

11204



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

"INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA"  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

1  
24

ESTANDARIZACION DE LA CORRELACION  
HISTO-HORMONAL ENDOMETRIO  
PROGESTERONA  
(OBSERVACION INICIAL)

*[Handwritten signature]*  
ALFREDO MARRADO DURAN

*[Handwritten signature]*  
DEL. JESUS PEREZ DE JEGURA

**T E S I S**

PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN  
"BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA"

P R E S E N T A :

**DR. EDGARDO BUSTILLOS ALAMILLA**

ASESOR

DR. HUGO BUSTOS LOPEZ

MEXICO, D. F.

**FALLA DE ORIGEN**

1991



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTANDARIZACION DE LA CORRELACION HISTO  
HORMONAL ENDOMETRIO PROGESTERONA.

INDICE:

I.- INTRODUCCION	-----	1.
II.-ANTECEDENTES	-----	3.
IV.- FORMACION CUERPO LUTEO	-----	6.
V.- FOLICULÓGENESIS	-----	8.
VI.-OVULACION	-----	15.
VII.- CUERPO LUTEO	-----	17.
VIII.- REGULACION DE SECRE- CION DE PROGESTERONA	-----	20.
IX.- CAMBIOS ENDOMETRIALES RECEPTIVOS	-----	23.
X.- MATERIAL Y METODO	-----	26.
XI.- RESULTADOS	-----	27.
XII.- DISCUSION	-----	36.
XIII.- BIBLIOGRAFIA	-----	41.

## I.- INTRODUCCION:

### "ESTANDARIZACION DE LA CORRELACION HISTO-HORMONAL, ENDOMETRIO PROGESTERONA".

La fertilidad es un derecho Humano, base angular del desarrollo, actitudes y convicciones en materia de Reproducción, que cada individuo experimenta de distinta manera; debiendo manifestarse, en un equilibrio de salud Bio-psico-social, de la pareja que lo compone.

A pesar de los innegables problemas de sobrepoblación del mundo, existe un número no despreciable, de parejas con incapacidad para concebir. Algunos médicos no se impresionan por la petición de los matrimonios infecundos, y no desean o no pueden dar la misma atención y cuidado que darían a sus pacientes muy graves. Esta actitud es producto de la ignorancia, de las grandes perturbaciones emocionales que muchas personas infecundas sufren, y la incompresión casi total hacia la tremenda incapacidad psicológica en ellos.

Se calcula que el 15% aproximadamente de la población en edad reproductiva tiene problemas de esterilidad. En los Estados Unidos de Norteamérica se calcula alrededor de 66 millones en edad reproductiva, y aplicando el índice de esterilidad vendría a ser de 10 millones aproximadamente. En México de alrededor de 20 a 25 millones en edad reproductiva, aproximadamente unos 4 millones tendrían problemas de esterilidad.

El estudio de la esterilidad, a través de la investigación médica y el desarrollo de nueva tecnología, se ha incrementado a grandes pasos en la última década. La aplicación de los conocimientos y los métodos existen-

tes han hecho que el diagnóstico y manejo de los diferentes factores etiológicos, sea más apropiado. A pesar de esto, un número de recursos diagnósticos a nuestro alcance, carecen de un contexto real, en el cual el valor predictivo y detector sea el adecuado.

Uno de los factores que se ha intentado identificar como responsable de la falla reproductiva, es el de la ovulación. Los principales indicadores utilizados, incluyen imágenes sonográficas, ensayos de hormonas reproductivas en suero y orina; además de medidas de cambios sistémicos ( Temperatura corporal basal, moco cervical y biopsia de endometrio) asociados con cambios hormonales del ciclo menstrual. Entre estos, siendo los más utilizados los de Biopsia de endometrio y determinaciones séricas de Progesterona.

El presente estudio pretende obtener una observación inicial que proceda a una estandarización de un protocolo de dichos indicadores.

## II.- ANTECEDENTES:

La ovulación marca la culminación de una serie de eventos iniciados, por el surgimiento de la Hormona Luteinizante, y caracterizado por el reinicio de la meiosis y la rotura de la vesícula germinal, iniciación de luteinización de las células de la granulosa, reestructurando la pared del folículo, con rotura folicular resultante y liberación de un óvulo fertilizable maduro.

Existen relaciones dinámicas entre Hipotálamo, Hipófisis y hormonas gonadales, las cuales permiten la naturaleza cíclica, de este fenómeno ovulatorio dentro de el proceso reproductivo. Estos cambios hormonales son correlacionados con cambios morfológicos en el ovario, haciendo la coordinación de este sistema, una de los más remarcables en la Biología.

El ciclo menstrual puede ser descrito mejor, dividiéndolo en 3 fases: Fase Folicular, Ovulación y Fase Lútea. Así pues, el ciclo menstrual es una expresión repetitiva, de la operación del sistema Hipotálamo-Hipófisis-Ovario, con cambios funcionales y estructurales asociados, en los órganos blanco (útero, oviductos, endometrio, vagina) de el tracto Reproductivo. Cada ciclo culmina en sangrado menstrual, y el primer día de la menstruación, es un punto de referencia aceptada para el inicio. (Fig.1).

Por lo tanto, las responsabilidades fisiológicas del ovario, son la liberación periódica de gametos (óvocitos), y la producción de hormonas esteroideas. Ambas actividades son integradas en los continuos procesos repetitivos de la maduración folicular, ovulación, formación

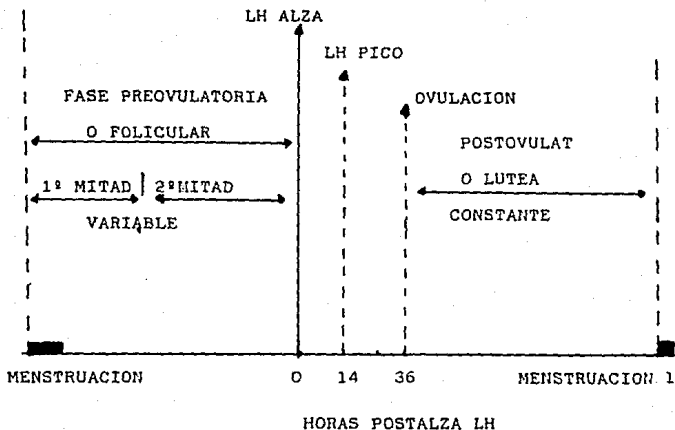


Fig. 1.- La fase folicular termina con el alza de LH y la fase lútea comienza siguiendo la ovulación.

del cuerpo lúteo y regresión del mismo. El ovario además, no puede ser visto como un órgano endócrino relativamente estático cuyo tamaño y función aumenta o disminuye, dependiendo del vigor de estimulación de las hormonas tróficas. Más bien la gónada femenina, es una cubierta conteniendo subunidades (folículo, cuerpo lúteo, estroma) con diferentes y variables propiedades biológicas, un tejido

heterogeneo, cuya ciclicidad es medida en semanas , más bien que horas.

Así pues vemos que por medio del entendimiento de la fisiología del ciclo menstrual, observamos la presentación de la fase lútea, y es bien sabido que un componente esencial de la función reproductiva satisfactoria en la mujer, es la creación y mantenimiento, de una buena calidad de la fase lútea. La función lútea es requerida , tanto para la implantación normal como la fisiología posterior a la implantación; y es creído que alteraciones en la función lútea normal resultan en problemas de esterilidad e infertilidad.

