


Ondas foliculares no ovário humano

 <https://doi.org/10.56238/sevened2024.005-004>

Curry Queiroz Poletto

Dr., Universidade de Gurupi Unirg, Gurupi, Brasil;

Eduardo Camelo de Castro

Doutor; Federal University of Goiás, Goiânia, Brazil;

Gabriella Reis de Barros Ribeiro

Médica formada; Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia (GO) Brasil;

Thaiz Brandão Cosac

Médica graduada; Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia (GO) Brasil.

RESUMO

As ondas foliculares podem ser definidas como um crescimento sincronizado de um grupo de folículos antrais, entre os quais um ou mais folículos serão selecionados para posterior desenvolvimento e ovulação. Essas ondas ocorrem em intervalos regulares durante o ciclo menstrual. A sincronização do início da onda e da estimulação ovariana melhora os resultados do tratamento de FIV. As ondas foliculares são um fenômeno natural e se desenvolvem em associação com o aumento da concentração dos níveis de hormônio folículo estimulante. Estudos indicam que o evento de recrutamento folicular ocorre apenas uma vez durante o ciclo; no entanto, estudos recentes sugerem que o recrutamento pode ocorrer mais de uma vez durante o mesmo ciclo. Vários estudos têm demonstrado grupos de mulheres com duas ondas foliculares e outros com até três ondas durante o ciclo menstrual normal. Os folículos recrutados durante essas ondas têm o potencial de ovular na presença de um surto de hormônio luteinizante, proporcionando às mulheres, especialmente às que respondem mal, um tratamento mais eficiente e menos dispendioso. A maioria dos estudos concorda que não há apenas uma única onda de recrutamento folicular durante um ciclo menstrual e isso envolve a otimização do tratamento de pobres respondedores, expandindo a janela de ação para a recuperação de ovócitos e evitando tratamentos caros.

Palavras-chave: Folículo ovariano, Ovário, Ultrassonografia, Ondas foliculares, Dinâmica folicular.

1 INTRODUÇÃO

A reprodução é definida como um processo vital que permite aos organismos vivos produzirem descendentes, dando continuidade à espécie. Originalmente, a reprodução humana foi descrita por Hipócrates no século V a.C. como a união do sêmen com o sangue menstrual [1,2]. Somente em 1600, Graaf caracterizou o ovário como produtor de óvulos, não diferenciando o óvulo do folículo, e em 1827, Baer individualizou o folículo ovariano [2].

Após essas descobertas prévias, os primeiros estudos sobre a foliculogênese humana e sobre o ciclo menstrual foram realizados com base na avaliação histológica e/ou endocrinológica da função ovariana [3,4]. Entretanto, a função ovariana durante o ciclo menstrual, bem como o crescimento e atresia folicular, só puderam ser avaliados após o desenvolvimento da ultrassonografia (USG) transabdominal na década de 1970, melhorando drasticamente com o desenvolvimento da USG transvaginal (USG por TV) na década de 1980 [5,6].

A USG por TV permitiu a visualização dos folículos antrais, até aproximadamente 2 mm, e a avaliação de seu crescimento e dinâmica durante o ciclo menstrual. Assim, a utilização de exames endocrinológicos, histológicos e ultrassonográficos possibilitou elucidar o desenvolvimento do folículo antral, como a observação das ondas foliculares durante o ciclo menstrual. Essas conquistas forneceram a base para os tratamentos de reprodução assistida (RA) [7,8].

A eficácia do tratamento na RA é alcançada principalmente pela indução da ovulação, a fim de aumentar o número de ovócitos maduros [9]. Para tanto, o entendimento da dinâmica das ondas foliculares permite o recrutamento e a recuperação de ovócitos de boa qualidade, modelo conhecido como Teoria do Momento Propício. Portanto, resulta em melhores taxas de fertilização, desenvolvimento embrionário e gravidez [10].

1.1 DEFINIÇÃO DO ESTÁGIO: DESENVOLVIMENTO PRÉ-ANTRAL E INÍCIO DO FOLÍCULO ANTRAL

Estudos baseados em amostras de necropsia ou ooforectomia estimam que a foliculogênese humana desde a fase primordial até a fase pré-ovulatória dure cerca de 175 dias [11].

