

*COLLÈGE NATIONAL
DES GYNÉCOLOGUES ET OBSTÉTRICIEUS FRANÇAIS
Président : Professeur J. Lansac*

**Extrait des
Mises à jour
en Gynécologie
Médicale**

—

**Volume 2008
publié le 3.12.2008**



*TRENTE-DEUXIÈMES JOURNÉES NATIONALES
Paris, 2008*

Le mythe de la réserve ovarienne

T. FRÉOUR, P. BARRIÈRE *
(Nantes)

I - OVOGENÈSE

L'ovogenèse comprend la formation, la croissance et la différenciation du gamète femelle. Elle comprend plusieurs étapes s'étalant sur plusieurs années, de la vie fœtale à la vie adulte.

1. Embryogenèse et développement prénatal de l'ovocyte

Le développement de l'appareil génital est marqué par l'existence d'un stade indifférencié jusqu'à la fin de la 6^e semaine malgré la détermination du sexe de l'embryon dès la fécondation. La gonade indifférenciée est constituée de cellules germinales primordiales (gonocytes) et de cellules somatiques. L'origine embryologique entoblastique des gonocytes, longtemps admise, est discutée depuis quelques années. Edwards [1, 2] émettait en 1999 l'hypothèse de la polarisation de

* T. Fréour, AHU ; P. Barrière, PU-PH
Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction - Hôpital Mère et Enfant -
CHU de Nantes - 38 boulevard Jean Monnet - 44093 Nantes Cedex 1

l'ovocyte avec l'existence de territoires présomptifs dans l'ovocyte à l'origine de la lignée germinale. Cette notion de patterning toujours discutée chez les mammifères semble de plus en plus admise et de nombreux travaux sur la polarisation de l'ovocyte et du zygote évoquent l'existence de territoires cellulaires préférentiellement à l'origine des différentes zones de différenciation du blastocyste, puis du conceptus [3, 5]. Il a été récemment montré que la polarité de l'ovocyte humain, puis de l'embryon, était gouvernée par l'alignement des pronuclei et non pas par les globules polaires.

Au niveau embryologique, les gonocytes primordiaux sont observables à partir du 21^e jour après la fécondation et vont ensuite migrer, d'abord passivement, puis activement, durant les 4^e et 5^e semaines vers les crêtes génitales. Durant cette migration, les gonocytes continuent leurs divisions mitotiques et sont entre 700 à 1 300 quand ils atteignent l'ébauche gonadique. La gonade indifférenciée est composée de cordons cellulaires somatiques colonisés par les gonocytes en division. La différenciation ovarienne se traduit morphologiquement à partir de la 8^e semaine. Les cellules somatiques entourent progressivement les gonocytes qui deviennent des ovogonies et continuent leurs mitoses avec une répartition plutôt corticale. Les cordons cellulaires vont se fragmenter et former des follicules primordiaux à partir de la 16^e semaine.

Les ovogonies ont un rôle essentiel dans la différenciation gonadique, et auraient un rôle dans la formation des follicules primordiaux, de même que l'ovocyte régule ensuite la maturation folliculaire. Leurs mitoses intenses aboutissent à un stock de 600 000 à la fin du 2^e mois, et de 6 à 7 millions au 5^e mois.

Après la période de prolifération mitotique débute la différenciation des ovogonies en ovocytes primaires. On observe les premiers ovocytes dès la 12^e semaine de vie fœtale. Ils entrent en prophase de première division méiotique avec les stades successifs préleptotène, leptotène, zygotène, pachytène et diplotène, stade auquel ils restent bloqués jusqu'à la reprise de la méiose juste avant l'ovulation.

Le nombre d'ovocytes de 1^{er} ordre à la naissance est estimé entre 0,7 à 2 millions au total pour les deux ovaires. La diminution drastique entre le 5^e mois de vie fœtale et la naissance s'explique par la dégénérescence des ovogonies non incluses dans des follicules primordiaux, l'atrésie folliculaire dès le 5^e mois et la nécrose d'ovogonies expulsées à la surface de l'épithélium. En effet, parmi les 7 millions d'ovocytes présents, un sur dix seulement sera internalisé dans des follicules, créant un stock de 700 000 à 2 millions à la 34^e semaine de vie fœtale [6].