El cuerpo Lúteo es un órgano endócrino transitorio, formado por células posteriores a la ovulación del folículo. El conocimiento de que el cuerpo lútero es requerido para un embarazo satisfactorio, fué descubierto primeramente en 1903 por Frankel, quién estudio el embarazo en conejas, al remover el cuerpo lútero se perdía . Sin embargo la naturaleza de la sustancia que el cuerpo lúteo producía para mantener el embarazo, permaneció desconocido por algunas dos décadas. En 1929, Allen y Corner mostraron que un extracto lipoideo del cuerpo lúteo, podía mantener el embarazo en conejas oforectomizadas unos días después de su fecundación. El componente responsable para mantener el embarazo, fué llamado subsecuentemente Progesterona. Su purificación y cristalización, fueron primero realizado por Allen y Wintersteiner en 1934. Ahí comenzó una mayor interés, en entender los factores que regulan la vida y función del cuerpo lútero. En suma, 25 a 55 %, de todos los embriones de mamíferos, son perdidos



durante la gestación temprana, y muchas de estas pérdidas parecen ser debido a función lútea inadecuada.

#### FORMACION DEL CUERPO LUTEO:

La formación del cuerpo lútero es iniciado por una serie de cambios bioquímicos y morfológicos, en las células de la Teca interna y membrana de la granulosa del folículo ovulatorio. Esto es llamado luteinización. Estos cambios ocurren como un resultado de los aumentos dramáticos, en niveles séricos de LH, asociados con el surgimiento preovulatorio de esta hormona.

Para entender la composición y función del cuerpo lútero, es necesario revisar los eventos que ocurren en el folículo dominante hacia la ovulación, el cual sufre un cambio de un órgano de tres células, el folículo de Graaf hacia un órgano de dos células, el cuerpo lútero (3).

La Teca no Luteinizada y células de la granulosa, el continuo folicular, el cual viene a ser luteinizado y forma el cuerpo lútero, son morfológicamente diferentes de sus precursores no luteinizados, en apariencia por el microscopio electrónico, e histoquímicamente, indicando funciones cambiadas (4). Encuentros provocativos, indican que el óvulo puede dirigir estas funciones cambiantes en el folículo (5), justo como el ovocito fertilizado, a través de la producción de Gonadotropina Coriónica, dirige la función del cuerpo lútero. La capacidad funcional y estabilizadora del cuerpo lútero, para estar en relación a el desarrollo del óvulo, la cual parece ser la función de primer orden de ambos, el folículo de Graaf y el cuerpo

lúteo, como el óvulo acompleta su destino hacia el embarazo.

Como la luteinización y formación del cuerpo lúteo, es simplemente una extensión natural, del crecimiento folicular y ovulación, es importante entender ciertos cambios que ocurren en el desarrollo folicular.

El folículo sobrelleva crecimiento y diferenciación hacia un folículo preovulatorio, que secreta adecuado estrógeno para estimular desarrollo endometrial y disparar el surgimiento de la LH al mediociclo. En suma, el folículo provee un medio ambiente para mantenimiento y maduración del ovocito; sobrellevando también diferenciación del cuerpo lúteo, el cual secreta la progesterona necesaria para la implantación del embrión.

La inducción y primera aparición de receptores para LH, durante el curso del desarrollo folicular, ha sido intensamente estudiado, particularmente en células de la granulosa. Células de la granulosa obtenidos de folículos de cerdo o rata inmadura, posee pocos, si es que algún receptor para LH (6); sin embargo conforme los folículos maduran, y aumentan en tamaño, el número de receptores para LH aumentan dramáticamente. De acuerdo a Richard y Cols. , el 17  $\beta$  estradiol, actúa sobre las células de la granulosa para aumentar la concentración de su propio receptor e inducir receptores para FSH; la FSH actúa sobre células de la granulosa preparadas con estrógenos, para aumentar receptores para ambos, FSH y LH; La LH actúa sobre células preparadas con LH y estrógenos, para efectuar una disminución en receptores para Estradiol, FSH, LH y al

mismo tiempo promover un aumento en el número de receptores para Prolactina.

Como ya expresamos anteriormente, el fenómeno de la luteinización es una extensión del proceso de la foliologénesis y de la ovulación; procesos que es indispensable conocerlos.

**FOLICULOGENESIS:** Los folículos se desarrollan, tanto morfológicamente, como funcionalmente. El desarrollo del folículo actualmente puede ser dividido en ocho subclases (7). El desarrollo desde el folículo primario a el preovulatorio, puede tomar tanto como 85 días (Fig.2). El número de células de la granulosa, aumenta de  $1 \times 10^3$ , a mayor de  $60 \times 10^6$  células; el diámetro del folículo aumenta de 0.1 a 20 mm. Esta proyección cubre varios ciclos menstruales (Tabla 1).

Las actividades hormonales del folículo, pueden solo ser estudiadas, para los últimos 12 a 14 días (8), que es, durante la fase folicular de el ciclo ovulatorio en el cual, los folículos pasan a través de las clases 6, 7 y 8.

El más temprano histológicamente identificable de los folículos, es el "folículo primordial", el cual existe como un ovocito rodeado por una sola capa de células de la granulosa. El ovocito es arrestado en el estadio de Diploteno, de la profase meiótica, hasta la ovulación. El crecimiento limitado inicial del folículo, es un proceso continuo, que ocurre independientemente de la estimulación gonadotrópica y puede ser en mujeres prepúberas y sin interrupción durante el embarazo. El número de

folículos a desarrollar es proporcional al número de folículos que se mantienen, y disminuyen con la edad.

La diferenciación y el desarrollo a partir de aquí, es dependiente de gonadotropinas y esteroides ováricos.

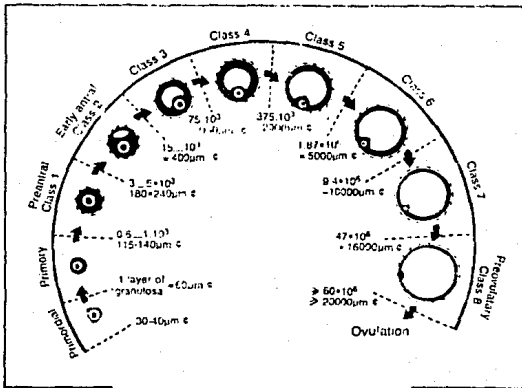


Fig. 2 .-Clasificación del desarrollo folicular en el ovario Humano.

AMSTERDAM: EXCERPTA MEDICA 1982.

TABLA 1. DESARROLLO FOLICULAR: EN EL OVARIO HUMANO.

Clase de folículo	Tiempo de entrada	Diámetro (mm)	Nº de cél. granulosa	Índice mitótico	Tiempo en C/clase(días)
1	Ciclo 1 fase lútea	0.2	$3-5 \times 10^3$	3.8	25
2	Ciclo 2 fin fase fol.	0.4	$15 \times 10^3$	4.1	20
3	Ciclo 3 Fase fol.	1.0	$75 \times 10^3$	5.3	15
4	Ciclo 3 fase med.cicl.	2.0	$375 \times 10^3$	8.5	10
5	Ciclo 3 fase lut.tard.	5.0	$1.9 \times 10^6$	10.1	5
6	Ciclo 4 fase fol.temp.	10.0	$9.4 \times 10^6$	10.6	5
7	Ciclo 4 fase med. fol.	16.0	$47 \times 10^8$	10.7	5
8	Ciclo 4 fase fol. tard.	20.0	$60 \times 10^6$	5.2 0.5	5

EXERPTA MEDICA 1982.

Los folículos preantrales, han aumentado el número de células de la granulosa. El ovocito desarrolla la zona pelúcida. En la transición a el folículo antral, las células de la granulosa proliferan dentro de múltiples capas y organizan la capa Tecal, para formar el estroma que rodea. Las células de la granulosa, pueden sintetizar las tres clases de esteroides, aunque producen significativamente más estrógeno, que andrógeno o progestinas.

