

11217

126
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
HOSPITAL REGIONAL "20 DE NOVIEMBRE"

ISSSTE

	FACULTAD DE MEDICINA
<input type="checkbox"/>	ABR. 21 1993 <input type="checkbox"/>
SECRETARIA DE SERVICIOS ESCOLARES DEPARTAMENTO DE POSGRADO	

EVALUACION NEUROENDOCRINOLOGICA E
HISTOPATOLOGICA EN PACIENTES
AZOOSPERMICOS. UTILIDAD DE LA BIOPSIA
TESTICULAR POR PUNCION"

TESIS DE POST-GRADO
PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD DE
GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA
P R E S E N T A I
DR. RAUL ROSETE ROSSETTI



ISSSTE

MEXICO, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

I N D I C E

Introducción.....	1
Antecedentes.....	3
Justificación.....	6
Objetivos.....	9
Material y Métodos.....	10
Resultados.....	13
Discusión.....	18
Conclusiones.....	21
Bibliografía.....	23

I N T R O D U C C I O N

Dentro de la división de Gineco-obstetricia del Hospital 20 de Noviembre del ISSSTE, la reciente creación del departamento de Biología de la Reproducción Humana, se ha generado la necesidad de realizar diferentes tipos de investigaciones, para establecer protocolos de manejo para los diferentes tipos de pacientes atendidos en este servicio, dentro de las diferentes áreas que comprende orgánicamente este departamento.

Por tal motivo, la Clínica de Andrología ha implementado diferentes investigaciones para realizar el manejo protocolario de los pacientes atendidos en ella. Los pacientes azoospermicos serán el motivo de estudio de este protocolo, sobretodo en aquellos que desde el punto de vista de exploración física no presentan alteraciones. También se hace necesaria una evaluación neuroendocrinológica e histopatológica de la función testicular.

Es por lo anterior que se hace necesaria la determinación de los niveles plasmáticos basales de LH y FSH, así como las variaciones que se encuentran durante una prueba de estimulación con Gn RH, tanto para comprobar la capacidad de respuesta a nivel hipotalámico y posteriormente su repercusión a nivel de epitelio germinal folicular, destacando en este aspecto el papel de la FSH, ya que es directamente encargada de estimular a las células sustentaculares de Sertolli. (21, 22,

23, 35, 26, 27, 28).

Además, se trata de establecer si la biopsia testicular por punción es suficiente como método de obtención de muestras histológicas para evaluar la función testicular posterior a estimulación con GnRH. (2, 4, 8, 9, 13).

A N T E C E D E N T E S

Uno de los problemas más importantes por su frecuencia es el estudio de la pareja estéril, en el que destaca el factor masculino, que en nuestro medio influye de un 40 a 50%, - motivo por el cual, el abordaje actual incluye el estudio del varón en forma integral, destacando la exploración física, - determinación física, determinación de gonodotropinas plasmáticas, así como el estudio del semen. (1, 2, 3, 4, 5).

La biopsia testicular fué introducida en los años 40's como una herramienta auxiliar en la evaluación de la infertilidad masculina, sobretodo en aquellos pacientes seleccionados adecuadamente; representará una ventaja diagnóstica para el manejo de muchos desórdenes de la fertilidad en el hombre. (2).

Existe el antecedente previo a las biopsias testiculares como tales, con el método de aspiración que utilizó - - Hunher en 1913 para los pacientes azoospermicos, con la gran desventaja que no se podía diferenciar con la eyaculación retrógrada. (3).

Las primeras implicaciones clínicas de la biopsia testicular se inició con Hitchkiss y Charney a partir de los años 40's para diferenciar entre problemas obstructivos y no obstructivos, pero también para el pronóstico y tratamiento de los pacientes oligospermicos por Charney. (2, 3).

Con respecto a la cuantificación de la espermatogénesis se remonta a los años 50's y 60's, siendo generalmente métodos que se llevaban bastante tiempo y que requerían la evaluación de bastantes muestras histopatológicas. En 1970, Johnsen describió un método más simple, de acuerdo al grado de madurez de las células del epitelio germinal, dando la primera escala de clasificación del 1 al 10, siendo solamente aventajado por el método de Makler en 1978. (2, 3, 7).

