The mean maximum diameter reached by FD and FS in GI was 8.85±0.41 and 6.5±0.42 mm, respectively, and GII 9.83±0.63 and 6.87±0.35 mm. There was no significant difference ($p > 0.05$) in diameter of FD and FS, neither in growth rates (mm/12 hours) of the FD before and after the deviation, neither in the moment of follicle deviation.

Key words: IGF, Growth hormone, dominant follicle, follicle deviation, Zebu cattle.

INTRODUÇÃO

A divergência folicular tem sido usada como sendo o início na diferença significativa nas taxas de crescimento entre o futuro folículo dominante (FD) e o maior subordinado (FS) [1-3]. Estudos realizados com novilhas e vacas da raça Nelore observaram que após a divergência folicular ocorre diminuição na taxa de crescimento do FS e aumento da taxa de crescimento do FD [4-6]. Associada também com eventos endócrinos e celulares, como o decréscimo dos níveis do hormônio folículo estimulante (FSH), aumento das concentrações circulantes de 17β -estradiol, aumento do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) e na expressão de receptores do hormônio luteinizante (LH) [7].

Aumento na concentração plasmática de FSH tem início 1 a 2 dias antes da emergência folicular [8]. Após a emergência os folículos entram em uma fase de crescimento comum e o pico de FSH começa a declinar alcançando seus menores níveis no momento da divergência [9]. O estradiol e o IGF-1 parecem ser os mais prováveis candidatos intrafoliculares para o aumento na responsividade do FD em crescimento no momento da queda no FSH [10]. Estudos comparando a concentração de IGF-1 nos dois maiores folículos ovariana, durante a divergência folicular, durante a divergência folicular, demonstraram que a concentração de IGF-1 livre diminui no segundo maior folículo e não se altera no folículo maior, sugerindo que a disponibilidade contínua de IGF-1 é necessária para o maior folículo se desenvolver até a dominância [11,12].

A somatotrofina bovina (bST) é um hormônio hipofisário com múltiplos efeitos no crescimento e diferenciação celular [13] e tem demonstrado ação nos ovários, sobretudo no crescimento folicular [14]. Ela age no ovário [15] aumentando o número de folículos recrutados entre 2 e 5 mm [16,17], estimulando o desenvolvimento folicular e controlando a função do corpo lúteo [18].

A bST causa aumento na síntese e secreção de IGF-1 tanto quanto na principal proteína carreadora de IGF, a proteína ligadora de IGF (IGFBP) [19], e segundo alguns autores [20] as alterações nos ovários de vacas são provavelmente a combinação do efeito direto da bST e indireto do IGF-1 [21,14].

Portanto, este experimento teve como objetivo avaliar o efeito da bST na divergência folicular em vacas da raça Tabapuã para testar a hipótese de que a aplicação de bST induz aumento de IGF-1 e conseqüentemente altera o desenvolvimento folicular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais e local do experimento

Foram utilizadas 16 vacas da raça Tabapuã com idade entre de 6 a 7 anos, com escore corporal de 2,5 a 3,0 (escala de 1 a 5), mantidas em pastagem de *Brachiaria decumbens* e com água e sal mineral *ad libitum*. O experimento foi realizado no mês de julho (2007), na fazenda Santa Edwiges localizada no município de Quatá-SP.

Protocolo de sincronização da ovulação e aplicação de bST

Em estágio aleatório do ciclo estral, no dia 0, os animais receberam implante auricular de progestágeno (Crestar®) com aplicação IM de 1mg de benzoato de estradiol (Estrogin®, Farmavet). No dia 5, coincidindo com a emergência da onda folicular, as fêmeas foram divididas em 2 grupos: G-I (controle, n=8) e G-II (tratadas, n=8) e no G-II foi feita aplicação de 500 mg bST (Boosting®, Schering- Plough) via subcutânea na prega da cauda. Em ambos os grupos, no dia 10, foram retirados os implantes concomitante com a aplicação de 500 µg de

prostaglandina (cloprostenol sódico, Sincrocio[®], Ouro Fino). No dia 10, os animais foram avaliados por ultra-sonografia e nas vacas que apresentavam folículos maiores que 9 mm foi aplicado 300 µg de GnRH (Lecirelina, Gestran Plus[®], Tecnopec). Seguindo a orientação do fabricante, o qual preconiza a utilização do Boosting[®] a cada 14 dias para o aumento na produção de leite, em nosso estudo as avaliações ultra-sonográficas foram realizadas dentro do período supracitado. Além disso, profissionais de campo utilizam a aplicação de 500 mg de bST, em estágio aleatório do ciclo estral, 10 dias antes da aspiração folicular, com o intuito de aumentar o número de oócitos aspirados, sugerindo, embora sem comprovação científica, efeito estimulante da bST no recrutamento folicular.

