

# LA VENTANA DE LA FERTILIDAD Y MARCADORES BIOLÓGICOS: REVISIÓN Y ANÁLISIS EN CICLOS OVULATORIOS NORMALES

*THE FERTILE WINDOW AND BIOMARKERS: A REVIEW AND ANALYSIS OF NORMAL OVULATION CYCLES*

*A JANELA DA FERTILIDADE E MARCADORES BIOLÓGICOS: ]REVISÃO E ANÁLISE EM CICLOS OVULATÓRIOS NORMAIS*

José María Murcia-Lora<sup>1</sup>, María Luisa Esparza-Encina<sup>2</sup>

## RESUMEN

El objetivo de este artículo es revisar los principales conceptos en la literatura acerca de la ventana de la fertilidad en pacientes con ciclos menstruales normales. El énfasis principal del artículo se ha dirigido al análisis de la teoría de Brown de la ovulación, revisar conceptos básicos de la ovulación, secreción y metabolismo de la hormona foliculo estimulante, y al estudio clínico, ecográfico y bioquímicos del desarrollo folicular de la ventana de la fertilidad. Este artículo también repasa los biomarcadores clínicos y los diferentes metabolitos endocrinos que delimitan en la fase fértil del ciclo. Se revisan diferentes estudios en los cuales las valoraciones en suero y orina de los esteroides sexuales, han corroborado tener una correlación directa para enmarcar el período fértil. Actualmente tienen relevancia estos conocimientos en diferentes grupos de interés, sobre todo en mujeres con un alto nivel de motivación interesadas en el reconocimiento de su fertilidad, las cuales pueden beneficiarse mediante la aplicación de conocimientos técnicos actuales que detectan la ventana fértil. También estos conocimientos suelen cobrar importancia en aquellas personas que pertenecen a programas de regulación de la fertilidad (PRF), con intención de distanciar un embarazo, o de reconocer el periodo fértil del ciclo para conseguir un embarazo espontáneamente, o mediante programas de NaProTecnología. Otros grupos de interés, son aquellos en los cuales no se tiene experiencia en cursos de PRF, pero desean mejorar sus conocimientos en el reconocimiento de la fertilidad por medio de una breve entrevista, o por medio de cursos de orientación familiar.

**PALABRAS CLAVE:** fertilidad, reproducción, marcadores biológicos, ovulación. (Fuente: Decs, Bireme).

## ABSTRACT

*The purpose of this article is to review the principle concepts in literature concerning the fertile window in patients with normal menstrual cycles. The basic concepts of ovulation are examined as well. The primary emphasis is on an analysis of Brown's theory of ovulation and a look at the basic concepts concerning secretion, the metabolism of follicle-stimulating hormones, and clinical, ultrasound and biochemical study of the follicular development of the fertile window. Also examined are the clinical biomarkers and the different endocrinal metabolites that have been tested in the fertile phase of the cycle. A number of studies are reviewed in which measured concentrations of sex steroid hormones in plasma and urine were shown to have a direct bearing on identifying the fertile period. This knowledge is relevant for different interest groups, particularly couples who are interested in fertility awareness and can benefit by applying currently available technical know-how to detect the fertile window. Couples involved in fertility regulation*

<sup>1</sup> Especialista en Ginecología y Obstetricia. Médico Cirujano, Universidad de Navarra, España.

<sup>2</sup> Especialista en Endocrinología y Nutrición. Médico Cirujano, Universidad de Navarra. NaProTechnology and Functional Reproductive Medicine. Clinical Consulting G&E, Logroño, España. clinicag-e@edunet.es

FECHA DE RECEPCIÓN: 07-10-2010

FECHA DE ACEPTACIÓN: 06-05-2011

*programs (FRP) who want to prevent pregnancy can benefit as well, as can those who want to pinpoint the most fertile time for becoming pregnant. Other target groups include persons who have no experience with FRP courses, but would like to improve their fertility awareness through a short interview, or couples who are looking for pregnancy options through NaProTechnology programs or have taken family orientation courses.*

**KEY WORDS:** *Fertility, reproduction, biological markers, ovulation. (Source: Decs, Bireme).*

#### RESUMO

O objetivo deste artigo é revisar os principais conceitos na literatura sobre a janela da fertilidade em pacientes com ciclos menstruais normais. Os conceitos básicos da ovulação foram revisados. A ênfase principal do artigo se dirige à análise da teoria da ovulação de Brown, revisar dos conceitos básicos da secreção e metabolismo do hormônio folículo estimulante, e ao estudo clínico, ecográfico e bioquímico do desenvolvimento folicular a janela da fertilidade. Este artigo também revisa os biomarcadores clínicos e os diferentes metabolitos endócrinos que foram provados na fase fértil do ciclo. Revisam-se diferentes estudos nos quais as valorações em soro e urina dos esteroides sexuais comprovam ter uma correlação direta no estabelecimento do período fértil. Atualmente esses conhecimentos têm relevância em diferentes grupos de interesse, sobretudo em casais com alto nível de motivação no reconhecimento da fertilidade e que podem se beneficiar mediante a aplicação dos conhecimentos técnicos atuais na constatação da janela da fertilidade. Outro tipo de casais costuma ser aquele que pertence a programas de regulação da fertilidade (PRF) com intenção de distanciar uma gravidez, assim como também de reconhecer a época mais fértil do ciclo para conseguir uma gravidez. Outros interessados costumam ser pessoas que não têm experiência em cursos de PRF, mas desejam melhorar seu conhecimento no reconhecimento da fertilidade por meio de uma breve entrevista, ou casais que buscam opções de uma gravidez mediante programas Naprotecnologia ou que realizaram cursos de orientação familiar.

**PALAVRAS-CHAVE:** fertilidade, reprodução, marcadores biológicos, ovulação. (Fonte: Decs, Bireme).

## INTRODUCCIÓN

Los diferentes estilos de vida, la mayor edad de las mujeres y las cambiantes costumbres de la vida pueden dificultar en algunos casos que las mujeres logren quedar embarazadas. En este tipo de parejas la NaProTecnología tiene un interés particular para mejorar la oportunidad de conseguir un embarazo (1, 2). La ventana de la fertilidad se compone de los días del ciclo menstrual en que el embarazo es posible y puede ser utilizada, como medio de prevención de un embarazo dentro de programas de Regulación Natural de la Fertilidad (PRF) o como una herramienta para encontrar el momento más fértil para conseguirlo. El objetivo principal de este trabajo es una revisión y análisis de los conceptos principales de los

marcadores biológicos de la ventana de la fertilidad, y la integración de algunos conceptos fisiológicos que determinan la regularidad de los ciclos ovulatorios.

## EL RELOJ BIOLÓGICO DE LA OVULACIÓN

El ciclo menstrual femenino está determinado por la interacción entre los sistemas de regulación del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal en tres principales niveles; en la liberación pulsátil de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), a nivel hipofisiario y a nivel de las hormonas ováricas. Las hormonas predominantemente involucradas en el ciclo menstrual son la hormona liberadora de las gonadotropinas, la hormona folículo estimulante (FSH), la hormona luteinizante (LH), los

estrógenos y la progesterona. La GnRH es secretada por el hipotálamo, las gonadotropinas FSH y LH son secretadas por la hipófisis anterior y los estrógenos y la progesterona son secretadas en el ovario. La hormona liberadora de la gonadotropinas estimula la liberación de LH y FSH de la hipófisis anterior que, a su vez, estimulan la liberación de estrógeno y progesterona en el ovario (3).

En la fase inicial del ciclo menstrual, los estrógenos estimulan la producción y liberación de FSH, y mediante una retroalimentación positiva aumenta la FSH en primera mitad del ciclo menstrual. Hacia mitad del ciclo el aumento de FSH y LH determinan que sea posible la ovulación. Posteriormente el ascenso de FSH y LH producen una retroalimentación negativa de la secreción de gonadotropinas, y sus niveles hormonales caen en la segunda mitad del ciclo, haciendo posible que las interacciones entre hormonas hipofisarias y ováricas se auto perpetúen mediante una retroalimentación positiva y negativa. En ausencia de embarazo, la producción de estrógenos y progesterona comienza a declinar después de la ovulación y el resultado final es el desprendimiento del endometrio como sangrado menstrual (4).

