



The principles and the routes of progestagens' administration in PCOS

Józef Krzysiek, Magdalena Krzyczkowska-Sendrakowska, Tomasz Milewicz

Dept of Gynecological Endocrinology Jagiellonian University, Cracow, Poland

Summary

One of the chief findings in polycystic ovaries syndrome may be the defective luteal phase of the menstrual cycle. There is a growing list of publications indicating a defective progesterone production by granulosa cells of ovarian follicles. In consequence, women with polycystic ovaries often require both the luteal phase and early pregnancy supplementation. From different routes of progesterone administration during the menstrual cycle, as the most clinically reliable in the early pregnancy either intramuscular or intravaginal route has been recommended.

(Pol J Endocrinol 2005; 6(56): 1002-1007)

Key words: PCOS, progestagens

Podstawy stosowania i drogi podaży progestagenów w zespole policystycznych jajników

Józef Krzysiek, Magdalena Krzyczkowska-Sendrakowska, Tomasz Milewicz

Klinika Endokrynologii Ginekologicznej CMUJ Katedra Ginekologii, Położnictwa i Onkologii CM UJ

Streszczenie

U kobiet z zespołem policystycznych jajników często rozpoznawana jest niedoczynność fazy lutealnej cyklu miesięczkowego. Wiele badań wskazuje na możliwość ograniczonej wydolności komórek warstwy ziarnistej pęcherzyków jajnikowych. Stąd nawet po uzyskaniu owulacji może istnieć potrzeba suplementacji progesteronem drugiej fazy cyklu i wczesnej ciąży. Spośród wielu sposobów podaży progesteronu w cyklu miesięczkowym, we wczesnej ciąży oczekiwania kliniczne spełnia podaż domięśniowa i dopochwowa

(Endokrynol Pol 2005; 6(56): 1002-1007)

Słowa kluczowe: zespół PCO, progestageny



Józef Krzysiek
Klinika Endokrynologii Ginekologicznej CMUJ
31-501 Kraków,
ul. Kopernika 23
tel. 424 85 70
e-mail: sekret.endo@interia.pl

Progesteron to hormon steroidowy o zasadniczym znaczeniu dla procesów jajeczkowania, implantacji zarodka, suplementacji niedoczynnej fazy lutealnej cyklu oraz inicjacji porodu, tj spadku wrażliwości *myometrium* na progesteron [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10]. Działanie na układ rozrodczy w szczególności obejmuje: wpływ na przekształcenie wydzielnicze endometrium, przekrwienie *myometrium*, zniesienie wpływu estrogenów na gruczoły szyjki macicy,

przerost warstw pośrednich w nabłonku pochwy, wzmożenie czynności wydzielniczej *endosalpinx*, zwolnienie perystaltyki jajowodów, wzrost pęcherzyków gruczołowych i nabłonka przewodów w obrębie sutka. Szczególne znaczenie mają prociążkowe działania progesteronu, takie jak: ułatwienie zagnieżdżenia blastocysty, działanie placentotropowe, relaksujące na *myometrium* na skutek stymulacji receptorów β -adrenergicznych oraz zmniejsz-

szenie wrażliwości *myometrium* na wpływ oksytocyny, kurcząco na okolicę ujścia wewnętrznego szyjki macicy, zmniejszenie syntezy prostaglandyn, poprawienie ukrwienia i rozpulchnienie macicy, działanie immunosupresyjne.

Ogólnoustrojowe działanie progesteronu obejmuje: wzmoczenie diurezy i katabolizmu tkanek, pobudzenie oddychania, zmniejszenie napięcia mięśni gładkich, zwiększenie wydalania wapnia i fosforu, podwyższenie ciepłoty ciała, obniżenie nastroju, wpływ anestetyczny i analgetyczny, wzmocnienie pamięci wzrokowej, stymulację proliferacji i różnicowania osteoblastów, działanie immunosupresyjne.