2. Développement post-natal de l'ovocyte (Tableau I)

Après la naissance, le développement de l'ovocyte est directement corrélé à la folliculogénèse. Cette croissance se fait alors que l'ovocyte reste bloqué au stade diplotène de la prophase méiotique. Dans le follicule primordial, l'ovocyte mesure 20 à 50 μm de diamètre et contient la vésicule germinative, noyau de grande taille excentré. Au stade primaire, l'ovocyte est le siège d'une augmentation de l'activité métabolique avec une multiplication du nombre des mitochondries. La zone pellucide se forme au stade secondaire, ainsi que les granules corticaux. Elle est traversée par des prolongements des cellules de la corona radiata qui permettent la communication directe via des jonctions avec la membrane plasmique de l'ovocyte. Le follicule tertiaire est caractérisé par la formation progressive de la cavité antrale. L'ovocyte mesure alors plus de 100 μm de diamètre.

Tableau I : Caractéristiques morphométriques des follicules de la réserve dans l'ovaire humain adulte (d'après [7])

	Follicule	Ovocyte	Noyau de l'ovocyte	Cellules de la granulosa	
				Nombre moyen	Extrêmes
Primordial (408)	35,4 \pm 6,2	32,1 \pm 6,0	16,1 \pm 6,1	13 \pm 6	7-23
Intermédiaire (409)	37,8 \pm 8,2	31,7 \pm 8,0	16,3 \pm 4,0	28 \pm 6	9-50
Primaire (153)	46,0 \pm 6,2	32,6 \pm 4,9	16,7 \pm 2,5	76 \pm 27	23-223

Les trois premières colonnes indiquent le diamètre moyen \pm ES pour le nombre de follicules figurant entre parenthèses.

3. Folliculogénèse

a) Régulation paracrine

Les études concernant le fonctionnement ovarien ont longtemps porté exclusivement sur la régulation endocrine par l'axe hypothalamo-hypophysaire. Cependant, des études récentes ont largement prouvé l'existence d'une régulation paracrine par des facteurs intra-ovariens d'importance au moins égale aux facteurs endocrines. Parmi ces éléments auto- et paracrines, les membres de la famille du TGF- β sont les plus étudiés, avec notamment le GDF9 et le BMP15 dont le rôle dans le fonctionnement ovarien et la fertilité a été récemment

décrit [6]. Ces facteurs principalement sécrétés par l'ovocyte participent activement à la régulation du développement folliculaire (via les cellules du cumulus et la granulosa) et de l'ovulation [7]. L'avancée des travaux permettra probablement à court terme de mieux connaître les systèmes de régulation intra-ovariens et d'approcher ainsi plus directement la qualité ovocytaire et sa régulation, notions fondamentales en médecine de la reproduction.

b) Régulation endocrine

La folliculogénèse est sous le contrôle de deux hormones hypophysaires : la FSH et la LH. La FSH soutient la croissance folliculaire. Elle agit après liaison à son récepteur (FSH-R) situé exclusivement sur les cellules de la granulosa. Ceux-ci apparaissent au stade secondaire. Ils fixent davantage de FSH au stade follicule antral qu'au stade de follicule préantral, malgré le fait que leur quantité reste quasi constante en surface des cellules de la granulosa. Les récepteurs à la LH (LH-R) sont situés sur les cellules de la granulosa et surtout sur les cellules de la thèque interne. Contrairement aux FSH-R, leur nombre semble augmenter au fur et à mesure de la croissance folliculaire.

II - DÉFINITION DE LA RÉSERVE OVARIENNE

1. Définition

La réserve ovarienne peut être définie comme le nombre, et dans une moindre mesure la qualité des ovocytes présents au sein de follicules primordiaux dans le cortex ovarien à un moment donné. Elle n'est pas mesurable directement, les follicules primordiaux et primaires n'étant pas observables en échographie. La seule exception est l'examen histologique en cas d'ovariectomie permettant un dénombrement précis des follicules par unité de surface. La réserve ovarienne n'est pas un concept abstrait, mais une réalité physiologique non accessible directement par les moyens d'investigations biologiques et cliniques disponibles actuellement. Seuls sont mesurables des indicateurs indirects de la taille et/ou de la qualité du stock de follicules primordiaux (voir chapitre suivant).