#### **DINÁMICA Y METABOLISMO DE LA HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE. HIPÓTESIS DEL UMBRAL DE BROWN Y DESARROLLO FOLICULAR**

La hormona hipofisaria estimulante del folículo es una glicoproteína heterodimérica compuesta de dos cadenas a y b unidas no covalentemente (5, 6, 7). Los niveles de FSH revelan un patrón constante a través del ciclo en mujeres con ciclos normales y regulares. Los niveles de FSH aumentan en fase folicular y son más altos en el período preovulatorio, con su aumento típico en mitad

del ciclo. Durante los años reproductivos de la mujer, cuando la concentración de estradiol en suero es mayor, la molécula de FSH está menos glicosilada con una vida media más corta, pero con una mayor afinidad por los receptores (8, 9). Al principio del ciclo menstrual la hormona folículo-estimulante induce la diferenciación y proliferación celular en el folículo preovulatorio. En este momento del ciclo hay una cohorte de folículos antrales alrededor de 2-5 mm de diámetro, capaz de responder a la FSH (10). Cuando el aumento de FSH se produce, cada uno de estos folículos -con su propia sensibilidad a la FSH- entra en una fase final de crecimiento rápido y el número de folículos que serán estimulados dependerá del tiempo de duración en el que los niveles de FSH se mantuvieron por encima del umbral de periodo de influencia. El folículo más sensible, es decir, el primero en iniciar la fase de crecimiento, se convertirá en el líder, y la sensibilidad del folículo dominante para la FSH aumenta. Este folículo dominante secreta cantidades crecientes de inhibina que suprimen la liberación hipofisaria de FSH, a través de una retroalimentación negativa, impidiendo la entrada de nuevos folículos a la fase de crecimiento rápido. A medida que disminuye la concentración de FSH los folículos menos maduros, que todavía son FSH-dependiente, no puede adquirir suficiente aromatización para crear un ambiente estrogénico y así se convierten en folículos predominantemente androgénicos y atrésicos. El folículo dominante, que ya ha adquirido suficiente aromatización por medio del aumento de células de la granulosa y de receptores de FSH, puede lograr la ovulación a pesar de una disminución de la FSH. Desde el estudio de Brown en 1978 (11) se sabe que probablemente el ovario responde a un umbral de FSH determinado, conocido como la teoría del umbral en el ciclo ovárico en ciclos espontáneos y en ciclos estimulados con GnRH. El efecto de FSH en

el ovario depende de la concentración plasmática. En los ciclos menstruales normales la FSH se elimina de la circulación por los riñones y el hígado. En presencia de una concentración sérica constante de FSH, y a pesar de una reducción de FSH, el ovario responde probablemente a un nivel de FSH determinado. Otros estudios también han demostrado la existencia de este umbral a la FSH (12, 13). Estos estudios muestran que al elevarse las concentraciones séricas de FSH a un nivel de umbral entre 15 a 20 mUI/mL, el estradiol empieza a elevarse por encima de los valores basales. Posteriormente, las concentraciones de estradiol aumentan durante la fase folicular espontánea; este evento es como un marcador de que el folículo dominante ha respondido a un nivel de umbral a la FSH y ha trabajado para poner fin al proceso de la ovulación. Existe una buena correlación documentada entre los días de baja fertilidad con niveles de estradiol sérico alrededor de  $291,25 \pm 8,89$  pmol/l (media  $\pm$  SEM), y entre los días de alta fertilidad con niveles de estradiol sérico alrededor de  $701,22 \pm 16,28$  pmol/l ( $p < 0,0001$ ). Se ha observado que en los días de máxima fertilidad los niveles de estradiol en suero ascienden alrededor de  $734,54 \pm 26,81$  pmol/l, y los niveles máximos en suero de estradiol pueden llegar a valores de  $1211,57 \pm 32,81$  pmol/l, dos días antes de la ovulación, determinándose el final del periodo fértil después del pico de LH en suero con concentraciones de LH que descienden a valores alrededor de  $51,22 \pm 2,4$  UI/l (14). Estos resultados, por lo tanto, apoyan claramente la hipótesis de Brown (11).

## VENTANA DE LA FERTILIDAD

El día de la ovulación (EDO) es crucial para determinar las señales que enmarcan el período fértil. Los estudios iniciales que estiman el día de la ovulación mediante la temperatura basal del cuerpo se remontan a las obras de

Barrett y Marshall en 1969 (15), Schwartz en 1980 (16) y Royston en 1982 (17). Otros estudios para estimar el día de la ovulación han utilizado la secreción cervical, como el estudio de la Organización Mundial de la Salud en 1983 (18) y el estudio de Hilgers en 1992 (19). También se han usado la medición de derivados de estrógenos urinarios como marcadores de la ovulación: Wilcox en 1995 (20) y la evaluación hormonal de la fase folicular y proliferativa, mediante la descripción de los cambios citomorfológicos de la fase periovulatoria tanto del endometrio como del epitelio cervicovaginal mediante la tinción de Papanicolaou (Pap) (21, 22).

Para determinar la longitud de la ventana fértil y la probabilidad de un embarazo en relación con la ovulación, es necesario saber la duración que puede llegar a tener un espermio vivo en el aparato reproductor femenino (23). Mientras que el óvulo humano tiene una vida media alrededor de 24 horas, lo cual dificulta una concepción, y la hace muy poco probable después del día de la ovulación, la vida útil de los espermatozoides es potencialmente más larga y más variable en condiciones óptimas (20).

La duración de la fase fértil se ha definido por la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva como el primer día en el cual se detecta en orina estrona-3-glucurónido (E3G), hasta el segundo día posterior al pico de la hormona luteinizante (LH), lo cual suele oscilar entre  $<1$  y  $>7$  días (24). En la actualidad la mayoría de los estudios definen el período de mayor fertilidad desde el día 6 anterior a la ovulación hasta el primer día después de la ovulación, y es en éste intervalo cuando generalmente sucede el cambio de los días infértiles a los días de mayor fertilidad de la fase folicular del ciclo menstrual, el cual está determinado por el progresivo aumento de

las concentraciones séricas de E3G, desde el día -6 días antes de la ovulación hasta el día de la ovulación (4, 14, 20, 23, 25).

Existe una correlación de la concentración sérica de estradiol con E3G en orina y a su vez una concentración sérica de LH con el día pico de LH en orina (14). En la orina el periodo fértil se puede enmarcar mediante la determinación de E3G a partir de 20-30 ng/ml desde el día -6, hasta el final del período de fértil detectado por el pico de LH, normalmente > 30 UI/l.

El uso de la medición de E3G en orina ha demostrado tener éxito en la identificación del período fértil. Basándose en el uso del pico de LH urinaria como marcador de la ovulación, se puede concluir que un aumento en la concentración de E3G del 50% sobre la media de los últimos tres valores, puede ser útil para localizar el inicio del período fértil (14). Otros estudios han demostrado la eficacia de E3G en un 83%, 89% y 90% como éxito para delinear el período potencialmente fértil (24, 26, 27). Adlecreutz localiza dos intervalos estratégicos para delimitar el período fértil, mediante la recolección de muestras diarias de la primera orina de la mañana de 24 horas en 70 ciclos menstruales (28). La definición del primer intervalo se basa en un aumento de 50% de concentración de estrona-3-glucurónido sobre la media de los tres valores anteriores. Este método lo utilizó para localizar el inicio del período fértil en más del 90% de los ciclos en los cuales se detectó la ovulación con el pico de LH. El segundo, lo identifica al final del período fértil, el cual coincide con la mayoría de estudios, en el segundo día posterior al ascenso de la hormona luteinizante (LH). También utiliza otra medida para indicar el inicio del periodo infértil, mediante la detección de un aumento del 50% sobre la media de los tres valores

anteriores del coeficiente de concentración derivado de estrona-3-glucuronido/pregnanediol-3-alfa-glucuronido, el cual indica también el comienzo del período infértil en más del 80% de los ciclos ováricos (28). Fehring demostró la inter e intra-variabilidad de la duración de esta ventana fértil entre mujeres con fertilidad normal, y con los ciclos menstruales regulares (29).