En la presencia de FSH, el folículo puede convertir cantidades limitadas de andrógenos a estrógenos, para crear su propio ambiente microambiente estrogénico. La FSH incrementará la concentración de receptores de FSH en las células de la granulosa. La FSH en combinación con el estrógeno, ejerce una acción mitogénica (9), estimulando la proliferación de las células de la granulosa y promoviendo más acumulación de receptores de FSH. La FSH también induce receptores de LH, Prolactina y factor de crecimiento epidérmico. Los andrógenos foliculares a bajas concentraciones, favorecen la aromatización y contribuyen a la producción de estrógenos, mientras que a altas concentraciones se inhibe la aromatización y el folículo viene a ser atrésico. También se forman las uniones de brecha entre las células de la granulosa, incrementando la comunicación intercelular.

En el folículo antral, la producción de líquido folicular aumenta, formando el antrum. La teca se desarrolla y ocurre la vascularización. Cuando la FSH viene a ser detectable en el líquido folicular, concentraciones de estrógenos vienen a exceder la de los andrógenos. Si el nivel de LH viene a ser prematuramente elevado, disminuye

la actividad mitótica de la granulosa y los niveles de andrógenos intrafolicular suben, con subsecuentes cambios degenerativos. Así la LH estimula el tejido Tecal para la producción de andrógenos, los cuales son convertidos a estrógenos por aromatización inducida por la FSH a las células de la granulosa. Este esfuerzo combinado, induce la producción de estradiol más eficiente, necesaria para generar el surgimiento de estrógeno preovulatorio.

Aunque el estrógeno ejerce una influencia positiva en la acción de la FSH dentro del folículo, uno debe recordar su retroalimentación negativa, disminuyendo la FSH, favoreciendo un microambiente androgénico en los folículos más inmaduros, favoreciendo la atresia. A través de este mecanismo, la selección del folículo dominante, puede ocurrir por el día 7 (8). Por el día 9, el folículo dominante tiene dos veces la vasculatura de los otros folículos antrales.

En el folículo preovulatorio, el ovocito resume la meiosis, acompletando su división reduccional, el estradiol es producido en cantidades mayores, alcanzando su pico, 24 a 36 horas antes de la ovulación. La FSH declina a un Nadir justo antes del surgimiento Gonadotrópico. A concentraciones mayores de 200 pg/ml por lo menos durante 30 horas, el estradiol estimula el surgimiento de LH. La LH promueve la luteinización de la granulosa con producción de progesterona. La progesterona preovulatoria aumenta la retroalimentación positiva del estradiol y lleva a un surgimiento combinado de LH/FSH.

En adición a los efectos de las gonadotrofinas en los folículos ováricos, un número de hormonas intraová

ricas y péptidos, juegan un rol en el desarrollo folicu- lar, algunos conocidos y otros no conocidos. Fig.3.

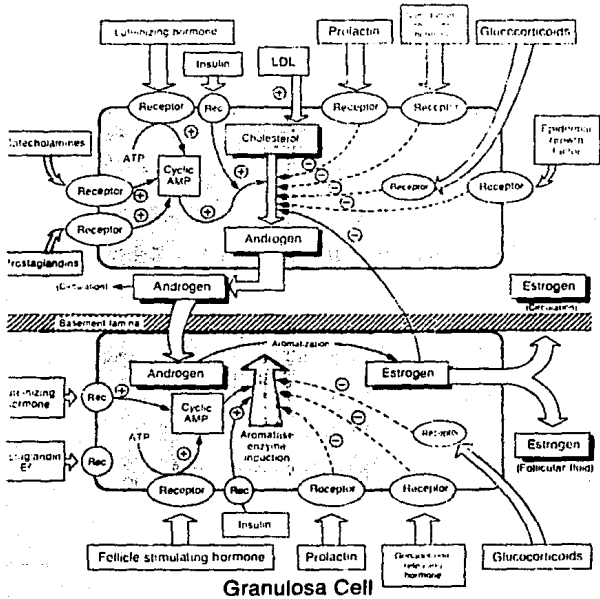


Fig. 3.-Efecto de una variedad de hormonas intra y extragonadales.



Se ha hipotetizado que el óvulo da el ímpetu para la iniciación de la sensibilidad a la Gonadotropina . Sin embargo, la Teca es quizás, la célula progenitora del folículo, controlando la última maduración del ovocito a través de la respuesta del receptor de LH. Conforme se da la sensibilidad a la Gonadotropina, la LH induce un factor "Angiogénico " aún no bien definido de la Teca, aumentando el suplemento sanguíneo y la aromatasa para la síntesis de estrógeno.

Antes de la ovulación, la mayor función de las células de la granulosa, es mantener al óvulo en arresto meiótico, e inducir la maduración citoplásmica, mediante proteínas y péptidos para el RNA mensajero. El mecanismo de energía de la estimulación Gonadotrópica, es por generación de AMP cíclico y Adenosina, y fosforilación de proteínas a través del sistema Proteincinasa A. Las células de la Teca y la Granulosa, cambian función al ser luteinizadas, al momento del surgimiento de LH y ovulación, cuando el cuerpo Lúteo viene a ser un órgano de doble célula. La célula de la granulosa luteinizada, es ahora una célula diferenciada completamente. Cesa de llevar división mitótica y tiene un estable RNAm para síntesis de Progesterona. Se continúa sin embargo, a sintetizar proteínas y péptidos, aparentemente a través de la activación del paso Proteincinasa C. (10).

Los receptores de LH inducidos en las células de la granulosa, parece diferir en algo respecto de los receptores endógenos de LH, en la Teca y Células Intersticiales, en que estos receptores son ocupados, no se internalizan, pero continúan a traducir durante un espacio de

10 días, presumiblemente debido al mensajero estable. Las células de la granulosa, además sintetizan y secretan Progesterona por 10 días, período en el cual cesa la esteroidogenesis. Las células de la granulosa no responden al - pulso de LH, con producción de Progesterona, ni responde a la b HCG.

OVULACION: La ovulación ocurre aproximadamente 16.5 horas después del pico de los niveles de LH (3 a 36) o sobre 32 horas después del comienzo del alza de LH ( 16 a  $48 \pm 6$  horas). El surgimiento de LH reinicia la Meiosis luteinización de las células de la granulosa y rotura del folículo. La LH estimula el AMPc, el cual reduce los inhibidores locales de meiosis y luteinización (factores inhibidores de la maduración del ovocito y luteinización. La LH, actuando por medio del AMPc y/o producción de Proges- terona, aumenta las enzimas proteolíticas, la colagenasa y plasmina, enzimas capaces de aumentar la distensibilidad de la pared folicular(7).

La LH comienza la síntesis de Prostaglandinas , las cuales causan contracción del músculo liso ovárico . El activador del plasminógeno, requerido para la conver - sión de plasminógeno a plasmina, es más sensible a la es- timulación de la FSH que de la LH, de ese modo puede ser importante el surgimiento de mediocilo de la FSH en la ovulación.

Una combinación de degradación enzimática de la pared folicular y además de contracción intrafolicular , parece causar rotura del folículo y expulsión del ovocito en este fenómeno. La secreción de otras sustancias por el folículo probablemente también ocurran, pero estas aún no

han sido caracterizadas. Las neuronas adrenérgicas de la pared folicular, son activadas ya sea por la LH, o neurologicamente y secretan norepinefrina.

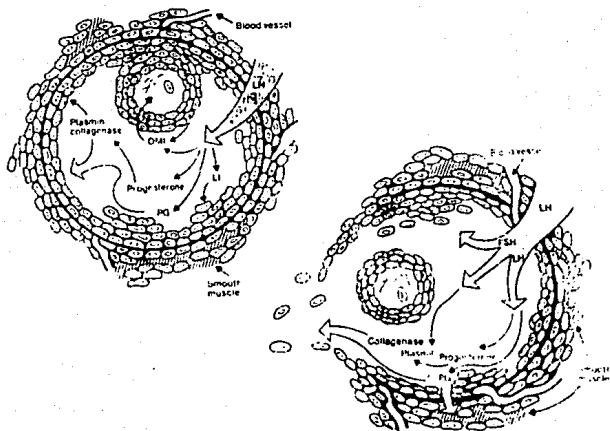


Fig. 4.-Complejo bioquímico y hormonal en el folículo preovulatorio y ovulatorio.