En 1981, Silber y Rodríguez-Rugau(4,5) reportaron un procedimiento simple para valorar la maduración espermática, la cual consiste en obtener la muestra de biopsia y fijarla en solución de Bouin o de Zenker, para su estudio inmediato.

Se utilizó una aguja para biopsia prostática Tru-Cut. La evaluación de los especímenes fué desde el punto de vista de morfología testicular, así como la obtención de la cuenta de espermátides. En todos los especímenes para diagnóstico y cuenta de espermátides, tanto para la biopsia abierta como para la biopsia por punción testicular con aguja, fueron los mismos. (3, 4, 9, 10, 11, 13, 14, 15).

Corrientemente, las indicaciones para biopsia por aguja en testículo, ha sido sujeta a revaloraciones y revisiones. Hendricks (6), Lambird y Murphy reportaron en 1969 sus resultados con respecto a este sistema que reportó ser sencillo, simple y muy económico. (3, 9, 10, 14).

En 1972, Netto reportó los mismos resultados, con mayor acuciosidad diagnóstica con biopsia testicular con aguja, además de encontrar que las complicaciones tales como infección, hematoma, orquitis y atrofia testicular, eran menores con este método. (3, 14).

Dentro del estudio del varón como causa de esterilidad en la pareja, la biopsia testicular con aguja se relaciona directamente con el paciente azoospermico, en el cual es obligada la determinación plasmática de los niveles de FSH, para evaluar en forma refleja la salud del epitelio germinal testicular. En los pacientes en que son esencialmente normales dichos valores, o estos se encuentran discretamente elevados, la biopsia provee información crítica entre problemas de tipo ductal o de patología testicular ablativa. (15, 16, 18, 20, 24, 26).

En algunas ocasiones, la biopsia bilateral puede ser deseable, sobretodo si se sospecha de una lesión que abarque ambos testículos, ya que siempre es importante documentar la presencia de espermatogénesis en ambos testículos, debido a la sospecha de que un testículo pudiera mostrar azoospermia obstructiva, mientras que el de lado contralateral podría mostrar falla testicular intrínseca. (2, 9, 11, 13, 14).

J U S T I F I C A C I O N

Dentro del protocolo de manejo de pacientes azoospérmicos de la Clínica de Andrología, dependiente del departamento de Biología de la Reproducción Humana, se encontró la necesidad de establecer un método de diferenciación entre patología ablativa del epitelio germinal testicular y problemas obstructivos en el paciente azoospérmico, además de proveer un método fidedigno, rápido y confiable, aparte de ser sumamente accesible, para demostrar la integridad del eje Hipotálamo-hipófisis-testículo a través de una valoración neuroendócrina, posterior a estimulación con GnRH. (21, 24, 26).

La biopsia testicular con aguja puede ser utilizada como procedimiento de rutina, debido al poco dolor, baja morbilidad y a la información tan importante que nos brinda en pacientes seleccionados y tiene una aplicación casi específica en los pacientes azoospérmicos, para documentar la presencia de espermatogénesis activa o no, así como para justificar la exploración microquirúrgica subsecuente que pudiera ser planeada en caso de problemas obstructivos. (2, 6, 9, 10, 13, 14, 15).

La cuantificación de la espermatogénesis es el método más usado para evaluar la función testicular en pacientes azoospérmicos. Las biopsias típicas proveen de especímenes al laboratorio que contiene de 100 a 200 túbulos seminíferos seccionados transversalmente. La secuencia entera de madura-

ción de células germinales, desde espermatogonia hasta espermatozoide, no se encuentra en cada sección tubular, solamente se puede apreciar una onda de maduración a través de varios - tubos seminíferos y dicha onda se debe al hecho de que las - células precursoras de espermatozoides mantienen conexiones - intercitoplasmáticas hasta el final de la espermatogénesis. - (2, 13, 14, 15).