No quarto mês de vida fetal, inicia-se o desenvolvimento folicular [4]. No início, as células germinativas primordiais migram da endoderme para as gônadas, onde sofrem a primeira meiose e se tornam ovócitos primários. As células somáticas da gônada primitiva envolvem o oogônio, formando folículos ovarianos rudimentares (0,1 mm de diâmetro) [12]. A reserva folicular ovariana é formada pelos ovócitos na meiose I e influencia o potencial reprodutivo de cada mulher. Na 20ª semana de gestação, existem aproximadamente 7 milhões desses ovócitos e depois disso eles começam a diminuir continuamente em número ao longo da vida [4].



Os folículos pré-antrais (0,1–0,2 mm) desenvolvem-se independentemente da ação das gonadotrofinas e, quando atingem 0,2–0,4 mm, uma cavidade preenchida por líquido começa a se formar e então tornam-se responsivos às gonadotrofinas [12,13].

Ainda na infância, os folículos se desenvolvem até o início da fase antral; entretanto, devido à imaturidade do eixo hipotálamo-hipófise-ovário, eles param de evoluir [14,15]. A partir da puberdade, completa a maturidade do eixo hipotálamo-hipófise-ovário, os folículos antrais continuam a se desenvolver e atingem dois ou mais milímetros de diâmetro [16,17]. A visualização de folículos deste tamanho é atualmente possível através da moderna TV USG.

2 RECRUTAMENTO DE FOLÍCULOS ANTRAIS

Os folículos antrais ou de Graafian são formados pelo desenvolvimento de: uma membrana basal entre as células granulares e as camadas da teca e o cumulus oophorus onde o ovócito está localizado. O folículo de Graaf deixa de ser dependente do hormônio folículo estimulante (FSH) e passa a responder ao hormônio luteinizante (LH), característica necessária para poder ovular.

Durante todo o ciclo menstrual, observa-se a presença de folículos antrais de 2 a 5 mm de diâmetro [18]. Três teorias foram desenvolvidas para explicar o recrutamento folicular durante o ciclo menstrual, defendendo desde o desenvolvimento contínuo até o cíclico.

2.1 RECRUTAMENTO CONTÍNUO

2.1.1 Teoria 1

Estudos histológicos em animais concluíram que o crescimento precoce dos folículos antrais ocorre continuamente durante todo o período do ciclo. Posteriormente, essa teoria evoluiu para explicar o ciclo menstrual humano [19]. Esta teoria propõe que os folículos antrais, menores ou iguais a 4–6 mm, são recrutados continuamente, independentemente das gonadotrofinas, em todas as fases da vida reprodutiva. Além disso, postula que os folículos ovulatórios sejam escolhidos aleatoriamente, uma vez que se encontram no estágio ótimo de maturidade, podendo responder a níveis aumentados de FSH e, posteriormente, LH [20].

2.2 RECRUTAMENTO CÍCLICO

O aparecimento de uma "onda folicular" em intervalos regulares durante o ciclo menstrual já foi previamente descrito [3,18,20,21]. No entanto, há resultados conflitantes na literatura quanto ao número desses recrutamentos.

2.2.1 Teoria 2 – recrutamento folicular único:

Postula o recrutamento único durante o ciclo menstrual de folículos de 2 a 5 mm de tamanho após a regressão do corpo lúteo (LC), com diminuição dos níveis de estradiol e inibina e aumento transitório de FSH na fase lútea tardia ou folicular precoce, conhecida como fase privilegiada [21]. Tem sido postulado que cada folículo tem um limiar de FSH abaixo do qual não ocorre recrutamento [22].

Os folículos recrutados contêm baixa concentração de estradiol e alta concentração de andrógenos [21]. A inibina B produzida pelas células da granulosa inibe a secreção de FSH na fase folicular [23]. A inibina A, entretanto, é baixa na fase folicular e atinge níveis máximos na fase lútea, sugerindo que a CL é uma fonte de inibina A, que é produzida para suprimir o FSH e prevenir o desenvolvimento folicular [21].