### **PREDICCIÓN CLÍNICA DE LA VENTANA DE LA FERTILIDAD MEDIANTE LA SECRECIÓN CERVICAL**

El moco cervical se sintetiza en el endocérvix por medio de las células ciliadas y secretoras ante la estimulación estrogénica. La secreción cervical se ha considerado como un hidrogel compuesto con una fase líquida y una fase sólida con tres componentes importantes: a- Moléculas de moco que constituyen principalmente la fase sólida, la cual está conformada fundamentalmente por glicoproteínas. b- Una fase líquida constituida por agua. c- Compuestos químicos y bioquímicos como sales, minerales, azúcares, aminoácidos, lípidos, cadenas de proteínas, enzimas, etc. Estos componentes determinan los principales parámetros biofísicos de la secreción del cuello uterino, los cuales son principalmente la cantidad, el aspecto, la viscoelasticidad, y la cristalización (30).

### **PARÁMETROS BIOFÍSICOS DE LA SECRECIÓN CERVICAL**

#### ***Cantidad***

El volumen de la secreción cervical aumenta cerca del período peri-ovulatorio, observándose la mayor cantidad de secreción alrededor del día -1 y 0 en relación con EDO, en ciclos no sujetos a ningún tipo de tratamiento (31).

### **Aspecto**

El moco cervical se muestra opaco y menos transparente en el estadio temprano del período de fertilidad y una mayor transparencia en la media que se aproxima el momento de la ovulación, siendo máxima alrededor de la ovulación, se asimila a la transparencia de la clara de huevo, lo cual puede darse a partir del día -2, -1, 0 de la ovulación. H. Temprano, en su estudio con 205 muestras, obtuvo la máxima transparencia en el día -1, seguido del día -2 y día 0 en relación con el día de la ovulación (32, 33).

### **Viscoelasticidad**

Las propiedades reológicas del moco cervical son notables. Se han empleado muchos términos para describir ésta propiedad: viscosidad, elasticidad, viscoelasticidad, plasticidad, retracción, adherencia, y spinbarkheit entre otras (34). La forma clásica de evaluar este parámetro, ha sido medir en centímetros la longitud de una cantidad de secreción adherida a dos superficies que se separan. Cuando se acerca la ovulación la longitud puede llegar a medir hasta 10 centímetros o más (35). La cantidad, también la elasticidad, es mayor en los días que preceden al día pico, en uno o dos días, y durante el día de pico como se demuestra en diferentes estudios citados en la Tabla 1.

### **Cristalización**

Papanicolaou en 1946 descubre que la secreción cervical se cristaliza debido a un incremento en la cantidad de cloruro sódico, inducida por el aumento de los niveles

de estrógenos (36), anteriormente Hüner en 1913 había descrito que las modificaciones de la secreción cervical permiten la permeabilidad a los espermatozoides (37). Odeblad a partir de 1966 empieza a describir los diferentes patrones cristalográficos de la secreción cervical. Inicialmente los clasifica en dos tipos: secreción tipo E predominantemente estrogénica y secreción tipo G de tipo gestagénica, segregada durante la fase lútea (38, 39, 40). El mismo autor en 1983 presenta un modelo que explica el ascenso espermático de los espermios de buena calidad en moco fértil y a su vez la impermeabilidad al paso de los espermatozoides por el moco de características infértiles. Odeblad demostró por medio de resonancia nuclear magnética (RNM) que los canales que se forman en la secreción cervical durante la fase de máxima fertilidad, miden alrededor de 3 micromicras de diámetro y 0.3 micromicras de diámetro en fase lútea infértil, impermeable al diámetro de la cabeza espermática que es de 2.5 micromicras (41). También presentó un modelo explicativo de los tipos de secreción que se producen en las diferentes criptas del cérvix uterino. Describe la secreción L locking-in, por su capacidad de atrapar espermios, la cual se secreta en la parte media-baja del canal cervical. La secreción S la refiere como sperm-transmission, la cual se produce en la parte alta del canal, y es apta para la progresión espermática por su baja viscosidad; ambas secreciones son estrógeno dependientes. Describió una tercera secreción G que se produce por glándulas cercanas al orificio cervical externo, la cual depende de la producción de progestágenos, y analizó 1124 muestras de secreción cervical donde plantea el diagrama básico de porcentajes de secreción L, S y G durante el ciclo menstrual en ciclos ovulatorios (42).

**Tabla 1: Correlación entre Día Pico (PD) con el día estimado de la ovulación (EDO)  
Referencia y autores de algunos estudios clásicos de la literatura**

Billings et al.	Flynn and Lynch	Hilgers et al.	Despares J.	Hilgers	Guida M
22 mujeres voluntarias.	Mujeres sanas que han generado 29 ciclos menstruales.	24 mujeres sanas y 65 ciclos confirmados hormonalmente en los que se produjo la ovulación.	Pequeño estudio de seis mujeres normales que auto-detectan el día con el tipo de moco más abundante.	Conjunto de datos generado por 47 mujeres infértiles de 33 ciclos, y otra serie de 47 mujeres con 47 ciclos.	40 mujeres que participaron en un programa de planificación familiar natural (PFN).
(Spinnbarkeit)	Correlaciona hormonas en plasma, con PD de moco cervical mediante el máximo gradiente del moco cervical (GMM)	PD: " el último día de secreción transparente, elástica y/o resbaladiza."	PD del moco cervical.	PD.	Evaluaron la hormona luteinizante en orina, cristalización en saliva, el cambio de BBT, y el pico de moco cervical con el día estimado de la ovulación.
EDO: Medidas de la concentración plasmática de LH.	EDO: LH, estradiol y progesterona.	EDO: Utiliza niveles de progesterona sérica para determinar el día de la ovulación.	EDO: Se determina mediante ultrasonido seriado del desarrollo folicular.	EDO: Correlación entre el día de rotura folicular detectado por medio de ecografía, con auto-detección de PD de moco cervical.	EDO: El día de la ovulación fue el diagnóstico ecográfico de la ovulación (i.e., colapso folicular).
La ovulación se produjo con un promedio de 0,9 días después del síntoma pico.	MMG se produjo 0.45 días antes de EDO.	Una media de 0,31 días antes del síntoma pico.	El día pico de moco cervical se observó en +- 1 día en relación con el día estimado de la ovulación.	Se encontró que el día estimado de la ovulación ocurrió en el 100% de los casos entre + 3 - 2 días del PD.	Los resultados mostraron que el día pico del moco cervical cayó dentro del día estimado de la ovulación cerca del 100 % de los 148 ciclos analizado dentro del tiempo de +- 3 días a partir de la fecha estimada de la ovulación.
Con un rango de 3 días después a 2 días antes en relación con EDO.	Con un rango de 2 días antes y 1 días después de EDO.	Encontraron la ovulación desde 3 días antes a 3 días después del síntoma pico.	El tipo más abundante de moco fue descrito en este estudio como característica del "clara de huevo". Se encontró abundante moco cervical en 15 ciclos menstruales en el día + -1 del día estimado de la ovulación.	Se encontró que el día estimado de la ovulación ocurrió en el 100% de los casos entre + 3 - 2 días del PD	Es de interés observar que el aumento de LH urinario se produjo en el 100% del tiempo estimado del día de la ovulación, y el PD para éste estudio se definió como el último día en el que hubo una sensación, mojada, resbaladiza o de moco transparente elástico.
Lancet 1972;1:282-4.	Br J Obstet Gynecol 1976;83:656-9.	Obstet Gynecol 1978;52:575-82.	BMJ 1986;292:1562.	Omaha: Pope Paul VI Institute Press, 1995.	Fertil Steril 1999; 72:900-4.