Seis de estos estadios son reconocidos en el hombre, a diferencia de otras especies animales, en las cuales solo se logra apreciar un solo estadio en cada túbulo. (17, 18, 19).

El diámetro de los tubos seminíferos es importante en - la evaluación de infertilidad en el hombre. Normalmente - deben medir 80 micrones al nacimiento y 150 a 300 micrones en el adulto. Las espermatogonias y las células de Sertolli se deberán encontrar sobre la membrana basal, la cual se encuentra rodeada por una placa miofibroplástica concéntrica. Las - células intersticiales de Leydig productoras de testosterona bajo el influjo de LH. (18, 22, 25, 26, 27, 28).

En base a lo anterior podremos dividir las alteraciones histológicas a partir de anomalías de la arquitectura tubular o de la composición celular. (2).

Dentro de las alteraciones de la arquitectura tubular - encontramos a la hipoplasia, hialinización de la - - - membrana basal y la fibrosis peritubular. Con respecto a las

alteraciones de tipo celular encontramos a la hipoespermatogénesis, arresto de la maduración, aplasia de células germinales (Síndrome de Células de Sertolli únicas), esclerosis tubular y peritubular (Asociado frecuentemente a síndrome de Klinefelter). (2, 4, 20).

Cuando se demuestra la maduración espermática concluyentemente, posterior a estimulación con GnRH, en pacientes azoospermicos, se indica entonces una vasografía para detectar una obstrucción que evite la salida del espermatozoides a nivel ductal. (2, 9, 10, 15).

Otras fronteras se avisan con el uso de biopsias testiculares, siendo una de ellas la aplicación de la citometría de flujo para tipificación de DNA, la cual se ha encontrado últimamente que aporta una medida más correcta para determinar el grado de daño testicular. Esta técnica ha demostrado ser útil en la determinación y diferenciación con respecto a alteraciones ablativas a nivel de epitelio testicular, contra problemas obstructivos. (15).

O B J E T I V O S

OBJETIVO GENERAL

Establecer la utilidad de la biopsia testicular por punción, para la evaluación del epitelio germinal testicular en pacientes azoospermicos, que muestren una respuesta anormal a la prueba de estimulación con GnRH.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Establecer la utilidad de la biopsia testicular por punción como método auxiliar para selección de pacientes azoospermicos, candidatos a biopsia testicular.

Demostrar la utilidad de la estimulación con GnRH para evaluar la integridad del eje hipotálamo-hipófisis-testículo.

Implementar un procedimiento diagnóstico rápido, sencillo y de bajo costo, para realizar la diferenciación entre problemas ablativos del epitelio germinal testicular con problemas obstructivos, dando un diagnóstico más preciso a un manejo más adecuado a la pareja estéril, en donde el varón estéril presente un problema de azoospermia por alteración ablativa del epitelio germinal.

MATERIAL Y METODOS

Dentro del período comprendido entre enero y julio de 1992, se captaron 15 pacientes azoospermicos, los cuales contaban con un exámen físico normal, incluyendo tamaño testicular de 5 Cms; así como determinación de niveles plásmáticos basales de FSH y LH, siendo la primera la más importante, ya que la mayoría de los pacientes presentaron niveles de FSH normal o ligeramente elevada. A estos pacientes se les realizó prueba de estimulación con GnRH 100 microgramos en preparado comercial y biopsia testicular al tercer día posterior a esta estimulación.

Se diseñó el estudio en base al uso de aguja para toma de muestras de tejido por punción Tru-Cut, desechable, modelo ABN2704, con cánula de 15.24 Cms., con muesca para muestra de 20 mm, fabricada por Travenol Laboratorios, Inc. Deerfield, Illinois, U.S.A., soluciones antisépticas convencionales, solución de Bouin para conservación del material de biopsia obtenido por punción y preparado comercial de GnRH: Lesidorm L-100 Sero, para realizar prueba de estimulación por vía intravenosa.

