

## Establecimiento y desarrollo de la dominancia folicular bovina: Revisión

Guillermo Henao<sup>1</sup> y Luis E. Trujillo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. AA 1027 Medellín, Colombia.

(Recibido: 1 noviembre, 1999; aceptado: 16 mayo, 2000)

## *Resumen*

El proceso de foliculogénesis bovina se presenta durante los períodos prepupal, pupal, anestro postparto, ciclo estral y primeros meses de gestación. La foliculogénesis es un proceso dinámico caracterizado por una proliferación acelerada y una diferenciación de las células somáticas que componen el folículo. El desarrollo del folículo proporciona un ambiente óptimo para la maduración del oocito, capacitándolo para la fertilización después de la ovulación. La foliculogénesis se desarrolla en forma de ondas foliculares. Cada onda folicular está compuesta por una cohorte de folículos que han dejado su estado de "reposo" y empiezan a crecer, asociados temporalmente a un aumento de la concentración de hormona folículo estimulante (FSH). Los folículos reclutados, con diámetros de aproximadamente cuatro milímetros, se desarrollan a una tasa de crecimiento semejante durante los tres primeros días, hasta alcanzar un diámetro aproximado de ocho milímetros. A partir de este momento, un folículo de la cohorte, que tiene potencialidad para desarrollar dominancia morfológica y funcional sobre los demás, continúa creciendo, mientras los otros regresan y se convierten en subordinados. En este proceso intervienen las hormonas gonadotrópicas y gonadales, asociadas a diversas proteínas ováricas como las activinas, inhibinas y factores de crecimiento, que actúan en forma endocrina, autocrina o paracrina, como estimuladores o inhibidores del desarrollo folicular. No se conoce con exactitud el mecanismo que establece la dominancia folicular.

**Palabras clave:** bovino, dinámica folicular, folículo dominante, reproducción.

## Introducción

El desarrollo folicular en los bovinos ocurre en forma de ondas, conformadas por cohortes de folículos (13) que son seleccionados para crecer a partir de la reserva de folículos "en reposo" (18,37). Entre los folículos reclutados en cada onda se establece una competencia por la dominancia, en la cual solo un folículo de la cohorte adquiere el desarrollo competente que le permitirá seguir creciendo en un ambiente de bajas concentraciones de gonadotropinas, al tiempo en que sus compañeros de cohorte sufren atresia (15). El folículo dominante modifica el patrón de crecimiento de los folículos subordinados en ambos ovarios, mediante la producción de factores que actúan en forma endocrina, autocrina o paracrina para

autopotenciar su desarrollo e inhibir a los subordinados (24:38).

No se sabe cómo ocurre la selección del folículo dominante. Antes de la selección se produce una oleada de hormona folículo estimulante (FSH) en la circulación, que estimula el reclutamiento folicular (11,15). Después de dos días los niveles de FSH bajan significativamente y esta declinación coincide con la selección del folículo dominante (15,24). Está bien definido que los reguladores primarios del crecimiento folicular tardío son las gonadotropinas que actúan mediante mecanismos endocrinos; sin embargo la selección del folículo y el desarrollo de la dominancia, no se pueden explicar completamente por el sistema de retroalimentación entre el hipotálamo, la

hipófisis y los ovarios (37), por eso se postula que el folículo dominante produce factores que le permiten aumentar su desarrollo en un ambiente de concentraciones basales de gonadotropinas al tiempo en que los subordinados sufren atresia (24).

La tasa superovulatoria y el grado de sincronización de vacas y novillas en programas de transferencia de embriones y de inseminación artificial presentan en la actualidad una respuesta extremadamente variable (9,21) que limita la aplicación de estas biotecnologías a escala comercial. El conocimiento del desarrollo folicular en bovinos proporciona las bases para comprender las razones de la variabilidad en la respuesta superovulatoria y en la sincronización de estros en los bovinos y permite mejorar la eficiencia de estas biotecnologías (23,37). En esta revisión se considerarán los principales aspectos fisiológicos que gobernan el reclutamiento, la selección, la divergencia y la dominancia folicular con énfasis en la especie bovina. No se harán consideraciones sobre el estado de maduración del oocito contenido en el folículo.

### Reclutamiento folicular

En la mayoría de mamíferos, la proliferación de oogonias está restringida al desarrollo prenatal o a un corto tiempo después del nacimiento. Así, antes o poco después del nacimiento, las oogonias son transformadas en oocitos primarios, caracterizados por una profase meiótica prolongada y rodeados por una sola capa de células planas de la granulosa, constituyendo folículos primordiales. Estos folículos primordiales constituyen la reserva o almacén de folículos "en reposo", los cuales se agotan progresivamente durante la vida (18,37).

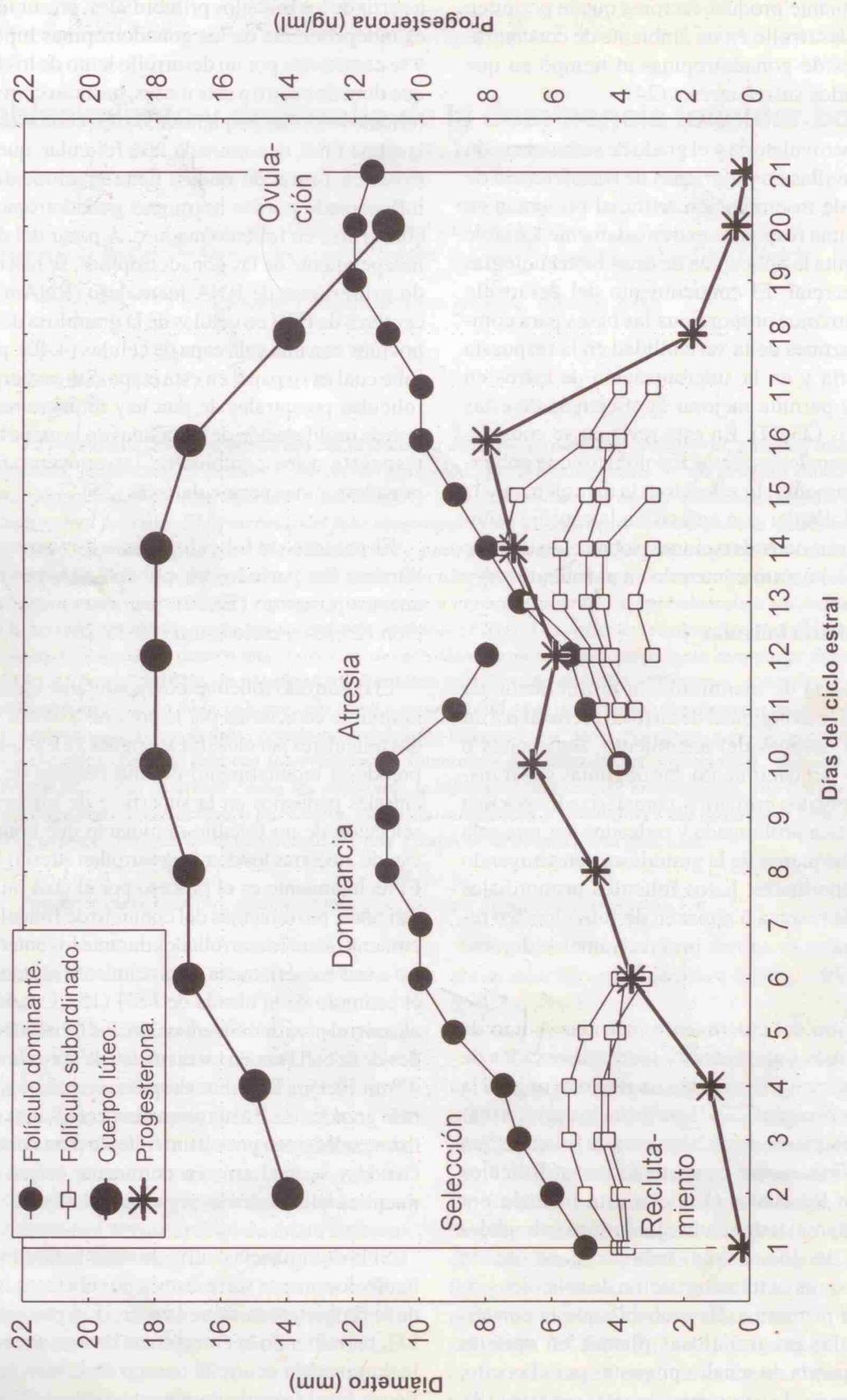
La iniciación del crecimiento folicular es uno de los aspectos más importantes y menos conocidos de la biología ovárica y representa un reto mayor para la biología experimental (37). Los folículos primordiales, presumiblemente dejan la reserva de folículos "en reposo" continuamente convirtiéndose en folículos primarios, en los cuales el oocito está rodeado por una placa unilaminar de células granulosas cuboidales (13). Uno de los pasos más críticos de la foliculogénesis es la transformación de folículos primordiales en primarios. Es probable que la conversión de células pregranulosas planas, en epitelio cuboidal, dependa de señales provistas por el oocito, pero no se conoce la naturaleza de estas señales (18).