O hormônio anti-Mülleriano (AMH) é produzido pelas células da granulosa dos folículos primário, secundário, pré-antral e antral inicial (≤ 4 mm). Inibe o crescimento folicular, diminuindo a sensibilidade ao FSH. No entanto, a ação da AMH não é totalmente compreendida [24]

2.2.2 Teoria 3 – ondas foliculares:

O crescimento de um grupo de folículos antrais em intervalos regulares durante o ciclo menstrual é definido como onda folicular. Os folículos em cada onda são de diâmetros semelhantes, mas não idênticos [18]. Duas ondas foram detectadas: a primeira na fase folicular e a segunda na fase lútea. Entretanto, os folículos lúteos apresentaram menos células da granulosa e menores níveis de estradiol em relação aos da fase folicular [3,20]. Além disso, aquelas mulheres com ciclos regulares de 30-35 dias apresentaram duas ondas foliculares em contraste com uma única onda folicular em mulheres com ciclos de 26-30 dias [18].

Nas mulheres com duas ondas foliculares, uma onda anovulatória apareceu no momento da ovulação (fase lútea precoce) seguida pela onda de ovulação que se desenvolveu na fase folicular precoce. Em mulheres com três ondas, uma onda anovulatória surgiu no momento da ovulação e uma segunda onda anovulatória surgiu durante o período médio e tardio da fase lútea. A terceira onda, ovulatória, surgiu no início da fase folicular média [18].

Uma elevação do FSH precede o recrutamento de cada onda folicular [18]. A inibina B produzida pelas células da granulosa dos folículos recrutados inibe a secreção de FSH [23]. No entanto, a ação precisa da inibina A, inibina B e AMH sobre o aparecimento de múltiplas ondas foliculares em mulheres não é clara [18].

Na prática clínica, tanto a recuperação oocitária quanto o sucesso da maturação *in vitro* são observados com estimulação ovariana durante a fase lútea, sendo considerado um procedimento de preservação urgente da fertilidade. Caso contrário, com o uso da USG, considera-se o dia do



surgimento da onda folicular quando o maior folículo a ser recrutado entre o pool de folículos atinge um diâmetro de 4–6 mm [25]. A estimulação da ovulação durante a fase lútea seguida da estimulação da fase folicular também tem sido defendida para reduzir o tempo até a gravidez de pacientes com respostas pobres.

3 SELEÇÃO DE FOLÍCULOS

Durante o recrutamento dos folículos, apenas um folículo chamado "dominante" é selecionado para crescimento e ovulação subsequentes, enquanto os outros folículos sofrem atresia. Esse processo é chamado de "seleção folicular" e geralmente ocorre na fase folicular precoce a média [3,8,11,18,23].

Quando o folículo dominante atinge um diâmetro de 10 mm, entre os dias 6–9 da fase folicular, suprime o crescimento dos outros folículos da mesma onda folicular e também suprime o aparecimento de uma nova onda folicular inibindo a secreção de FSH [8,18,26,27]. Durante o curso da seleção folicular observa-se uma variação de concentração e o papel de alguns hormônios, tais como:

3.1 HORMÔNIO FOLÍCULO-ESTIMULANTE (FSH)

Um pico de concentração de FSH ocorre para o recrutamento folicular inicial e, posteriormente, ocorre uma diminuição da concentração pós-surto, sendo necessário para a seleção do folículo dominante [18,23,27–29]. A duração do pico de FSH acima de um limiar crítico determina o número de folículos dominantes selecionados da coorte recrutada para crescimento preferencial, um conceito conhecido como limiar de FSH/janela/portão [30–33]. Em contraste, se os níveis de FSH permanecerem acima do limiar por uma curta duração, há um desenvolvimento de um único folículo dominante. No entanto, se a duração do pico de FSH persistir, múltiplos folículos dominantes são recrutados ao mesmo tempo, fato observado durante a terapia de estimulação ovariana [31].

Em relação às diferenças entre o folículo dominante e os demais folículos, postulava-se que o dominante contém mais células da granulosa e receptores de FSH, o que aumenta a sensibilidade ao FSH, mesmo em baixas concentrações. Portanto, com a diminuição dos níveis de FSH, o folículo dominante continua a se desenvolver enquanto os subordinados não são capazes de evoluir e sofrem degeneração por atresia. Dessa forma, os folículos menores recrutados são os que sofrem atresia primeiro [18, 22, 23, 34–36].

3.2 ESTRADIOL

Do quinto ao oitavo dia do ciclo menstrual, a atividade da aromatase inicia-se nas células da granulosa de folículos maiores que 6–8 mm e a dominante produz níveis mais elevados de estradiol [37–40]. Assim, o fluido dentro do folículo dominante contém mais estrogênio do que andrógeno, enquanto o fluido dentro dos folículos subordinados contém mais andrógeno [14, 41–43].