Dentro de la metodología que se usó para el procedimiento para punción testicular con aguja, por medio de una adecuada asepsia y antisepsia, con colocación de campos estériles se realizó infiltración local de la piel escrotal y tejido conjuntivo subyacente a nivel del polo superior del testículo,

hasta llegar a la túnica albugínea testicular. El anestésico utilizado en forma local fué Lidocaína simple al 2%. Se procedió posteriormente a realizar una pequeña insición a nivel de la piel del escroto de 0.5 Cms., hasta llegar a la túnica albugínea del testículo, procediéndose a introducir aguja para toma de biopsia Trucut, obteniéndose una muestra de tejido conteniendo túbulos seminíferos, con diámetro de 1 mm y una longitud de 20 mm., la cual se introduce inmediatamente para su preservación a una solución de Bouin, etiquetándose las muestras, las cuales se mandan a estudio histopatológico.

Previamente se había sometido a cada paciente a prueba de estimulación con GnRH, a base del preparado comercial que contiene 100 mcg por cada 2 ml de solución, aplicándose por vía intravenosa, con determinación de niveles basales de LH y FSH 15 minutos antes y al tiempo 0 de la aplicación del GnRH. Posteriormente, las determinaciones plasmáticas de LH y FSH se realizaron cada 15, 30, 60, 90 y 120 minutos en todos los pacientes estudiados.

Se determinó además un patrón de referencia de LH y PSH, para establecer rangos normales, a partir de una población de 10 varones normales, los cuales fueron sometidos a la misma prueba de estimulación con GnRH.

Siendo un estudio descriptivo, las variables numéricas pueden contemplarse dentro de una distribución de frecuencias acumuladas, ya que se trata de una investigación aplicada, --

exploratoria, a nivel clínico, transversal, prospectiva y - -
abierta.

Con respecto a la cédula de recolección de datos se anexa
formato, así como del consentimiento para participación -
del paciente en la investigación.

El tamaño de la muestra lo determinó los criterios de -
inclusión y exclusión.

Dentro de los criterios de inclusión se tomaron en cu
ta todos los pacientes azoospermicos, los cuales presentaban
una exploración física normal y con pruebas hormonales basa-
les normales.

Dentro de los criterios de exclusión se tomaron en cu
ta la presencia de enfermedad sistémica agregada (Diabetes me
ditus, hipertensión arterial sistémica, etc.); y sobretodo,-
pacientes que presentaran oligospermia.

Los pacientes que fueron eliminados del estudio fueron
aquellos que no aceptaron el procedimiento o en los cuales no
se realizó la prueba de estimulación con GnRH.

R E S U L T A D O S

Dentro de la prueba de estimulación con GnRH, los valores obtenidos de LH y FSH, tanto basales como los obtenidos a estimulación con Gn RH, se concentraron en una gráfica para cada una de las hormonas, presentándose en el eje de las abscisas los intervalos de tiempo a los cuales fueron calculados dichos valores, y en el eje de las ordenadas las miliunidades internacionales por mililitro para LH y FSH. El área sombreada corresponde a los valores calculados dentro del grupo control para cada una de las hormonas.

Los valores obtenidos para LH se muestran en la tabla No. 1 y los de FSH en la tabla 2.