W obecności estrogenów i stężeniach nie przekraczających 2 ng/ml w surowicy progesteron stymuluje okołowulacyjną sekrecję LH i wyrzut owulacyjny FSH w odpowiedzi na pulsacje GnRH. W okresie przedowulacyjnym, luteinizacja warstwy ziarnistej dominującego pęcherzyka hamowana jest przez obecność w pęcherzyku oocyta, tak więc jedynie niewielkie stężenia progesteronu obecne są w krążeniu i osiągają centralny system nerwowy. Pęknięcie pęcherzyka dominującego i wydalenie oocyta odblokowuje luteinizację komórek warstwy ziarnistej i w ten sposób nasila syntezę progesteronu, którego stężenie w surowicy gwałtownie wzrasta. Szybki wzrost stężenia progesteronu hamuje silnie aktywność podwzgórza, zmniejsza pulsacje GnRH i na skutek tego obniża sekrecję gonadotropin w przysadce mózgowej. Zwolniona pulsacja GnRH preferuje sekrecję FSH, który rozpoczyna stymulację wzrostu puli pęcherzyków potrzebnych w następnym cyklu.

U człowieka w przedowulacyjnym pęcherzyku dominującym receptory LH pojawiają się tylko pod wpływem LH a nie estrogenów, jak u innych naczelników. Ekspresja receptora progesteronowego w pęcherzyku dominującym hamuje bezpośrednio mitozy komórek warstwy ziarnistej. Jeżeli w okresie przedowulacyjnym stężenie progesteronu przekracza 2 ng/ml, następuje zablokowanie owulacji.

W świecie zwierzęcym ekspozycja gruczołów piersiowych na progesteron silnie stymuluje proliferację i różnicowanie gruczołów piersiowych. U człowieka przeciwnie, progesteron hamuje proliferację nabłonkową gruczołów piersiowych [11, 12, 13, 14, 15].

Możliwe konstelacje hormonalne w najczęstszej endokrynopatii ginekologicznej jaką jest zespół policystycznych jajników, obejmują:

- tradycyjny obraz anowulacji z podwyższonym poziomem androgenów w surowicy i brak oporności na insulinę,
- zespół X z anowulacją, podwyższonym poziomem androgenów w surowicy, opornością na insulinę lub cukrzycą typu drugiego,
- zespół z anowulacją, podwyższonym poziomem androgenów w surowicy i opornością na insulinę

lub cukrzycą typu drugiego,

- zespół z cyklami owulacyjnymi, podwyższonym poziomem androgenów w surowicy i umiarkowaną opornością na insulinę, hirsutyzm idiopatyczny z cyklami owulacyjnymi, podwyższonym poziomem androgenów w surowicy i brakiem oporności na insulinę [16, 17, 18, 19, 20].

Potrzeba suplementacji fazy lutealnej w zespole policystycznych jajników wynika z obserwowanego defektu komórek warstwy ziarnistej, izolowanych z jajników w tym zespole, które wykazują defekt produkcji progesteronu zarówno spontanicznej jak i indukowanej przez FSH [32]. Ograniczone zdolności produkcji progesteronu mogą być jedną z przyczyn podwyższonego odsetka poronień w zespole policystycznych jajników. Kobiety, które poroniły ciążę wykazują wyższy poziom testosteronu i siarczanu dehydroepiandrosteronu. Stąd definicję zespołu policystycznych jajników jako schorzenia powodującego niepłodność z brakiem miesiączek i nawracające poronienia [29]. Na skutek estrogenowo-androgenowej konfiguracji hormonalnej, w celu zwolnienia częstotliwości pulsacji GnRH u kobiet dorosłych, musi się użyć wyższych dawek progesteronu. We wczesnej fazie lutealnej średnie stężenia progesteronu w PCOS są niższe, częściej stwierdza się anowulację i poronienia [21, 22, 23]. Brak cyklicznej ekspozycji na działanie progesteronu utrwala obserwowane anomalie gonadotropinowe i androgenowe obserwowane w tym zespole, zwłaszcza zmiany regulacji osi podwzgórzowo-przysadkowo-jajnikowej ze wzrostem produkcji LH. Zaburzeniom tym często towarzyszy też zaburzona praca kory nadnerczy [24, 25]. Mimo szeregu badań przyczyna braku miesiączek w tym zespole nie jest do końca wyjaśniona. W płynie pęcherzyków znajdują się wystarczające do aromatyzacji do estradiolu stężenia FSH i androgenów a jednak stężenie wyprodukowanego estradiolu jest niższe niż w cyklach prawidłowych jajników. Hodowla komórek ziarnistych z policystycznych jajników wykazuje ich prawidłową wrażliwość na stymulację przez FSH i zdolność produkowania bardzo wysokich stężeń estradiolu [30]. Brana jest pod uwagę możliwość obecności inhibitorów aromatazy w pęcherzyku.