## CAMBIOS EN EL EXUDADO CERVICOVAGINAL Y EN LA CRISTALIZACIÓN DE LA SALIVA

Odeblad ha detectado las diferentes características de la secreción del cuello uterino mediante exploración endocervical, siendo así posible reconocer los diferentes patrones descritos por él, no obstante es probable que su mayor aplicación hoy día sea posible en la práctica clínica. En un estudio de Alliende es posible determinar los cambios fértiles del fluido cervicovaginal por auto-aspiración. Este estudio demuestra que mediante auto extracción de fluido cervicovaginal del tercio superior de la vagina, se puede determinar el período fértil mediante la observación de los cambios del fluido cervicovaginal a lo largo del ciclo (43).

También está ampliamente aceptada la toma de una muestra de secreción en saliva, para ser evaluada su cristalización mediante microscopios de bolsillo. Se ha demostrado una correcta correlación entre los diferentes patrones de cristalización de la saliva con el periodo fértil, aunque puede estar limitada la exploración por el escaso campo de la misma, es posible por medio del microscopio de bolsillo observar helecchos salivales como marcadores del tiempo fértil. No obstante los diferentes patrones descritos en la cristalización de la saliva se han utilizado para ayudar a las mujeres a detectar el período fértil en combinación con otros métodos, como por ejemplo el método sintotérmico (44).

## BIOMARCADORES INTEGRADOS CON TEMPERATURA BASAL CORPORAL

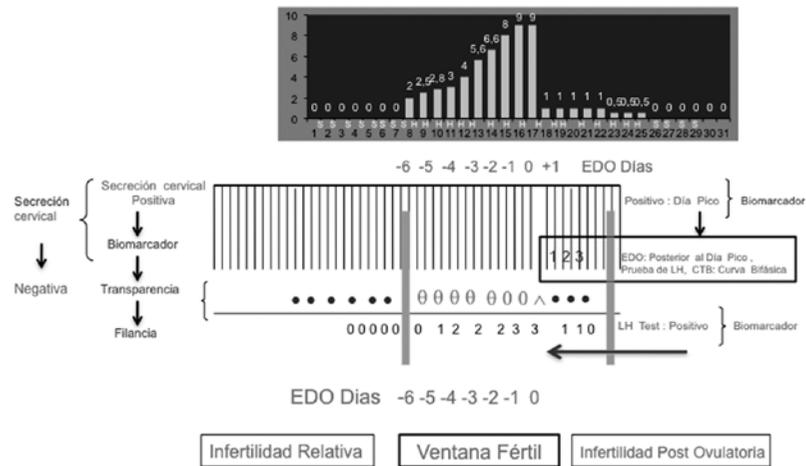
El aumento de la progesterona produce elevación de la temperatura basal corporal (TBC) e indica que la ovulación ha ocurrido de una manera retrospectiva, no

como predictor de la ovulación (45). Este aumento de la progesterona se produce por luteinización del folículo ovulatorio, como respuesta al pico de LH. No obstante, Colombo refiere que en los días de máxima fertilidad la presencia del punto nadir de la curva de temperatura basal corporal en el 42,9% de los casos y este punto se ha definido como el punto que coincide con los días de máxima fertilidad en la CTB (46). El modelo Creighton introduce la integración de la TBC con la secreción cervical y los cambios en la anatomía del cuello uterino. La efectividad del método sintotérmico es muy alta; incluye la evaluación conjunta de diversos indicadores de la fertilidad: la secreción cervical, la temperatura basal del cuerpo y un sistema de cálculo para determinar el período fértil del ciclo. Tiene especial interés la variante del método sintotérmico llamada "double check" (el sistema de doble control), el cual utiliza siempre dos o más indicadores evaluados al mismo tiempo para determinar con mayor certeza el periodo fértil. Es igualmente un método de regulación natural de la fertilidad con alta eficacia. Es fácil de usar y requiere un período corto de instrucción para aprender a reconocer los indicadores de fertilidad (1, 47).

Hoy día no existe un dispositivo para obtener una medición precisa de las diferentes características del moco cervical en el cuello uterino (48). Sin embargo, es posible integrar los puntos cruciales de los diferentes métodos de la ventana fértil (49, 50). En la Figura 1 se integran algunos parámetros de los marcadores biológicos de la misma.

Dentro de las nuevas tecnologías que integra la CTB se encuentra Biosel. Este es un monitor que puede ayudar a algunas mujeres a registrar la CTB y puede servir de apoyo a aquellas que conocen su fertilidad,

### Integración y registro de biomarcadores en la ventana fértil



ya que monitoriza y graba la temperatura. Se trata de un importante apoyo técnico para el registro objetivo de la temperatura basal en algunas mujeres con ciclos regulares que consiguen adaptarse al dispositivo (51).

### VENTANA DE LA FERTILIDAD Y MONITORES DIGITALES

La identificación del periodo fértil mediante determinaciones hormonales en monitores digitales, ha sido posible gracias a los estudios que demuestran una alta correlación entre las mediciones séricas de LH y estradiol, con sus derivados análogos en orina. Estos estudios han fundamentado la posibilidad de integrar las determinaciones hormonales en orina con algoritmos en monitores digitales. Actualmente, existen monitores que pueden determinar con fiabilidad los periodos fértiles e infértiles del ciclo menstrual mediante señales luminosas o colorimétricas. Estas señales se han integrado en varios aparatos actualmente aceptados comercialmente, los más conocidos suelen ser aquellos que integran LH y E3G (52).

### MONITORES QUE DETECTAN LH Y E3G

Clearplan detecta el pico de la fertilidad por medio de la subida de LH, indicando que la ovulación es inminente, la cual ocurre entre 24 a 48 horas después de la ovulación en el 98% de los casos, pero nunca antes (53). Este dispositivo permite visualizar cuando se aproxima el periodo de máxima fertilidad, siendo las tasas de máxima fecundidad alrededor del pico de LH. Este cambio en el monitor durante los periodos de fertilidad es provocado por la detección del pico de LH, por lo general con una concentración > de 30 UI/l (54, 55).

### CLEARPLAN EASY FERTILITY MONITOR (CPEFM)

Uno de los metabolitos derivados del estradiol y ampliamente estudiado en orina es el E3G y es cuantitativamente importante (54). Ya se ha demostrado una elevada correlación entre la concentración de estradiol presente en plasma y las concentraciones de E3G presentes en la orina. Hoy en día una mujer con ciclo

menstrual regular podría detectar en su casa sus días de alta fertilidad con los cambios en la concentración de E3G cuando son superiores a 20-30 ng/ml.

CPEFM detecta el comienzo de la ventana fértil con el primer ascenso de E3G por encima del umbral. Este intervalo suele comenzar desde el 5º día antes de la ovulación hasta el día de la ovulación, entendido como "día -6 de la ventana de la fertilidad". Posteriormente, el monitor mostrará el período de máxima fertilidad en el día del pico de LH y al día siguiente al día pico, también el monitor mostrará elevada fertilidad por un día más antes del retorno a fertilidad baja. El cambio de fertilidad se muestra en la pantalla de cristal líquido del monitor. La transición de baja a la alta fertilidad se indica por el aumento en el número de barras sólidas en la pantalla, una barra (Nivel I) para la fertilidad baja, dos barras (Nivel II) y tres barras para fertilidad elevada (Nivel III) en el pico de máxima fertilidad. Además, se añade un símbolo ovalado que demuestra los días de máxima fertilidad (14). Fehring en 2004 desarrolló un algoritmo con CPEFM para parejas que desean –por motivos graves- espaciar los embarazos. El algoritmo se basa en una ventana de fertilidad de -6 días en mujeres con ciclos menstruales regulares, teniendo en cuenta el hecho de que hay una probabilidad baja de fecundidad en los primeros 5 días del ciclo menstrual. La probabilidad de que una mujer esté dentro de la ventana fértil para el día 5º del ciclo menstrual es baja, cerca de 4%. Fehring recomienda que en la medida que se acerca la ventana fértil, las parejas que usan CPEFM deberían utilizar otro indicador de fertilidad, como es la secreción cervical, como método de doble comprobación, para comprobar el comienzo de la fase fértil (56).