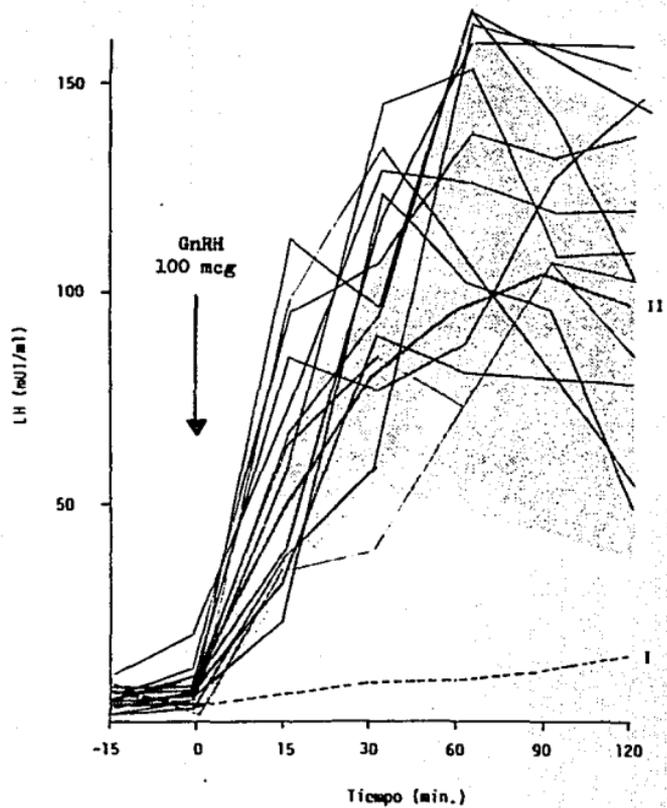


TABLA No. 1

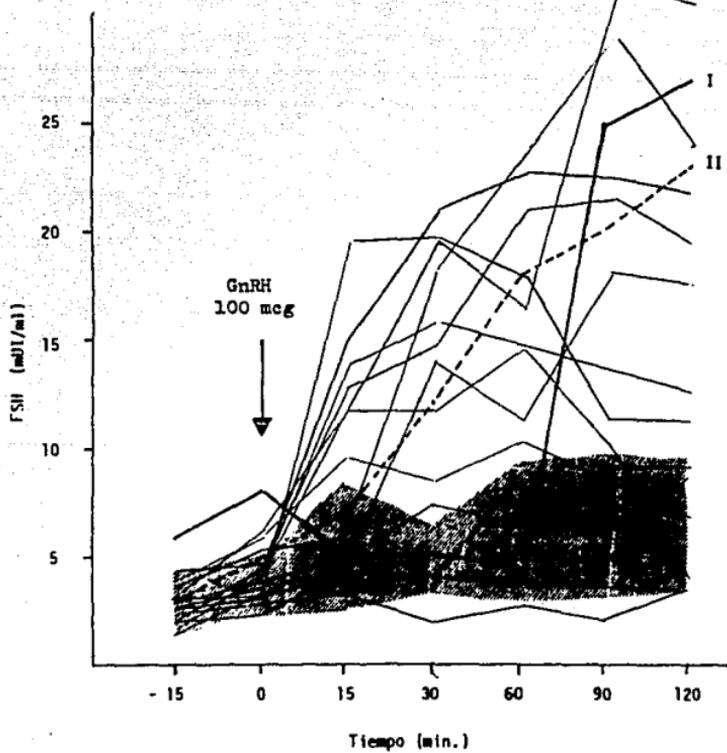


TABLA No. 2

De los resultados obtenidos durante la prueba de estimulación con GnRH, se obtuvieron 3 grupos de pacientes:

CUADRO No. 1

GRUPO A:	1 paciente	Respuesta subnormal.
GRUPO B:	4 pacientes	Respuesta normal.
GRUPO C:	10 pacientes	Hiperrespuesta.

Estos resultados se correlacionaron con los resultados histopatológicos, de acuerdo a los criterios de Makler, basados en:

1. Diámetro de los túbulos. (D)
2. Grosor de la membrana peritubular. (M)
3. Población celular dentro de los túbulos. (P)
4. Grado de maduración espermática. (S)

Las muestras obtenidas para estudio se fijaron en solución de Bouin y posteriormente transferidas a alcohol de 80o, para su preparación y teñido posterior con Hematoxilina y Eosina. Se utilizó además tinción con ácido periódico de Schiff, para visualización de la membrana basal de los túbulos seminíferos. De acuerdo a estos criterios de clasificación de 0 a 5 por cada apartado, hasta completar 20 puntos en la evaluación de los túbulos seminíferos.

La correlación histopatológica junto con la valoración neuroendocrinológica se muestra en el siguiente cuadro.