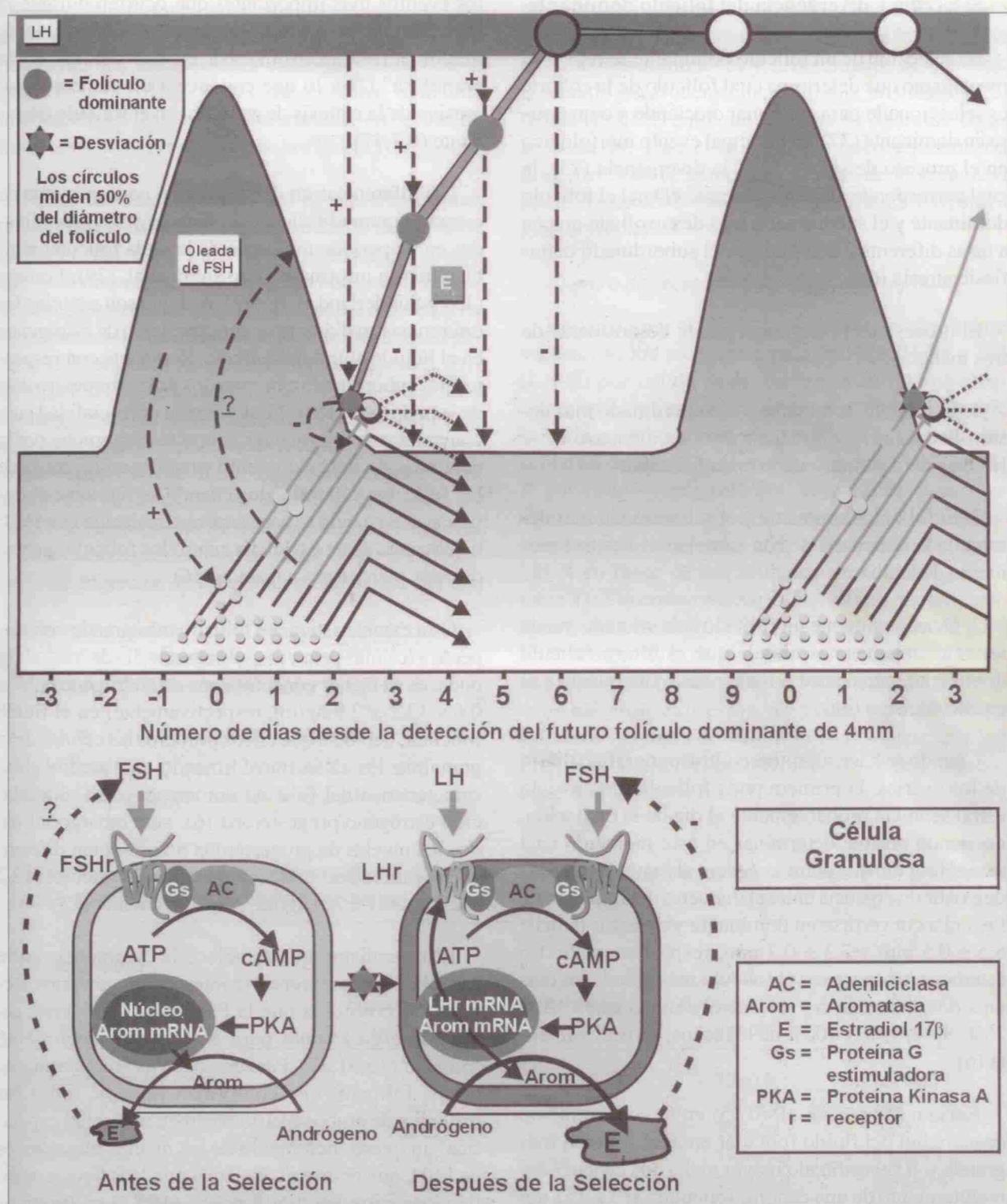
La fase inicial del crecimiento folicular, originada a partir de los folículos primordiales, presumiblemente es independiente de las gonadotropinas hipofisiarias y se caracteriza por un desarrollo lento de los folículos, que dura de cuatro a seis meses, hasta su conversión en folículos antrales pequeños (37). En contraste con ésta, la etapa final, denominada fase folicular, que se desarrolla en forma de ondas, tiene crecimiento rápido, influenciado por las hormonas gonadotrópicas, hasta convertirse en folículo maduro. A pesar del desarrollo independiente de las gonadotropinas, se han encontrado expresiones de RNA mensajero (RNAm) para receptores de FSH en células de la granulosa de folículos bovinos con una sola capa de células (4,40), pero no se sabe cuál es su papel en esta etapa. Sin embargo, en los folículos preantrales de rata hay un incremento en la tasa de proliferación de las células de la granulosa como respuesta a los cambios en las concentraciones de gonadotropinas periovulatorias (25).

