

Folikulogenesis

Oleh:
Dr. Wiryawan Permadi, dr., Sp.OG(K)



**BAGIAN OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS PADJADJARAN/
RUMAH SAKIT HASAN SADIKIN
BANDUNG
2012**

*Disampaikan pada IVF Nurse Training Workshop 1st Congress Indonesian Association for in Vitro Fertilization
(IA-IVF),
Jakarta, 13-15 Februari 2012*

FOLIKULOGENESIS

Wiryawan Permadi

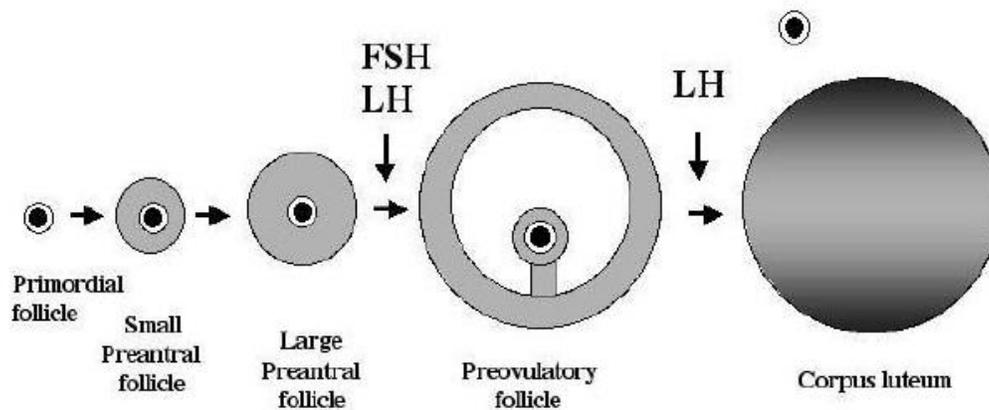
Bagian Obstetri dan Ginekologi FK Unpad/RSUP Dr Hasan Sadikin Bandung

Folikulogenesis atau dapat diterjemahkan sebagai proses pematangan folikel adalah proses tumbuh dan diferensiasi folikel yang dimulai dari kehidupan primordial sel germinalis menjadi sel telur primer dengan struktur yang melapisinya yang disebut folikel primordial. Dalam perjalanannya, sel germinalis primordial berasal dari lapisan endodermal dorsalis dari yolk sac (kantung yolk).

Pada minggu ke 4 hingga ke 5 kehamilan, sel-sel ini bermigrasi dengan melewati usus primitif belakang (hindgut) ke dalam jaringan celah urogenitalis (urogenital ridge). Pada minggu ke 20-25 kehamilan, sejumlah kurang lebih 7 juta buah oogonia telah terbentuk melalui proses mitosis dan berkembang menjadi sel telur primer (primary oocytes), 99 % dari total jumlah ini, dalam perjalanannya akan mengalami proses degenerasi, apoptosis (kematian sel) dan mengalami atresia dengan kecepatan atresia maksimal sekitar 1000 folikel per bulan hingga usia 35 tahun. Sehingga rata-rata hanya 400 buah folikel yang akan berovulasi pada seorang wanita dalam masa reproduksi. Sekitar 2 juta sel telur ditemukan pada saat seorang bayi wanita dilahirkan. Pada usia pubertas, seorang wanita sehat akan memiliki sekitar 400.000 buah sel telur yang mana setiap siklus menstruasi akan direkrut beberapa sel telur dan umumnya hanya satu folikel pre-ovulasi yang akan berkembang hingga titik ovulasi / pengeluaran telur.