Ocurrén cambios morfológicos y bioquímicos en el ovocito, al llevar la terminación de la primera división meiótica en la ovulación.. Ovocitos que son removidos de folículos antrales y cultivados, sobrellevan maduración, en ausencia de surgimiento de LH; la suma de líquido folicular inhibe esta maduración (11). El inhibidor de la maduración del ovocito es pensado ser la sustancia responsable; este producto de las células de la granulosa, creído ser un pequeño péptido, depende de lo intacto de las células del cumulus. Una hipótesis es que la actividad es mediada por las uniones de brecha (gap junction) y pueden activar AMPc al ovocito, el efecto termina con el bloqueo de estas uniones al momento de la ovulación. En suma al agotamiento de la vesícula germinal, un cambio nuclear morfológico, además de otros ocurren en el citoplasma. Los datos sugieren que altos niveles estrogénicos en el líquido folicular, son necesarias para una maduración normal y total del ovocito.

CUERPO LÚTEO: Después de la ovulación, el antro folicular se llena con vasos sanguíneos y linfáticos. Las células Tecaluteinizadas, por otro lado, continúan a responder a los pulsos de LH, con síntesis de Estrógenos y ahora de Progesterona. Un factor Angiogénico, quizás relacionado a la Angiotensina II, continúa a ser un aspecto importante de su función, conforme la vascularización del cuerpo Lúteo ocurre (3). Contrario a las células de la granulosa, las células de la Teca continúan multiplicándose y dividiéndose. Si el embarazo ocurre, es la Teca Luteinizada que responde a la estimulación de HCG del coneptus es por ello que son las células Tecaluteínicas las que -

componen el cuerpo lúteo del embarazo.

Como ya se estableció, desde que las células de el cuerpo lúteo, parecen derivadas de por lo menos dos tipos de células secretando esteroides (Teca y Granulosa), no es sorprendente que el cuerpo lúteo consista de dos tipos de células lúteas que son morfológicamente distintas.

1.-Células lúteas largas, luteogranulosas, tipo II, células D.- Son de 40 um en diámetro. Bajo el microscopio de luz, aparecen poliédricas, con un citoplasma ligeramente teñido y núcleo central. Ultraestructuralmente, contiene todos los elementos de células secretoras de esteroides, numerosas mitocondrias y abundante retículo endoplásmico liso (12).

2.- Células pequeñas, Tecaluteínicas, Tipo I, células I.- Tienen un diámetro de 22 um ó menos, aparece con un citoplasma obscuro, largas gotas de lípido y un núcleo de forma irregular con inclusiones citoplásmicas.

¿Cuál es la diferencia en estas dos células luteinizadas que permiten a ambas sintetizar Progesterona? Quizás es la inducción de receptores de Lipoproteínas de baja densidad (LDL), los cuales permiten la internalización del Colesterol, el precursor obligatorio de la Progesterona. En algunas especies, estos receptores son producidos, por la Prolactina (13). El surgimiento de Prolactina al medio ciclo puede inducir receptores de LDL tanto en células de Teca como de la Granulosa. En los primates, el cuerpo lúteo es el principal origen de la Progesterona y provee la hormona esencial, el soporte para la implantación y el mantenimiento de el embarazo temprano.

El rol de la LH como un determinante de la fun-

ción del cuerpo lúteo después de la ovulación , permanece en duda. Un concepto consideró una pequeña cantidad de LH lútea como necesaria para la función normal del cuerpo lúteo (14). El reporte de niveles de Progesterona normal en hipofisectomía postovulatoria de monos, concluyó que las Gonadotropinas y más específicamente la LH, no fueron necesarias para la función normal del cuerpo lúteo. Sin embargo estudios más recientes en primates no humanos y mujeres, indican que el cuerpo lúteo, requiere a lo menos una mínima cantidad de soporte de LH para la secreción de progesterona normal.

Un número de otros posibles reguladores parácrinos, incluyendo linfokinas y monokinas, han sido reportados reportar a las células de la granulosa luteinizadas . Factores de Crecimiento, por ejemplo el Factor I de crecimiento como la Insulina, efectúan producción de Progesterona por el cuerpo lúteo, mientras que el factor de crecimiento epidérmico, inhibe la producción.

Uno de los misterios de la función ovárica de los primates, es el control de la luteolisis. Después de la diferenciación de la granulosa y células de la Teca, a cuerpo lúteo con máxima luteinización, las concentraciones de LH y FSH permanecen bajas. El estradiol tiene un pico al igual que la progesterona, posteriormente caen abruptamente 2 o 3 días antes de la menstruación. La causa de estos cambios permanecen desconocidos.

Varias hipótesis pueden explicar la regresión lútea. Una explicación puede ser (16) una reducción en los niveles bioactivos de LH, o un cambio en la frecuencia pulsátil de LH. Esto es atribuido a una retroalimentación ne

gativa producida por la Progesterona. Otra posibilidad es una recientemente notada alza en los niveles de Inhibina en la fase lútea, la cual puede afectar los niveles de la FSH. Otra hipótesis es una disminución en los receptores de LH, ya que el número de los receptores disminuye en la fase lútea tardía. También las Prostaglandinas han sido implicadas, las cuales provienen endometrio. En el humano son producidas localmente porque la Histerectomía no previene la Luteólisis

#### REGULACION DE SECRECION DE PROGESTERONA:

La producción de progesterona es dependiente sobre un delicado balance entre factores luteotrópicos y luteolíticos.

Los mecanismos envueltos en la síntesis y secreción de Progesterona, son complejos, aunque esta hormona es el primer componente biológicamente activo, producido en el paso biosintético esteroidal. El Colesterol unido a las Lipoproteínas de baja densidad (LDL), producidas por el hígado, es el primer sustrato para la síntesis de la Progesterona. Sin embargo bajo algunas condiciones las células lúteas también sintetizan Colesterol a partir del Acetato. Las células lúteas contienen receptores de LDL, lo que transporta Lipoproteínas de afuera hacia adentro de las células por endocitosis, adentro se combinan con lisosomas y el Colesterol es liberado; el Colesterol libre es esterificado y almacenado en forma de lípidos, o es usado para la biosíntesis esteroidea, o en los constituyentes, membranosos de la célula.

Para la biosíntesis de Progesterona, el Coleste

rol es transportado a la Mitocondria, donde es convertido a Pregnenolona; luego en el Retículo endoplásmico liso, la Pregnenolona es convertida a Progesterona por la 3 $\beta$  hidroxisteroide deshidrogenasa e isomerasa y es secretada la Progesterona. La célula lútea tiene una limitada capacidad para almacenar Progesterona. El supuestamente factor endócrino más importante, en regular la síntesis de la producción de Progesterona es la LH.

Una vez que el cuerpo lúteo comienza a desarrollarse, la secreción de Progesterona por esta glándula parece ser altamente correlacionada, con el número de receptores para LH. Hay un aumento de 6 veces en el número de receptores y el peso del cuerpo lúteo y un aumento de 10 veces en las concentraciones séricas de Progesterona, durante este mismo período. Aunque la secreción de Progesterona por células lúteas grandes no es dependiente de LH el número de células lúteas grandes puede depender, a menos en parte de esta hormona. Receptores para LH podrían ser inactivados o secuestrados dentro de la membrana plasmática y de ese modo venir a ser inaccesibles para unirse o que el complejo hormona receptor puedan ser internalizados. La internalización es un proceso de degradación más que un mecanismo de acción. Fig. 5.