El proceso de foliculogénesis bovina se presenta durante los períodos prepupal (1), pupal (32), anestro postparto (20,26), primeros meses de gestación (25,33) y ciclo estral (20,26,28).

El desarrollo folicular bovino durante un ciclo estral normal se caracteriza por la presencia de dos o tres ondas foliculares por ciclo (véase figura 1). Cada onda comprende el reclutamiento de una cohorte de folículos antrales pequeños en la superficie de los ovarios y la selección de un folículo dominante que continúa creciendo, mientras los demás desarrollan atresia (11,13,37). El reclutamiento es el proceso por el cual un grupo de folículos, provenientes del conjunto de folículos en crecimiento lento (desarrollados durante los anteriores cuatro a seis meses), inicia un crecimiento rápido (37) bajo el estímulo de la oleada de FSH (15). Cuando la FSH alcanza el pico de concentración, los folículos más grandes de la onda tienen un diámetro de aproximadamente 4 mm (6,15). Tres días después, cuando los folículos más grandes miden aproximadamente 8 mm de diámetro, se selecciona un solo folículo para continuar creciendo y se transforma en dominante (véase figura 2), mientras que los demás regresan (14,15).

Si la dominancia ocurre durante la fase lútea, el folículo dominante sufre atresia por el efecto inhibitorio de la progesterona sobre la secreción preovulatoria de LH, permitiendo la emergencia de una nueva onda. Si la dominancia ocurre al tiempo de la luteolisis (véase figura 1), el folículo dominante ovulará (32).





**Figura 2.** Modelo esquemático de la naturaleza postulada del mecanismo de desviación folicular en el ganado, que describe aspectos sistémicos (arriba) y aspectos celulares (abajo).

Fuente: Ginther *et al.* (1996)

### Selección y divergencia del folículo dominante

La selección de un folículo dominante se refiere al mecanismo que determina cual folículo de la cohorte es seleccionado para continuar creciendo y convertirse en dominante (37). El principal evento morfológico en el proceso de selección es la divergencia (15), la cual corresponde al tiempo durante el cual el folículo dominante y el subordinado más desarrollado crecen a tasas diferentes, antes de que el subordinado manifieste atresia (6).

El proceso de divergencia puede desarrollarse de tres maneras:

1. El folículo dominante y el subordinado más desarrollado divergen gradualmente en diámetro entre los días cero y cuatro de la onda folicular.
2. El folículo dominante y el subordinado más desarrollado tienen diámetros semejantes hasta el momento de la divergencia.
3. Ocionalmente un folículo subordinado puede ser inicialmente más grande que el futuro folículo dominante, pero crece a menor tasa y no alcanza el estado decisivo (15).

Cuando se hace monitoreo ultrasonográfico diario de los ovarios, la primera onda folicular de un ciclo estral se inicia probablemente el día de la ovulación, no siendo posible determinar en este momento cuál será el folículo que dominará, pero al segundo día puede existir divergencia entre el diámetro del folículo que llegará a convertirse en dominante y el de los demás:  $8.5 \pm 0.5$  mm y  $7.3 \pm 0.7$  mm, respectivamente. En estudios retrospectivos el folículo más grande los días uno, dos, tres, cuatro y seis fue el dominante en 40%, 75%, 90%, 99% y 100% de los casos, respectivamente (6).

Existen diferencias ( $P < 0.05$ ) en la concentración de estradiol del fluido folicular entre el folículo más grande y el subordinado mayor al día dos después del reclutamiento de una cohorte folicular:  $373 \pm 151$  ng/ml y  $42 \pm 26$  ng/ml, respectivamente (6). Al respecto Xu et al. (40,41), mediante el uso de técnicas de hibridación, encontraron mayor concentración ( $P < 0.05$ ) de RNAm para la enzima P450 aromatasa en las células de la granulosa del folículo con diámetro mayor de cinco mm que en los de diámetro menor. "Uno de

los eventos más importantes que ocurren durante la selección del folículo dominante es la aparición de mayor actividad aromatasa en sus células de la granulosa" (16), lo que conduce a un aumento progresivo de la síntesis de estradiol en el folículo dominante (6,7,17).

Las diferencias en diámetro y en concentración de estradiol entre el folículo dominante y los subordinados en un período temprano de la onda folicular también fueron informadas por Smith et al. (29); Fortune (13) y Sunderland et al. (32). Aunque son notorias las diferencias en diámetro y concentración de estrógenos en el líquido antral del folículo dominante con respecto a los subordinados, durante los primeros cuatro días de la onda todos los folículos tienen potencialidad para convertirse en dominantes, como se comprueba por la continuación del crecimiento y retardo en la atresia de los folículos subordinados cuando se remueve el dominante, o cuando se hace superestimulación con FSH; no obstante después del día cuatro los folículos subordinados pierden esa capacidad (6).

Otra característica del folículo más grande con respecto a los más pequeños, al segundo día de iniciada la onda, es su menor concentración de andrógenos ( $2.7 \pm 0.6$  y  $13.2 \pm 2.9$  ng/ml, respectivamente) en el fluido folicular, debido a que en los primeros las células de la granulosa están transformando en estradiol. Una característica del folículo dominante es su alta relación estrógeno/progesterona (6), sin embargo, al día dos los niveles de progesterona no presentan diferencias significativas entre ambos tipos de folículos:  $12.2 \pm 2.3$  y  $20.1 \pm 8.6$  ng/ml, respectivamente (13).

El mecanismo que establece la divergencia entre los folículos comprende la interacción de varios factores. Se considera que la FSH y los estrógenos actúan sinérgicamente para acelerar el crecimiento folicular (15,31,37). Para que ocurra el reclutamiento de los folículos que conforman la onda, todos los folículos de ambos ovarios reciben una señal específica: un ligero incremento de los niveles plasmáticos de FSH, que ocurre el día 0 de la onda folicular, repitiéndose entre los días 8 y 10.5 (15,32) en las vacas con dos ondas foliculares (véase figura 2). No se sabe si el efecto estimulante de la FSH sobre el crecimiento folicular es directo. Contrario a lo que sucede *in vivo*, es difícil demostrar un efecto directo de la FSH sobre la proliferación de las células de la granulosa *in vitro* ya que éste depende del conjunto de factores de

crecimiento presentes en el medio de cultivo. Esta discrepancia entre *in vivo* e *in vitro* indica que son necesarias las interacciones entre las células de la granulosa y otros tipos de células ováricas intersticiales o tecales para la estimulación óptima de las células de la granulosa por la FSH (25).

No se conoce con exactitud el mecanismo que permite que sólo un folículo de la cohorte se convierta en dominante. Gougeon (16) sugiere que el folículo que será dominante es el más grande y con menor umbral para responder a la FSH. El papel de la FSH en la proliferación de células de la granulosa puede explicarse mediante dos mecanismos no excluyentes. Primero, la FSH puede aumentar la respuesta de las células de la granulosa a los factores de crecimiento, incrementando la expresión de receptores, tales como los receptores tipo I del factor de crecimiento insulinoide en las células de la granulosa de rata; segundo, se ha propuesto recientemente que los factores de crecimiento pueden mediar la acción de la FSH sobre la proliferación de las células de la granulosa (25).

