

## EFEITO DO DIÂMETRO FOLICULAR NO NÚMERO DE FOLÍCULOS PRESENTES NOS OVÁRIOS DE VACAS

HAX, Lucas Teixeira<sup>1,2</sup>; SCHNEIDER, Augusto<sup>1,3</sup>; PFEIFER, Luiz Francisco Machado<sup>1,4</sup>; ANTUNES, Marcelo Moreira<sup>1,2</sup>

- 1- Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária
- 2- Graduando em Medicina Veterinária
- 3- Doutorando em Biotecnologia
- 4- Programa Nacional de Pós-doutoramento
- 5- Departamento de Clínicas Veterinária

CORRÊA, Marcio Nunes<sup>1,5</sup>

- 1- Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária
- 5- Departamento de Clínicas Veterinária

### 1 INTRODUÇÃO

Os folículos ovarianos proveêm o único ambiente endócrino fundamental para o desenvolvimento dos ovócitos e sua competência. A avaliação *in vitro* de ovários de abatedouro tem sido muito utilizada para elucidar os efeitos das interações hormonais e do desenvolvimento folicular na competência ovocitária. Diferenças na qualidade ovocitária decorrentes do estágio do ciclo estral e do status do folículo no momento da recuperação do ovócito tem sido descritas (Pfeifer et. al. 2009).

Na fêmea bovina, o ciclo estral ocorre em um intervalo médio de 18 a 24 dias (Araujo et al., 2009). Nesse período ocorrem de duas a três ondas de desenvolvimento folicular (Jaiswal et. al, 2004). Em cada onda folicular há o recrutamento, crescimento, seleção e dominância folicular. O folículo dominante exerce um efeito inibitório no crescimento dos folículos subordinados e continua crescendo. O desenvolvimento da competência ovocitária ocorre gradualmente no decorrer do crescimento do folículo. Ovócitos coletados de folículos com diâmetro  $\geq 6$ mm apresentaram maior competência do que ovócitos de folículos com diâmetro  $< 4$ mm (Lequarre et. al, 2005). No entanto, ovócitos coletados antes da seleção folicular tiveram uma maior capacidade de desenvolvimento e formação de blastocisto em relação aos coletados durante o período de dominância (Hagemann et. al, 1999). Baseado nessas considerações ainda é necessário estudar os efeitos deletérios do diâmetro do folículo dominante na taxa de atresia folicular, o que está diretamente relacionado com a taxa de recuperação ovocitária em vacas doadoras de ovócito.

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do diâmetro do folículo dominante sobre o número de folículos presentes nos ovários de vacas.

### 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram obtidos de um abatedouro local onze pares de ovários, coletados em frascos individuais contendo solução salina 0,9% e imediatamente transportados para o laboratório a 5°C. O número de folículos no par de ovários foi contado e o diâmetro do maior folículo foi obtido realizando a média de três medições em diferentes direções. Os folículos tiveram seu fluido aspirado com a utilização de seringas de 3 ou 1mL de acordo com o tamanho. O fluido folicular foi armazenado a -80°C. Posteriormente, foi analisada a concentração de estradiol (E<sub>2</sub>) (Estradiol II, Roche Diagnostics, Mannheim, USA) e progesterona (P<sub>4</sub>) (Progesterona II, Roche Diagnostics, Mannheim, USA) no líquido folicular através de eletroquimioluminescência (Elecsys 2010, Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) para determinar se o folículo era dominante ou subordinado. Os folículos foram classificados como: 1) pequenos (<5mm de diâmetro); 2) médios (>5mm de diâmetro); 3) recém dominante (<11,5mm de diâmetro e E<sub>2</sub>:P<sub>4</sub>>1); 4) e dominante tardio (>11,5mm de diâmetro e E<sub>2</sub>:P<sub>4</sub>>1) (modificado de Shimizu et al., 2008). Os ovários foram classificados com base no diâmetro do folículo dominante, formando os grupos dominante tardio (LD, n=5, diâmetro >11,5mm) e recém dominante (ED, n=6 diâmetro <11,5mm). Para análise estatística foi utilizado o método Oneway ANOVA do programa SAS (2009).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os pares de ovários apresentavam corpo lúteo. Não houve diferença (P=0,27) entre os grupos para o número de folículos pequenos. Provavelmente, devido à contagem folicular ter sido realizada a olho nu, uma considerável quantia de folículos pequenos recém antrais não foi contada devido à sua dificuldade de identificação e distinção (Jaiswal et. al, 2004).