La fase Lútea en sí, es más caracterizada por la secreción de Progesterona; la Progesterona estimula la maduración de las glándulas endometriales y transformación decidual del estroma endometrial, de esa forma proveyendo el soporte hormonal para la implantación y el buen desarrollo de la gestación. Dada la complejidad de la fisiología del cuerpo lúteo, hay considerable potencial para e



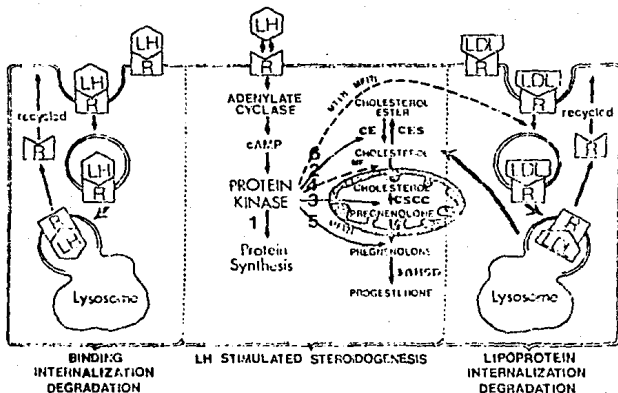


Fig. 5.-Representación esquemática de los eventos intracelulares envueltos en la esteroidogénesis estimulada por LH.

error, que podría resultar en inadecuada función del cuerpo lúteo, y que ha sido referida como insuficiencia de la fase lútea, o fase lútea inadecuada. En la vasta mayoría de los casos, deficiencia de la fase lútea (LPD), es un problema de inadecuada secreción de Progesterona por el cuerpo lúteo, aunque puede resultar de una disminución de la respuesta del órgano terminal (Utero) a la Progesterona.

Midiendo el índice de secreción de la Progesterona, se observa que de pocos miligramos durante la fase folicular del ciclo, la cantidad aumenta hasta 10 a 20 mg durante la fase luteínica. La Progesterona liberada, conduce al desarrollo de un endometrio secretorio. La observación que los estrógenos estimula la síntesis de estrógenos y receptores de Progesterona, en los tejidos del tracto reproductivo y que secuencialmente la Progesterona tiene un efecto suprsivo, opuesto en ambos sistemas receptores, ya es comprobado.

Las glándulas endocervicales están también bajo la influencia de la Progesterona, y la abundante secreción acuosa de las estructuras estimuladas, por los estrógenos se convierte en un material viscoso. En el epitelio vaginal, muestra un aumentado número de células precornificadas, fragmentos mucoso y agregados celulares. En las tubas uterinas muestra una disminución de los movimientos; en las mamas, desarrolla los lóbulos a partir de los conductos mamarios, pero quizá el efecto más importante desde el punto de vista clínico al menos, es sobre el endometrio. (18).

#### CAMBIOS ENDOMETRIALES RECEPTIVOS:

El endometrio es conocido a demostrar un patrón predecible y más bien rápido, de cambios histológicos sobre el ciclo menstrual. Estos patrones histológicos son capaces de fechar al endometrio en relación al ciclo menstrual.

Los cambios histológicos son primariamente atribuibles a la influencia de las hormonas esteroideas, Estrógeno y Progesterona. Aunque los Patólogos han sido enterados, ha habido un patrón de histología endometrial -

desde 1900s, y fué que en 1950 que la clásica descripción de fechado endometrial, fué publicado por Noyes, Hertig y Rock(19). Estos autores examinaron más de 8000 biopsias en dometriales y propusieron un criterio para usarse como fecha menstrual, basado en un ciclo teórico de 28 días (20) Su intención establecida fué el documentar la biopsia endometrial como una prueba cuantitativa. Estos autores reportaron también la impresión de que la biopsia podría acelerar el sangrado menstrual siguiente.

Se ha encontrado que no hay cambios apreciables en el endometrio en los días 14 y 15 del ciclo. De ahí en adelante establecieron cambios a través de 8 factores estudiados:

- 1.- Mitosis glandular.
- 2.-Pseudoestratificación del núcleo.
- 3.- Vacuolización basal.
- 4.-Secreción.
- 5.- Edema estromal.
- 6.- Reacción Pseudodecidual.
- 7.- mitosis estromal.
- 8.- Infiltración Leucocítica.

Posterior a estas descripciones iniciales, se acompañaron por varias sugerencias para maximizar la sensibilidad de este sistema:

- 1.-Usar todos los 8 criterios histológicos.
- 2.-Fechar la biopsia por el area más avanzada.
- 3.-Leer las biopsias obtenidas en la mitad y fase lútea tardía.

Su descripción ha sido ampliamente aceptada como un criterio Standar, sin embargo ha generado mucha con

troversia, por haber utilizado pacientes con trastornos de esterilidad y la variación en trastornos de defecto de fase lútea ha sido del 4 al 65%. Mientras algunos investigadores reportaron la presencia de significativa correlación entre biopsia endometrial y determinación periférica de Progesterona, otros no(21). Tin Chiu Li y Cols. establecieron hipotéticamente que estas controversias en la literatura era debido a la carencia de precisión de estos criterios de Hoyer, por lo que diseñó un análisis morfométrico, ya empleadas por primera vez por Johannison y Cols. De las 5 medidas consideradas en este análisis, 4 se relacionan a las glándulas y solo una al estroma. Y las 4 referidas a las glándulas miden: actividad mitótica, dos actividades secretoria y otra arreglo estructural de las células glandulares.

A pesar de los grandes avances en materia de métodos de detección ovulatoria y adecuada actividad lútea, no se ha llegado a establecer el patrón ideal.

### III.-MATERIAL Y METODO:

Los sujetos incluidos en este estudio, comprenden pacientes femeninas de la Clínica de Esterilidad del Instituto Nacional de Perinatología.

Como una parte de la evaluación rutinaria dentro del estudio de esterilidad e infertilidad, se tomaron una biopsia de endometrio a cada paciente, al igual que tres determinaciones séricas de Progesterona.

El número de pacientes estudiada fué de 18, a las cuales se les registraron: edad, escolaridad, estado civil, peso, estatura, antecedentes patológicos, Gineco Obstétricos y si hubo algún factor concomitante al estudio de esterilidad.

Las biopsias de endometrio fueron tomadas con el uso de cucharilla de Novak, sin dilatación del cérvix y sin anestesia. Las muestras tomadas fueron fijadas en formaldehido y posteriormente bajo la técnica habitual de H.yE. fueron valoradas para establecer la respuesta secretora ó proliferativa (supues. ovul.) Las biopsias fueron tomadas entre los días 18 y 26 del ciclo determinado a partir del primer día menstrual.

Se tomaron 53 muestras séricas en las 18 pacientes, y fueron medidas por Radioinmunoensayo (RIA), <sup>125</sup>I en el Laboratorio de Endocrinología del INPER, realizando control de calidad estadístico, reportándose en Ng/ml. Las muestras sanguíneas fueron tomadas entre los días 18 y el 28 del ciclo de acuerdo al primer día de

la menstruación. A todas las pacientes se les calculó la masa corporal, mediante la fórmula de

$$\text{Índice de MC} = \frac{\text{peso}}{\text{estatura}^2} \text{ m}^2 = \text{más de 22} \\ \text{obesidad}$$

estos se relacionaron con la determinación de Progesterona sérica.

Análisis Estadístico.- Se realizaron determinaciones de la media, suma de la media, Desviación Estandar y rango respectivamente. Se realizó un estudio Paramétrico.

#### IV.- RESULTADOS:

Se obtuvieron dos grupos de pacientes de acuerdo al resultado de las biopsias de endometrio:

Grupo I.-Endometrio Secretor con 15 pacientes.

Grupo II.- Endometrio Proliferativo con 3 pacientes.

En la tabla I, se reportan todos los valores obtenidos en los dos grupos, de acuerdo al día. La media en los niveles de Progesterona del Grupo I, fué de 7.35 ng/ml, siendo el número de muestras de 44, con una Desviación Estándar de 7.66 y un rango de 0.23 a 26.