Pada proses folikulogenesis, folikel dari berbagai tahap perkembangan dapat dijumpai tersebar dalam stroma kedua indung telur hingga masa menopause. Sel-sel folikel yang tumbuh ini menyebabkan perubahan pada sel-sel di sekelilingnya yang mana akan berdiferensiasi menjadi sel-sel granulosa dan sel-sel theca. Berangkat dari folikel primordial, dengan bermultiplikasinya sel-sel kuboid lapisan granulosa hingga menjadi berjumlah sekitar 15 buah sel, maka folikel primer akan terbentuk dan berlanjut dengan lapisan sel granulosa yang berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi lapisan konsentris yang disebut lapisan theca interna yang paling dekat ke lamina basalis dan lapisan theca

externa di sebelah luarnya. Pembentukan folikel pre-antral / folikel sekunder, selanjutnya akan terbentuk dan ketika lapisan folikel pre-antral berkembang menjadi 6-7 lapis maka tahap folikel antral / folikel tersier dimulai, bila dalam hal ini tidak ada stimulasi hormon gonadotropik yang cukup maka folikel akan berhenti berkembang dan berakhir sebagai folikel atretik , sebaliknya bila stimulasi hormone gonadotropiknya cukup maka akan berdiferensiasi menjadi folikel pre-ovulatory / Folikel Graafian.



Gambar 1.

Kebutuhan hormon gonadotropik pada perkembangan folikel. Pada perkembangan awal, tidak terlihat perlunya fluktuasi siklik sekresi FSH dan LH. Peran FSH dimulai dengan merangsang pembentukan folikel pre-ovulasi yang kemudian akan ber-ovulasi dan membentuk korpus luteum yang memiliki respon terhadap LH.

Dengan adanya sekresi hormon luteinizing (LH) yang mendadak (LH surge), folikel Graafian akan pecah dan sel telur akan dikeluarkan, meninggalkan sel folikel untuk menjadi korpus luteum. Pada sebagian besar mamalia, proses ini terjadi pada masa kehamilan. Setelah menarche, diperkirakan bahwa waktu yang diperlukan oleh sebuah folikel primordial untuk menjadi folikel pre-antral besar membutuhkan waktu sekitar 85-150 hari, sehingga setiap folikel yang berujung dengan proses ovulasi sebenarnya telah tumbuh sejak paling tidak 3-5 siklus menstruasi sebelumnya.

Folikulogenesis dapat dibedakan menjadi tahapan berikut:

Proses perekrutan

Folikel indung telur yang didestinasikan untuk ber-ovulasi direkrut dari kumpulan folikel-folikel primordial yang belum tumbuh, masing-masing folikel terdiri dari sebuah sel telur dengan lapisan membrane basalis dan selapis sel granulosa yang menutupinya. Jumlah folikel yang direkrut akan tergantung pada ukuran fungsi total proses perekrutan yang ada dan berkurang dengan bertambahnya usia.

Belum ada mekanisme yang jelas akan kriteria folikel yang direkrut, tetapi hal ini diduga dipengaruhi oleh faktor-faktor pertumbuhan local (local growth factor) yang bersifat parakrin. Indung telur menghasilkan faktor pertumbuhan lokal seperti faktor diferensiasi pertumbuhan “Transforming Growth Factor” 9 dan 10 yang berfungsi mengatur proliferasi dan diferensiasi sel-sel granulosa dalam pertumbuhan folikel primer dan secara penelitian in vitro, activin terlihat dapat merangsang proses pembelahan sel-sel granulosa pada tahap folikel pre-antral.

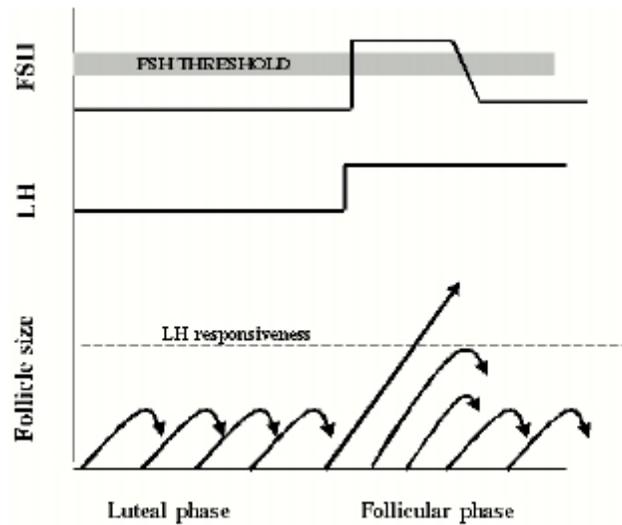
Komunikasi antara sel-sel granulosa dan sel telur tergantung pada pertukaran molekul melalui gap junctions yang dibangun dari saluran-saluran yang dibentuk oleh protein connexin. Protein connexin gap junction ini diperlukan untuk pertumbuhan dan multiplikasi sel-sel granulosa, dan untuk jalur nutrisi dan regulasi pertumbuhan sel telur. Konsentrasi protein connexin ini ditambah (up-regulated) oleh hormone FSH dan dikurangi (down regulated) oleh hormone LH. Hormon FSH juga menyebabkan terbukanya saluran dalam gap junction, sedangkan hormone LH menutupnya. Setelah ovulasi, gap junction juga memegang peranan penting pada korpus luteum.