CUADRO No. 2

GRUPO A:	1 paciente	Respuesta subnormal	Daño testicular	Puntaje 12
GRUPO B:	4 pacientes	Respuesta normal	Daño importante	Puntaje 10
			2 pacientes	9
				8
GRUPO C:	10 pacientes	Hiperrespuesta	Daño irreversible	Puntaje menor
				de 8

D I S C U S I O N

Con los resultados obtenidos en el presente trabajo, podemos apreciar que la correlación neuroendocrinológica con los estudios histopatológicos estarían acordes solamente en los pacientes comprendidos en el grupo C.

El paciente del grupo A presentó una respuesta subnormal durante la prueba de estimulación con GnRH, pero desde el punto de vista histopatológico mostró ciertas características a nivel del epitelio germinal que pudieran corresponder a un - - arresto espermático, ya que en la preparación histológica se encontraron una proporción adecuada de espermátides, pero no se pudo apreciar la típica onda de maduración durante la evaluación de diferentes túbulos seminíferos.

Con respecto a los 4 pacientes del grupo B, dos de ellos tuvieron daño importante, pero conservando la presencia de - células precursoras y espermátides, sin encontrarse formas - - maduras en los túbulos seminíferos. En otros dos pacientes - se encontro daño testicular importante, incluyendo la presencia de hialinización tubular en uno de ellos.

Los pacientes del grupo C presentaron daño testicular - irreversible, presentando un pleomorfismo de alteraciones, - pero contando siempre con la presencia de algún tipo celular precursor de espermatozoides, sin encontrarse líneas de maduración dentro de los túbulos seminíferos. La lesión predominante consistió en hialinización de los túbulos seminíferos -

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 19 -

con aumento del espesor de la membrana basal.

En alguna de las preparaciones histológicas de este grupo se encontró solamente células de Sertolli, ni en ninguno de los pacientes se detectó Síndrome de Klinefelter.

Dentro de la correlación neuroendocrinológica e histopatológica, podemos apreciar en los resultados el reflejo de las alteraciones que se sospechaban en la mayoría de los pacientes en estudio, en los cuales tuvieron hiperrespuesta a la estimulación con Gn RH, ya que la alteración ablativa del epitelio germinal es la causante de la azoospermia, pero en los cuales se descartó lesión a nivel de células de Leydig, por presencia de estas en las preparaciones histológicas, aunque no se realizó una determinación de testosterona plasmática, no presentaban desde el punto de vista clínico aspecto de hipogonadismo. En ninguno de los pacientes estudiados por azoospermia en este estudio presentó problemas de tipo obstructivo que motivaran su canalización a estudio más profundo o tratamiento quirúrgico.

Con respecto a los pacientes con respuesta normal a la estimulación con Gn RH, se encontró desde el punto de vista histopatológico daño testicular importante, de acuerdo a los criterios de clasificación establecidos por Makler, lo que se considera como pacientes con capacidad de fecundación perdida, por lo que en ambos casos se hace necesario seguir la dirección de flujograma de atención y manejo contenido en el cua--

dro No. 3.