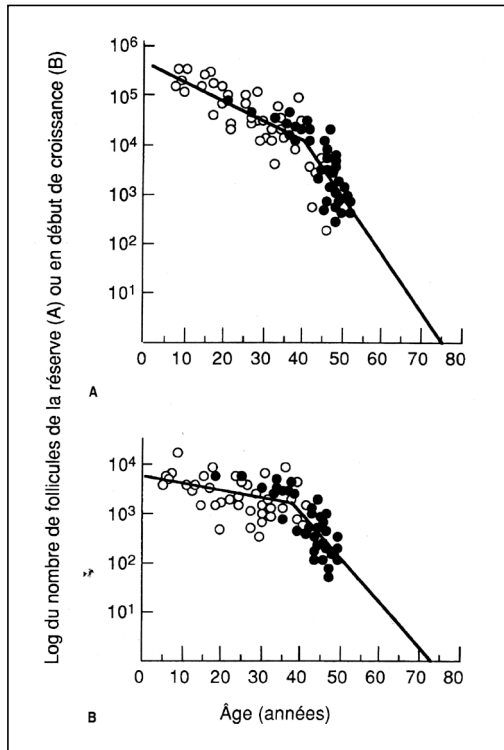
2. Évolution

À la naissance, chaque ovaire contient entre 300 000 et 1 000 000 très petits follicules (diamètre de 25 à 65 μm), soit un total de 600 000 à 2 000 000 follicules. Ces follicules sont considérés comme majoritairement des primordiaux, certains sont cependant des petits follicules primaires. Chacun d'entre eux contient un ovocyte, sauf de très rares exceptions (2 ovocytes). Ce stock initial d'ovocytes, ou réserve ovarienne initiale, aboutit à l'ovulation pour seulement 300 à 400 follicules, soit un « rendement » très faible de 0,5 à 1 pour 1000. Cette population de très petits follicules diminue progressivement avec l'âge pour aboutir à la ménopause à quelques dizaines ou quelques centaines de follicules résiduels. Ceci est illustré par la diminution progressive du nombre de follicules primaires sortant de la réserve pour arriver au stade de follicule secondaire, qui passe de 35 par jour à 25 ans à 9 par jour à 40 ans.

La réserve ovarienne suit physiologiquement un programme d'atrésie intense, mais la cinétique de cet épuisement ovarien est variable selon les femmes et aboutit, en cas de perte accélérée, à une insuffisance ovarienne prématurée, voire à une ménopause précoce. Cette inégalité devant la vitesse d'altération de la réserve ovarienne est très probablement due majoritairement à des causes génétiques. L'analyse génétique de familles de femmes ménopausées précocement a permis la mise en évidence récente de mutations liées à une déplétion accélérée du pool folliculaire. Ainsi, les femmes porteuses de la prémutation du gène FMR1 (dont la mutation totale est responsable du syndrome du X fragile) présentent un risque élevé de ménopause précoce [8, 9]. D'autres gènes ont également été incriminés, comme le BMP15, GDF9, FOXL2 [10, 11], renforçant le concept d'un terrain génétique prédisposant à une altération de la réserve accélérée. D'autres facteurs interagissent avec la vitesse d'appauvrissement de la réserve ovarienne, notamment environnementaux. Le tabac est ainsi responsable d'une déplétion accélérée du pool de follicules ovariens associée à une mauvaise maturation folliculaire aboutissant à un pronostic péjoratif en FIV [12].

Ainsi, plus qu'une mesure ponctuelle de la réserve ovarienne, c'est son évolution qui présente un intérêt majeur pour la prise en charge des femmes infertiles (Figure 1) [13].

Figure 1 : Effectif des follicules primordiaux (A) et en début de croissance (B) en fonction de l'âge. (d'après [7])



III - APPLICATIONS EN FERTILITÉ

1. Mesure biologique de la réserve ovarienne

a) FSH, E2

Le bilan hormonal réalisé au 3^e jour du cycle menstruel pour explorer le statut ovarien associe depuis de nombreuses années la FSH et l'œstradiol. Une élévation de la FSH au-dessus de 10 à 12 UI/L, associée ou non à une élévation de l'œstradiol, signe un début d'insuffisance ovarienne de mauvais pronostic en termes de

réponse ovarienne à la stimulation et d'issue de fécondation in vitro. Ces dosages largement répandus et bien connus des cliniciens présentent cependant quelques limites. En effet, le prélèvement doit impérativement être réalisé à J2 ou J3 du cycle. De plus, malgré la standardisation des techniques disponibles, il existe une certaine variabilité inter-technique imposant l'utilisation de la même technique pour comparer deux bilans successifs. Enfin, l'élévation de la FSH et/ou de l'œstradiol semble relativement tardive par rapport à l'installation de l'insuffisance ovarienne prématurée. Ainsi, de nombreux auteurs rapportent des cas de patientes à réserve ovarienne altérée mais avec FSH et œstradiol normaux. La FSH et l'œstradiol n'auraient ainsi qu'un intérêt prédictif modeste en FIV [14]. L'AMH (Hormone Anti-Müllérienne) permettrait notamment de détecter de façon plus précoce ces patientes ayant une insuffisance ovarienne débutante [15]. Cependant, la FSH et l'œstradiol conservent une place centrale dans l'exploration basale du statut ovarien, et en tant que facteur pronostique en fécondation in vitro [16-18].