Z tego powodu istnieje konieczność rutynowego badania stężenia testosteronu i 17-OH-progesteronu w I fazie cyklu, często wymuszonej podażą progesteronu czy progestagenu [26, 27]. Stwierdzono również, że cykliczna podaż progesteronu w zespole policystycznych jajników obniża produkcję androgenów [27, 28]. U dużej części kobiet z zespołem policystycznych jajników anowulacja przebiega z opornością na insulinę i hiperinsulinemią [31]. Inkubacja komórek ziarnistych z insuliną *in vitro* zwiększa ich wrażliwość na stymulację przez LH ale nie przez FSH. Ponadto suplementacja hormonem wzrostu obniża

produkcję androstenedionu i zwiększa wrażliwość na gonadotropiny.

Uważa się, że bezpośredni i poprzez zwiększenie frakcji wolnych estrogenów, mitogeny wpływ insuliny odgrywa rolę w części patologii towarzyszącej temu zespołowi.

Suplementacja progesteronowa w zespole policystycznych jajników dotyczy więc: wywołania krwawień z odstawienia, supresji nadmiernej produkcji progesteronu, indukowania owulacji u kobiet z opornością na cytrynian klomifenu oraz substytucji fazy lutealnej w technikach wspomaganej reprodukcji [33, 34].

Drogi suplementacji progesteronowej:

Droga przezskórna w postaci kremów zawierających progesteron promowana była przez Lee J. w osteoporozie, który określał skuteczność tego leczenia na 63%. Jednak badania australijskie nie potwierdziły tych wstępnych obserwacji ani w odniesieniu do objawów wypadowych, ani stężenia lipidów, stanu kości, nastroju i seksualności. Przyczyną niższej efektywności jest lipofilność progesteronu utrudniająca przenikanie przez skórę, jak się ocenia, w celu pełnego efektu klinicznego, wymagana byłaby absorpcja z połowy powierzchni ciała [35].

Podaż dorektalna cechuje się zmiennymi warunkami absorpcji jednak związki zjonizowane i lipofilne łatwo są wchłaniane tą drogą [36, 37]. Zwłaszcza leki metabolizowane w wątrobie są bardziej aktywne po podażu dorektalnej [38, 39]. Lek absorbowany w dolnej części *rectum* przez dolne żyły odbytnicze osiąga bezpośrednio krążenie z ominięciem wątroby. Lek wchłaniany z górnej części bańki odbytnicy dostaje się przez żyły odbytnicze górne do krążenia wrotnego. Szczyt poziomu P po podażu dorektalnej osiągany jest po 8 godzinach i stopniowo spada (może się wahać od 15 do 52 ng/ml po podaniu 100 mg P) [40].

Podaż 50-100 mg progesteronu w 1 ml zawiesiny pod język daje szczytowe stężenie progesteronu w surowicy po 30-60 min a średni poziom wynosi 17.61 ± 3.78 ng/ml [41]. Utrzymanie odpowiedniego stężenia w surowicy wymaga 2-3 krotniej podaży w ciągu dnia. Wstępne dane badań w ramach Iowa Assisted Reproduction Program, wskazują na potrzebę podawania 400 mg progesteronu podjęzykowo co 8 godzin aby uzyskać stężenia takie jak przy domięśniowej podażu 100 mg P [42]. Służówkę nosa cechuje wysokie unaczynienie oraz obecność mikrokosmków powiększających powierzchnię absorpcji [43, 44, 45, 46, 47, 48]. Nie uzyskano tą drogą jednak stężeń terapeutycznych wymaganych w położnictwie i w zespole policystycznych jajników. Ta droga podania nadaje się natomiast dla hormonalnej terapii substytucyjnej po menopauzie [49].