O LH atua nas células da teca, estimulando a produção de andrógenos que funcionam como substrato para a produção de estradiol na granulosa [33,44,45]. O estradiol, por sua vez, promove feedback negativo sobre a secreção de FSH, contribuindo para sua diminuição dos níveis durante o crescimento folicular [46]. Após a secreção do estradiol, os receptores de LH são expressos na granulosa do folículo dominante, o que o torna menos dependente da atividade do FSH e mais responsivo ao LH durante o processo de seleção [34,47,48].

3.3 FATOR TRANSFORMADOR DE CRESCIMENTO-BETA (TGF-B)

A interação entre as células do ovócito e do cumulus regula tanto a foliculogênese quanto a oogênese [49]. A família TGF- β inclui inibina, activina, follistim, TGF- β e AMH, entre outros. Essas moléculas apresentam funções parácrinas ou autócrinas que visam regular o desenvolvimento folicular e a maturação oocitária.

Todos os folículos recrutados produzem inibina B que atua diminuindo os níveis de FSH antes do processo de seleção [30, 46, 50]. A activina é produzida pela granulosa e seu papel na seleção dos folículos não está bem elucidado; no entanto, tem sido proposto que uma transição coordenada dentro do fluido folicular de inibina B para inibina A e de activina para follistatina é crítica para o desenvolvimento do folículo dominante [35,36].

O conteúdo folicular do AMH diminui gradualmente durante o crescimento do folículo antral até 8–10 mm, quando está próximo da seleção, e permanece baixo. Enquanto o nível de AMH diminui, há um aumento na atividade da aromatase [51]. Finalmente, propõe-se que a exposição diferencial a essas moléculas sinalizadoras é uma das maneiras pelas quais o folículo dominante aumenta a sensibilidade ao FSH.

3.4 FATOR DE CRESCIMENTO SEMELHANTE À INSULINA (IGF)

A concentração de IGF aumenta no folículo dominante no momento da seleção e também estimula a ação da aromatase, estradiol, estrógeno e produção de andrógenos [52,53]. Entre os folículos subordinados, não há resposta ao IGF. Portanto, a esteroidogênese da teca e granulosa é inibida e ocorre atresia [52,54].

3.5 INFLUÊNCIAS LÚTEAS NA SELEÇÃO DE FOLÍCULOS

Foi relatado anteriormente que os folículos dominantes são recrutados contralaterais à LC da ovulação prévia e que esses folículos contêm maior quantidade de estradiol em relação aos folículos que se desenvolveram ipsilateral à LC [40]. Entretanto, postula-se que a seleção e a ovulação dos folículos ocorram aleatoriamente entre os ovários direito e esquerdo [18,55].

A seleção dos folículos ocorre na fase folicular inicial ou média; Entretanto, estudos prévios demonstraram que a seleção ocorre mais de uma vez no ciclo menstrual, reforçando a teoria das ondas foliculares [18,21].

O papel da LC na regulação da dinâmica das ondas foliculares tem sido estudado e não foram observadas diferenças significativas no tamanho da LC, tempo de vida, secreção de progesterona ou secreção de estradiol entre mulheres com duas versus três ondas foliculares [56].

4 DESENVOLVIMENTO DE FOLÍCULOS PRÉ-OVULATÓRIOS

Após a fase folicular tardia, o folículo dominante continua seu processo de desenvolvimento, atingindo o estado pré-ovulatório entre 16 e 29 mm [8,11,18,57]. O folículo ovulatório cresce cerca de 1 a 4 mm por dia, podendo sofrer variação nos dias que antecedem a ovulação [8, 21, 57, 59]. O crescimento preferencial do folículo dominante nessa fase está relacionado ao aumento da atividade da aromatase e ao rápido aumento dos níveis de estradiol-17 β na circulação e no líquido folicular [18,20,40,43,58–60].

A melhor resposta do folículo dominante às gonadotrofinas é mediada pela produção de estradiol em sua camada granulosa, expressão do receptor de LH e crescimento pré-ovulatório contínuo [20, 23, 34, 43, 46–48].

O folículo dominante é responsável por mais de 90% da produção de estrogênio no período pré-ovulatório [60]. O crescimento dos folículos pré-ovulatórios está relacionado tanto a fatores intra-ovarianos quanto endócrinos, e o aumento dos níveis de aromatase é inversamente proporcional ao do AMH no fluido folicular [51].