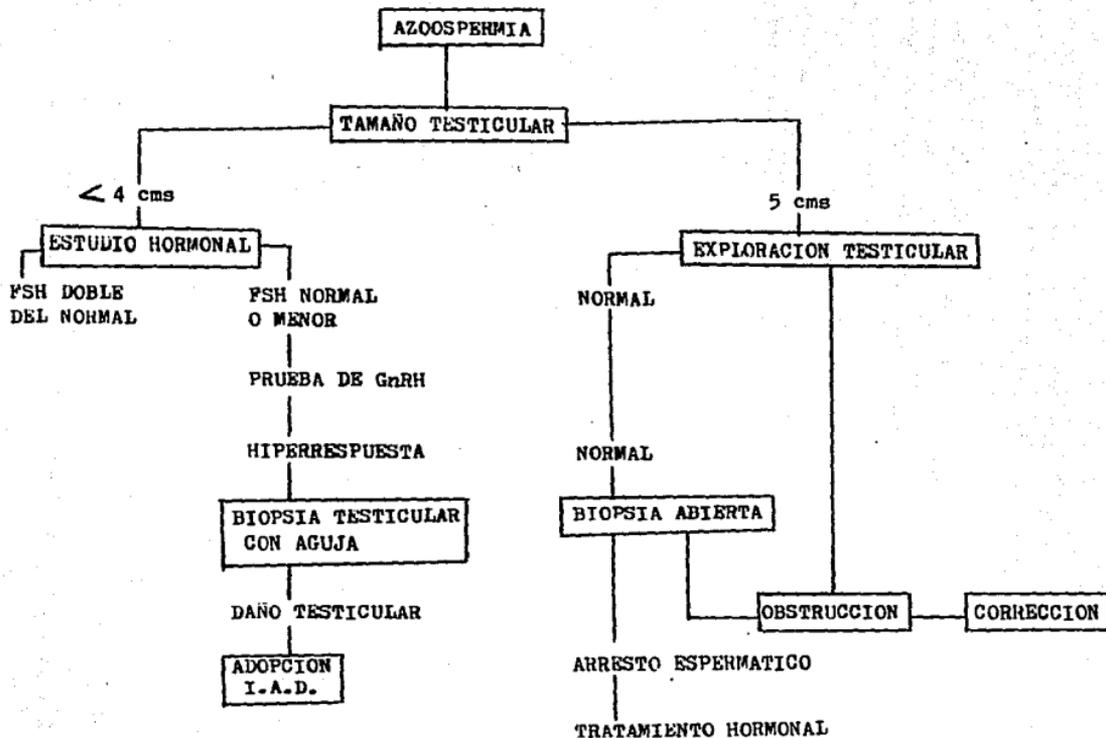
Con respecto al paciente con respuesta normal, se identificó cierto grado de desarrollo del epitelio germinal, siendo candidato a manejo con FSH pura y nueva reevaluación histopatológica posterior a dicho manejo; y en caso de presentar respuesta favorable, pensar en recolección de muestra espermática dentro de epidídimo y tal vez ofrecerle al paciente la posibilidad de una inseminación artificial homóloga.

C O N C L U S I O N E S

La correlación neuroendocrinológica e histopatológica para el estudio de pacientes azoospermicos, con muestras obtenidas por punción testicular con previa estimulación neuroendócrina con GnRH nos presente un amplio panorama para el manejo de este tipo de pacientes, ya que ofrece las siguientes ventajas:

1. Nos ayuda a realizar una evaluación del eje hipotálamo - hipófisis-testículo por medio de estimulación con GnRH.
2. La repercusión de dicha estimulación sobre las células blanco en el testículo para LH y FSH, lo cual nos permite realizar la evaluación histológica.
3. La biopsia testicular con aguja ofrece un diagnóstico preciso y correcto.
4. La evolución quirúrgica es más rápida y presenta menor morbilidad.
5. El costo del procedimiento es menor.
6. Se puede emitir un pronóstico y tratamiento en su caso, más adecuado, de acuerdo a los resultados.
7. Establecer un protocolo de manejo para este tipo de pacientes, tal como se muestra en el cuadro No. 3.

CUADRO No. 3



BIBLIOGRAFIA

1. Woolrich Dj, Valdés VF; Factor Masculino de la Esterilidad Conyugal. Academia Mexicana de Medicina. Urología. 1980, 523.
2. Coburn M, Wheeler T, Lipshultz LI; Testicular Biopsy. Its use and limitations. Urol Clin N Am. 1987, 14 (3): 551.
3. Cohen MS, Frye S, Warner RS; Testicular Needle Biopsy in Diagnosis of Infertility. Urol 1984, 24(5): 439.
4. Nistal S, Codesal J; Correlation Between Spermatozoo Number in Spermogram and Seminiferous Epithelia Histology - in Testicular Biopsies from subfertile men. Infer Ster. - 1987. 18(3):507.
5. Sade E; The Management of Azoospermia. Br J. Urol. 1978, 50:595.
6. Hendry WF, et al; Obstrutive Azoospermia: Respiratory - Function Test, Electrón Microscopy and the Results of - Surgery. Br J. Urol. 1978, 50:598.
7. Makler A, Abramivici H; The Correlation Between Sperm - - Count and Testicular Biopsy using a new Scoring System. - Int J. Fertil, 1978, 23:300
8. Ansbacker R, Gangai MP; Testicular Biopsy: Sperm Antibodies. Fertil Steril, 1975, 26:1239.