Persona es un monitor computarizado que detecta LH y E3G mediante tiras reactivas. Señala un primer periodo

de infertilidad preovulatoria a partir del día 1 del ciclo hasta que se eleva E3G, y posteriormente señala un periodo de infertilidad postovulatoria después del pico de LH (14). Persona utiliza la detección del umbral de estrógeno urinario para determinar el comienzo del período fértil. El final del período fértil lo determina alrededor de cuatro días después de haberse detectado el umbral de LH en orina. La forma de mostrar estos periodos es mediante señales luminosas: muestra una luz "verde" para indicar los días infértiles y una "luz roja" para indicar los días fértiles. Una luz "amarilla" indica la necesidad de otra tira de prueba. En la práctica se ha reconocido su efectividad para reconocer adecuadamente tanto la fase fértil como la fase infértil (57, 58, 59, 60).

### ***Valoración ecográfica del desarrollo folicular como indicador de crecimiento, selección, reclutamiento y maduración folicular***

Los folículos primarios al rodearse de capas de células de la granulosa se convierten en folículos preantrales de 0.1 mm cuando adquieren receptores para FSH y LH. Un folículo preantral tarda aproximadamente 25 días en llegar al antro y alcanza a medir 0.4 mm aproximadamente y es necesario que pasen alrededor de 60 días hasta llegar al tamaño preovulatorio aproximadamente de 20 mm. El folículo destinado a ovular abandona la reserva preantral 3 ciclos antes de llegar al tamaño preovulatorio. Los folículos antrales de 2-5 mm de diámetro son poco sensibles al estímulo de las gonodotrofinas. Al empezar el ciclo cada ovario de características normales presenta un aspecto similar en número, de 8 folículos aproximadamente sobre 3 mm de diámetro medio. En los folículos menores de 12 mm, es válido medir 2 diámetros y promediarlos. Al ser mayores de 12 mm se pueden medir 3 diámetros. Los folículos ovulatorios son

significativamente más redondos que los atrésicos y se determinan fácilmente mediante el diámetro folicular medio, el cual es un término adecuado para referirse a las medidas del folículo e integrarlos en las curvas de crecimiento folicular (61).

*Reclutamiento folicular:* Se denomina así al crecimiento folicular bajo la acción de las gonadotropinas y puede definirse como la entrada en crecimiento de una cohorte de folículos. Cada mujer posee un umbral individual a la FSH, por encima del cual se produce el reclutamiento folicular. El mayor número de folículos reclutados se suele producir entre los días 3 y 8 del ciclo y crecen durante esta fase a razón de 0.5 a 1 mm por día en ambos ovarios, pero fundamental en el ovario dominante. Durante esta fase es posible visualizar de 1 a 5 folículos de 4 a 8 mm (10).

*Selección:* Entre los folículos reclutados se produce la selección, de donde un folículo será el que ovule. En ciclos de selección natural, el folículo que ovulará se suele seleccionar hacia los días 6-7 del ciclo. Puede que existan otros folículos de mayor tamaño que no sean el folículo seleccionado para ovular, y suelen ser determinantes los bajos niveles de FSH para que se produzca la selección (11, 12, 13).

*Dominancia:* Cuando un folículo toma el gobierno del ciclo ovárico provoca la regresión de los folículos que le acompañan. Ocurre alrededor del día 9 del ciclo y el diámetro medio suele ser 10 mm (62).

*Crecimiento del folículo dominante y madurez folicular del folículo preovulatorio:* El folículo dominante se torna esférico, con superficie interior lisa y la ecogenicidad media va creciendo de forma más rápida, 1.5 a 1.7 mm

por día aproximadamente. Los folículos menores de 9-10 mm se tornan irregulares y se hacen atrésicos, este fenómeno es más acusado en el ovario dominante que en el contralateral. El incremento en los niveles de estrógenos se hace notorio y paralelo con el crecimiento folicular, y es el folículo dominante el encargado de la principal producción de estradiol; a su vez, a nivel del endometrio, se visualiza la influencia estrogénica, como crecimiento de la línea endometrial y la presencia del patrón ecográfico típico tricapa de la fase periovulatoria (11, 63).

*Signos ecográficos de madurez:* Un signo evidente de madurez folicular es la aceleración del crecimiento folicular; éste signo es fácilmente contrastable de tal manera que al llegar un folículo a medir alrededor de 20 mm se puede considerar maduro. El ovario tiene mayor volumen, aproximadamente es de 12 ml a expensas del folículo preovulatorio. En términos generales, un folículo de alrededor de 19 a 20 mm ovulará en término medio de 24-48 horas (62). Se puede visualizar el cúmulo oophorus, 36 horas antes de la ovulación, se ve un alo ecorrefringente dentro del folículo rodeado por sonolucencia del líquido folicular, en ocasiones se aprecia el signo del doble contorno, que se suele ver de 6 a 10 horas después de la ovulación, y corresponde al desdoblamiento por separado de la teca de la granulosa (61).

## **PRESUNCIÓN DE OVULACIÓN MEDIANTE ECOGRAFÍA**

*Definición de ovulación:* rotura de un folículo con expulsión de un ovocito, con zona pelucida, corona radiada, y considerable número de células del cúmulo. Aparece 24-48 horas después de pico de LH en orina (61).

*Signos ecográficos de ovulación:* En la actualidad existen varios indicadores ecográficos que infieren un diagnóstico

ecográfico de ovulación. El primero, cuando se logra documentar, es la desaparición de un folículo visualizado previamente, o se documenta su disminución de tamaño con aplanamiento. No existe unanimidad en el tiempo de vaciado, puede darse un vaciado rápido, de 1 minuto o lento de 1 hora. Éste signo, según Bajo Arenas, es el más fidedigno de ovulación (61). Aunque no se puede descartar que se haya vaciado y quedado el folículo atrapado. Un segundo signo ecográfico consiste en visualizar una pared irregular y múltiples ecos en el interior del folículo. Un tercer signo, es la presencia de líquido en el fondo del saco de Douglas. Un cuarto signo es la presencia de onda de conversión lútea. Generalmente no es necesario valorar el cuerpo lúteo en un ciclo espontáneo y normal, no obstante en casos de folículos luteinizados no rotos o síndrome (LUF), se puede documentar el Síndrome LUF por la ausencia de onda de conversión lútea (64).