As células da teca produzem mais andrógenos influenciados por altos níveis de inibina A, aumentando a quantidade de substrato para a secreção de estradiol [36]. Em contraste, as células da granulosa expressam em abundância o RNAm do IGF-II, estimulando a atividade da aromatase [61]. O pico do estradiol tem ação de feedback positivo no hipotálamo estimulando a liberação de LH. O surto de LH é, portanto, necessário para induzir a ovulação. A partir desse estágio, o folículo dominante que apresenta alta expressão de receptores de LH está preparado para responder à secreção de LH. Então, a ovulação ocorre cerca de 24 horas após o surto de LH [62].

A interação entre LH e EGF na granulosa estimula a expressão das proteínas quinases 1 e 2, levando à redução da proliferação da camada granulosa e da síntese estrogênica. Além disso, a expansão do cumulus e a secreção de progesterona ocorrem como consequência da ovulação [63]. Isso é particularmente importante para reduzir o tempo de gravidez de respondedores pobres e para pacientes oncológicos que precisam iniciar o tratamento imediatamente



REFERÊNCIAS

Short R. The discovery of the ovaries. In: Zuckerman S, Weir B, editors. *The Ovary*. 2nd ed. New York: Academic Press; 1977

Cobb M. *Generation: The Seventeenth Century Scientists who Unraveled the Secrets of Sex, Life and Growth*. New York: Bloomsbury Publishing; 2006

Block E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women: Variations in the different phases of the sexual cycle. *Acta Endocrinologica*. 1951; 8:33-54.

Baker T. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. *Proceedings of the Royal Society of London [Biological Sciences]*. 1963; 158:417-33.

Hackeloer B, Robinson H. *Ultraschalldarstellung des wachsenden follikels und corpus luteum im normalen physiologischen zyklus* [Author's translation: *Ultrasound examination of the growing ovarian follicle and of the corpus luteum during the normal physiologic menstrual cycle*]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 1978; 38:163-168.

Hall DA, Hann LE, Ferrucci JT Jr, Black EB, Braitman BS, Crowley WF, et al. *Sonographic morphology of the normal menstrual cycle*. *Radiology*. 1979; 133: 185–188

Andreotti RF, Thompson GH, Janowitz W, Shapiro AG, Zusmer NR. *Endovaginal and transabdominal sonography of ovarian follicles*. *Journal of Ultrasound in Medicine*. 1989; 8:555-60

Pache T, Wladimiroff J, Dejong F, Hop W, Fauser B. *Growth patterns of nondominant ovarian follicles during the normal menstrual cycle*. *Fertility and Sterility*. 1990; 54:638-42

Center for Disease Control. *Assisted Reproductive Technology (ART) Report*. Centers for Disease Control and Prevention, Coordinating Center for Health Promotion, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Division of Reproductive Health. Atlanta. 2005. 98 pages.

Adams GP, Jaiswal R. *Follicular dynamics in cattle: Historical overview and research update*. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2008; 36: S377-S396.

Gougeon A. *Dynamics of follicular growth in the human: A model from preliminary results*. *Human Reproduction*. 1986; 1:81-7.

Gougeon A. *Qualitative changes in medium and large antral follicles in the human ovary during the menstrual cycle*. 1979; 19: 1461-1468.

Craig J, Orisaka M, Wang H, Orisaka S, Thompson W, Zhu C, et al. *Gonadotropin and intra-ovarian signals regulating follicle development and atresia: The delicate balance between life and death*. *Frontiers in Bioscience*. 2007; 12:3628-39.

Gougeon A. *Regulation of ovarian follicular development in primates: Facts and hypotheses*. *Endocrine Reviews*. 1996; 17:121-55.

Peters H. *The human ovary in childhood and early maturity*. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*. 1979; 9: 137–144.

Gougeon A. *Dynamics of human follicular growth: Morphologic, dynamic, and functional aspects*. In: Leung P, Adashi E, editors. *The Ovary*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier Academic Press; 2004



Messinis IE. From menarche to regular menstruation: Endocrinological background. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006; 1092:49-56.

Baerwald A, Adams G, Pierson R. Characteristics of ovarian follicular wave dynamics in women. *Biology of Reproduction*. 2003; 69:1023-31.

Mandle A, Zuckerman S. Numbers of normal and atretic oocytes in unilaterally spayed rats. *The Journal of Endocrinology*. 1950; 6:426-35.