9. Beirdorffer H, Schirra C; Peculiarities and Side Effects of Testicular Biopsy. *Andrology*, 1979, 11:311.
10. Hargreave TB, Jequier AM; Can Follicle Stimulating Hormone Stimulation Replace Testicular Biopsy in the diagnosis of obstructive azoospermia? *Br J Urol*, 1975, 50:415.
11. Levin HS; Testicular Biopsy in the Study of Male Infertility: Its Current Usefulness, Histologic Technics and Prospects for the Future. *Hum Pathol*, 1979, 10:569.
12. Makler A; A simplification of a new Scoring System for Rapid Evaluation. *Int J Fertil*, 1980, 25:137.
13. Pryor JP, Cameron Km, Collins WP; Indications for Testicular Biopsy on Exploration in Azoospermia. *Br J Urol*, 1978, 50:591.
14. Wong TV, Strauss FH, Warner NE; Testicular Biopsy in the Study on male Infertility . Testicular Causes of Infertility. *Arch Pathol*, 1973, 95:160
15. Hellstrom WJ, Tesluk H; Comparison of Flow Cytometry to Routine Testicular Biopsy in Male Infertility. *Urology*, 1990, 35(4):321.
16. Díaz MG; Tratamiento Médico del Varón Estéril. Sistematización Clínica en el Estudio y Tratamiento de la Pareja Estéril. *Asociación Mexicana para el estudio de la Fertilidad y Reproducción Humana*, 1990, 2:3.

17. Catt KJ, Dufau ML; Spare Gonadotropin Receptors in rat Testis. *Nature New Biol.* 1973, 244:219.
18. Means AR, Dedman JR, Tash JS, Tindall TJ; Regulation of the testis Sertolli Cells by Follicle-stimulating Hormone. *Ann Rev Physiol*, 1980, 42:59.
19. Odell WD, Swerdloff RS; Etiologies of Sexual Maduration: A Model System Based on the Sexually Maturing rat. *Rec Prog Hom Res*, 1976, 32:245.
20. Mizunuma H, Takagi T, Yamada K; The Role of Endogenous Gonadotropin Release in the Etiology of Ovarian Enlargement Durin Purified Urinary Follicle-stimulating Hormonotherapy. *Fertil Steril*, 1991, 55:66.
21. Seibel MM; Management of Patients With Poliquistic Ovaries Disesae Hipotalamus Pituitary relation. *N Engl J. Med*, 1987, 316:1560.
22. Etialia G, Devilla L, Musso NR; On the role of Dopamine Receptors in Nalxone-induced Hormonal Changes in man. *J Clin Endocrinol Metab*, 1987, 56:118.
23. Herzog AG, Seibel MM, Schomer DZ: Reproductive Endocrine Disorders in men with Partial Seizures of temporal Lobe Origin. *Arch Neurol*, 1986, 43:347.
24. Marshall JA; Induction of Ovulation. *Clin Obstet Gynecol*, 1978, 21(1):147.

25. Brzesinsky A, Lynch HJ, Wurta RJ, Seibel MM; Possible. of Melatonina to the Timing of the Luteinizing Hormone Surge. N Engl J Med, 1987, 316:1550.
26. Catt JJ, Dufau ML: Gonadotropic Hormones: Biosynthesis, - Secretion, Receptors and Actions. Endocrine Regulation- of the Reproductive System, Chapter 4, McMillan Publishing, Company, New York, USA, 1990, 105.
27. Dufau ML; Endocrine Regulation and Cominicating Factions of the Leydig Cells. Ann Rev Physiol, 1988, 50:483.
28. McCann SM, Rettori V; Physiology of Luteinizing Hormone--releasing Hormone. Thire Medical Publishers. Seminarius in Resproductive Endocrinology, 1987. 5(4):333.