b) AMH

L'Hormone Anti-Müllérienne (AMH) est un membre de la famille du TGF- β synthétisé par les cellules de la granulosa des follicules pré-antraux et des petits follicules antraux en croissance. Chez la femme, la synthèse de l'AMH débute quelques jours après la naissance, augmente progressivement à partir de la puberté, puis décroît avec l'âge pour devenir indétectable à la ménopause. L'AMH est impliquée, entre autres, dans le recrutement primaire faisant passer au stade secondaire préantral les follicules primaires pouvant être recrutés. Cette molécule qui intervient dans la transition du stock primordial au pool en croissance est un candidat marqueur de la réserve ovarienne. La plupart des études sont aujourd'hui concordantes pour montrer que l'AMH sérique est un très bon reflet de la réserve ovarienne [19-21]. L'intérêt de l'AMH réside tout d'abord dans sa faible variation intra- et inter cyclique. Les concentrations circulantes en AMH chez une femme normo-ovulatoire mesurées au début de la phase folliculaire, lors de l'ovulation et lors de la phase lutéale n'ont pas montré de différence significative [22]. La légère augmentation de l'AMH sérique au moment de l'ovulation reste ainsi modérée et autorise en théorie le dosage de l'AMH à tout moment du cycle.

Elle constitue d'autre part le meilleur marqueur hormonal prédictif de la réponse ovarienne à la stimulation. En effet, l'AMH est mieux corrélée au CFA (Compte des Follicules Antraux) et à la réponse ovarienne à la stimulation que les autres marqueurs du bilan

hormonal, à savoir la FSH, la LH, l'œstradiol et l'inhibine B. Elle permet ainsi une estimation précise et précoce d'une éventuelle altération quantitative de cette réserve ovarienne. De plus, quelques études récentes suggèrent que l'AMH reflète également l'aspect qualitatif de la réserve ovarienne [23], renforçant encore son intérêt pronostique en assistance médicale à la procréation, notamment par rapport au CFA qui semble être strictement lié au côté quantitatif de la réserve ovarienne.

Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) est une situation particulière dans laquelle l'AMH est susceptible de présenter également un intérêt. Le SOPK est la cause la plus fréquente de dysovulation et d'hyperandrogénie chez la femme jeune. Les mécanismes précis aboutissant à l'anovulation restent encore mal connus. Il s'avère que l'AMH semble jouer un rôle dans l'arrêt de la croissance folliculaire, en lien avec l'excès de stéroïdes intra-folliculaires. Le SOPK se caractérise entre autres par une augmentation du nombre de follicules préantraux, lesquels sont la source principale de l'AMH. Il n'est pas surprenant que de nombreuses études aient retrouvé des concentrations d'AMH sérique supérieures chez les femmes présentant un SOPK par rapport aux femmes normo-ovulatoires [24-26].

2. Mesure échographique de la réserve ovarienne

a) CFA (*Compte des Follicules Antraux*)

Il est impossible de dénombrer échographiquement les follicules primordiaux composant la réserve ovarienne proprement dite. Par contre, les follicules antraux de 2-5 mm et de 5-9 mm peuvent être mesurés et comptabilisés en début de phase folliculaire (2^e ou 3^e jour du cycle). Les follicules préantraux sont issus du stock de follicules primaires et reflètent indirectement la réserve ovarienne, au moins dans son aspect quantitatif. Le nombre de ces petits follicules antraux prêts à poursuivre leur croissance correspond au pool de follicules pouvant potentiellement être recrutés lors de la phase folliculaire. Ceci présente un intérêt pronostique en assistance médicale à la procréation lors d'une stimulation ovarienne plurifolliculaire. En effet, un CFA faible fait craindre une faible réponse ovarienne à la stimulation malgré une éventuelle augmentation des doses de gonadotrophines. À l'inverse, un CFA élevé évoque un syndrome des ovaires polykystiques et incite à la prudence quant à la stimulation afin d'éviter une hyperstimulation ovarienne. La principale limite du CFA reste son

aspect en partie opérateur dépendant. La qualité de l'appareillage est également critique dans la pertinence du CFA [27].

b) Volume ovarien

La mesure du volume ovarien a été proposée pour la mesure de la réserve ovarienne, et présenterait un intérêt dans la prédiction de la réponse ovarienne à la stimulation et l'obtention d'une grossesse. Une méta-analyse reprenant toutes les études menées sur le sujet montre que le volume ovarien a une performance modeste pour la prédiction de la réponse ovarienne, et aucune pour la grossesse [28].