En el Grupo II, la media fué de 2.38 ng/ml, una Desviación Estándar de 3.26, siendo 9 muestras y un rango de 0.44 a 8.7. (Tabla 2).

Cada valor se esquematizó para cada paciente en 3 determinaciones sucesivas (Tabla I)..

TABLA I: Determinaciones seriadas de  $P_4$  de acuerdo al día del ciclo.

Nº	Secretor			Proliferativo		
	Día/Pro	Día/Pro	Día/Pro	Día/Pro	Día/Pro	Día/Pro
1	18 26	20 12	22 5.6	22 1	24 7.5	26 8.7
2	19 6.4	22 4.5	24 .53	23 .54	25 1	27 1
3	21 .45	23 .45	26 .4	26 .44	28 .6	32 .64
4	20 1	22 1	26 1			
5	18 3.3	23 20.5	25 25			
6	19 14	22 14	24 19.5			
7	20 18	22 16.5	25 12.5			
8	22 8.5	25 2.9	27 .42			
9	18 .54	22 6.2	23 3.7			
10	18 15	20 11	22 5.2			
11	18 22	20 14	22 11			
12	17 .5	18 .31	20 .25			
13	24 7	26 .9				
14	22 6.2	23 3.7	26 .54			
15	24 .58	26 .26				

TABLA II.- Valores totales de Progesterona obtenidos en mujeres con endometrio secretor (I) y prolif.(II).

Grupo I	Grupo II
X= 7.35 ng/ml	X= 2.38 ng/ml
D.S.= 7.66	D.S.= 3.26
n= 44	n= 9
Ex= 323.5	Ex= 21.42
Rango= (26 - 0.23)	Rango= (8.7 - 0.44)

La evaluación reveló, que el 17 % (3) de las pacientes tenían endometrio secretor, por estudio Histopatológico y el resto 83% fué endometrio proliferativo.

La edad para el Grupo I, fueron de 30.6, con Desviación Estándar (S.D.) de 5.08, con un rango de 20 a 37 años. El Grupo II, tuvo una edad promedio de 26 años, DS. de 2.64 y un rango de 23 a 28 años. (Gráfica 1).

Con respecto a peso y estatura, el Grupo I mostró un peso de 58.61 kg., DS. de 9.03, con un rango de 46.5 a 84.7 kg. El Grupo II presentó peso de 63.3kg, con DS. de 9.29, con un rango de 56.5 a 75 kg. Con observación en la estatura fué de 1.54 m en el Grupo I, DS. de 0.06, con un rango de 1.42 a 1.65 m. En el Grupo II, la estatura media fué de 1.54 m, DS. de 0.06, y un rango de 1.50 a 1.61 m. A cada mujer le fué calculado un índice de masa corporal, (I.M.C.) mediante la fórmula descrita previamente. (Tabla III). La cual se relacionó con la media de Progesterona de todas las pacientes. (Gráfica 2).

En esta muestra se observa, un 88.8 % de los pacientes obesos, independientemente del estrato analizado, (Endometrio Secretor Vs. Proliferativo), definido como un I.M.C mayor a 22, lo cual ha sido señalado en la gráfica 2.

Se observa además que el 61.1 % de los pacientes independientemente del estrato, tenían valores por abajo de 5 ng/ml de Progesterona. Y de estos el 90 %, correspondieron a pacientes con algún grado de Obesidad (Gráfica 2) A pesar de lo anterior, no se realizó ninguna correlación entre alteraciones ponderales y función lútea, debido a



TABLA III.-Determinación de IMC. por Grupos y Progesterona promedio.

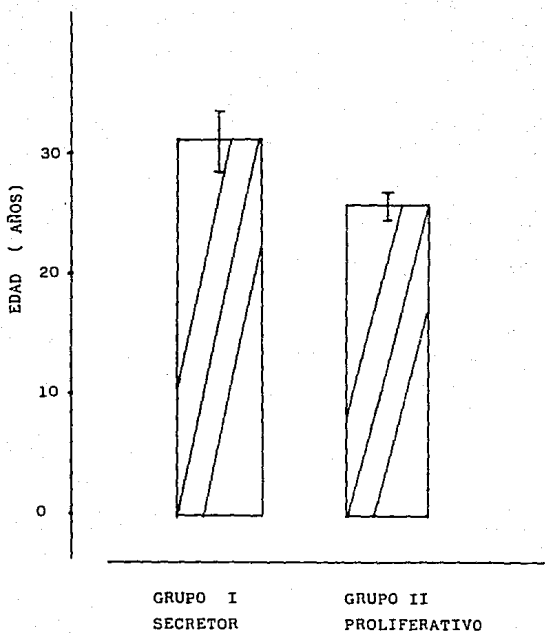
Grupo I			Grupo II	
	IMC.	Prog.	IMC.	Prog.
1.-	22.06	14.53	24.7	5.73
2.-	33.08	3.81	28.9	0.84
3.-	26.92	0.43	29.95	0.54
4.-	26.66	1		
5.-	21.83	16.26		
6.-	22.42	15.83		
7.-	26.11	15.66		
8.-	26.42	3.94		
9.-	23.64	3.48		
10.-	23.02	10.4		
11.-	23.33	15.66		
12.-	24.09	0.34		
13.-	22.64	3.95		
14.-	21.19	3.48		
15.-	24.57	0.42		

el número de pacientes.

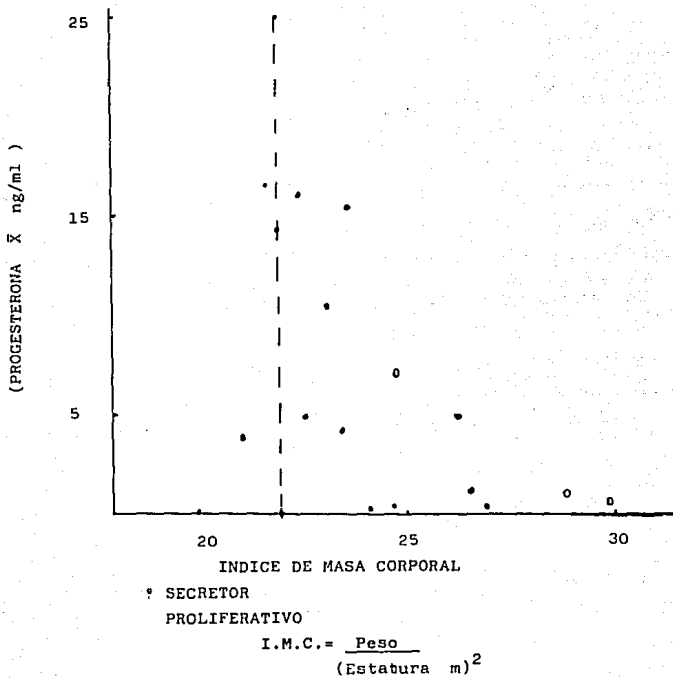
Al graficar la concentración de Progesterona, considerando el día del ciclo, se observó una distribución muy heterogénea de los valores de Progesterona con D. S. dependiendo de la fecha muestreada, inaceptablemente, altas. (Gráfica 3)

No se observó ninguna correlación entre el día del ciclo y la concentración de Progesterona dependiente del estrato, sin embargo, cuando las determinaciones de Progesterona fueron evaluadas en forma conjunta ( tres de terminaciones ) de una misma paciente, en la fase lútea sucesivamente, fué posible observar al analizarlo por estratos, que todas las pacientes con endometrio proliferativo, tenían por abajo de 6 Ng/ml de Progesterona. Ninguna paciente del Grupo con endometrio secretor, tuvo menos de 2 ng/ml; y es posible visualizar elementos pronósticos en cuanto a la correlación biopsia de endometrio y concentración de Progesterona, en aquellas pacientes con concentraciones superiores a los 10 ng/ml, también en forma conjunta.