McNatty KP. Hormonal correlates of follicular development in the human ovary. *Australian Journal of Biological Sciences Society*. 1981; 49:687-699.

Gougeon A, Lefevre B. Evolution of the diameters of the largest healthy and atretic follicles during the human menstrual cycle. *Journal of Reproduction and Fertility*. 1983; 69:497-502.

Fauser B, Van Heusden A. Manipulation of human ovarian function: Physiological concepts and clinical consequences. *Endocrine Reviews*. 1997; 18:71-106.

Van Santbrink E, Hop W, Dessel TV, Jong FD, Fauser B. Decremental follicle-stimulating hormone and dominant follicle development during the normal menstrual cycle. *Fertility and Sterility*. 1995; 64:37-43.

Baerwald AR, Adams GP, RA P. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: A review. *Human Reproduction Update*. 2012; 18:73-91.

Demirtas E, Elizur SE, Holzer H, Gidoni Y, Son WY, Chian RC, et al. Immature oocyte retrieval in the luteal phase to preserve fertility in cancer patients. *Reproductive Biomedicine Online*. 2008; 17:520-3.

Ginther OJ, Bergfelt DR, Beg MA, Kot K. Follicle selection in cattle: Role of luteinizing hormone. *Biology of Reproduction*. 2001; 64:197-205.

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 of Reproduction and Fertility*. 1992; 94:177-88.

Roseff SJ, Bangah ML, Kettel LM, Vale W, Rivier J, Burger HG, et al. Dynamic changes in circulating inhibin levels during the luteal-follicular transition of the human menstrual cycle. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1989; 69:1033-9.

Le Nestour E, Marraoui J, Lahlou N, Roger M, De Ziegler D, Bouchard P. Role of estradiol in the rise in follicle-stimulating hormone levels during the luteal-follicular transition. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1993; 77: 439-442.

Gibbons JR, Wiltbank MC, Ginther OJ. Functional interrelationships between follicles greater than 4 mm and the follicle-stimulating hormone surge in heifers. *Biology of Reproduction*. 1997; 57:1066-1073.

Schipper I, Hop S, Fauser B. The follicle-stimulating hormone (FSH) threshold/ window concept examined by different interventions with exogenous FSH during the follicular phase of the normal menstrual cycle: Duration, rather than magnitude, of FSH increase affects follicle development. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1998; 83:1292-8.



Brown JB. Pituitary control of ovarian function: Concepts derived from gonadotrophin therapy. *The Australian & New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 1978; 18: 47-54.

Baird D. A model for follicular selection and ovulation: Lessons from superovulation. *Journal of Steroid Biochemistry*. 1987; 27: 15-23.

Yamoto M, Minami S, Nakano R, Kobayashi M. Immunohistochemical localization of inhibin/activin subunits in human ovarian follicles during the menstrual cycle. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1992; 74:989-93.

Roberts VJ, Barth S, El-Roeiy A, Yen SS. Expression of inhibin/activin subunits and follistatin messenger ribonucleic acids and proteins in ovarian follicles and the corpus luteum during the human menstrual cycle. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1993; 77:1402-10.

Schneyer AL, Fujiwara T, Fox J, Welt CK, Adams J, Messerlian GM, et al. Dynamic changes in the intrafollicular inhibin/activin/follistatin axis during human follicular development: Relationship to circulating hormone concentrations. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2000; 85:3319-30.

Mikhail G. Sex steroids in blood. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 1967; 10: 29-39.

Baird D, Fraser IS. Concentration of oestrone and oestradiol in follicular fluid and ovarian venous blood of women. *Clinical Endocrinology*. 1975; 4: 259-266.

McNatty KP, Baird DT, Bolton A, Chambers P, Corker CS, Mclean H. Concentration of oestrogens and androgens in human ovarian venous plasma and follicular fluid throughout the menstrual cycle. *The Journal of Endocrinology*. 1976; 71:77-85

Chikazawa K, Araki S, Tamada T. Morphological and endocrinological studies on follicular development during the human menstrual cycle. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1986; 62: 305–313.

Westergaard L, Christensen IJ, McNatty KP. Steroid levels in ovarian follicular fluid related to follicle size and health status during the normal menstrual cycle in women. *Human Reproduction*. 1986; 1: 227–232.