¿Por qué un folículo de la cohorte, que se convertirá en dominante, adquiere menor umbral de respuesta y por lo tanto más sensibilidad a la FSH?

#### Número de células de la granulosa

Se podría pensar que el folículo dominante tiene mayor cantidad de células de la granulosa para res-

ponder a las concentraciones basales de FSH, pero ello no es así. El recuento de células de la granulosa en folículos dominantes y subordinados de dos días, efectuado por Bodensteiner et al. (6), no mostró diferencia ( $P>0.05$ ) entre ambos tipos de folículos (véase tabla 1). Tian et al. (34) tampoco encontraron diferencias en el número de células de la granulosa entre folículos cuando se inicia el estímulo gonadotrópico.

#### Número de receptores para gonadotropinas

Bodensteiner et al. (6) marcaron radiactivamente y contaron los receptores para FSH (FSH-R) y LH (LH-R) por célula de la granulosa en los folículos dominantes y subordinados los días dos y cuatro de la onda y encontraron que en el día dos no se presentaron diferencias en el número de FSH-R y LH-R por célula y por folículo, pero el día cuatro las diferencias entre ambos tipos de folículos eran altamente significativas para FSH-R y significativas para LH-R en favor de los folículos dominantes (véase tabla 1). Sin embargo, Xu et al. (40) no encontraron diferencias en los niveles de expresión génica para FSH-R en células de la granulosa de folículos bovinos que medían entre 0.5 y 14 mm de diámetro y solo hallaron expresión de genes para LH-R en folículos mayores de 9 mm, lo cual sugiere que los FSH-R no limitan el establecimiento de la dominancia como lo hacen los LH-R.

**Tabla 1.** Comparación del número de receptores de FSH y de LH entre los dos folículos más grandes de la onda folicular los días dos y cuatro

Característica	Día 2		Día 4	
	Folículo más grande	Segundo más grande	Folículo más grande	Segundo más grande
Diámetro folicular (mm)	8.5±0.5	7.3±0.7	13±0.9	8.9±0.5**
Estradiol (ng/ml)	373±151	42±26**	265±23	6±2*
Estradiol (ng/folículo)	161±89	21±1	305±33	2±1**
Progesterona (ng/ml)	12.2±2.3	20.1±8.6	17.1±1.6	21.1±13.3
Estradiol / Progesterona	26±13.9	9.5±8.8	15.2±2.9	0.98±0.5
Células de la Granulosa/Folículo ( $10^6$ )	26±5	16±4	30±7	10±3**
FSH-R/Célula	6011±711	8925±2246	14196±8045	4322±953
FSH-R/Folículo ( $10^6$ )	15.8±3.8	12.5±1.4	34.9±14.6	3.6±0.7**
LH-R/Célula	2344±1790	3013±1234	7521±3112	712±361*
LH-R/Folículo( $10^6$ )	6.8±5.4	4.9±2	19.3±6.8	0.97±0.5*

\*( $P<0.01$ ) \*\*( $P<0.05$ )

Fuente: Bodensteiner et al. (1996).

### Factores estimuladores o inhibitorios

**Inhibinas:** Las inhibinas (A y B) son heterodímeros formados por una subunidad a común y una de dos subunidades b (bA y bB) altamente homólogas (22,42). Se han clasificado siete formas de inhibina en fluido folicular bovino (32) por medio de análisis inmunoradiométrico (IRMA) y radioinmunoanálisis (RIA).

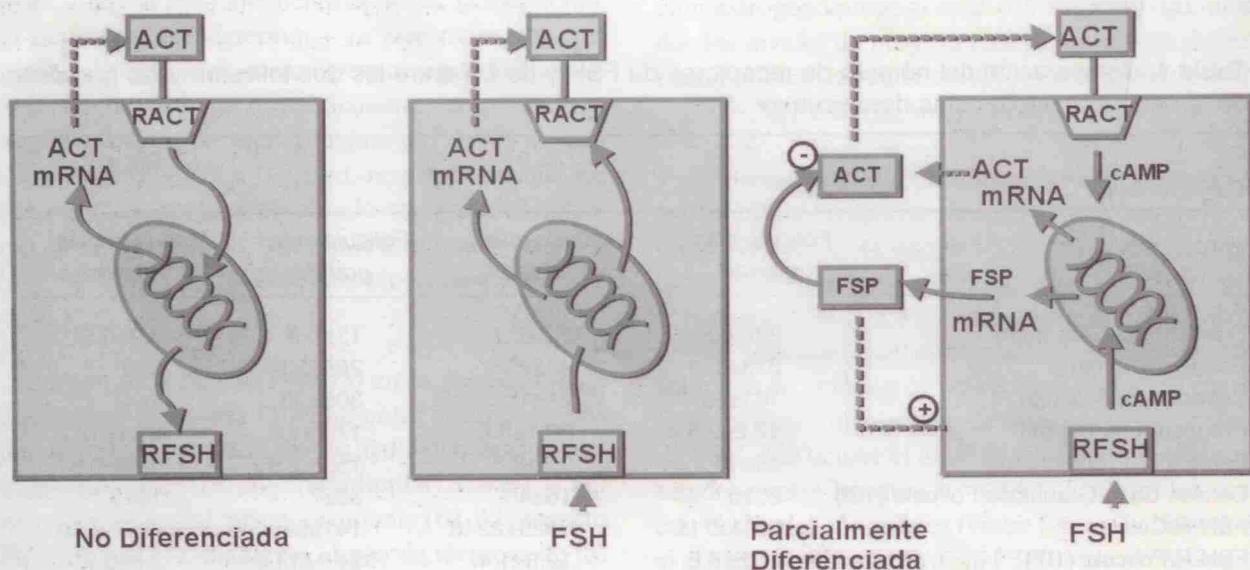
La inhibina estimula la producción de andrógenos por las células de la teca interna de folículos de rata y humano *in vitro*. Si esto ocurriera *in vivo*, se podría suponer que la inhibina mejora la producción del andrógeno como substrato para su aromatización en estrógenos, lo cual es de gran importancia para el folículo que inicia la dominancia.

La producción de inhibina se aumenta paulatinamente cuando se sintetizan estrógenos foliculares durante el crecimiento del folículo dominante, evento que decrece los niveles de FSH y restringe el crecimiento de los folículos subordinados, al mismo tiempo que incrementa la producción de más andrógenos en las células tecales del folículo dominante (12).