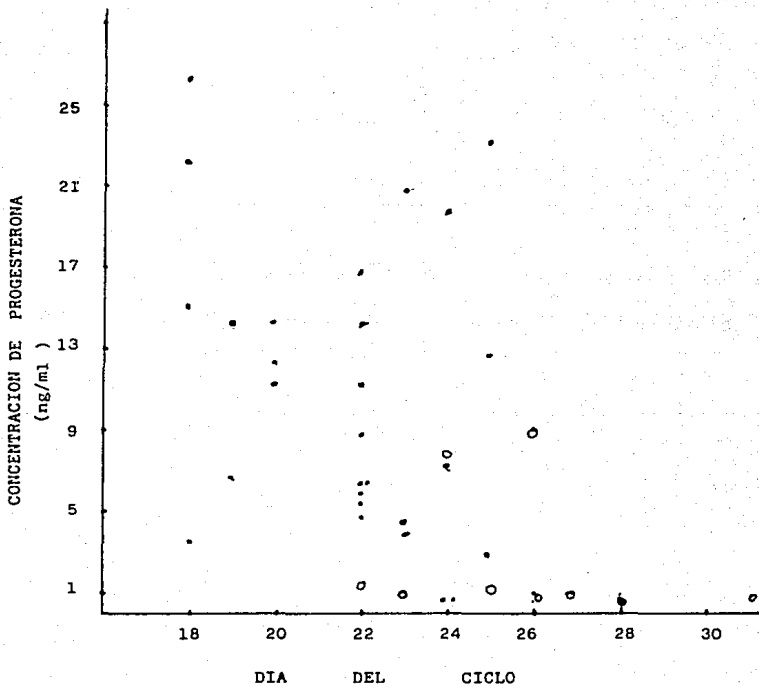
El Cenit y Nadir de la interpretación anterior; se observa un margen intermedio de pacientes de entre 2 y 6 ng/ml, en los cuales no es posible definir el estrato al que pertenecen. (Gráfica 4)



GRAFICA 1.- Relación Por edad.

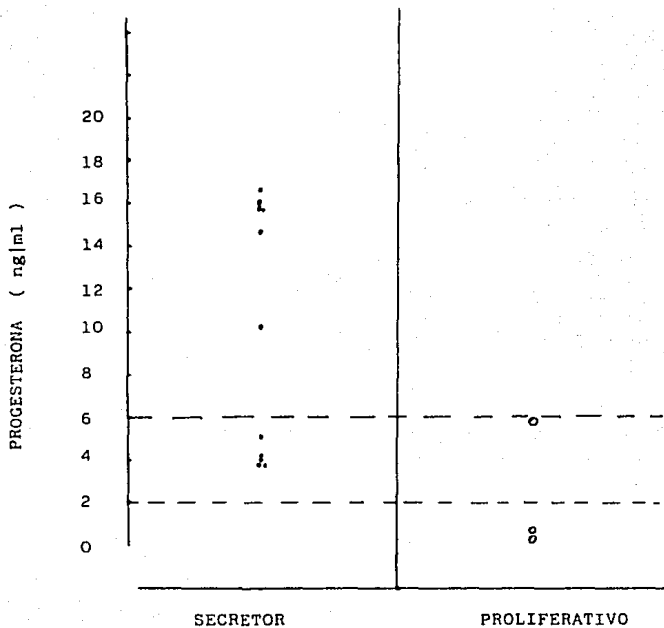


GRAFICA 2.



GRUPO SECRETOR  
GRUPO PROLIFERATIVO.

GRAFICA 3



BIOPSIA DE ENDOMETRIO

\* CADA PUNTO REPRESENTA 3 VALORES

GRAFICA 4 .-

V.- DISCUSION:

La descripción de cambios Histològicos en el endometrio humano, data desde 1908 (23), pero no fuè sino hasta 1920, cuando esos cambios se correlacionaron con capacidad secretora ovàrica. Posteriormente se ha sugerido que un examen detallado de la biopsia endometrial obtenido por curetaje, puede ser extraordinariamente útil para la detección de ovulación, el diagnóstico de trastornos menstruales y la evaluación de cualquier terapia endòcrina, relacionada con la ovulación.

La clásica descripción, lleva una correlación Gráfica Histològica, entre endometrio y ciclo menstrual, aplicada hoy en día en la mayoría de los centros de reproducción del mundo, es la descrita por Noyes y Col. en el año de 1950.

Fechar el endometrio, se ha correlacionado con distintos parámetros clínicos, estos incluyen, duración de la fase lútea, curvas de temperatura basal, imágenes sonográficas, ensayos de hormonas reproductivas en suero y orina, moco cervical principalmente, observando correlaciones predictivas irregulares y muy bajas en algunas ocasiones.

En este estudio, se pretendió realizar un enfoque Piloto que permitiera para nuestras condiciones y con menos recursos, Estandarizar la interpretación de la Biopsia de endometrio, relacionada con concentraciones de Progesterona. Tradicionalmente se ha sugerido en la literatura mundial, que una determinación única de Progesterona en fase lútea, concomitante con biopsia endometrial,

serían capaces de establecer una evidencia clínica presuntiva de ovulación, sin embargo, esta muestra nos enseña que el rango de valores de Progesterona, independientemente al estrato al que pertenecen las pacientes (Gráfica 4 es inaceptablemente elevado, y que la interpretación de una sola muestra de Progesterona, sería un pobre reflejo de la verdadera capacidad secretoria de la función lútea.

Para más, la mayoría de los reportes relacionados con Reproducción, correlacionan los criterios descritos por Noyes (semicualitativos), con capacidades funcionales; lo anterior incluye distintos procedimientos terapéuticos que evalúen alteraciones en capacidad secretoria o funcional del cuerpo lúteo, entendido en un contexto clínico, como Fase Lútea deficiente ó anovulación crónica. Con los hallazgos de este reporte nos permiten diseñar y considerar distintos aspectos metodológicos, que serán traducidos, primero, en estudios más controlados, segundo, menor vulnerabilidad del diseño metodológico y tercero, la obtención de grupos de estudio, con criterios de inscripción duros, que serán traducidos en una verdadera evaluación diagnóstica y terapéutica en pacientes con problemas de la función lútea.

Por lo anterior, aunque los criterios de Noyes y Cols. han sido aceptados como método Estándar, tres críticas pueden ser dirigidas a ellos:

- 1.-Población usada para establecer el criterio de fecha.- Estos criterios fueron basados en los resultados de análisis de especímenes de biopsia endometrial, ad



quiridas principalmente de mujeres infértiles, en quienes el desarrollo del endometrio puede ser anormal y debiera ser en mujeres normales. Así en estudios morfométricos de sarrollados por Johannisson y col., como Tin EMiu Li, son en pacientes fértiles.

2.- Precisión del Fechado cronológico.- El análisis de Noyes refirió principalmente el establecimiento del siguiente período menstrual para calcular la fecha cronológica, en el asentamiento que la fase lútea dura 14 días. Sin embargo este método retrospectivo tiene 3 importantes problemas. Esto ha sido demostrado por Li y col. que el uso de la elevación de LH tiene mejor correlación con el fechado endometrial. Noyes también uso la temperatura basal la cual ya ha sido reportada en varios estudios su carencia en la precisión.

3.- Subjetividad del fechado histológico.- El criterio de Noyes fueron basados en valoración morfológica de el endometrio. Valoraciones histológicas subjetivas, envuelven seguramente apreciaciones distintas y esto sufre de exactitud por la variabilidad del interobservador.

Por lo expresado consideramos como mejor sistema al momento, el análisis morfométrico que implica una mayor objetividad, con determinación de la fecha de la biopsia por medio del pico de LH, realizada la misma en el fondo uterino cara anterior o posterior.