Avaliações ultra-sonográficas

Após a aplicação de GnRH, até ocorrer ovulação, os animais foram avaliados por ultra-sonografia ovariana (a cada 12 h em média) utilizando-se equipamento de ultra-som Honda modelo HS-2000VET com transdutor transretal de 5 MHz. Nas fêmeas que ovularam, G-I (n=6) e G-II (n=5), foram realizados exames ultra-sonográficos a cada 12 horas durante 5 dias após a ovulação, para acompanhar o diâmetro do FD e maior FS. Em cada exame ultra-sonográfico, todos os folículos ovarianos (>2 mm) foram contados, o FD e maior FS foram medidos (largura x comprimento) e desenhados em diagramas, para posterior identificação retrospectiva dos mesmos.

Análise estatística

A divergência folicular foi analisada de duas formas: pelo método gráfico ou visual [1] e pelo método analítico de diferenciação discreta [22]. Para a verificação da existência de

diferenças estatísticas entre os resultados obtidos nos dois métodos utilizou-se o Teste-t de *Student*.

O método analítico de diferenciação discreta referido consiste na determinação das taxas de crescimento dos folículos por meio de derivadas discretas. O momento da divergência é definido como o início da maior diferença nas taxas de crescimento entre os dois maiores folículos ou o exame anterior quando o segundo maior folículo alcança seu diâmetro máximo [1]. Desta maneira, determinou-se a diferença de tais taxas por meio da diferença das derivadas discretas, postulando-se que o momento da divergência ocorre necessariamente após as 36 horas quando se observa a primeira diferença positiva entre tais derivadas. Sendo assim, para um dado animal, mede-se o diâmetro dos FD e FS em intervalos de 12 horas.

Para caracterizar a descrição analítica do método, faz-se necessário a definição das variáveis FD_n e FS_n sendo os diâmetros do FD e FS após 12.n horas do início do experimento. Assim, FD_0 representa diâmetro do FD no início do experimento, FD_1 o diâmetro do FD após 12h do início do experimento, e assim sucessivamente.

As taxas de crescimento do FD e FS, respectivamente, são dadas através de derivadas discretas representadas por:

$$\dot{FD}_n = FD_n - FD_{n-1} \quad (1)$$

$$\dot{FS}_n = FS_n - FS_{n-1} \quad (2)$$

A diferença entre as taxas de crescimento dos folículos foi obtida exatamente pela diferença entre tais derivadas discretas, que se representa por:

$$d_n = \dot{FD}_n - \dot{FS}_n$$

Após determinada a diferença d_n entre as taxas para todos os tempos analisados, considera-se início da divergência como sendo o momento relacionado com o índice n tal que

$d_n \leq 0$ e $d_{n+1} > 0$. Desta forma, encontrado n , calcula-se o início da divergência (em horas) multiplicando o fator 12 por este índice n .

As análises estatísticas foram feitas pelo software Minitab® Statistical Software 15.1.0.0 (2006). Os diâmetros dos FD e FS foram analisados de acordo com o momento da ovulação. Já para os dados normalizados de acordo com o momento da divergência (hora 0) foram analisados tanto os diâmetros quanto as taxas de crescimento dos FD e maior FS. Os dados foram analisados dentro e entre grupos (Controle vs Tratado) para verificar o efeito da aplicação de bST e estão expressos pela média, como medida de tendência central e erro padrão da média (EPM) como medida de variabilidade. Para todas as análises foi utilizado o Teste-t de *Student* para observações independentes, quando entre grupos; e para observações pareadas, quando comparados animais do mesmo grupo.

RESULTADOS

Após o tratamento, 6 vacas do GI e 5 vacas do GII ovularam e destas uma no G-I foi retirada das análises, pois apresentou co-dominância e não foi possível determinar a divergência. O momento da divergência visualizada não diferiu ($p > 0,05$) da analisada pelo método matemático (analítico) e foi em média $57,60 \pm 4,49$ horas no G-I (Controle, $n=5$) e $50,40 \pm 4,49$ horas no G-II (bST, $n=5$), ou seja, 2,4 e 2,1 dias, respectivamente (fig. 1). Apenas a fêmea nº1260, a divergência visualizada foi diferente entre os métodos analisados apresentando pelo método visual a divergência às 48 h após a ovulação, já no método analítico às 36 horas. Para todas as análises foram utilizados os valores do método analítico (fig. 2). Na divergência, o FD e FS mediram $6,28 \pm 0,42$ e $6,26 \pm 0,41$ mm no G-I e $6,08 \pm 0,72$ e $6,12 \pm 0,39$ mm no G-II. Nos grupos G-I e G-II as vacas exibiram a divergência entre 48 a 72 horas e 36 a 60 horas, respectivamente, após a ovulação.