Istnieje duża zmienność absorpcji z przewodu pokarmowego po podażu doustnej progeste-

ronu, zależnie od np. wypełnienia żołądka [50]. Doustny progesteron ma słabą przyswajalność biologiczną [51, 52]. Progesteron podany doustnie wchłania się w jelicie cienkim, osiąga wątrobę przez krążenie wrotne i jest bardzo szybko metabolizowany. Ostatnio wprowadzono mikronizowane preparaty doustne progesteronu, które mają wyższą absorpcję aktywnej komponenty [52]. Produkcja formy mikronizowanej wymaga transformacji na bardzo rozdrobniony proszek i zawieszenia w podłożu olejowym, co znacznie zwiększa przyswajalność biologiczną leku [53]. Jednak mimo mikronizacji, wchłanianie jelitowe jest wciąż ograniczone (około 10% w porównaniu z drogą domięśniową). Dodatkowo pozostają indywidualne różnice we wchłanianiu [54]. Absorbacja ta wzrasta 2 krotnie w obecności pokarmu. W zespole policystycznych jajników progesteron doustny jest bardziej efektywny niż octan medroksyprogesteronu w supresji poziomu krążących androgenów. Po podażu doustnej progesteron jest metabolizowany do aktywnych pochodnych odpowiedzialnych za uboczne efekty stosowania doustnego progesteronu. Główne drogi metabolizowania progesteronu to: redukcja grupy karbonylowej przy C-3 i C-20, redukcja wiązania podwójnego C-4 do C-5, hydrosylacja C-16 do C-21; sprzężenie z kwasem glukuronowym lub siarkowym. Metabolity te mogą powodować zawroty, senność, nudności itp. Na skutek szybkiego metabolizmu, poziomy progesteronu w surowicy są niskie. Konieczne jest więc częste podawanie wysokich dawek [55]. Dawki te powodują jednakże dalszy wzrost stężenia metabolitów. Ponadto szybkie wchłanianie doustnych preparatów prowadzi do wzrostu stężenia takich metabolitów, jak: dezoksykortykosteron, estron i estradiol. W II fazie cyklu ponad 75% krążącego dezoksykortykosteronu pochodzi z obwodowej konwersji progesteronu. Podaż egzogenna progesteronu powoduje szybki wzrost stężenia dezoksykortykosteronu w surowicy, zależnie od drogi podania, efekty działania mineralokortykoidów i dezoksykortykosteronu są, w warunkach prawidłowego cyklu, znoszone przez antymineralokortykoidowy wpływ progesteronu (kompetycja o receptor mineralokortykoidowy). Działanie dezoksykortykosteronu może być jednakże widoczne w niektórych sytuacjach klinicznych lub jego nadmiarze [62]. Niektórzy przypisują obecność zespołu napięcia przedmiesiączkowego, obrzęków i nadciśnienia w ciąży zmienionym relacjom progesteron/ dezoksykortykosteron. W cyklu miesięcznym wzrasta stężenie obu związków ze szczytem w fazie lutealnej. U mężczyzn i w czasie fazy pęcherzykowej u kobiet, krążący dezoksykortykosteron produkowany jest przez nadnercza. Najczęstsze metabolity: - 5 α - i 5 β -zredukowany pregnanolon, są obecne w stężeniach wyższych niż stężenie samego progesteronu. Metabolity te w wysokich stężeniach mogą