Meski disebutkan bahwa pada penelitian spesies primata, sampai dengan tahap folikel antral awal, perkembangannya secara relatif tidak tergantung pada hormon gonadotropin yang dihasilkan kelenjar pituitari. Penelitian secara auto-radiografi pada spesies primata juga memperlihatkan folikel pre-antral memiliki reseptor terhadap FSH (folicle

stimulating hormone) tetapi tidak memiliki reseptor LH (Lutenizing Hormone), hal ini diduga untuk mempersiapkan folikel-folikel tahap awal tersebut untuk pematangan akhir tahap folikel antral besar hingga tahap folikel pre-ovulatori / folikel graafian yang dimulai pada saat pubertas.

Pada beberapa penelitian terhadap manusia, inaktivasi reseptor FSH membuktikan pertumbuhan folikel pre-antral tetap berlangsung. Dengan demikian pertumbuhan folikel pre-antral nampaknya tidak membutuhkan stimulasi / rangsangan FSH dan LH (hormon gonadotropin). Pada setiap siklus perkembangan sel telur setiap bulannya, sekelompok folikel antral, yang biasa disebut “kohort” memulai fase pertumbuhan yang berkesinambungan sebagai hasil proses pematangan yang kurang lebih sejalan dengan meningkatnya kadar FSH menjelang fase akhir luteal dari siklus sebelumnya.

Meningkatnya kadar FSH yang mendahului perkembangan folikel ini disebut jendela seleksi (selection window) dan hanya folikel yang mampu mencapai tahap inilah yang akan berkembang dan memproduksi estrogen. Peningkatan konsentrasi FSH sebesar 30 % - 50 % pada fase folikular awal mengakibatkan perkembangan folikular, sedangkan ambang konsentrasi FSH yang diperlukan untuk memulai pertumbuhan folikel adalah peningkatan sebesar 10 % - 30 %. Berdasarkan temuan ini maka dikenal konsep Ambang FSH (FSH Threshold) untuk menetapkan konsentrasi minimum dari konsentrasi FSH yang harus dicapai sebelum proses perkembangan folikel dapat dimulai.



Gambar 2.

Diagram skematik dari Ambang FSH (FSH Threshold)

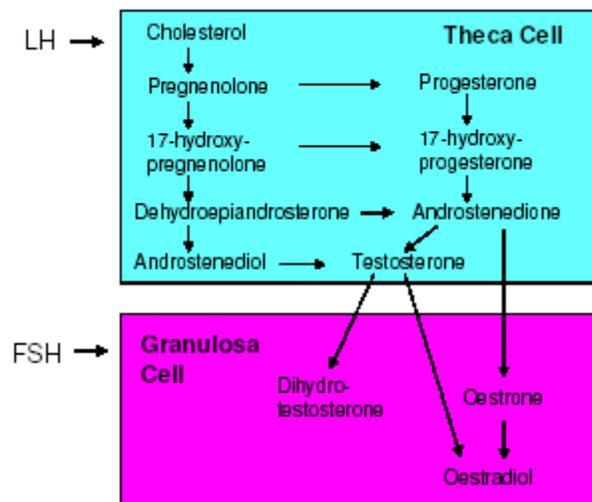
Dalam fase luteal, kadar FSH di bawah ambang, akibatnya folikel tidak berkembang lebih dari folikel pre-antral dan atresia. Pada akhir fase luteal dimana masa aktif korpus luteum berakhir, FSH meningkat sehingga terdapat satu folikel pre-antral yang berkembang. Seiring dengan proses aromatisasi androgen menjadi estrogen, terjadi peningkatan estrogen yang mensupresi FSH kembali sehingga folikel-folikel yang kurang matang akan mengalami proses atresia. Dengan rangsangan FSH terhadap pembentukan reseptor LH menjadikan folikel dominan mampu tumbuh meskipun konsentrasi FSH yang di bawah ambang.