Concernant l'intérêt respectif du CFA et du volume ovarien, une autre méta-analyse récente comparant les marqueurs échographiques de réserve ovarienne a clairement montré l'infériorité du volume ovarien par rapport au CFA dans la prédiction de la mauvaise réponse ovarienne [29]. Par contre, aucun des 2 tests ne présentait un intérêt prédictif concernant la grossesse ou son absence.

IV - LE MYTHE DE LA RÉSERVE OVARIENNE : CERTITUDES ET CONTROVERSES

1. La néo-ovogenèse

Il est généralement admis depuis les débuts des études sur la physiologie de la reproduction chez les mammifères que, dans la majorité des espèces, les femelles naissent avec un stock défini d'ovocytes qui diminue avec l'âge. Cependant, on note chez certaines espèces de singes la présence de marqueurs préméiotiques cellulaires dans l'ovaire post-natal.

Le concept de néo-ovogenèse fait débat depuis plusieurs années et remet en cause ce dogme. En effet, en 2004, J.L. Tilly et al. publiait dans la revue *Nature* un article au titre très provocateur : « Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary » [30]. Ce travail mené chez la souris proposait l'existence d'une néo-ovogenèse à partir de cellules souches situées dans le cortex de l'ovaire adulte ayant reçu une chimiothérapie théoriquement stérilisante. Cependant, de nombreux experts opposaient le fait que ces cellules à l'origine de l'ovogenèse n'étaient pas des ovogonies mais des follicules primordiaux résiduels. La même équipe persistait et publiait l'année suivante une nouvelle étude affirmant la génération de novo

d'ovocytes à partir de cellules souches de la moelle osseuse ou du sang circulant provenant d'une allogreffe de moelle osseuse. Ces travaux révolutionnaires sont toujours remis en cause à l'heure actuelle par de nombreuses équipes. En effet, la possibilité de « recolonisation » de l'ovaire grâce à des cellules souches issues d'une greffe de moelle osseuse pose toujours question et a été contredite par une publication récente chez la souris [31], et une autre chez l'homme, dans laquelle une femme ayant reçu une chimiothérapie aplasante puis allogreffée avait observé un retour de règles, puis avait démarré une grossesse ayant abouti à la naissance d'une fille [32]. L'analyse génétique montrait un lien entre le génome de la mère et de la fille mais pas avec le génome du donneur de moelle, réfutant ainsi la possibilité d'une oogenèse à partir de cellules souches apportées par le greffon de moelle. Une autre étude menée sur l'ovaire humain concluait à l'absence de marqueurs de néo-oogenèse [33]. D'autre part, la cinétique rapide d'atrésie des ovogonies sur laquelle se basait J.-L. Tilly et al. a été infirmée par d'autres études montrant que le stock initial d'ovogonies ne se déplétait pas si rapidement [34].

Ainsi, les travaux de l'équipe de Tilly ont eu le grand mérite de remettre en cause le dogme central de la réserve ovarienne initiale, mais à l'heure actuelle, il n'existe pas de certitude sur l'existence du processus de néo-oogenèse.

2. La mesure de la réserve ovarienne est-elle un préalable indispensable à la prise en charge en PMA ?

La mesure de la réserve ovarienne fait désormais partie du bilan standard précédant la prise en charge dans la majorité des équipes d'assistance médicale à la procréation. Les marqueurs hormonaux et/ou échographiques ont fait l'objet de nombreuses publications et, même s'il n'existe pas à l'heure actuelle de consensus sur les techniques et les seuils à utiliser pour ces tests, il est généralement admis que la mesure de la réserve ovarienne permet de détecter les cas de diminution précoce de la réserve ovarienne et d'adapter la prise en charge de ces patientes.