## COMENTARIO

El día estimado de la ovulación se ha utilizado para determinar retrospectivamente los cambios de un período de infertilidad a un estado de fertilidad. Esta metodología ha hecho posible la definición de la ventana de la fertilidad para ser utilizada en la práctica clínica y detectar el período fértil por diferentes métodos ya documentados. Aunque el papel de la secreción cervical es bien reconocido, actualmente no se utiliza ampliamente para identificar los días con alta probabilidad de concepción y los días de poca fertilidad (40, 65). Hoy día, muchos médicos recomiendan los kits de detección de la ovulación; sin embargo, los cambios observados a nivel vulvar de la secreción cervical, también pueden utilizarse para identificar el comienzo de la ventana de la fertilidad y el final del intervalo fértil (66). Este método tiene una

justificación biológica bien establecida, debido a que el tipo de secreción cervical estrógeno-dependiente aumenta alrededor de unos 5-6 días antes del día de la ovulación (67). La mayoría de los estudios que comparan la ventana de la fertilidad con la secreción cervical para detectar la fase fértil, detectan un intervalo más largo con secreción cervical, en comparación con las herramientas clásicas empleadas por la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (24). Adlecreutz compara éste intervalo con la secreción cervical, él detecta que la secreción cervical sobreestima la longitud real del período fértil de -6 días, en un promedio de 4 días más, en su estudio la estimación de la ventana de la fertilidad por medio de la secreción cervical fue más larga de 10,49 días (DE = 3,56; mediana = 9 días), en comparación con la detección de la ventana fértil con determinaciones monitorizadas en orina de E3G y LH, en el cual la duración del período fértil fue de 6,6 días (SD = 3,34; mediana = 6 días) (28). En otros estudios se han podido identificar los cambios de patrón a lo largo del ciclo tanto en cantidad, como en el tipo de secreción cervical, mediante la observación de la descarga de la secreción cervical en la vagina (43, 48, 68). La secreción cervical de tipo estrogénica sirve no sólo como un indicador de días fértiles, también puede predecir una secreción no fértil por la ausencia de niveles suficientes de secreción con características estrogénicas (69). Existen varias clasificaciones de la secreción cervical en la vulva. Scarpa propone una escala de cuatro puntos para clasificar la secreción vulvar, y aprender a identificar la secreción tipo-estrogénica, que es el mejor tipo de secreción para la supervivencia de los espermatozoides y la de mejor conductividad para el transporte de los mismos. Este método tiene la ventaja de no ser invasivo y es un método fácil de efectuar con un mínimo de entrenamiento (48). Hay varios métodos para determinar la secreción cervical. El método más

clásico ha sido el descrito por Billings, por medio de la observación de la secreción cervical en la vulva, con la posterior interpretación y registro en una gráfica de las características fértiles o infértiles de la secreción cervical. Otros métodos observacionales han sido las clasificaciones descritas por Hilgers y Ferning, las cuales se encuentran fundamentadas en el método clínico de Billings de las características de la sensación, apariencia y consistencia de la secreción cervical; no obstante, el punto crítico de éste método podría ser la valoración subjetiva del test (66, 68).

Si la teoría del umbral de la ovulación marcha bien es posible que las mediciones de los marcadores biológicos indiquen que el desarrollo folicular se lleva a cabo. En realidad no existe ningún tipo de dispositivo para confirmar este evento en un tiempo real, tal vez el enfoque más técnico sería realizar un seguimiento ecográfico diario, pero esto sólo es posible en el práctica clínica. Clear Plan One Step y otros monitores similares podrían ser útiles para este objetivo, pero probablemente en combinación con otra prueba clínica.

Actualmente está bien documentada la correlación que existe entre las mediciones séricas y urinarias de las hormonas sexuales desde el día 6 antes de la ovulación hasta un día después de la ovulación. El punto de partida para detectar el inicio del periodo fértil dentro de la ventana de la fertilidad, ha sido definido por la detección del inicio de la elevación de estrona-3-glucurónido, y el punto final, por el segundo día consecutivo al pico de la hormona luteinizante. Sin embargo, esta conclusión se basa en ciclos normales (24, 29). No obstante también se ha visto una buena correlación entre las señales de inicio y final del periodo fértil, en ciclos de mujeres subfértiles con periodos regulares sin ningún tipo de

enfermedad objetiva y sin terapia hormonal (70). Estas señales clínicas tienen la posibilidad de ser diagnosticadas mediante señales externas y estas medidas tienen a su vez la posibilidad de detectar el período de la ventana de la fertilidad en el ciclo menstrual en mujeres con ciclos menstruales regulares, debido a que la ventana de la fertilidad tiene una variabilidad normal (24, 28, 29).

En mujeres con ciclos menstruales espontáneos normales, el umbral de detección del nivel de FSH es probablemente constante y para ello es necesario que exista un pull de folículos antrales sensibles al umbral de la FSH, para que se realice adecuadamente la autorregulación en el eje hipotálamo hipófisis-gonadal y se lleven a cabo los cambios fisiológicos necesarios en la LH, el estradiol y la progesterona. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que un sangrado de origen ginecológico puede detener el desarrollo normal del proceso ovulatorio y el patrón menstrual normal. Existen diferentes causas que pueden cambiar esta situación, las más frecuentes son el estrés, la perimenopausia, el síndrome de ovario poliquístico (SOP), el hipotiroidismo, la hiperprolactinemia o tratamientos con hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que por su vida media larga pueden alterar el desarrollo folicular normal. Estas suelen ser las causas más frecuentes de irregularidades que interrumpen el patrón normal del ciclo menstrual. No obstante, cualquier otro cambio en la regularidad de los días del sangrado menstrual, es conveniente que sea estudiado para descartar cualquier otra causa de origen orgánico ginecológico, como la posibilidad de tumores de ovario, patología de la fase lútea, o cualquier otra causa obstétrica como origen de un sangrado irregular. El diagnóstico clínico requiere una evaluación simple, orgánica y funcional, la cual hoy día se encuentra disponible para la mayoría de las mujeres.

Según lo expuesto ampliamente en relación con el proceso de desarrollo folicular normal, la concentración de FSH durante la fase folicular temprana es de crucial importancia, ya que el aumento de los niveles sérico de FSH por encima de un umbral determinado iniciará la entrada de los folículos en la fase de crecimiento rápido. Y el período de tiempo en el cual la concentración de FSH está por encima del umbral va a determinar el número de folículos que llegarán a su etapa de maduración final. Posteriormente, es esencial que los niveles de FSH caigan rápidamente por debajo del nivel de umbral para que la estimulación folicular se limite a un solo folículo. Sin embargo, en los ciclos menstruales normales sin patología, aunque la cantidad de FSH se reduce, varios folículos que ya han sido reclutados pueden seguir creciendo a pesar de la disminución en la concentración de FSH, pero finalmente sólo uno llevará la dominancia folicular.

Por lo tanto, es posible que la concentración sérica de FSH pueda ser el factor más importante para determinar el cambio hormonal en la fase fértil y hacer posible la detección de los puntos gatillo de los períodos fértiles e infértiles. Para probar esta teoría, las variaciones en la concentración de estradiol en las diferentes fases del ciclo han sido testadas en varios estudios para confirmar que la hipótesis del umbral funciona bien a lo largo del ciclo (71, 72).

Los dispositivos más clásico que pueden monitorizar éste proceso en la práctica clínica, son los monitores que utilizan kits de determinaciones hormonales muy sensibles y fáciles de usar. La relación temporal entre una señal positiva de un kit que predice cuando va a ser posible la ovulación y la ruptura del folículo se ha estudiado en detalle por Collins, 1996 (53). El tiempo de un resultado positivo para la ruptura folicular osciló entre 24-48 horas (mediana de las 32 h). Estos resultados coinciden bien con el resultado de los estudios de la OMS (26, 52).

Con el advenimiento de las nuevas tecnologías, como las pruebas de una hormona específica, las mediciones seriadas de los estrógenos, de los metabolitos de la progesterona, de la hormona LH, o de nuevas metodologías que se encuentran en investigación, se podrá ayudar en el futuro a mejorar el diagnóstico de la ventana fértil de la mujer (73, 74, 75, 76).

Por último, hoy día es posible una integración de las señales, registro y cálculo de las signos de fertilidad, con la intención de mejorar la predicción y detección de la ventana de la fertilidad. La integración de estos recursos podría ser interesante para mejorar el abordaje de la ventana fértil. Finalmente un enfoque individualizado para detectar la ventana fértil en algunos casos es también útil, en combinación o con selección de algunos métodos y marcadores ya existentes (77).

## CONCLUSIÓN

Actualmente hay medidas subjetivas y objetivas a lo largo del ciclo menstrual que son predictivos de la situación fértil, las cuales hacen posible detectar los periodos de fertilidad e infertilidad, además si se realizan registros de marcadores biológicos de fertilidad, se puede aportar información fiable que informa lo que está sucediendo en el ciclo menstrual. Estas medidas de seguimiento podrían ser útiles en NaProTecnología, en RNF, y en diversos grupos de interés, teniendo en cuenta los recursos presentes hoy día al alcance de la literatura.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a todos los voluntarios que participaron en la preparación de este manuscrito.