Proses Seleksi, Pematangan dan Diferensiasi

Setelah melalui proses perekrutan, folikel-folikel tersebut akan mengalami proses seleksi, perkembangan dan diferensiasi, dimana jumlah sel-sel granulosa akan bertambah dan sel telur akan bertambah besar. Zona pellucida akan terbentuk dan sel-sel theca akan terbentuk mengelilingi folikel di bagian luar dan memiliki pembuluh darah yang mandiri.

Dalam perkembangan selanjutnya, sel-sel granulosa akan memiliki reseptor FSH dan sel-sel theca akan memiliki reseptor LH. Pengikatan yang terjadi antara hormon LH dan reseptornya akan merangsang pembentukan androgen dengan mengaktifkan adenyl

cyclase dan cAMP dengan produksi utamanya androstenedione dan testosterone. Pada tahap awal dari folikulogenesis, androgen ikut mempromosikan pertumbuhan folikel; sedangkan pengikatan yang terjadi antara FSH dan reseptornya pada sel-sel granulosa akan merangsang system enzim aromatase, yang mampu mengkonversikan androgen menjadi hormone estrogen, sehingga menjadikan lingkungan intra folikel kaya akan konsentrasi hormone estrogen. Ini disebut “two cell, two gonadotrophins theory”.



Skema 1.

Bagan skematis dari “Two Cell Two Gonadotrophin Principle”

Pada folikel preantral dan folikel antral manusia, reseptor LH hanya terdapat pada sel-sel theca dan reseptor FSH hanya ada pada sel-sel granulosa. Sel-sel interstitial theca yang terletak di dalam lapisan theca interna memiliki sekitar 20.000 buah reseptor LH pada permukaan sel membran yang akan memproduksi androgen yang akan dikonversi melalui proses aromatisasi yang dirangsang oleh FSH menjadi estrogen dalam sel-sel granulosa. Interaksi antara lapisan granulosa dan theca, menghasilkan percepatan produksi estrogen. Sel-sel granulosa yang diisolasi dari folikel antra besar dapat merubah androgen menjadi estrogen dimana perubahan ini tergantung dari sensitifitas terhadap FSH. Dengan berkembangnya folikel, lapisan sel theca mulai terekspresi oleh pengaruh genetik untuk terbentuknya reseptor LH, P450_{scc}, dan 3β-hydroxsteroid dehydrogenase. Kolesterol merupakan bahan untuk proses pembuatan steroid yang utama, pengaturannya diatur oleh

LH, dan prosesnya terjadi dalam mitochondria. Sel-sel theca dipengaruhi oleh enzim P450c17 yang mengatur perubahan 21-senyawa karbon menjadi androgen. Sel-sel granulosa tidaklah mampu mengekspresikan enzim tersebut sehingga kebutuhan akan androgen bergantung pada lapisan sel-sel theca dalam pembuatan estrogen. Meningkatnya ekspresi terhadap sistem aromatisasi ini (P450arom) adalah pertanda bertambahnya kematangan sel-sel granulosa. Dengan kehadiran enzim P450c-17 hanya di sel-sel theca dan enzim P450arom hanya di sel-sel granulosa adalah bukti teori dua sel – dua gonadotropin dalam produksi estrogen.

Folikel yang paling cepat memiliki kemampuan aktifitas enzim aromatase dan reseptor LH diduga yang paling memiliki potensi menjadi folikel dominan.