Das 5 fêmeas avaliadas no G-I (controle) três delas (60%, nº 78, 191 e 2609) exibiram diâmetro do FD maior que do FS durante a fase de crescimento comum. Já na fêmea nº169 o FS foi maior nessa fase e na nº90 excetuando-se um exame o FD e o FS exibiram crescimento igual até a divergência (Fig. 2). No grupo G-II (bST) apenas duas fêmeas (40%, nº 57 e 96) exibiram o FD com diâmetro maior que o FS no início da onda folicular. Na fêmea nº51 o FS foi detectado com diâmetro maior que o FD, mas no 3º exame o FD passou a ser maior. Em outra fêmea (nº1523) o FD e FS exibiram diâmetro similar até a divergência quando a taxa de crescimento do FD passou a ser maior que a do FS, embora o FS continuasse crescendo até 108 horas após a ovulação. Por outro lado, na fêmea nº1260 a divergência ocorreu com o FD menor que o FS que a partir deste momento cessou seu crescimento (Fig. 3).

O FD atingiu diâmetro máximo após a ovulação em média $110,0 \pm 8,43$ horas no grupo controle e $115,2 \pm 8,98$ horas no grupo tratado. Em relação ao FS o diâmetro máximo foi observado $55,0 \pm 20,0$ e $76,8 \pm 10,46$ horas, respectivamente nos grupos controle e tratado. A média do diâmetro máximo atingido pelo FD e FS no GI foi respectivamente $8,85 \pm 0,41$ e $6,50 \pm 0,42$ mm e no GII foi $9,83 \pm 0,63$ e $6,87 \pm 0,35$ mm.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) no diâmetro do FD, nem do FS entre os grupos (G-I vs. G-II) nos diferentes momentos avaliados. Mas, no grupo G-I o diâmetro do FD foi significativamente maior que o maior subordinado 12 a 48 horas após a divergência folicular ($p < 0,032$) e no grupo G-II essa diferença ($p < 0,036$) somente foi observada 36 e 48 horas após a divergência (Fig. 1).

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nas taxas de crescimento (mm/12h) do FD antes e após a divergência folicular tanto no grupo G-I ($0,64 \pm 0,09$ vs. $0,65 \pm 0,18$), quanto no G-II ($0,49 \pm 0,18$ vs. $0,68 \pm 0,08$). Já o FS exibiu taxa de crescimento maior ($P = 0,0002$) antes da divergência folicular tanto no grupo G-I ($0,58 \pm 0,05$ vs. $-0,50 \pm 0,10$) quanto no grupo G-II ($0,59 \pm 0,10$ vs. $-0,53 \pm 0,14$ $p = 0,0021$).

Quando a taxa de crescimento foi avaliada após normalização dos dados pelo momento da divergência (hora zero) o FS exibiu crescimento significativamente ($p < 0,05$) maior que o FD no momento -12 a 0 hora em ambos os grupos, mas a partir do momento 0 a 12 horas o FD exibiu taxa de crescimento significativamente maior que o FS até o momento 12 a 24 horas em ambos os grupos e no momento 24 a 36 horas apenas no grupo G-II (Fig. 4).

DISCUSSÃO

Neste presente estudo de divergência folicular, os dois maiores folículos ovarianos exibiram desenvolvimento similar até atingir determinado diâmetro, no qual o futuro FD continuou seu crescimento ao passo que o maior FS diminuiu ou cessou seu desenvolvimento, resultado semelhante ao observado em novilhas Holstein [1] e em novilhas zebuínas [4-6].

O momento da divergência folicular foi observado em média 57,60 horas no G-I e 50,40 horas no G-II, ou seja, 2,4 e 2,1 dias, respectivamente. Nesse momento o FD e FS mediram 6,28 mm e 6,26 mm no G-I e 6,08 mm e 6,12 mm no G-II. Em estudos com fêmeas zebuínas o momento da divergência foi observado 2,5 a 2,7 dias após a ovulação, com o FD medindo de 5,4 a 6,2 mm e o FS 5,3 a 5,9 mm [4-6]. Já em fêmeas taurinas [1] observaram a divergência iniciando-se 2,8 dias após a ovulação com o FD e FS medindo 8,5 e 7,2, respectivamente. O diâmetro dos dois maiores folículos no momento da divergência foi quase idêntico em ambos os grupos, o mesmo padrão foi observado em outro estudo de divergência em novilhas e vacas da raça Nelore [4-6].

Nas vacas da raça Tabapuã não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nas taxas de crescimento (mm/12h) do FD antes e após a divergência folicular tanto nos grupos G-I e G-II, o mesmo foi observado em outros trabalhos com fêmeas zebuínas [4-6]. Entretanto, quando os dados foram normalizados para o momento da divergência (hora 0) o FS exibiu taxa de

crescimento significativamente maior que o FD no momento -12 à 0 hora em ambos os grupos, mas a partir do momento 0 a 12 horas o FD manteve seu crescimento e o FS começou a declinar (atresia). Resultado semelhante foi encontrado em novilhas da raça Nelore onde o FS apresentou taxa de crescimento ligeiramente maior até a divergência folicular, declinando posteriormente [5].