En este estudio se observó una pobre correlación entre trastornos ponderales y anovulación, siendo el IMC malo como dato adicional en la capacidad de interpretación de la calidad hormonal endometrial. Por otra

parte, este estudio muestra también que el rango de progesterona, en mujeres en las cuales se documenta, un endometrio secretor, es inaceptablemente alto, entre 0.23 y 26 ng/ml, lo anterior impide cualquier interpretación, con sensibilidad absoluta de una simple determinación de Progesterona, en su capacidad de evaluar función lútea.

Sin embargo como ha sido sugerido previamente, las mediciones diarias de Progesterona, son consideradas como la prueba de "Oro", en la evaluación de cuerpo lúteo (34 y 35), lo anterior desde el punto de vista práctico es inaceptable por las molestias y tensión generadas en la mujer estudiadas. Se ha observado que existe amplia variabilidad en los valores diarios de Progesterona. El número de pulsos de Progesterona en 24 hrs. fué entre 5 a 12 en la fase lútea media y de uno a 11 en la fase lútea tardía (consideradas por soules Obst. Gynecol. 1988) Así encontró variaciones ejemplificadas como de 8.1 a 21.2 ng/ml y 1.2 a 5.1 ng/ml, esto hace difícil de interpretar con una sola determinación en cualquier mujer.

Como se observó en la Gráfica 4, es posible postular valores, que fuertemente apoyen una adecuada función lútea ( en 3 muestras consecutivas), con rango por arriba de los 10ng/ml; esto correlaciona definitivamente con el criterio de Johansson y Hensleigh quienes sugirieron dicha cantidad como la mínima para determinar ovulación, y otros autores como Israel y Ross sugirieron valores de 3 y 5 ng/ml respectivamente (36). Y también en esta gráfica podemos considerar mujeres con datos fuertemente negativos, de endometrio proliferativo en una concentración

menor a los 2 ng/ml. Dentro del presente estudio se apreciaba también que aquellas mujeres con concentración de la Progesterona entre 2 y 6 ng/ml, son pobremente correlacionadas con la imagen histológica, esto permite hacer la sugerencia, que mujeres con una sola determinación de Progesterona en este rango, necesitan ser evaluadas sucesivamente en un mismo ciclo, como se ha discutido anteriormente.

Los hallazgos del presente estudio, así pues, nos ha permitido hacer las consideraciones anteriores de Metodología, que serán claves para la interpretación de estudios futuros relacionados con función del cuerpo lúteo. Cada apartado requiere sin embargo de un diseño especial, con objetivos muy bien definidos para evaluación correcta de los resultados.

-----

BIBLIOGRAFIA:

- 1.-Ernst Knobil: The physiology of Reproduction.
- 2.-Leon Speroff: Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. Fourth edition.
- 3.-Georgeanna S. Jones, M.D. Corpus Luteum: composition and function. Fert. Ster. Vol.54 N°1, July 1990.
- 4.-Goldberg B. Jones: A histochemical study of steroid 3 beta-ol dehydrogenase activity in some steroid-producing tumors. Am.J.Obstet Gynecol 86:1003,1963.
- 5.-Hubbard GM: Luteinizing hormone-independent luteinization and ovulation in the hypophysectomized rat; a possible role for the oocyte? Biol Reprod. 39:183 1988
- 6.-Channing, C(1974): Bindings of gonadotropins to ovarian cells. Biol Reprod. 10:179-198.
- 7.-Mary G. Hammond. MD: Endocrinology of normal menstrual cycles. Obst. gynecol. report. Vol. 1 N°1 1988.
- 8.-Hogden GD: The dominant ovarian follicle. Fertil. Steril. 1982;38:281-300.
- 9.-Leon Speroff: Clinical gynecologic Endocrinology and Infertility. Third Edition.
- 10.-Jones GS: The structure and function of the corpus luteum. Clin. Obstet Gynecol 3:43, 1976.
- 11.-Dizerega GS: Inhibition of the primate ovarian cycle by a porcine follicular fluid protein. Fertil. Steril 1984;41:635-8.
- 12.-Enders AC:(1973) Cytology of the corpus luteum. Biol Reprod. 8:158-182.
- 13.-Mckibbin PE: Role of lipoproteins and prolactin in luteal function in the ferret. Biol Reprod.30:1160 1984.

- 14.-Asch RH: Luteal function in hypophysectomized rhesus monkeys; J Clin. Endocrinol Metab.55:154,1982.
- 15.-Groff TR: Effects of neutralization of luteinizing hormone on corpus luteum function and cyclicity in macaca fascicularis. J Clin Endocrinol Metab. 59 1054, 1984.
- 16.-Auletta FJ: Mechanisms controlling corpus luteum function in sheep, cows, nonhuman primates and women especially in relation to the time of luteolysis. Endocr Rev. 1988;9:88-105.
- 17.-McLachlan RI: Circulating immunoreactive inhibin levels during the normal human menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab 1987;65:954-61.
- 18.-Howard Jones: Novaks Textbook of Gynecology. Tenth Edition.
- 19.-Marguerite J.: The diagnosis of luteal phase deficiency: a critical review. Fertil Steril Vol.50 N#1 July 1988.
- 20.-RW Noyes: Dating the Endometrial Biopsy. Fertil Steril. Vol.1 N#1 1950.
- 21.-Tin Chiu Li: A new method of histologic dating of human endometrium in the luteal phase. Fertil. Steril Vol. 50 N#1 July 1988.
- 22.-David J. Olive: Twenty four progesterone and luteinizing hormone profiles in the midluteal phase of the infertile patient: correlation with other indicators of luteal phase insufficiency. Fertil Steril Vol.51 N#4 April 1989.
- 23.-David I. Rosenfeld MD: A comparison of endometrial histology with simultaneous plasma progesterone determinations in infertile women. Fertil Steril.vol 27 N#11 Nov. 1976.

- 24.-Barbara Eck Menning: The emotional needs of infertile couples. Fertil Steril. Vol.34 N°4 Octo 1980.
- 25.-Chung H.Wu,MD: The effect of therapy initiation day on colmiphene citrate therapy. Fertil Steril Vol.52 N°4 Octo. 1989.
- 26.-Yu Kang Ying MD: Lutealphase defect and premenstrual syndrome in an infertile population. Obstet. Gynecol Vol.69 N°1 Jan. 1987.
- 27.-Tin Chiu Li MRCP: How precise is histologic dating of endometrium using the standard dating criteria? Vol.51 N°5 May 1989.
- 28.-Annette Bonhoff PHD: Morphometric analysis of the endometrium of infertile patients in relation to peripheral hormone levels. Fertil Steril Vol.54 N°1 Jul 1990.
- 29.-Salim Daya MB: Progesterone profiles inluteal phase defect cycles and outcome of progesterone treatmet in patients with recurrent spontaneous abortion. Am J. Obs Gynecol Vol.158 N°2 Feb. 1988.
- 30.-Michael Vermesh MD\*: monitoring techniques to predict and detect ovulation. Fertil Steril. Vol.47 N°2 Febr. 1987.
- 31.-Richard T. Scott : The efect of interobserver varia<sup>i</sup>tion in dating endometrial histology on the diagnosis of luteal phase defects. Fertil Steril. Vol.50 N°6 Dec. 1988.
- 32.-H\*D.Taubert: Luteal phase deficiency as a cause of Infertility. gynecol and obstet. 1986.
- 33.-T. C.LI: The relation between daily salivary progesterone profile and endometrial development in luteal phase of fertile and infertile women. British Journal of Obst. Gynecol April 1989 Vol 96.

- 34.-Gutray jp; clinical investigation of the menstrual cycle. III. Clinical endometrial and endocrine aspects of luteal defect. Fertil Steril. 35:296, 1981.
  - 35.-Jones Gs.: Serum progesterone values in the luteal phase defects, effect of chorionic gonadotropin. Obstet. Gynecol. 44:26, 1974.
  - 36.-Israel R: Single luteal phase serum progesterone assay as an indicator of ovulation. Am J Obstet. Gynecol 112:1043, 1972.
-