Mango D, Scirpa P, Spina MA, Battaglia F, Tartaglia E, Manna P, et al. Ultrasonic and endocrinologic relationships in spontaneous and induced follicular phase. *Journal of Endocrinological Investigation*. 1988; 11:7-13.

Van Dessel HJHMT, Schipper I, Pache TD, Geldorp HV, Jong FHD, Fauser BCJM. Normal human follicle development: An evaluation of correlations with oestradiol, androstendione and progesterone levels in individual follicles. *Clinical Endocrinology*. 1996; 44: 191-198.

Ryan KJ. Granulosa-thecal cell interaction in ovarian steroidogenesis. *Journal of Steroid Biochemistry*. 1979; 11: 799-800.

Adashi EY. Endocrinology of the ovary. *Human Reproduction*. 1994; 9: 815–827.

Ginther OJ, Bergfelt DR, Kulick LJ, Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle: Role of estradiol. *Biology of Reproduction*. 2000; 63:383-9.



Sullivan MW, Stewart-Akers A, Krasnow JS, Berga SL, Zeleznik AJ. Ovarian responses in women to recombinant follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone (LH): A role for LH in the final stages of follicular maturation. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1999; 84:228-232.

Filicori M. The potential value of mid-follicular phase LH. *Human Reproduction*. 2002; 17: 517–523.

Senbon S, Hirao Y, Miyano T. Interactions between the oocyte and surrounding somatic cells in follicular development: Lessons from in vitro culture. *The Journal of Reproduction and Development*. 2003; 49: 259-269.

Fraser HM, Groome NP, Mcneilly AS. Follicle-stimulating hormone-inhibin B interactions during the follicular phase of the primate menstrual cycle revealed by gonadotropin-releasing hormone antagonist and antiestrogen treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1999; 84 1365–1369.

Nielsen E, Rasmussen I, Fukuda M, Westergaard L, Andersen C. Concentrations of anti-Müllerian hormone in fluid from small human antral follicles show a negative correlation with CYP19 mRNA expression in the corresponding granulosa cells. *Molecular Human Reproduction*. 2010; 16:637-643.

Poretsky L, Cataldo NA, Rosenwaks Z, Giudice LC. The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocrine Reviews*. 1999; 20:535-582.

Giudice LC. Insulin-like growth factor family in Graafian follicle development and function. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*. 2001; 8:S26-29.

Hourvitz A, Widger AE, Filho FL, Chang RJ, Adashi EY, Erickson GF. Pregnancy associated plasma protein-A gene expression in human ovaries is restricted to healthy follicles and corpora lutea. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2000; 85: 4916–4920.

Ojha K, Nargund G, Sladkevicius P, Scaramuzzi RJ. Pulsed Doppler ultrasonography to assess follicular growth and the pattern of emergence of the dominant follicle and to determine ovarian follicular and stromal blood flow parameters in relation to follicular size. *Journal of Reproduction and Fertility*. 2000; 45: (Abstract Series) 25.

Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. Form and function of the corpus luteum during the human menstrual cycle. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2005; 25:498-507.

Renaud RL, Macler J, Dervain I, Ehret MC, Aron C, Plas-Roser S, et al. Echographic study of follicular maturation and ovulation during the normal menstrual cycle. *Fertility and Sterility*. 1980; 33:272-276.

Bakos O, Lundkvist O, Wide L, Bergh T. Ultrasonographical and hormonal description of the normal ovulatory menstrual cycle. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 1994; 73: 790-796.

Hackeloer BJ, Fleming R, Robinson HP, Adam AH, Coutts JRT. Correlation of ultrasonic and endocrinologic assessment of human follicular development. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1979; 135:122-128.

Baird D, Fraser I. Blood production and ovarian secretion rates of estradiol and estrone in women throughout the menstrual cycle. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1974; 38:1009-17.



Hernandez ER, Hurwitz A, Vera A, Pellicer A, Adashi EY, Leroith D, et al. Expression of the genes encoding the insulin-like growth factors and their receptors in the human ovary. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1992; 74: 419-425.

Tsang BK, Moon YS, Simpson CW, Armstrong DT. Androgen biosynthesis in human ovarian follicles: Cellular source, gonadotropic control, and adenosine 3',5'-monophosphate mediation. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1979; 48:153-158.

Duggavathi R, Murphy BD. Development. Ovulation signals. *Science*. 2009; 324:890-891.