**Activinas (ACTs):** Las activinas son homodímeros o heterodímeros de las subunidades b de inhibina (bAbA, bBbB, bAbB) (42). Una de las proteínas que

más temprano se expresa en el proceso de crecimiento folicular es la activina. En células de la granulosa indiferenciadas de folículos preantrales, la ACT actúa autocrinamente en la transformación de la célula de gonadotropina-independiente a gonadotropina-dependiente, mediante la activación de los FSH-R. La FSH actúa luego sobre la célula para estimularla a producir más ACT y más receptores de activina (RACT), en un sistema autoinductivo de retroalimentación positiva. La FSH y la activina juntas aumentan el número de FSH-R en la célula parcialmente diferenciada. La FSH y la ACT también inducen la producción de folistatina (FSP), que modula la acción de la ACT (véase figura 3). Los efectos estimuladores de la ACT sobre el AMPc, la actividad aromatasa, la producción de estradiol y de receptores para gonadotropinas, indican que la activina promueve la diferenciación de células de la granulosa y previene la luteinización y la atresia (12).

**Folistatina (FSP):** La folistatina es un polipéptido de cadena simple que se expresa en las células de la granulosa y regula la bioactividad de la inhibina y la activina uniéndose a su subunidad común b. Aún no se conoce bien el mecanismo por el cual la folistatina regula a la inhibina y a la activina (véase Figura 3). Se requieren más estudios que aclaren su función (32).



**Figura 3.** Interacciones entre Activina, FSP y FSH en células granulosas

Fuente: Findlay et al. (1993)

*Factores de crecimiento insulinoide (IGFs):* En folículos preantrales sanos, el factor de crecimiento insulinoide tipo I (IGF-I) puede mediar el efecto estimulador de la FSH sobre la proliferación de las células de la granulosa, produciendo un incremento gradual del crecimiento folicular hasta la formación de antró (25).

Las células de la granulosa de folículos no atrésicos poseen IGF-I, que actúa paracrinamente sobre las células de la teca de folículos antrales no atrésicos para estimular, en asocio con la LH, la síntesis de andrógeno, lo que parece ser importante en el incremento del potencial estrogénico (8,19) y en la diferenciación de las células de la granulosa (19) del folículo dominante seleccionado para ovular.

Se ha demostrado que el IGF-I es un amplificador de la FSH en la inducción de la proliferación y de la actividad aromatasa de las células de la granulosa de ratas y es un potente regulador de la biosíntesis de estradiol en cultivos de células granulosas porcinas (25).

Estudios recientes demostraron la capacidad de la hormona del crecimiento (HC) para sinergizar con IGF-I en la adquisición de la actividad biosintética de las células de la granulosa. El incremento de los niveles de HC, especialmente durante el período de pubertad, puede actuar directamente sobre el folículo, probablemente sensibilizando las células de la granulosa a la acción futura del IGF (2,39).

Los folículos más grandes de la cohorte también contienen mayor concentración de factor de crecimiento insulinoide tipo II (IGF-II) en las células de la teca (2), que estimula paracrinamente las células de la granulosa para una mayor actividad aromatasa. Se asume que IGF-II es el estimulador más efectivo de la actividad aromatasa, en sinergismo con los estrógenos, que estimulan la expresión de los receptores para factores de crecimiento insulinoide (IGF-R) en las células de la granulosa (2,16).

La bioactividad de los IGFs es controlada por su asociación con una familia de seis especies de proteínas unidoras (IGFBPs). La expresión espacial de estas proteínas unidoras dentro del folículo ovárico es específica de especie. Estas proteínas generalmente están en la matriz extracelular y en la membrana celular. Se ha observado que el aumento de la concentración de estas proteínas en los folículos bovinos

atenúa la acción de los IGFs (2). Por el contrario, el decrecimiento de la producción de las IGFBPs foliculares incrementa la actividad biológica de los IGFs y así incrementa también la respuesta del folículo a las gonadotropinas. La liberación de los IGFs de su unión con las IGFBPs está controlada por la acción de proteasas específicas de IGFBPs que han sido detectadas en fluido folicular de ovejas y cuya cantidad y actividad cambia durante la foliculogénesis (2,3,30). Las concentraciones fisiológicas de FSH inhiben la expresión del RNAm que codifica la IGFBP-2 en cultivos de células de la granulosa. Esto indica que una característica clave del desarrollo de la dominancia folicular en vacas es la inhibición, dependiente de la FSH, de la expresión del RNAm que codifica la IGFBP-2 en células de la granulosa (2).

*Factores de crecimiento fibroblástico (FGFs):* Son una familia de factores de crecimiento unidores de heparina con efectos mediados vía receptores tirosinquinasa. En el ovario, el miembro más estudiado de esta familia es el FGF-2, producido en las células granulosas bovinas, el cual estimula paracrinamente la proliferación de las células tecales. El FGF-2 inhibe la expresión de receptores de LH estimulados por FSH en células de la granulosa y reduce la unión específica de IGF en el tejido tecal (2).

Los FGFs tienen una afinidad alta por moléculas como sulfato de heparina en la matriz extracelular (MEC) y en la membrana plasmática. Esta asociación, así como la presentada con otros factores de crecimiento descritos anteriormente, es un componente clave en la regulación de su actividad. Parece que la unión de FGFs con moléculas como sulfato de heparina es un requisito para la actividad biológica normal. Por ejemplo, la potencia del FGF-1 es 100 veces mayor en presencia de heparina y la interacción de FGF-2 con moléculas como sulfato de heparina en la MEC es necesaria para la unión a los receptores (2).

La interacción de varias isoformas de FGF con la MEC puede regular la estabilidad y las propiedades de difusión de los factores de crecimiento. Las moléculas como el sulfato de heparina son liberadas continuamente de la membrana celular y de la MEC por la acción de proteasas específicas. La asociación de estas moléculas heparínicas solubles con FGFs inhibe la unión subsecuente de los FGFs a la MEC, facilita-

tando así su difusión desde su sitio de síntesis a través del tejido. El patrón de sulfatación de la heparina también parece ser crítico en el control de la unión de los FGFs a la MEC y a la membrana celular, por lo tanto las enzimas que afectan la estructura de la MEC podrían regular la afinidad de los FGFs hacia los componentes de la MEC y su tasa de difusión a través de ella (2).

#### Expresión o represión de genes

Los folículos de la cohorte no son todos iguales; sus pequeñas diferencias en tamaño se acompañan de diferencias fisiológicas. Gougeon (16) sugiere que el incremento de la respuesta a la FSH en las células de granulosa en términos de la actividad aromatasa puede estar relacionada con la actividad de diferentes transductores acoplados a los FSH-R o también deberse a cambios en la actividad de la adenilciclasa que permite la expresión o la represión de genes específicos. Las diferencias interfoliculares de estos genes para activarse o reprimirse en respuesta a estímulos moleculares, incluyendo factores de crecimiento, pueden estar relacionadas con el proceso mediante el cual un folículo es más receptivo a

la FSH que los demás y es capaz de estimular (P+) o de inhibir (P-) la expresión de proteínas (véase figura 4). No se conoce el carácter estocástico o determinístico de este mecanismo (16).