---

 REFERENCIAS
 

---

1. Hilgers, Thomas W. *The Medical & Surgical Practice of Na-ProTechnology*. 1st ed. 6901 Mercy Road, Omaha, Nebraska, 68106, USA: Pope Paul VI Institute Press; July 2004.
2. Stanford JB, Parnell TA, Boyle PC. Outcomes from treatment of infertility with Natural Procreative Technology in an Irish general practice. *J Am Board Fam Med* 2008; (21):375–384.
3. Speroff L, Fritz MA. Chapter 6: Regulación del ciclo menstrual. In: *Endocrinología ginecológica clínica y esterilidad*. 7th ed. in English, 2006. 2nd ed. in Spanish. Lippincott Williams & Wilkins; 187-231.
4. Burger HG. Estradiol: The physiological basis of the fertile period. *Int J Gynecol Obstet*. 1999; (Suppl 1): 5-9.
5. Ben-Rafael Z, Levy T, Schoemaker J. Pharmacokinetics of follicle-stimulating hormone: Clinical significance. *Fertil Steril*. 1995; 63(4): 689-700.
6. Reichert LE Jr, Ward DN. On the isolation and characterization of the alpha and beta subunits of human pituitary follicle-stimulating hormone. *Endocrinology*. 1974; (94): 655–64.
7. Rathnam P, Saxena BB. Primary aminoacid sequence of follicle-stimulating hormone from human pituitary glands. *J Biol Chem*. 1975 (17): 6735–42.
8. Galle P, Ulloa-Aguirre A, Chappel SC. Effects of estradiol phenobarbitone and LHRH upon the isoelectric focusing profile of pituitary follicle-stimulating hormone in an ovariectomized hamster. *J Endocrinol*. 1983; (99): 31–40.
9. Wide L. Male and female forms of human follicle-stimulating hormone in plasma. *J Clin Endocrinol Metab*. 1982; (55): 682–8.
10. Gougeon A. Dynamics of follicular growth in the human: A model from preliminary results. *Hum Reprod*. 1986; (1): 81–7.
11. Brown JB. Pituitary control of ovarian function-concepts derived from gonadotropin therapy. *Aust NZJ Obstet Gynaecol*. 1978; (18): 47–54.
12. Van Weissenbruch MM, Schoemaker HC, Drexhage HA, Schoemaker J. Pharmacodynamics of human menopausal gonadotropin (hMG) and follicle-stimulating hormone (FSH). The importance of the FSH concentration in initiating follicular growth in polycystic ovary-like disease. *Hum Reprod*. 1993 (8): 813–21.
13. Zeleznik AJ, Kubik CJ. Ovarian responses in Macaques to pulsatile infusion of follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone: Increased sensitivity of the maturing follicle to FSH. *Endocrinology* 1986; 119: 2025–32.
14. Behre HM, Kuhlage J, Gassner C, Sonntag B, Schem C, Schneider HP, Nieschlag E. Prediction of ovulation by urinary hormone measurements with the home use ClearPlan Fertility Monitor: Comparison with transvaginal ultrasound scans and plasma hormone measurements. *Hum Reprod* 2000; 15 (12): 2478-82.
15. Barret JC, Marshall J. The risk of conception on different days of the menstrual cycle. *Population Studies*. 1969; (23): 455-461.
16. Schwartz D, Macdonald P.D.M., Heuchel V. Fecundability, coital frequency and the viability of the ova. *Population Studies*. 1980; 34(2): 397-400.
17. Royston JP. Basal body temperature, ovulation and the risk of conception, with special reference to the lifetimes of sperm and egg. *Biometrics*. 1982; 38(2): 397-406.
18. World Health Organization. A prospective multicentre trial of the ovulation method of natural family planning. III. Characteristics of the menstrual cycle and of the fertile phase. *Fertil Steril*. 1983; 40(6): 773-8.
19. Hilgers TW, Daly KD, Prebil AM, Hilgers SK. Cumulative pregnancy rates in patients with apparently normal fertility and fertility-focused intercourse. *J Reprod Med*. 1992; 37(10): 864-6.
20. Wilcox AJ, Weinberg CR, Baird DD. Timing of sexual intercourse in relation to ovulation. Effects on the probability of conception, survival of the pregnancy, and sex of the baby. *N Engl J Med*. 1995; 333 (23): 1517-21.
21. George N. Papanicolaou The sexual cycle in the human female as revealed by vaginal smear. *American Journal of Anatomy*. 1933; (52): 519-637.
22. Dóminguez A. Diagnóstico funcional de endometrio. Curso citodiagnóstico en ginecología. *Mama y endometrio*. Hospital Virgen del Camino. Unidad de Prevención y Diagnóstico Precoz. May. 1997.
23. Dunson DB, Baird DD, Wilcox CR. et al. Day-specific probabilities of clinical pregnancy based on two studies with imperfect measures of ovulation. *Hum Reprod* 1999; (4): 1835-1839.
24. Fehring RJ, Schneider M. Variability in the hormonally estimated fertile phase of the menstrual cycle. *Fertil Steril* 2008; 90 (4): 1232-5.
25. Collins WP. Review article. Hormonal indices of ovulation and the fertile period. *Adv. Contracept* 1985; (1): 279-94.
26. World Health Organization. Task force on methods for the determination of the fertile period. Temporal relationships between indices of fertile period. *Fertil Steril* 1983; (39): 647-655.
27. Tanabe KN, Susumu K, Hand K, Nishii I, et al. Prediction of the potentially fertile period by urinary hormone measure-