O número total de folículos não diferiu entre os grupos. Devido à categoria de folículos pequenos representar o maior percentual de população folicular, a não identificação desses folículos, seja pelo seu reduzido tamanho ou pela dificuldade de distinção decorrente da sua forma semelhante, altera o número total de folículos de uma forma expressiva.

O grupo ED apresentou um maior número de folículos com diâmetro >5mm (P=0,03). Os dados do número de folículos de diferentes categorias de ambos os grupos estão sumarizados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Média do número de folículos de diferentes categorias em ambos os grupos.

Variáveis	LD	ED	P
Folículos <5mm	17,2 ± 2,87 <sup>a</sup>	22,16 ± 3,07 <sup>a</sup>	0,27
Folículos >5mm	1,4 ± 0,5 <sup>a</sup>	3,5 ± 0,67 <sup>b</sup>	0,03
Total	18,6 ± 2,6 <sup>a</sup>	25,66 ± 3,29 <sup>a</sup>	0,13

Valores na mesma linha com letras diferentes indicam que são estatisticamente diferentes.

Conforme o folículo dominante aumenta o seu diâmetro aumenta também sua produção de estradiol e inibina. Conseqüentemente, quanto maior o folículo mais intenso é o efeito inibitório sobre os folículos subordinados devido à maior supressão da secreção hipofisária de FSH ocasionada pelas maiores concentrações de estradiol e inibina (Gibbons et. al, 1999). Por tal razão, nos ovários com folículos dominantes de maior diâmetro, o número de folículos médios foi menor do que nos ovários com folículos dominantes menores, pois a

maior concentração de estradiol, oriunda do folículo dominante maior, ocasionou a redução da secreção hipofisária de FSH, interrompendo o crescimento dos folículos subordinados por serem FSH dependentes e fazendo com que entrassem em atresia.

Baseado nessas evidências, a coleta de ovócitos de ovários com folículo dominante menor provavelmente fornecerá ovócitos de melhor qualidade. Estudos *in vivo* com técnicas que permitam a visualização através de ecografia de folículos recém antrais, juntamente com a dosagem sérica de hormônios hipofisários e gonadais podem melhor esclarecer o efeito do diâmetro do folículo dominante na população de folículos subordinados de diferentes categorias. Somado a isso, a avaliação dos ovócitos dos ovários analisados permitirá uma melhor relação entre o diâmetro do folículo dominante e a qualidade ovocitária.

#### 4 CONCLUSÃO

O estágio de desenvolvimento do folículo dominante interfere na população de folículos medianos em ovários de vacas. Quanto maior o folículo dominante maior a supressão no desenvolvimento dos folículos subordinados medianos.

#### 5 REFERÊNCIAS

ARAUJO, R.R.; GINTHER, O.J.; FERREIRA, J.C.; PALHÃO, M.M.; BEG, M.A.; WILTBANK, M.C., Role of Follicular Estradiol 17-beta in Timing of Luteolysis in Heifers, **Biology of Reproduction**, v. 81, p. 426-437, 2009.

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.

HAGEMANN, L.J., Influence of the dominant follicle on oocytes from subordinate follicles, **Theriogenology**, v.51, p. 449-459, 1999.

JAISWAL, R.S.; SINGH, J.; ADAMS, G.P.; Developmental Pattern of Small Antral Follicle in the Bovine Ovary, **Biology of Reproduction**, v. 71, p. 1244-1251, 2004.

LEQUARRE, A.S.; VIGNERON, C.; RIBAUCCOUR, F.; HOLM, P.; DONNAY, I.; DALBIES-TRAN, R.; CALLESEN, H.; MERMILLOD, P., Influence of antral follicle size on oocyte characteristics and embryo development in the bovine, **Theriogenology**, v. 63, p. 841-859, 2005.

PFEIFER, L.F.M.; SARTORI, R.; PIVATO, I.; RUMPF, R.; NOGUEIRA G.P., XAVIER, E.G.; DIONELLO, N.J.L.; CORRÊA, M.N., Effect of circulating progesterone on *in vitro* developmental competence of bovine oocytes, **Animal Reproduction**, v. 6, n. 3, p. 473-480, 2009.

SHIMIZU, T., MURAYAMA, C.; SUDO, N.; KAWASHIMA, C.; TETSUKA, M.; MIYAMOTO, A., Involvement of insulin and growth hormone (GH) during follicular development in the bovine ovary, **Animal Reproduction Science**, v. 106, p. 143-152.