łączyć się z receptorami progesteronu i interferować z jego normalną aktywnością. Metabolity te mają wysokie powinowactwo do receptorów kwasu γ -aminomasłowego, które są obecne w narządzie rodnym i ich aktywacja może mieć szkodliwy wpływ na przebieg ciąży [56, 57, 59, 65]. Doustny mikronizowany progesteron rozpoczęto podawać dla substytucji fazy lutealnej po IVF. Badania kliniczne wskazują na znamienne niższy odsetek implantacji po doustnej substytucji, w porównaniu z drogą domięśniową [60, 61]. Różnica ta pozostaje mimo identycznych poziomów progesteronu w surowicy osiągniętych oboma drogami podaży progesteronu - 23% ciąży i 7,5% implantacji przy substytucji mikronizowanym progesteronem w oleju, przy podaży domięśniowej w dawce 100mg o godz. 8⁰⁰ i 12⁰⁰ oraz 200 mg o 20⁰⁰ stwierdzano w niektórych opracowaniach 45% ciąży i 19% implantacji [58]. Jednakże Pouly zaobserwował 25% ciąży i 29,9% implantacji po doustnej podaży 100 mg o godz. 8⁰⁰ i 200 mg wieczorem oraz po podaży dopochwowej 28,8% ciąży i 35,3% implantacji [61]. Progesteron jest etapem w biosyntezie ważnych steroidów, takich jak: glukokortykoidy i mineralokortykoidy. Transformacja egzogenego progesteronu do innych hormonów o odmiennej aktywności biologicznej stanowi ograniczenie jego klinicznego stosowania. Korzystniejszy profil bezpieczeństwa i tolerancji daje dopochwowa podaż progesteronu. Terapia progesteronem w tabletkach dopochwowych polega zazwyczaj na stosowaniu dwu dawek na dobę co daje ponad 10-krotnie wyższe stężenie progesteronu w endometrium przy 7-krotnie niższym stężeniu w surowicy w porównaniu z podaniem domięśniowym [64]. Uważa się, że różnica ta wynika z istnienia „pochwowo-macicznego układu wrotnego” mającego polegać między innymi na: bezpośredniej dyfuzji, transporcie intraluminalnym (przezszyjkowym) i transporcie przez układ żylny i limfatyczny, ułatwionej dyfuzji z przeciwpłądową wymianą tętniczo-żylną (progesteron dyfunduje z macicznie-pochwowych naczyń limfatycznych do macicznego układu tętniczego jak w pętli Henlego lub jak przy wymianie ciepła w *sinus cavernosus*). Rozmiar absorpcji progesteronu w żelu, z pochwy, według poziomu w krążeniu obwodowym, osiąga ok. 50%-czyli podobnie jak po podaży domięśniowej ale istotny jest poziom w endometrium. Terapia progesteronowa dopochwowa wiąże się z minimalnym, w porównaniu z innymi drogami podawania, obciążeniem ogólnoustrojowym tym hormonem i jego metabolitami [66]. Długotrwałe stosowanie drogą dopochwową nie wpływa na parametry funkcji wątroby i profil lipidowy surowicy krwi ani też na poziomy FSH, LH, kortyzolu i aldosteronu. Buckler i wsp. stosowali progesteron dopochwowo 100mg 2 x dziennie przez 10 dni osiągając w surowicy średnio poziom 16 ng/ml po 4 dniach [67]. Poziom

LH obniżył się po 8 dniach. Jednak inni autorzy nie potwierdzają osiągania stabilnych poziomów w surowicy po podaży dopochwowej. Żel dopochwowy progesteronowy wpływa na endometrium tak samo jak iniekcja domięśniowa i nasilenie decidualizacji jest porównywalne z naturalnym cyklem miesięczkowym co Fanchin i wsp. określili jako *troficzność* pochwowego progesteronu [64]. Po podaży co drugi dzień kremu z 45 mg progesteronu osiągnięta jest pełna decidualizacja endometrium, mimo poziomu w surowicy typowego dla niewydolności fazy lutealnej, tj. poniżej 5 mg/L. Nadspodziewana skuteczność dopochwowego stosowania progesteronu wydaje się potwierdzać istnienie tzw. efektu pierwszego przejścia „*first uterine pass effect*”.

Podaż domięśniowa w praktyce oznacza dopośladkową iniekcję leku. Przy podaży dopośladkowej osiągnięty jest znamienne dłuższy czas półtrwania niż przy wstrzyknięciu do ramienia (większa zawartość tkanki tłuszczowej w pośladku i duża lipofilność progesteronu) [67]. Progesteron magazynowany jest w tkance tłuszczowej i uwalniany do krążenia tylko przy spadku stężenia w surowicy. Pozwala to na jednorazową podaż progesteronu mimo jego nadzwyczaj krótkiego czasu trwania w surowicy wynoszącego 5-20 min [69].

Domięśniowa podaż progesteronu jest bolesna, może powodować zasinienie a niekiedy jałowy ropień pośladka [70]. Jest to jednak jedyna droga gwarantująca właściwy poziom aktywnego progesteronu w surowicy [71]. Podaż przez 5 dni powoduje obniżenie poziomu LH i FSH a wrażliwość na estrogeny zostaje przywrócona u 70% pacjentek z cyklami anowulacyjnymi. Ta droga nie jest zalecana po menopauzie, ponieważ droga pochwowa daje podobne efekty. Ten sposób stosowania leku stanowi długoterminową opcję dla okresu menopauzy. Progesteron i progestageny syntetyczne mają odmienny wpływ na CSN (odmienne niegenomowe własności molekuł), powoduje to, że niekorzystne objawy centralne mogą być obecne u ok. 10- 20% kobiet.