Não houve efeito significativo ($p>0,05$) da aplicação de bST (no dia 5 do protocolo utilizado) nos diâmetros do FD e FS, em nenhum dos momentos avaliados após a ovulação, nem tampouco nos dados normalizados para o dia da divergência. Embora não tenha sido realizado experimento para aferir o efeito da bST especificamente na divergência folicular, estudos realizados na primeira onda folicular em vacas Holandesas após aplicação de diferentes dosagens de bST verificou-se que não houve efeito no diâmetro folicular nem na duração da primeira onda folicular [14]. Foi observado que a segunda onda foi antecipada nas fêmeas tratadas com bST (dia 11,3 a 11,7 vs 13,4) e o diâmetro do FD da segunda onda foi maior nos animais tratados (9,6 a 10,9 vs 13,4 mm). Em outro estudo, no Brasil, com vacas Holandesas [23] o diâmetro ovulatório foi significativamente maior no grupo tratado com bST (18,2 mm) em relação ao grupo controle (15 mm). O fato do diâmetro folicular não apresentar diferença entre grupos neste presente estudo, pode ser devido ao momento de aplicação da bST, administrado 5 dias após a colocação do implante de progestágeno, enquanto no estudo com vacas Holandesas, foi administrado no 3º dia após a manifestação do estro, ou talvez pelas diferentes raças utilizadas (*Bos taurus* x *Bos indicus*).

Vários estudos [24,21] relatam que a estimulação da bST sobre o desenvolvimento folicular é de modo indireto, via IGF-1, que é um importante fator de crescimento intra-ovariano, ou por ação direta, uma vez que o ovário apresenta receptor para bST [revisado por 25]. A hipótese, no presente estudo, era que a aplicação de bST elevaria as concentrações circulantes de IGF-1 e desse modo iria refletir no desenvolvimento folicular. No entanto, devido às condições climáticas (inverno), onde a oferta de alimento é deficiente, as vacas da

raça Tabapuã apresentaram baixo escore corporal (em torno de 2,5), talvez prejudicando os efeitos da bST. Confirmando esta idéia, um estudo realizado com vacas Holandesas, demonstrou que quando as fêmeas são submetidas à dieta de baixa energia ocorre diminuição nas concentrações de IGF-1 e desta forma redução no crescimento folicular [26]. Em outro trabalho mais recente [27], comparando a aplicação de bST ou dieta com caroço de algodão, em vacas Holandesas no pós-parto, observaram que a bST não afetou a população de folículos classe 1 (2 a 5 mm) e classe 3 (≥ 10 mm), mas houve uma interação dieta x bST no aumento de folículos classe 2 (6 a 9 mm). Provavelmente, em vacas Tabapuã com baixo escore corporal a bST, na dosagem utilizada, não estimulou o aumento de IGF-1 nas concentrações necessárias para afetar o crescimento folicular.

Em outro estudo, avaliou-se a resposta de novilhas Nelore à aplicação de bST (de maneira aleatória) após aspiração folicular e observou-se aumento no número de folículos pequenos, mas foi menor que o observado em fêmeas *Bos taurus* [28].

Enfim, estudos realizados com vacas de leite (Holandesas) têm demonstrado efeito da aplicação de bST no crescimento folicular, já em fêmeas zebuínas os trabalhos são escassos sendo, portanto, importante verificar se essa resposta está associada à raça ou à metodologia.

Concluimos que, em vacas da raça Tabapuã, a divergência folicular se mostrou semelhante à obtida em outras fêmeas zebuínas. A aplicação de bST não afetou o diâmetro folicular, a taxa de crescimento do FD e FS antes e após a divergência, nem tampouco, o momento da divergência folicular. Outros estudos com outras dosagens e momentos de aplicação da bST em fêmeas zebuínas precisam ser testados.

REFERÊNCIAS

- [1] Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke P.M., Gibbons J.R., Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod.* 1996; 55:1187-1194.
- [2] Ginther OJ, Beg MA, Bergfelt DR, Donadeu FX, Kot K. Follicle selection in monovular species. *Biol. Reprod.* 2001;65:638-647.
- [3] Bergfelt DR, Segó LH, BEG MA, Ginther OJ. Calculated follicle deviation using segmented regression for modeling diameter in cattle. *Theriogenology* 2003; 59:1811-1825.
- [4] Sartorelli ES, Carvalho LM, Bergfelt DR, Ginther OJ, BARROS CM. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. *Theriogenology* 2005; 63:2382-2394.
- [5] Castilho C, Garcia JM, Renesto A, Nogueira GP, Brito LF. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Animal Reprod. Science* 2007; 98:189-96.
- [6] Gimenes LU, Sá Filho MF, Carvalho NA, Torres-Junior JR, Souza AH, Madureira EH, Trinca LA, Sartorelli ES, Barros CM, Carvalho JB, Mapletoft RJ, Baruselli PS. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology* 2008; 69: 852-858.
- [7] Sartori R, Fricke PM, Ferreira JCP, Ginther OJ, Wiltbank MC. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biology of Reproduction* 2001; 65:1403-1409.