- ments using a new home-use monitor: Comparison with laboratory hormone analyses. *Human Reproduction* 2001; 16(8): 1619-1624.
28. Adlercreutz, H, Brown J, Collins W, et al. The measurement of urinary steroid glucuronides as indices of the fertile period in women. *J Steroid Biochem* 1982; (6): 695-702.
  29. Fehring RJ, Schneider M, Raviele K. Variability in the Phases of the Menstrual Cycle. *JOGNN Clinical Research* 2006; 35: 376-384.
  30. Ceric F, Silva D, Vigil P. Ultrastructure of the human periovulatory cervical mucus. *Journal of Electron Microscopy* 2005; 54(5):479-484.
  31. Temprano H. Aplicaciones Clínicas de la ventana fértil en los ciclos ovulatorios. Curso Presymposium. Bases y Aplicaciones de la fertilidad humana. Indicadores de la fertilidad. Diagrama Odeblad. Nov. 18, 2010. IX Simposio Internacional de Conciencia de Fertilidad Humana. La Coruña. Spain.
  32. Temprano, H. Estudio de los parámetros biofísicos del moco cervical humano e investigación de la cristalización con microscopía óptica y electrónica. Influencia de los inductores de la ovulación. (doctoral dissertation, Universidad Santiago de Compostela, 1990).
  33. Elstein M. Cervical mucus: Its physiological role and clinical significance. *Adv Exp Med Biol.* 1982; (144): 301-18.
  34. Mezger T. *The Rheology Handbook*. Hannover: Curt R. Vincent Verlag, 2002.
  35. Elstein M. Functions and physical properties of mucus in the female genital tract. *Br Med Bull* 1978; (34):83-8.
  36. Papanicolaou, GN. Some characteristic changes in the consistency of the uterine secretion. Department of Anatomy. Cornell University Medical College. *Anatomical Record.* 1935 (1).
  37. Huhner, M. *Sterility in Male-Female and its Treatment.* 1913. New York: Redman Co.
  38. Odeblad, E. Micro-NMR in high permanent magnetic fields. *Acta Obstet. Gynec. Scand* 1966; (45, Suppl 2): 126-139.
  39. Odeblad E. The functional structure of human cervical mucus. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1968; (47): 57-79.
  40. Odeblad E. The biophysical aspects of cervical mucus. In: Jordan JA, Singer A, editors. *The Cervix*. London: WB Saunders; 1976: 45-58.
  41. Odeblad E. et al. The biophysical properties of the cervical-vaginal secretions. *Int.Rev. Natural Family Planning* 1983; (7, 1): 1-56.
  42. Odeblad E. The functional structure of human cervical mucus. *Acta Obstet.Gynecol. Scand.* 1968; (47, Suppl. 1): 58-79.
  43. Allende ME, Cabezón C, Figueroa H, Kottmann C. Cervico-vaginal fluid changes to detect ovulation accurately. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2005; (193): 71-5.
  44. Barbato M, Pandolfi A, Guida-M. A new diagnostic aid for natural family planning. Centro Ambrosiano Metodi Naturali, Milano, Italy. *Adv-Contracept* 1993; 9(4): 335-40.
  45. Colombo B et al. Nadir of temperature the day of maximum fertility 42.9 %. *Statistical Methods in Medical Research* 2006; 15: 161-180.
  46. Colombo B, Masarotto G. Daily Fecundability: First Results from a New Data Base. *Demographic Research* 2000; 3(3):5.
  47. Stanford J. Fecundity and the mucus cycle score in couple using the CrMS. In: Hilgers T, ed. *The Medical and Surgical Practice of NaProTechnology*. Omaha: Pope Paul VI Institute Press; 2004:643-52.
  48. Scarpa et al. Cervical mucus secretions on the day of intercourse: An accurate marker of highly fertile days. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2006; 125: 72-78.
  49. Murcia JM, Esparza ML. Poster. Clinical applications of the fertile window in ovulatory cycles. November 18, 2010. IX International Symposium on Human Fertility Awareness. La Coruña. Spain.
  50. Murcia JM, Esparza ML. Poster. Fertile Window in NaProTechnology and Natural Family Program. J.M. November 18, 2010. IX International Symposium on Human Fertility Awareness. La Coruña. Spain.
  51. Romero H, T. Tecnología de apoyo. Curso presymposium. Bases y aplicaciones del conocimiento de la fertilidad. Nov. 18, 2010. IX Simposio Internacional de Conciencia de Fertilidad Humana. La Coruña. Spain.
  52. WHO Task Force on Methods for Determination of the Fertile Period. Temporal relationships between ovulation and defined changes in the concentration of plasma estradiol-17, luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and progesterone. I. Probit analysis. *Am. J. Obstet. Gynaecol.* (1980a) (138): 383-390.
  53. Collins WP. Indicators of potential fertility: Scientific principles. In: Bonnar, J, ed. *Natural Conception through Personal Hormone Monitoring*. New York, USA: Parthenon; 1996: 13-33.
  54. Collins WP, Branch CM, Collins PO. 1981. Ovulation prediction and detection by the measurement of steroid glucuronides. In: Cortes-Prieto J, Campos de Paz A, and Necess-Castro M, eds. *Research on Fertility and Sterility*. Lancaster: MPT Ltd.; 1981:19-33.

55. Branch CM, Collins PO, and Collins WP. Ovulation prediction: Changes in the concentrations of urinary estrone-3-glucuronide, estradiol-17-glucuronide and estradiol-16-glucuronide during conceptional cycles. *J. Steroid. Biochem.* 1982; (16): 345-347.
56. Fehring R, Raviele K, Schneider M. A comparison of the fertile phase as determined by the Clearplan Easy Fertility Monitor and self-assessment of cervical mucus. *Contraception* 2004; 69:9–14.
57. Crosignani PG, Rubin BL. Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. *Hum Reprod* 2000; 15: 723-32.
58. Guida M, Bramante S, Acunzo G, Pellicano M, Cirillo D, Nappi C. Diagnosis of fertility with a personal hormonal evaluation test. *Minerva Ginecol.* 2003; (55):167–73.
59. Janssen CJM, van Lunsen RHW. Profile and opinions of the female Persona® user in The Netherlands. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 2000; (5):141– 6.
60. May K. Monitoring reproductive hormones to detect the fertile period: Development of Persona—The first home use system. *Adv Contracept.* 1997; (13):139–41.
61. Bajo J. Ultrasonografía y Reproducción. Ultrasonografía vaginal del ciclo ovárico. Crecimiento folicular. Chapter 2. Barcelona – Philadelphia: Prous Science 1996: 21-35
62. Callen, Peter W. Ultrasonography in obstetrics and gynecology. Sonographic Imaging in Infertility. Chapter 32. 4th Edition. Saunders Company; 2000: 897-911.
63. (SESEGO). Sección de ecografía de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. Ecografía práctica en obstetricia y ginecología. Ecografía en reproducción. Edita: Escuela Española de Ultrasonidos en Obstetricia y Ginecología. Topic 45. 2004: 269-282.
64. Mercé, LT. Estudio ecográfico del ciclo ovárico normal. In: Mercé, L.T. (Ed.). Ecografía Doppler en obstetricia y ginecología. Madrid: Interamericana-McGraw-Hill 1993: 91-112.
65. Stanford JB, Thurman PB, Lemaire JC. Physicians' knowledge and practices regarding natural family planning. *Obstet Gynecol* 1999; 94: 672–7.
66. Billings EL, Billings JJ, Brown JB, Burger HG. Symptoms and hormonal changes accompanying ovulation. *Lancet* 1972; 1(7745): 282–4.
67. Katz DF, Slade DA, Nakajima ST. Analysis of pre-ovulatory changes in cervical mucus hydration and sperm penetrability. *Adv Contracept* 1997;13(2–3): 143–51.
68. Hilgers TW, Prebil AM. The ovulation method-vulvar observations as an index of fertility. *Obstet Gynecol* 1979; 53: 12–22.
69. Fehring RJ. Accuracy of the peak day of cervical mucus as a biological marker of fertility. *Contraception* 2002; 66: 231–5.
70. Keulers MJ, Hamilton CJCM, Franx A, Evers JLH, Bots RSGM. The length of the fertile window is associated with the chance of spontaneously conceiving an ongoing pregnancy in subfertile couples. *Human Reproduction* 2002; 22(6): 1652-1656.
71. Collins WP, Collins PO, Kilpatrick MJ, Manning PA, Pike JM, Tyler JP. The concentrations of urinary oestrone-3-glucuronide, LH and pregnanediol-3alpha-glucuronide as indices of ovarian function. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1979; 90(2): 336-48.
72. Billings JJ. The validation of the Billings ovulation method by laboratory research and field trials. *Acta Eur Fertil.* 1991; 22(1): 9-15.
73. Fehring RJ. A comparison of the ovulation method with the CUE ovulation predictor in determining the fertile period. *J Am Acad Nurse Pract.* 1996; 8(10): 461-6.
74. Moreno JE, Khan-Dawood FS, Goldzieher JW. Natural family planning: Suitability of the CUE method for defining the time of ovulation. *Contraception* 1997; 55(4): 233-7.
75. Moreno JE, Weitzman GA, Doody MC, Gibbons WE, Besch P, Goldzieher JW. Temporal relation of ovulation to salivary and vaginal electrical resistance patterns: Implications for natural family planning. *Contraception* 1988; 38(4): 407-18.
76. Fernando RS, Regas J, Betz G. Ovulation prediction and detection with the CUE Ovulation Predictor. *Hum Reprod* 1988; 3(4): 419-24
77. Detection and Exploring the Left Shift Kurtosis of the Fertile Window in Ovulatory Cycles by Biophysical Biomarkers of the Cervical Secretion: Case Report. Jose María Murcia Lora, María Luisa Esparza Encina Poster 91 Female Reproduction Section I. Presented at 13th European Congress of Endocrinology 30 April – 4 May 2011, Rotterdam, The Netherlands (Endocrine Abstracts) Vol 26.