Meningkatnya kadar sekresi FSH pada masa peri menstruasi terjadi seiring mengikuti regresi korpus luteum, selanjutnya terjadi hubungan yang timbal balik antara konsentrasi plasma FSH dan estradiol. Pada fase folikel awal, kadar serum FSH meningkat dimana kadar estradiol tetap rendah. Kurang lebih 5 hari sebelum kadar puncak hormon gonadotropin mid-cycle tercapai, Sementara folikel dominant ini terus berkembang, konsentrasi serum estrogen mulai meningkat. Sehubungan dengan penambahan kadar Estradiol yang bertahap ini, terjadi penurunan progresif dari kadar konsentrasi FSH akibat mekanisme “negative feedback” dari Estrogen dan juga mungkin inhibin terhadap sekresi gonadotropin. Mekanisme “negative feedback” antara estradiol dan FSH inilah yang merupakan komponen utama dalam proses penyeleksian folikel. Diantara folikel-folikel muda yang direkrut, akan selalu ada kelompok folikel-folikel yang berbeda kematangannya yang lebih siap untuk berkembang ke tahap pre-ovulasi dibawah pengaruh FSH, dan produksi estrogen akan meng-supresi sekresi FSH hingga di bawah kadar minimum yang diperlukan untuk mempertahankan perkembangan folikel-folikel tersebut, sehingga folikel-folikel yang kurang berkembang atau tidak mencapai tahap yang cukup akan mengalami kemunduran dan berakhir dengan proses atresia sedangkan ketergantungan folikel dominan akan FSH menjadi berkurang, hal ini diduga karena, akibat rangsangan FSH pada sel-sel granulosa, maka sel-sel tersebut juga akan memiliki reseptor terhadap hormon LH, sehingga sel-sel granulose akan ber-respon baik pada FSH atau LH, diduga dengan adanya kedua macam receptor inilah yang menyebabkan folikel

dominan mampu bertahan disaat turunnya konsentrasi FSH dengan menggantikannya dengan LH.

Pada saat folikel dominan telah mencapai kematangan yang cukup, sekresi estrogen yang dihasilkannya cukup untuk menciptakan “Positive Feedback” yang berakibat disekresikannya konsentrasi hormon LH dalam doses tinggi dari kelenjar pituitari (LH surge), beraksi melalui hormon prostaglandin, menginduksi perubahan pada struktur dan biokimia dari dinding folikel yang mengakibatkan pecahnya dan ekstrusi (pengeluaran) sel telur dari dalam folikel yang dikelilingi oleh massa cumulus (cumulus oophorus).

Setelah proses ovulasi terjadi, Membrana basalis yang memisahkan lapisan granulosalutein dan lapisan theca-lutein menjadi kabur, dan pada hari ke dua setelah ovulasi, pembuluh darah dan kapiler yang baru terbentuk hasil stimulasi faktor angiogenik (vascular endothelial growth factor) menginvasi lapisan sel granulosa. Hormon LH berikatan dengan reseptor LH sel-sel granulosa yang terbentuk akibat stimulasi FSH sebelumnya, merangsang pembentukan dan sekresi progesteron yang akan merubah morfologi dan fungsi folikel menjadi korpus luteum melalui proses luteinisasi.

Inhibin, Activin, dan follistatin

Jenis protein ini berasal dari keluarga yang sama, diproduksi dalam sel-sel granulosa sebagai respon terhadap FSH dan disekresi ke dalam cairan folikel dan vena ovarium. Mereka bertindak dalam pengaturan autokrin-parakrin tubuh dan terdapat di banyak jaringan tubuh. Inhibin memiliki beragam efek inhibisi pada sekresi gonadotropin, inhibin dapat menghambat sintesa dan sekresi FSH, mencegah regulasi penambahan reseptor GnRH, mengurangi jumlah reseptor GnRH dan pada kadar yang tinggi, mempromosikan degradasi gonadotropin dalam sel.. Activin merangsang pengeluaran FSH dalam kelenjar pituitari dan memperkuat daya kerja FSH dalam ovarium. Follistatin men-supresi aktifitas FSH dengan mengikat activin.

Inhibin terdiri dari dua jenis protein (alpha dan beta), terikat pada ikatan disulfida. Terdapat dua jenis inhibin A dan inhibin B yang memiliki struktur subunit alpha yang serupa dan subunit beta yang berbeda dan tiga subunit, yaitu alpha, beta-A dan beta-B.