[8] Adams GP, Matteri RL, Kastelic JP, Ko JCH, Ginther OJ. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *Journal Reproduction Fertilization* 1992; 94:177-88.

[9] Ginther OJ, Bergfelt DR, Kulick LJ, Kot K. Pulsatility of systemic FSH and LH concentrations during follicular-wave development in cattle. *Theriogenology* 1998; 50:507-519.

[10] Ginther OJ, Beg MA, Bergfelt DR, Donadeu FX, Kot K. Follicle selection in monovular species. *Biol Reprod* 2001; 65:638–647.

[11] Beg MA, Bergfelt DR, Kot K, Wiltbank MC, Ginther OJ. Follicularfluid factors and granulosa-cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. *Biol Reprod* 2001; 64:432–441.

[12] Beg MA, Bergfelt DR, Kot K, Ginther OJ. Follicle selection in cattle: dynamics of follicular-fluid factors during development of follicle dominance. *Biol Reprod* 2002; 66:120–126.

[13] Gluckman PD, Breier BH, Davis SR. Physiology of the somatotropic axis with particular reference to the ruminant. *J. Dairy Sci.* 1987; 70: 442-466.

[14] Kirby CJ, Smith MF, Keisler DH, Lucy MC. Follicular function in lactating dairy cows treated with sustained- release bovine somatotropin. *J. Dairy Science* 1997; 80: 273- 285.

- [15] Tanner JW, Hauser SD. Molecular evidence for the presence of the somatotropin receptor in the bovine ovary. *Journal of Dairy Science* 1989; 67: 413-420.
- [16] Pavlok A, Koutecka L, Krejci P, Slavik T, Cerman J, Slaba J, Dorn D. Effect of recombinant bovine somatotropin on follicular growth and quality of cattle. *Animal Reprod. Science* 1996; 41: 183-192.
- [17] Hwang WS, Lee KN, Lee BC. Effect of bst cotreatment with FSH or PMSG on transvaginal ultrasound guided oocyte retrieval in calves. *Theriogenology* 1997; 47: 159-166.
- [18] Webb R, Gong JG, Bramley TA. Role of growth hormone and intrafollicular peptides in follicle development in cattle. *Theriogenology* 1994; 41:25-30.
- [19] Jones JL, Clemmmons DR. Insulin – like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocrine Rev.* 1995; 16: 3-34.
- [20] Lucy MC, De La Sota RL, Staples CR, Thatcher WW. Ovarian follicular populations in lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin (sometribove) or saline and fed diets differing in fat content and energy. *J.Dairy Science* 1993; 76: 1014.
- [21] Kirby CJ, Wilson SJ, Lucy MC. Response of dairy cows treated with bovine somatotropin to a luteolytic dose of prostaglandin F2 alpha. *J Dairy Sci.* 1997; 80:286-94.
- [22] Gabriel Filho LRA. Comportamento assintótico de sistemas lineares discretos. São Carlos-SP, 2004. 312p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Matemática). USP/ICMC.

[23] Kozicki LE, Segui MS, Fantini Filho JC, Prado FRA, Mateé F, Glaser JR P, Weiss RR. A somatotrofina bovina (bST) e sua relação com o recrutamento folicular ovariano durante o ciclo estral de vacas. *Archives of Veterinary Science* 2005; 10: 35-44.

[24] Lucy MC, De la Sota RL, Staples CR, Thatcher WW. Ovarian follicular populations in lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin (sometribove) or saline and fed diets differing in fat content and energy. *Journal Dairy Science* 1993; 76:1014.

[25] Lucy MC. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *Journal Dairy Sc.* 2000; 83: 1635-1647.

[26] Lucy MC, Beck J, Staples CR, Head HH, De la Sota RL, Thatcher WW. Follicular dynamics, plasma metabolites, hormones and insulin-like growth factor (IGF-1) in lactating cows with positive or negative energy balance during the preovulatory period. *Reprod. Nutr. Dev.* 1992; 32: 331-341.

[27] Kassa T, Ambrose JD, Adams AL, Risco C, Staples CR, Thatcher MJ, Van Horn HH, Garcia A, Head HH, Thatcher WW. Effects of Whole Cottonseed Diet and Recombinant Bovine Somatotropin on Ovarian Follicles in Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 2002; 85:2823–2830.