#### Células de la granulosa atípicas

Van den Hurk et al. (35), asociaron la presencia de células de la granulosa atípicas en folículos con el inicio de la atresia. Las células de la granulosa atípicas se caracterizan por su forma alargada y núcleo oblongo. Las células de la granulosa de folículos morfológicamente idénticos, pueden mostrar diferencias en su potencial de desarrollo y en la capacidad de síntesis de moléculas que afectan su crecimiento y diferenciación. Por eso se especula que en una población de folículos sanos de tamaño similar, pueden existir algunos factores inductores de diferencias funcionales, que aunque moderadas, conducen a la expresión rápida de genes codificadores de factores o de enzimas (P+, P-) que favorecen el crecimiento y finalmente la diferenciación completa (véase figura 4).

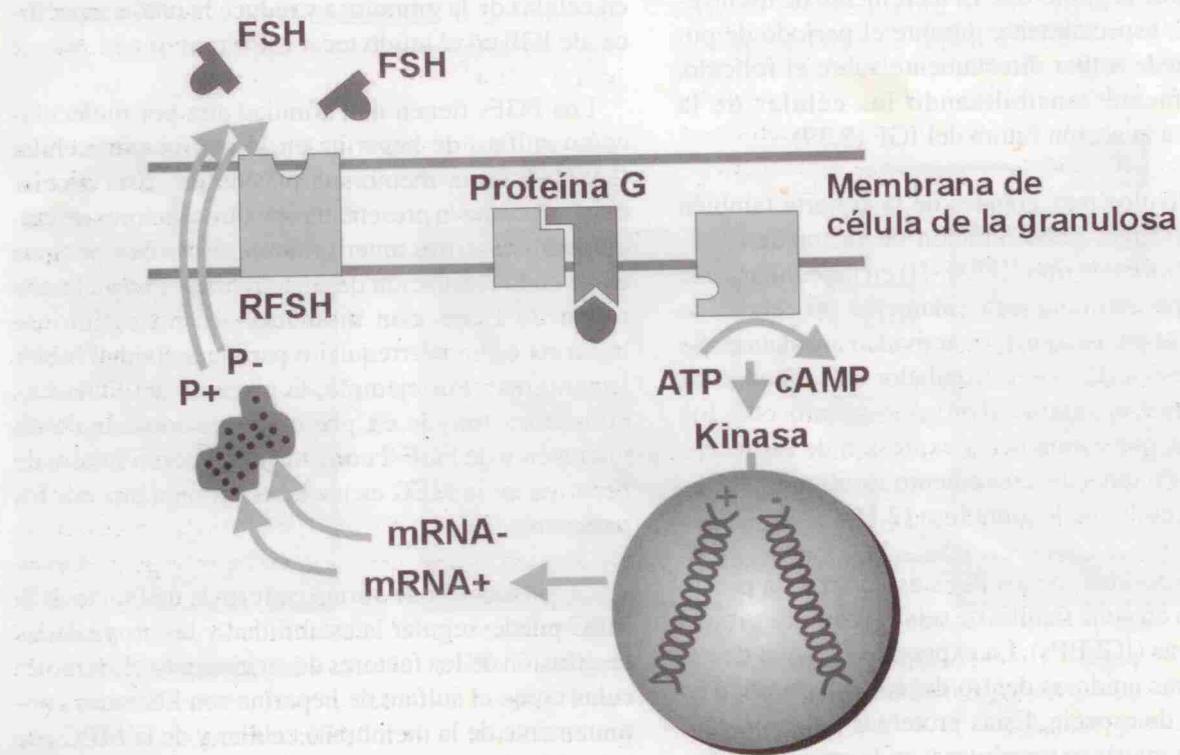


Figura 4. Interacción de transductores de FSH sobre receptores en la membrana de las células de la granulosa

### *Clones de células de la granulosa*

No se conoce la importancia que tiene el origen de las células de la granulosa y de la teca interna presentes en un folículo sobre la selección y dominancia. Estas células constituyen una mezcla de clones que se originan a partir de diferentes células tallo en el folículo primordial. El número de clones encontrado en folículos de ratón se ha estimado en cinco y corresponde al número de células de la granulosa que rodean al oocito en un folículo primordial (35).

### *Irrigación folicular*

No se pueden menospreciar las pequeñas diferencias en la irrigación y en la permeabilidad capilar de las células tecales, lo que puede originar mayor flujo de substratos hacia los folículos mejor dotados de irrigación (10). Es necesario considerar que los factores de crecimiento fibroblástico (FGFs) son potentes angiogénicos en virtud de sus efectos estimuladores sobre la proliferación de las células endoteliales; sin embargo, hasta el presente permanece incierto su papel en la regulación de la angiogénesis ovárica (2).

Durante el crecimiento de folículos antrales, el desarrollo de la vascularización en el plexo tecal interno y externo, incrementa el aporte de metabolitos y hormonas. Este aporte llega a ser máximo en el folículo preovulatorio; en los folículos preantrales y antrales pequeños, la vascularización tiene un desarrollo pobre (25).

### *Factores que causan atresia*

**Prorenina-renina-angiotensina (PRAS):** Recientemente se ha demostrado la presencia del sistema prorenina-renina-angiotensina (PRAS) en los folículos ováricos de rata y de bovino. El sistema PRAS es el factor clave en el proceso de atresia folicular. En un folículo en proceso de atresia, las células de la granulosa disminuyen la función y bajan la producción de factores paracrinos inhibidores de PRAS sobre las células de la teca, lo que conduce a una mayor síntesis de prorenina por las células tecales y a un aumento del nivel de receptores de angiotensina-2 (AT<sub>2</sub>). La sustancia biológicamente activa en la cascada renina-angiotensina es la AT<sub>2</sub>. La alta concentración de prorenina intrafolicular y la expresión aumentada de AT<sub>2</sub> son los responsables de conducir al folículo a la atresia completa (27).

**Factor de crecimiento epidérmico (EGF):** Los folículos menores contienen mayor concentración de factor de crecimiento epidérmico (EGF) que tiene efecto inhibitorio autocrino sobre las células de la granulosa. Las células de la teca del folículo más grande también producen EGF que actúa paracrinalmente inhibiendo el crecimiento de los folículos subordinados (10).

### *Dominancia folicular*

Es la etapa de desarrollo folicular que comprende desde la divergencia hasta el momento en que el folículo dominante produce la máxima cantidad de estradiol, antes de desarrollar atresia u ovular (13).

Superada la etapa de selección, el folículo dominante continúa su crecimiento y diferenciación en una vía que lo prepara para la ovulación, bajo un ambiente de concentraciones basales de FSH (véase figura 2), potenciadas por factores endocrinos, autocrinos y paracrinos, de manera que al cuarto día de vida de la onda folicular ya existen diferencias significativas entre el folículo dominante y los subordinados en cuanto a diámetro folicular, número de células de la granulosa, número de FSH-R, número de LH-R, concentración de estradiol en el líquido folicular y relación estrógeno/progesterona (véase Tabla 2) (6).