Cependant, la mesure de la réserve ovarienne est-elle utile avant le début de la prise en charge en AMP ? L'analyse de la littérature rapporte des données contradictoires. En effet, si de nombreux auteurs montrent l'intérêt de tester la réserve ovarienne, peu ont comparé les résultats avec ou sans ces tests. Deux études semblables sur l'intérêt des tests de la réserve ovarienne pour adapter la dose initiale de

gonadotrophines rapportent ainsi des résultats opposés, l'une avec des résultats supérieurs, l'autre avec une absence d'amélioration des taux de grossesse suite à l'adaptation de la posologie [35, 36]. De plus, une étude menée chez des patientes jeunes (< 37 ans) avec une réserve ovarienne supposée normale (FSH < 12 UI/L), mais une mauvaise réponse ovarienne lors de la stimulation, montrait des taux de grossesse satisfaisants, évoquant l'absence d'effet délétère de la mauvaise réponse chez des patientes à réserve ovarienne normale [37], et remettant en cause l'efficacité et l'intérêt du dépistage de ces mauvaises répondeuses. Enfin, certains auteurs estiment que la réponse ovarienne lors du premier cycle présente un intérêt majeur dans la prédiction de la réponse lors des cycles suivants, indépendamment du résultat des tests de mesure de la réserve ovarienne.

Cependant, la mesure de la réserve ovarienne permet d'objectiver la situation ovarienne, de rationaliser la prise en charge et d'apporter une information utile à la patiente. Elle permet aussi de détecter des insuffisances ovariennes prématurées et d'accélérer si possible l'accès aux techniques d'assistance médicale à la procréation.

CONCLUSION

L'avancée des connaissances sur la physiologie ovarienne a permis la découverte de nombreux traitements utilisés en infertilité. Cependant, l'objectif du clinicien reste d'informer la patiente sur le « temps ovarien » disponible, et de proposer à ses patientes le protocole le plus adapté avec les meilleures chances de résultat. La mesure de la réserve ovarienne fait désormais généralement partie du bilan d'infertilité et apporte des informations précieuses sur le statut ovarien, et influence la conduite à tenir. Cependant, les nombreux outils disponibles doivent être utilisés avec prudence et de nombreux domaines restent à explorer, afin d'améliorer les connaissances sur la réserve ovarienne avant d'aboutir à un consensus sur la façon de la mesurer puis de l'intégrer dans la prise en charge en infertilité.

PLAN

I - OVOGENÈSE ET NOTION DE RÉSERVE OVARIENNE INITIALE

1. Embryogenèse et développement prénatal de l'ovocyte
2. Développement post-natal de l'ovocyte
3. Folliculogenèse

II - DÉFINITION DE LA RÉSERVE OVARIENNE

III - APPLICATIONS EN FERTILITÉ

1. Mesure biologique de la réserve ovarienne
2. Mesure échographique de la réserve ovarienne

IV - LE MYTHE DE LA RÉSERVE OVARIENNE : CERTITUDES ET CONTROVERSES

1. La néo-ovogenèse
2. La mesure de la réserve ovarienne est-elle un préalable indispensable à la prise en charge en PMA ?

Résumé

L'ovogenèse est un processus complexe comprenant plusieurs étapes successives et inter-dépendantes, permettant la constitution d'un stock de follicules primordiaux dont le fonctionnement cyclique régulé aboutit théoriquement chez la femme en âge de procréer à l'ovulation d'un ovocyte mature chaque mois. Le développement des techniques d'assistance médicale à la procréation et la nécessité de proposer des solutions à des femmes présentant des insuffisances ovariennes prématurées a renforcé l'intérêt des spécialistes pour cette « réserve ovarienne ». En effet, l'amélioration des connaissances sur la constitution et le fonctionnement de ce stock d'ovocytes pourrait permettre d'influer sur sa régulation et sa déplétion naturelle, avec en ligne de mire l'utopie de la maîtrise du vieillissement ovarien et le contrôle de l'âge de la ménopause. La controverse récente sur l'existence d'une néo-ovogenèse participe également à ce débat sur le contrôle de la réserve ovarienne. À l'heure actuelle, différents marqueurs hormonaux et échographiques sont à la disposition du clinicien afin d'évaluer de façon plus ou moins pertinente cette réserve ovarienne. Cependant, il n'existe pas réellement de consensus sur la façon de la mesurer et sur la manière de l'intégrer dans la prise en charge des couples en FIV.