[28] Buratini J Jr, Price CA, Visintin JA, Bó GA. Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant bovine somatotropin (BST) on ovarian follicular development in nelore (*Bos indicus*) heifers *Theriogenology* 2000; 54(3):421-31.

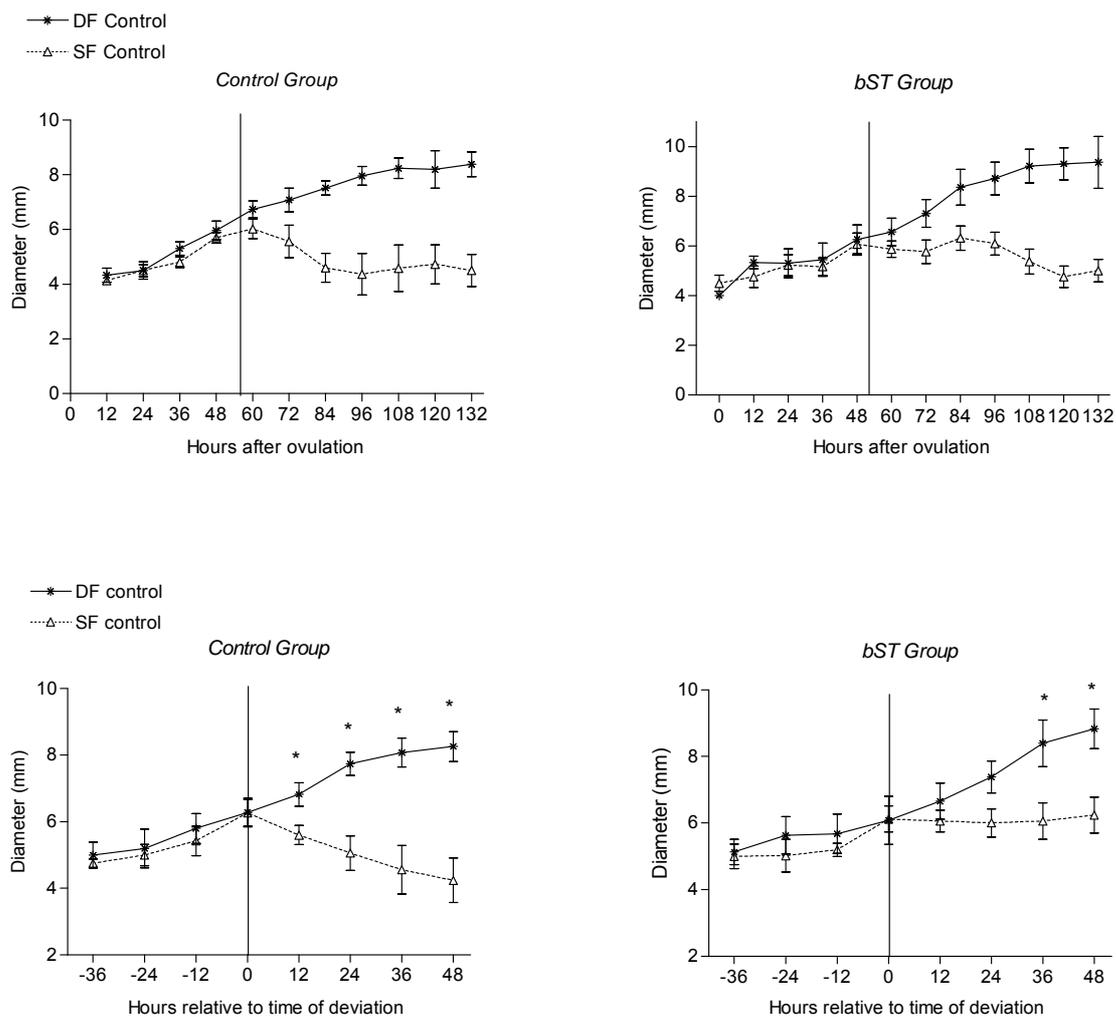


Figura 1. Média \pm erro padrão da média dos diâmetros do foliculo dominante (FD) e maior subordinado (FS), observados por ultra-sonografia durante a primeira onda folicular, após a ovulação e após normalização dos dados para o momento da divergência, em vacas da raça Tabapuã nos grupos G-I (Controle, n=5) e G-II (bST, n=5).

(*). Sobrescritos indicam diferenças ($p < 0.05$) entre o FD e FS no tempo avaliado.