FSH merangsang sekresi inhibin dari sel granulosa dan pada gilirannya akan disupresi oleh inhibin (hubungan resiprokal). Inhibin B adalah bentuk inhibin yang secara predominan dihasilkan oleh sel granulosa dalam fase folikular. GnRH dan epidermal growth factor menghilangkan rangsangan FSH terhadap sekresi inhibin, dimana insulin-like growth factor-1 mempercepat produksi inhibin. GnRH yang reseptornya terdapat di sel granulosa dan epidermal growth factor juga menurunkan produksi estrogen hasil stimulasi FSH dan terbentuknya reseptor LH.

Inhibin B secara perlahan dan berkala setiap 60-70 menit (pulsatile) meningkat dan mencapai puncaknya pada awal dan pertengahan fase folikuler dan lalu menurun pada akhir fase folikuler sebelum ovulasi. Satu hari sesudah ovulasi inhibin B mencapai puncak yang tertinggi, hal ini diduga karena pecahnya folikel saat ovulasi dan menurun lagi mencapai titik terendahnya pada fase midluteal. Dengan terbentuknya reseptor LH pada sel granulosa folikel dominan dan selanjutnya pada perkembangan folikel yang menjadi korpus luteum, di bawah pengaruh LH inhibin B berubah fungsi ekspresi menjadi inhibin A yang mulai meningkat pada fase akhir folikuler dan mencapai puncaknya pada fase midluteal. Sehingga inhibin A turut menyumbang dalam rendahnya kadar FSH pada fase midluteal dan transisi perubahan fase luteal-folikular.

Activin, diproduksi di sel granulosa dan terdapat pula di kelenjar pituitari, memiliki dua subunit yang identik dengan subunit beta inhibin A dan B. Activin berfungsi membantu peningkatan sekresi FSH dan menghalangi sintesis prolactin, ACTH dan respon GH. Activin juga meningkatkan respon kelenjar pituitari terhadap GnRH dengan meningkatkan formasi reseptor GnRH. Aktifitas activin dihalangi oleh inhibin dan follistatin. Activin terdapat di banyak jenis sel manusia. Pada ovarium, activin bereaksi langsung dengan sel theca untuk memperkuat ikatan FSH dalam sel granula dan membantu peningkatan rangsangan FSH terhadap proses aromatisasi dan produksi inhibin. Inhibin memperkuat rangsangan terhadap LH dan/atau IGF-1, sedangkan activin menekan rangsangan ini.

Follistatin adalah protein yang dihasilkan oleh beberapa macam sel kelenjar pituitari, termasuk sel gonadotrope. Protein ini juga disebut “FSH-suppressing protein” karena fungsi utamanya adalah meninhibisi sintesa dan sekresi FSH dan juga respon FSH terhadap ikatannya pada activin sehingga menurunkan aktifitas activin. Activin merangsang produksi follistatin dan inhibin sebaliknya. Follistatin menginhibisi activin dan meningkatkan kerja inhibin.

Growth Factor

Growth factor adalah molekul polypeptid yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel melalui spesifik reseptor pada membran sel. Berfungsi secara lokal sebagai hormon parakrin dan autokrin. Terdapat banyak jenis growth factor dan reseptornya pada sebagian besar sel manusia.

Insulin-like Growth Factor

Dahulu dikenal dengan istilah somatomedin, adalah senyawa protein yang memiliki struktur dan fungsi serupa dengan insulin dan memediasi kerja growth hormone. IGF I dan IGF II adalah rantai protein tunggal yang mengandung 3 rantai disulfid.

IGF I memediasi fungsi pertumbuhan growth hormone. Diduga berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan fetus. IGF menginduksi ekspresi genetik sel yang bertanggung jawab dalam proliferasi dan diferensiasi sel.

IGF I mengstimulasi proses berikut ini : sintesis DNA, steroidogenesis, aktifitas enzim aromatase, sintesa reseptor LH dan sekresi inhibin, bekerja sama dengan HSG untuk merangsang sintesa FSH dan steroidogenesis. Dengan terbentuknya reseptor LH, IGF I merangsang sintesa progesterone dan merangsang pertumbuhan sel –sel granulosa-luteal. Secara sinergis dengan FSH, merangsang proses aromatase pada folikel preovulasi, sehingga IGH I terlibat dalam proses sintesa estrogen dan progesteron.

IGF II mengstimulasi proses mitosis sel granulosa.