Entre los días seis y diez de desarrollo de la onda, se disminuyen los niveles de estradiol intrafolicular y por lo tanto la relación estrógeno/progesterona. Si este período de la onda coincide con la presencia de niveles luteales de progesterona, el folículo dominante no continúa la secreción de estradiol, termina su dominancia funcional y se atresia (véase figura 1) permitiendo el reclutamiento de una nueva onda folicular (13,32). Si durante la fase de dominancia ocurre la lisis del cuerpo lúteo, el folículo dominante se expone a señales hormonales adicionales: la disminución de los niveles de progesterona plasmática es seguida por incrementos pequeños en la amplitud y frecuencia de los pulsos de LH. Presumiblemente el mejoramiento de la capacidad aromatasa de las células de la granulosa del folículo dominante preovulatorio, es el resultado de esta pequeña elevación de la LH circulante, que le permite un mayor desarrollo, hasta el punto en que secreta suficiente estrógeno para desencadenar la oleada de FSH/LH y la ovulación (13).

**Tabla 2.** Comparación de los folículos más grandes de la primera onda folicular en novillas

Característica	Día 2	Día 4	Día 6	Día 10
Diámetro folicular (mm)	8.5±0.4a	13±0.9b	15±0.3bc	16.5±1.5c
Estradiol (ng/ml)	373±151a	265±63 <sup>a</sup>	177±36a	42±12b
Estradiol (ng/folículo)	161±89ab	305±33ab	366±86a	127±31b
Progesterona (ng/ml)	12.2±2.3a	15.2±2.9ab	9.5±1.9ab	2.1±0.7b
Estradiol / Progesterona	26.1±13.9a	15.2±2.9ab	9.5±1.9ab	2.1±0.7b
Células de la Granulosa/Folículo ( $10^6$ )	26±5	30±7	50±14	37±24
FSH-R/Célula	6011±711	14196±8045	7984±218	7793±3212
FSH-R/Folículo ( $10^6$ )	15.8±3.8	39.4±14.6	33.5±7.8	15.2±5.5
LH-R/Célula	2344±1790	7521±3112	7609±2267	9046±6717
LH-R/Folículo( $10^6$ )	6.8±5.4	19.3±6.8	31.9±8.2	12.2±4.9

Los valores con letras diferentes entre columnas son diferentes ( $P<0.05$ )

Fuente: Bodensteiner et al. (1996).

La capacidad de las células de la teca para secretar andrógenos y de las células de la granulosa para aromatizarlos, se disminuye después de la oleada de FSH/LH, al mismo tiempo que se aumenta la producción de progesterona y de oxitocina en las células de la granulosa. Estudios desarrollados *in vitro* sobre células granulosas y tecales también demostraron que dosis bajas de FSH y LH (como las encontradas durante la fase folicular *in vivo*) estimulan la producción de androstenediona y estradiol en la teca y en la granulosa respectivamente, pero dosis altas de FSH y LH (como las encontradas durante la oleada preovulatoria) estimulan la producción de progesterona y oxitocina (5). De manera semejante, el mRNA para 17 hidroxilasa en células tecales y el mRNA para la enzima aromatasa en células granulosas de vaca, también decrecen después de la oleada de gonadotropinas, concomitantemente con un aumento en la expresión de mRNA para oxitocina (36). La oleada de FSH hace aumentar los niveles de folistatina (FSP) producida por las células de la granulosa (véase figura 3). Los efectos de la FSP son consistentes con los cambios en la producción de hormonas de las células de la granulosa durante la luteinización. Así, después de la ovulación, la FSP modula la función de las células de la granulosa en forma autocrina favoreciendo la luteinización y la atresia (12).

En conclusión y teniendo en cuenta las medidas foliculares por ultrasonografía transrectal y la relación de estrógeno/progesterona, se define la selección como el tiempo al cual un folículo estrógeno-activo, promueve su propio crecimiento e inhibe el crecimiento de los otros folículos.

La divergencia folicular se presenta entre los días tres y cuatro de la onda. La divergencia corresponde al tiempo durante el cual el folículo dominante y el subordinado mayor crecen a tasas diferentes, antes de que el subordinado manifieste atresia.

Los mecanismos que dirigen la selección del folículo dominante se establecen quizás desde antes del segundo día de inicio de la onda folicular. En la selección de un folículo dominante intervienen múltiples factores endocrinos, autocrinos y paracrinos que se expresan en un estricto orden temporal y espacial para favorecer el crecimiento de uno de los folículos de la cohorte.

La dominancia folicular es la etapa del desarrollo folicular que comprende desde la divergencia hasta el momento en que el folículo dominante produce la máxima cantidad de estradiol, antes de desarrollar atresia u ovular. No se conocen con precisión las razones que explican por qué el folículo que se convertirá en dominante presenta mayor sensibilidad a las concentraciones bajas de FSH.

**Summary****Establishment and development of the bovine follicular dominance.**

*The bovine folliculogenesis process is presented during the prepuberal, puberal, postpartum anestrus, estral cycle and early gestation periods. The folliculogenesis is a dynamic process characterized by an accelerated proliferation and differentiation of the follicular somatic cells. The follicular development supplies an optimum ambient for oocyte maturation, ovulation, and fertilization. The folliculogenesis is characterized by the development of follicular waves. Each wave is composed by a cohort of follicles that had left their "resting" state and begin to growth temporary associated to an increase of follicle stimulant hormone concentration (FSH). The recruited follicles, with diameter of approximately four mm, develop with a similar growth rate during the first three days until reach a diameter of approximately 8 mm. From this moment, a follicle of the cohort that had potentiality to develop morphological and functional dominance continues to growth while the others return and turned subordinated. In this process mediate gonadotropin and gonadals hormones associated to several ovarian proteins such as activines, inhibines and growth factors, that act in endocrine, autocrine or paracrine form to stimulate or prevent follicular development. It is not known the exact mechanism that establishes the follicular dominance.*