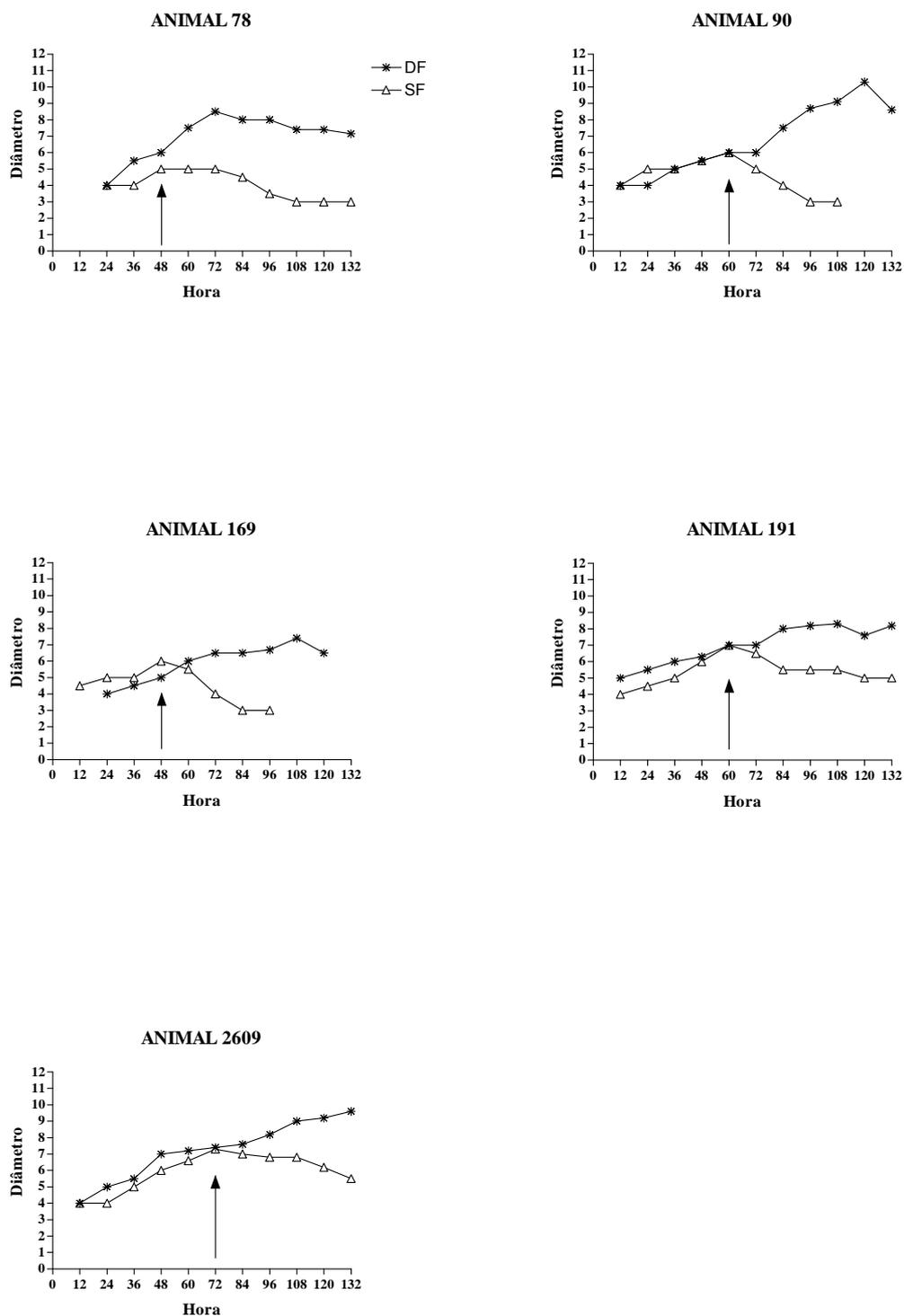


Figura 2. Diferentes padrões individuais de crescimento folicular observados por ultrassonografia durante a primeira onda folicular, em vacas da raça Tabapuã no grupo G-I (controle, n=5). A seta indica o momento da divergência folicular pelo método analítico.