Mots clés : ovogenèse, folliculogenèse, hormone anti-Müllérienne, compte des follicules antraux, fécondation in vitro

Bibliographie

- [1] Edwards RG, Beard HK. Hypothesis: sex determination and germline formation are committed at the pronucleate stage in mammalian embryos. *Mol Hum Reprod* 1999 Jul;5(7):595-606.
- [2] Edwards RG, Hansis C. Initial differentiation of blastomeres in 4-cell human embryos and its significance for early embryogenesis and implantation. *Reprod Biomed Online* 2005 Aug;11(2):206-18.
- [3] Gardner R. The case for pre-patterning in mammals (Oral communication). *Fertil Steril* 2008 Jul;23(Suppl 1):i19.
- [4] Hiiragi T. Unique principles in early mammalian development (Oral communication). *Fertil Steril* 2008 Jul;23(Suppl 1):i19.
- [5] Scott L, Finn A, McLellan S, Davies D, Ramsing N, Hill J. Human oocyte and embryo polarity and cleavage planes as predictors of further development (Oral communication). *Fertil Steril* 2008 Jul;23(Suppl 1):87.
- [6] Farabosco A, Sforza C. Establishment of ovarian reserve: a quantitative morphometric study of the developing human ovary. *Fertil Steril* 2007 Sep;88(3):675-83
- [7] Mauvais-Jarvis P, Schaison G, Touraine P. Folliculogenèse et maturation ovocytaire en Médecine de la reproduction. Ed. Flammarion (Paris), 3^e éd. 1997;p.49.
- [8] Juengel JL, McNatty KP. The role of proteins of the transforming growth factor-beta superfamily in the intraovarian regulation of follicular development. *Hum Reprod Update* 2005 Mar-Apr;11(2):143-60.
- [9] Gilchrist RB, Lane M, Thompson JG. Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. *Hum Reprod Update* 2008 Mar-Apr;14(2):159-77
- [10] Wittenberger MD, Hagerman RJ, Sherman SL, McConkie-Rosell A, Welt CK, Rebar RW, Corrigan EC, Simpson JL, Nelson LM The FMR1 premutation and reproduction. *Fertil Steril* 2007 Mar;87(3):456-65.
- [11] Marozzi A, Vegetti W, Manfredini E, Tibiletti MG, Testa G, Crosignani PG, Ginelli E, Meneveri R, Dalprà L. Association between idiopathic premature ovarian failure and fragile X premutation. *Hum Reprod* 2000 Jan;15(1):197-202.
- [12] Christin-Maitre S, Pasquier M, Donadille B, Bouchard P. [Premature ovarian failure] *Ann Endocrinol (Paris)* 2006 Dec;67(6):557-66.
- [13] Laissue P, Christin-Maitre S, Touraine P, Kuttent F, Ritvos O, Aittomaki K, Bourcigaux N, Jacquesson L, Bouchard P, Frydman R, Dewailly D, Reyss AC, Jeffery L, Bachelot A, Massin N, Fellous M, Veitia RA. Mutations and sequence variants in GDF9 and BMP15 in patients with premature ovarian failure. *Eur J Endocrinol* 2006 May;154(5):739-44.
- [14] Freour T, Masson D, Mirallie S, Jean M, Bach K, Dejoie T, Barriere P. Active smoking compromises IVF outcome and affects ovarian reserve. *Reprod Biomed Online* 2008 Jan;16(1):96-102.
- [15] Van Disseldorp J, Faddy MJ, Themmen AP, de Jong FH, Peeters PH, van der Schouw YT, Broekmans FJ. Relationship of serum anti-müllerian hormone concentration to age at menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2008 Jun;93(6):2129-34.
- [16] Bancsi LF, Broekmans FJ, Mol BW, Habema JD, Velde ER. Performance of basal follicle-stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2003 May;79(5):1091-100.
- [17] Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod* 2003 Feb;18(2):323-7.
- [18] Nelson SM, Yates RW, Fleming R. Serum anti-Müllerian hormone and FSH: prediction of live birth and extremes of response in stimulated cycles-implications for individualization of therapy. *Hum Reprod* 2007 Sep;22(9):2414-21.
- [19] Lee TH, Liu CH, Huang CC, Wu YL, Shih YT, Ho HN, Yang YS, Lee MS. Serum anti-Müllerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles. *Hum Reprod* 2008 Jan;23(1):160-7.
- [20] McTavish KJ, Jimenez M, Walters KA, Spaliviero J, Groome NP, Themmen AP, Visser JA, Handelsman DJ, Allan CM. Rising follicle-stimulating hormone levels with age accelerate fe-

male reproductive failure. *Endocrinology* 2007 Sep;148(9):4432-9.