Reasumując powyższe rozważania można stwierdzić, że suplementacja fazy lutealnej w zespole policystycznych jajników poprawia relacje hormonalne stanowiąc alternatywę dla innych metod leczniczych, jak również że droga podaży wydaje się mieć duże znaczenie przy konieczności stosowania dużych dawek lub długotrwałego leczenia i uzyskania odpowiedniej reakcji miejscowej w macicy.

Piśmiennictwo

1. Doldi N., Gessi A. i wsp. Polycystic ovary syndrome: anomalies in progesterone production. Human Reprod. 1988; 13, 290-293
2. Doldi N., Marsiglio E., Destefani A., Gessi A., Mcrati G., Ferrari A. Elevated serum progesterone on the day of HCG

- administration in IVF is associated with a higher pregnancy rate in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1999; 14: 601-605
3. Ludwig M i Diedrich K 2001 Evaluation of an optimal luteal phase support protocol in IVF. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001;80:452-66.
4. Bagchi IC i wsp. 2001; Li, Q, i Cheon, Y. P. (2001) Role of steroid hormone-regulated genes in implantation. *Ann. NY Acad Sci.* 943:68-76.
5. Bagchi IC, Li Q, Cheon YP. Role of steroid hormone-regulated genes in implantation. *Ann N Y Acad Sci* 2001;943:68-76
6. Cavagna M. Mantese J.C.: Biomarkers of endometrial receptivity--a review. i wsp. 2003; Placenta, Suppl. B. S39-47.
7. Posaci C i wsp. 2000 Progesterone for the luteal support of assisted reproductive technologies: clinical options. Suppl. 1, 129-148.
8. Mesiano S. Myometrial progesterone responsiveness and the control of human parturition. *J Soc Gynecol Investig* 2004;11: 193-202
9. Mesiano S 2004 Myometrial progesterone responsiveness and the control of human parturition. *Mol Hum Reprod* 7:581-586
10. Madsen G i wsp. 2004, Prostaglandins differentially modulate progesterone receptor-A and -B expression in human myometrial cells: evidence for prostaglandin-induced functional progesterone withdrawal. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Feb;89(2):1010-3
11. Franks S, Roberts R, Hardy K. Gonadotrophin regimens and oocyte quality in women with polycystic ovaries. *Reprod Biomed Online* 2003;6:181-184.
12. Chang KJ i wsp.. Influences of percutaneous administration of estradiol and progesterone on human breast epithelial cycle in vivo. *Fertility and Sterility* 1995; 63: 785-91.
13. Laidlaw IJ, Clarke RB. The proliferation of normal breast tissue implanted into athymic nude mice is stimulated by estrogen, but not by progesterone. *Endocrinology* Jan 1995;136(1):164-71.
14. Jernstrom H, Frenander J, Ferno M & Olsson H. 1999 Hormone replacement therapy before breast cancer diagnosis significantly reduces the overall death rate compared with never-use among 984 breast cancer patients.. *British Journal of Cancer* 80 1453-1458
15. Foidart JM, Colin C, Denoo X, Desreux J, Beliard A, Fournier S, de Lignieres B. Estradiol and progesterone regulate the proliferation of human breast epithelial cells. *Fertil Steril* 1998 May;69(5):963-9
16. Milart P, Paszkowski T. Progestageny w praktyce ginekologicznej. *Ginekolog* 2002; 67: 16-21
17. Paszkowski T., Kozłowska J. Progesteron – druga młodość starego leku. *Ginekologia Praktyczna* 2003; 1(70):52-7.
18. Speroff L, Glass RH, Kase NL (eds). *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. Lippincott Williams & Wilins, Baltimore, Philadelphia, 1999.
19. Warren MP, Shanta S. Uses of progesterone in clinical practice. *Int J Fertil* 1999; 44: 96-103. 20. Ziegler D, Fanchin R. Progesterone and progestins: applications in gynecology. *Steroids* 2000; 65: 671-9.
21. Joseph-Horne R, Mason H, Batty S, White D, Hillier S, Urquhart M, Franks S. Luteal phase progesterone excretion in ovulatory women with polycystic ovaries. *Hum Reprod* 2002;17:1459-1463