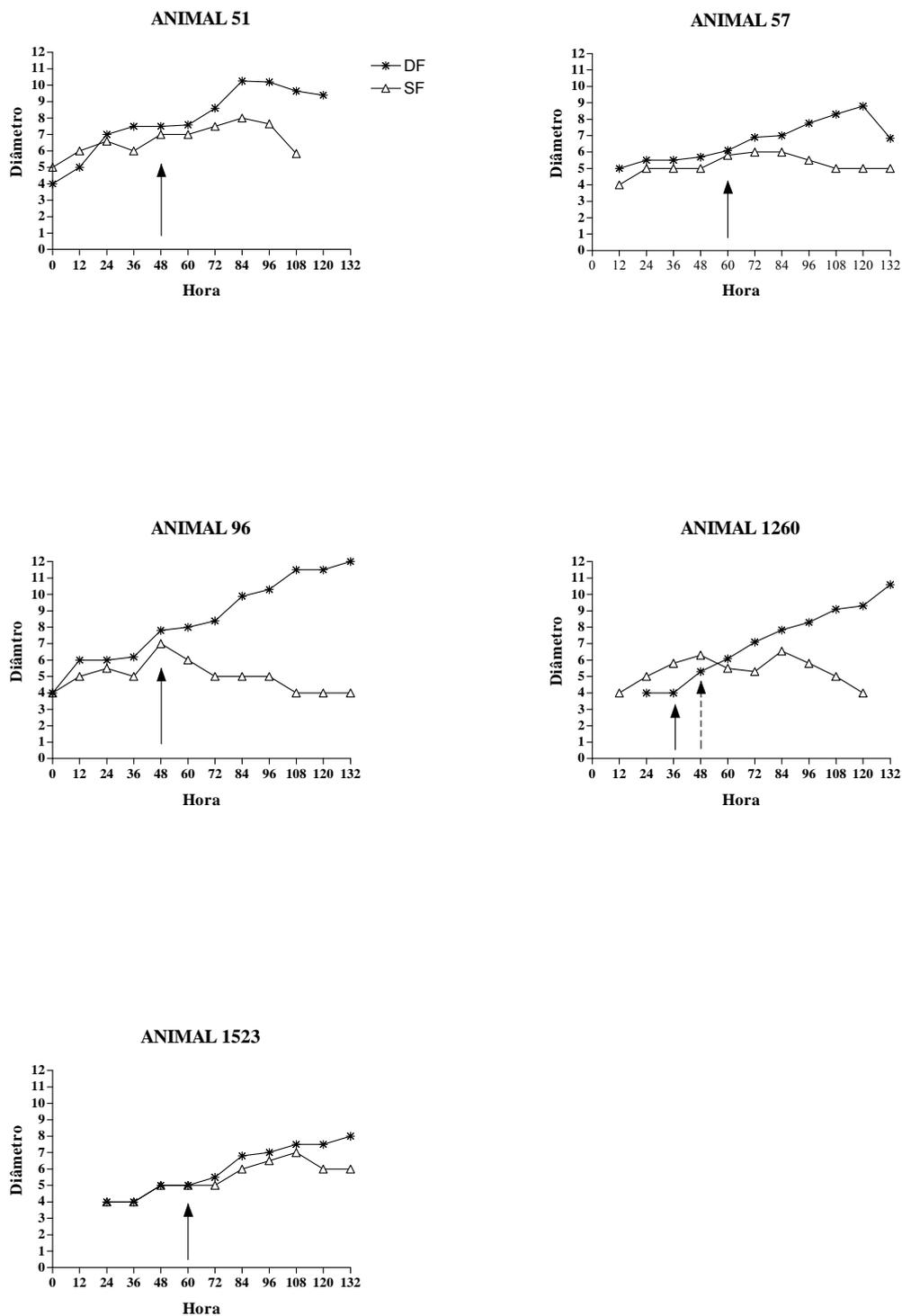


Figura 3. Diferentes padrões de crescimento folicular observados por ultra-sonografia durante a primeira onda folicular, em vacas da raça Tabapuã no grupo G-II (bST, n=5). A seta indica o momento da divergência folicular pelo método analítico, no animal 1260 a seta pontilhada indica a divergência pelo método visual.

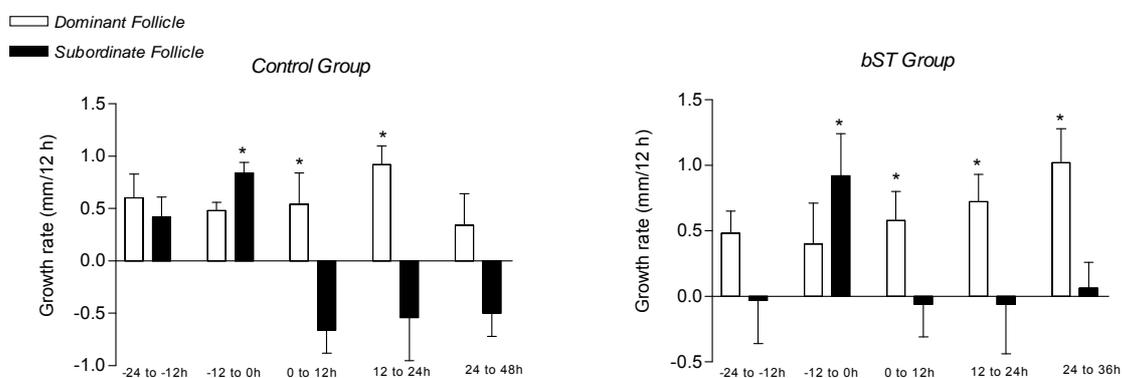


Figura 4. Taxa de crescimento (média \pm EPM) dos folículos dominante e maior subordinado nos grupos G-I (Controle, n=5) e G-II (bST, n=5) analisada após normalização dos dados pelo momento da divergência (hora 0) em vacas da raça Tabapuã. (*) Sobrescritos indicam diferenças ($p < 0.05$) entre o FD e FS no tempo avaliado.