**Key words:** bovine, follicular dynamics, dominant follicle, reproduction.

**Referencias**

1. Adams CP; Evans ACO, Rawlings NG. Follicular waves and circulating gonadotropins in 8-months-old prepubertal heifers. *Journal of Reproduction and fertility* 1994; 100:27-33.
2. Armstrong DG; Webb R. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Reviews of Reproduction* 1997; 2(3):139-146.
3. Armstrong DG, Baxter G, Gutierrez CG, Hogg CO, Glazirin AL, Campbell BK, Bramley TA, Webb R. Insulin-like growth factor binding protein-2 and 4 messenger ribonucleic acid expression in bovine ovarian follicles: effect of gonadotropins and developmental status. *Endocrinology* 1998; 139(4):2146-2154.
4. Bao B, Garverick HA. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *Journal of Animal Science* 1998; 76:1903-1921.
5. Berndtson AK, Vincent SE, Fortune JE. Low and high concentrations of gonadotropins differentially regulate hormone production by theca and granulosa cells from bovine preovulatory follicles. *Biology of Reproduction* 1995; 52:1334-1342.
6. Bodensteiner KJ, Wiltbank MC, Bergfelt DR, Ginther OJ. Alterations in follicular estradiol and gonadotropin receptors during development of bovine antral follicle. *Theriogenology* 1996; 45:499-512.
7. Carriere PD. The role of pregnenolone-metabolizing enzymes in the regulation of estradiol biosynthesis during development of the first wave dominant follicle in cattle. *Journal of Endocrinology*, abstract 1996; 149 (2):233-242.
8. Denis AM. Regulation of differentiated function in ovarian theca cells. *Seminars in Reproductive Endocrinology* 1991; 9(4):321-332.
9. D'Occhio MJD, Jillella D, Lindsey BR. Factors that influence follicle recruitment, growth and ovulation during ovarian superstimulation in heifers: Opportunities to increase ovulation rate and embryo recovery by delaying the exposure of follicle to LH. *Theriogenology* 1999; 51:9-35.
10. Driancourt MA. Follicular dinamics in sheep and cattle. *Theriogenology* 1991; 35(1):55-79.
11. Evans ACO, Fortune JE. Selection of the dominant follicle in the cattle occurs in the absence of differences in the expression of messenger ribonucleic acid for gonadotropin receptors. *Endocrinology* 1997; 138:2963-2971.
12. Findlay JK. An update on the role of inhibin, activin, and follistatin as local regulators of folliculogenesis. *Biology of Reproduction* 1993; 48:15-23.
13. Fortune JE. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biology of Reproduction* 1994; 50:225-232.
14. Ginther OJ, Kot K, Kulick LJ, Wiltbank MC. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. *Theriogenology* 1997; 48:75-87.
15. Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction* 1996; 55:1187-1194.
16. Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: Factors and hypothesis. *Endocrine Review* 1996;17(2):121-155.
17. Guilbault LA, Rouillier P, Matton P, Glencross RG, Beard AJ, Knight PJ. Relationship between the level of atresia and inhibin contents (a subunit and a b dimer) in morphologically dominant follicle during the growing and regressing phases of development in cattle. *Biology of Reproduction* 1993; 48:268-276.
18. Greenual GS, Roy SK. Follicular development and its control. *The Physiology of Reproduction*, second edition. Knobil and J.D. Neil. Raven Press, New York, 1994; 629-724.

19. Gregory FE, Douglas RD. Ovarian control of follicle development. *American Journal of Obstetric Gynaecology* 1995; 172(2):736-747.
20. Henao G. Descripción y comparación del establecimiento del ciclo estral postparto en vacas Brahman sin y con amamantamiento en el trópico colombiano. Tesis MSc. Universidad de Antioquia, Colombia 1998. 28p.
21. Kastelic JP. Understanding ovarian follicular development in cattle. *Veterinary Medicine* 1994; 64:71.
22. Knight PG. Roles of inhibins, activins, and follistatin in the female reproductive system. *Frontiers in Neuroendocrinology* 1996; 17:476-509.
23. Lucy MC, Savio JD, Badinga I, De La Sota RL, Thatcher WW. Factor that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *Journal of Animal Science* 1992; 70:3615-3626.
24. Mihm M, Good TEM, Ireland JJ, Knight PG, Roche JF. Decline in serum-follicle-stimulating hormone concentration alters key intrafollicular growth factors involved in selection of the dominant follicle in heifers. *Biology of Reproduction* 1997; 57:1328-1337.
25. Monniaux D, Huet C, Besnard N, Clément F, Bosc F, Pisselet C, Monget P, Mariana JC. Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. *Journal of Reproduction and Fertility (Supplement)*. 1997; 51:3-23.
26. Murphy MG, Boland MP, Roche JF. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in postpartum beef suckled cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 1990; 90:523-533.
27. Mukhopadhyay AK, Brunswig-Spickenheier B. Follicular maturation and atresia: role of intraovarian regulatory factors. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1996; 50:105-112.
28. Savio JD, Boland MP, Roche JF. Development of dominant follicle during the estrous cycle of heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 1990; 88:581-591.
29. Smith LC, Olivera-Angel M, Groome NP, Bathia B, Price CA. Oocyte quality in small antral follicles in the presence or absence of a large dominant follicle in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility* 1996; 106:1-7.
30. Spicer LJ, Chamberlain CS. Insulin-like growth factor binding protein-3: its biological effect on bovine granulosa cells. *Domestic Animal Endocrinology* 1999; 16(1):19-29.
31. Stock AE, Fortune JE. Ovarian follicular dominance in cattle. Relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology* 1993; 132:1108-1114.
32. Sunderland SJ, Knight PG, Boland MP, Roche JF, Ireland JJ. Alteration in intrafollicular levels of different molecular mass forms of inhibin during development of follicular and luteal phase dominant follicles in heifers. *Biology of Reproduction*, abstract 1996; 54(2):453-462.
33. Taylor C, Rajamahendran R. Follicular dynamics and corpus luteum growth and function in pregnant versus nonpregnant dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1991; 74(1):115-123.
34. Tian XC, Berndtson AK, Fortune JE. Differentiation of bovine preovulatory follicles during the follicular phase is associated with increases in messenger ribonucleic acid for cytochrome P450 side chain cleavage, 3b hydroxysteroid dehydrogenase, and P450 17a hydroxylase, but not P450 aromatase. *Endocrinology* 1995; 136(11):5102-5110.
35. Van den Hurk R, Dijkstra G, Hulshof SCJ, Vos PLAM. Micromorphology of antral follicles in cattle after prostaglandin-induced luteolysis, with particular reference to atypical granulosa cells. *Journal of Reproduction and Fertility* 1994; 100:137-142.
36. Voss AK, Fortune JE. Levels of messenger ribonucleic acid for cytochrome P450 17a-hydroxylase and P450 aromatase in preovulatory bovine follicles decrease after the luteinizing hormone surge. *Endocrinology* 1993; 132:2239-2245.
37. Webb R, Gosden RG, Telfer EE, Moor RM. Factors affecting folliculogenesis in ruminants. *Animal Science* 1999; 68:257-284.
38. Wolfsdorf KE, Diaz T, Schmitt EJP, Drost M, Thatcher WW. The dominant follicle exerts an interovarian inhibition of FSH-induced follicular development. *Theriogenology* 1997; 48:435-447.
39. Xu YP, Chedrese PJ, Thacker PA. Growth hormone as an amplifier of insulin-like growth factor-1 action: potentiated oestradiol accumulation. *Journal of Endocrinology* 1997; 152:201-209.
40. Xu ZZ, Garverick HA, Smith GW, Smith MF, Hamilton SA, Younquist RS. Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. *Biology of Reproduction*, abstract. 1995a; 53(4):951-957.
41. Xu ZZ, Garverick HA, Smith GW, Smith MF, Smith SA, Hamilton SA, Younquist RS. Expression of messenger ribonucleic acid encoding cytochrome P450 side-chain cleavage, cytochrome P450 15a-hydroxylase, and cytochrome P450 aromatase in bovine follicles during the first follicular wave. *Endocrinology* 1995b; 136(3):981-989.
42. Ying SY, Zhang Z, Furst B, Batres Y, Huang G, Li G. Activins and activin receptors in cell growth. *Proc. Society for Experimental Biology and Medicine* 1997; 214:114-122.