Pada penelitian jaringan ovarium manusia, terlihat IGF II terekspresi dengan kuat baik pada sel-sel theca dan sel-sel granulosa. kadar tertinggi didapatkan pada sel granulosa dan bertambah seiring pertumbuhan folikel. Sehingga IGF II merupakan produk IGF

utama pada tubuh manusia. IGF II diproduksi oleh sel lutein-granulosa dan berfungsi secara autokrin dan hanya reseptor IGF II yang terdapat di sel lutein-granulosa. IGF II dan insulin keduanya mengaktifkan reseptor IGF I dan juga reseptor IGF II sendiri untuk meningkatkan rangsangan terhadap LH dan produksi androgen. Penelitian in vitro memperlihatkan IGF II mampu merangsang steroidogenesis dan proliferasi sel theca dan sel granulosa manusia, produksi progesterone dan aktifitas aromatase. Mekanisme ini diperkuat oleh growth hormone yang meningkatkan produksi IGF dan secara langsung meningkatkan stimulasi gonadotropin pada folikel.

Epidermal Growth Factor

Epidermal growth factor bersifat mitogenik dan kerjanya dibantu oleh growth factor yang lain. Pada sel-sel granulosa, senyawa ini berhubungan dengan stimulasi gonadotropin, termasuk proses proliferasi. Epidermal growth factor menekan regulasi penambahan FSH dan reseptornya.

Transforming Growth Factor

TGF α secara struktural analog dengan epidermal growth factor dan dapat mengikat reseptornya. TGF β , diproduksi oleh sel-sel theca, menggunakan reseptor yang berbeda dari reseptor epidermal growth factor, meningkatkan induksi FSH pada reseptor LH di sel granulosa dan meninhibisi produksi androgen. Kedua faktor ini diatur secara autokrin. Growth differentiation factor 9 (GDF 9) adalah anggota keluarga TGF β yang berasal dari dalam sel telur dan penting untuk pertumbuhan normal dan perkembangan folikel.

Platelet-Derived Growth Factor

Growth factor ini menggunakan alur cAMP terhadap respon FSH, berhubungan dengan diferensiasi sel-sel granulosa. bersama-sama dengan epidermal growth factor memodifikasi produksi prostaglandin dalam folikel.

Angiogenic Growth Factor

Vascular endothelial growth factor (VEGF) adalah senyawa cytokine yang diproduksi di sel granulosa dan terdapat dalam cairan folikel dan mempengaruhi vaskularisasi folikel.

VEGF berakibat supresi angiogenesis dari sel theca dan inhibisi pertumbuhan dan perkembangan folikel.

Sistem Interleukin-1

Leukosit merupakan komponen yang menonjol pada folikel dan merupakan sumber utama interleukin. Interleukin-1 adalah anggota keluarga immunomediator. Pada penelitian hewan tikus, interleukin-1 merangsang sintesa prostaglandin di ovarium dan kemungkinan memainkan peranan dalam ovulasi.

Tumor Necrosis Factor α (TNF α)

TNF α merupakan produk dari leukosit makrophag. Kemungkinan memainkan peranan dalam proses apoptosis, pada kejadian atresia folikel sebagaimana pada proses luteolisis dari korpus luteum.

Daftar Kepustakaan

1. Cunningham F Gary, Leveno Kenneth J, Bloom Steven L, et al: **William Obstetrics, 22nd edition**. McGraw-Hill Co.Inc.;2005:40-42.
2. Drummond Ann E: **The Role of Steroids in Follicular Growth**. Reproductive Biology & Endocrinology 2006, 4:16
3. Shaw Robert W, Soutter W. Patrick, Stanton Stuart L.: **Gynaecology, 3rd edition**, Churchill Livingstone; 2002:209-212
4. Shaw Robert W, Soutter W. Patrick, Stanton Stuart L.: **Gynaecology, 2nd edition**, Churchill Livingstone; 1992:135-136
5. Speroff Leon, Fritz Marc A : **Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, 7th edition**, Lippincott Williams & Wilkins; 2005:187-205
6. Zelesnik Anthony J: **The Physiology of Follicle Selection**. Reproductive Biology & Endocrinology 2004 2:31