[21] Fréour T, Mirallié S, Colombel A, Bach-Ngohou K, Masson D, Barrière P. Anti-müllerian hormone: clinical relevance in assisted reproductive therapy. *Ann Endocrinol (Paris)* 2006 Dec;67(6):567-74.

[22] Smeenk JM, Sweep FC, Zielhuis GA, Kremer JA, Thomas CM, Braat DD. Antimüllerian hormone predicts ovarian responsiveness, but not embryo quality or pregnancy, after in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2007 Jan;87(1):223-6. Epub 2006 Nov 1.

[23] La Marca A, Giulini S, Tirelli A, Bertucci E, Marsella T, Xella S, Volpe A. Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Hum Reprod* 2007 Mar;22(3):766-71.

[24] Tsepelidis S, Devreker F, Demeestere I, Flahaut A, Gervy Ch, Englert Y. Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Hum Reprod* 2007 Jul;22(7):1837-40.

[25] Lie Fong S, Baart EB, Martini E, Schipper I, Visser JA, Themmen AP, de Jong FH, Fauser BJ, Laven JS. Anti-Müllerian hormone: a marker for oocyte quantity, oocyte quality and embryo quality? *Reprod Biomed Online* 2008 May;16(5):664-70.

[26] Chen MJ, Yang WS, Chen CL, Wu MY, Yang YS, Ho HN. The relationship between anti-Müllerian hormone, androgen and insulin resistance on the number of antral follicles in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2008 Apr;23(4):952-7.

[27] Pellatt L, Hanna L, Brincat M, Galea R, Brain H, Whitehead S, Mason H. Granulosa cell production of anti-Müllerian hormone is increased in polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 Jan;92(1):240-5.

[28] Pigny P, Jonard S, Robert Y, Dewailly D. Serum anti-Müllerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 Mar;91(3):941-5.

[29] Soldevila PN, Carreras O, Tur R, Coroleu B, Barri PN. Sonographic assessment of ovarian reserve. Its correlation with outcome of in vitro fertilization cycles. *Gynecol Endocrinol* 2007 Apr;23(4):206-12.

[30] Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update* 2006 Nov-Dec;12(6):685-718.

[31] Hendriks DJ, Kwee J, Mol BW, te Velde ER, Broekmans FJ. Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients: a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count. *Fertil Steril* 2007 Apr;87(4):764-75. E

[32] Johnson J, Canning J, Kaneko T, Pru JK, Tilly JL. Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature* 2004 Mar 11;428(6979):145-50.

[33] Eggan K, Jurga S, Gosden R, Min IM, Wagers AJ. Ovulated oocytes in adult mice derive from non-circulating germ cells. *Nature* 2006 Jun 29;441(7097):1109-14.

[34] Veitia RA, Gluckman E, Fellous M, Soulier J. Recovery of female fertility after chemotherapy, irradiation, and bone marrow allograft: further evidence against massive oocyte regeneration by bone marrow-derived germline stem cells. *Stem Cells* 2007 May;25(5):1334-5.

[35] Liu Y, Wu C, Lyu Q, Yang D, Albertini DF, Keefe DL, Liu L. Germline stem cells and neo-oogenesis in the adult human ovary. *Dev Biol* 2007 Jun 1;306(1):112-20.

[36] Meredith S, Dudenhoefter G, Jackson K. Classification of small type B/C follicles as primordial follicles in mature rats. *J Reprod Fertil* 2000 May;119(1):43-8.

[37] Popovic-Todorovic B, Loft A, Bredkjaer HE, Bangsbøll S, Nielsen IK, Andersen AN. A prospective randomized clinical trial comparing an individual dose of recombinant FSH based on predictive factors *versus* a 'standard' dose of 150 IU/day in "standard" patients undergoing IVF/ICSI treatment. *Hum Reprod* 2003 Nov;18(11):2275-82.

[38] Klinkert ER, Broekmans FJ, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER. Expected poor responders on the basis of an antral follicle count do not benefit from a higher starting dose of gonadotrophins in IVF treatment: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2005 Mar;20(3): 611-5

[39] Lashen H, Ledger W, Lopez-Bernal A, Barlow D. Poor responders to ovulation induction: is proceeding to in-vitro fertilization worthwhile? *Hum Reprod* 1999 Apr;14(4):964-9.