22. Fleming, R., McQueen D., Yates, R.W.S., & Coutts. J.R.T., (1995), Spontaneous follicular and luteal function in infertile women with oligomenorrhoea: role of luteinizing hormone. *Clinical Endocrinology (Oxf)* 43: 735-739.
23. Franks S. Assessment and management of anovulatory infertility in polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003;32:639-651.
24. Luboshitzky R. i wsp. What are the key features of importance in polycystic ovary syndrome? *Fertility and Sterility* 2003; 80: 259-261.
25. Luboshitzky R, Ishai A, Shen-Or Z, Herer P. Evaluation of the pituitary-adrenal axis in hypandrogenic women with polycystic ovary syndrome. *Neuroendocrinol Lett* 2003;24: 249-254
26. Chang RJ, Nakamura RM, Judd HL, et al. Insulin resistance in non-obese ...in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2002;77:669-673. .
27. Woods KS, Reyna R, Azziz R. Effect of oral micronized progesterone on androgen levels in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002;77:1125-1127.
28. Anttila L, Koskinen P, Erkkola R, Irjala K, Ruutinen K. Serum testosterone, androstenedione and luteinizing hormone levels after short-term medroxyprogesterone acetate treatment in women with polycystic ovarian disease. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1994;73:634-636.
29. Erickson, G.F., and Yen, S.S.C. (1993) The polycystic ovary syndrome. In Adashi, E.Y. and Leung, P.C.K. (eds), *The Ovary*. Raven Press, New York, USA, p. 561.
30. Erickson GF., Magoffin DA., Cragun R., et al.. The effects of insulin and insulin-like growth factors I and II on estradiol production by granulosa cells of polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990; 70: 894.
31. Unfer V, Casini ML, Gerli S, et al. *Fertil Steril*. 2005;83:367-70. 13.... Effects of ascorbic acid supplementation on serum progesterone levels in patients with polycystic ovaries.
32. Doldi N, Gessi A, Dcstfani A, Calzi F, Ferrari A. Polycystic ovary syndrome: anomalies in progesterone production. *Hum Reprod* 1998; 13:290-293.
33. Homburg R, Weissglas L, Goldman J. Improved treatment for anovulation in polycystic ovarian disease utilizing the effect of progesterone on the inappropriate gonadotrophin release and clomiphene response. *Hum Reprod* 1988;3:285-288.
34. Dale PO, Tanbo T, Kjekshus E, Abyholm T. Pregnancy after transfer of cryopreserved embryos in clomiphene citrate resistant polycystic ovarian syndrome. *Fertil Steril* 1990;53: 362-364.
35. Mauvais-Jarvis P, Kuttann F, Wright F. La progesterone administrée par voie percutanée. *Ann Endocrinol (Paris)* 1975;36:56-62
36. Gladtko E, von Hattingberg HM. Problems of rectal application of drugs. *Dtsch Med Wochenschr* 1970;95:1494-1496.
37. Corbo DC, Liu JC, Chien YW. Drug absorption through mucosal membranes: effect of mucosal route and penetrant hydrophilicity. *Pharm Res* 1989;6:848-852.
38. Gibaldi M, Boycs RN, Feldman S. Influence of first-pass effect on availability of drugs on oral administration. *J Pharm Sci* 1971;60:1338-1340.
39. Boer AG, Moolenaar F, de Leede LG, Breimer DD. Rectal drug administration: clinical pharmacokinetic considerations. *Clin Pharmacokinet* 1982;7:285-311
40. Chakmakjian ZH, Zachariah NY. Bioavailability of progesterone with different modes of administration. *J Reprod Med* 1987;32:443-448
41. Stovall DW, Van Voorhis BJ, Mattingly KL, Sparks AET, Chapler FK, Syrop CH. The effectiveness of sublingual progesterone administration during cryopreserved embryo transfer cycles: results of a matched follow-up study. *Fertil Steril* 1996;65:986-991.
42. Unfer V, Oostabale L, Gerli S, Marelli G. Farmacocinetica e farmacodinamica del progesterone: diverse vie di somministrazione. In: *Il progesterone*. Rome: Verduci Editore; 1999. p 21
43. Steege JF, Rupp SL, Stout AL, Bernhisel M. Bioavailability of nasally administered progesterone. *Fertil Steril* 1986;46: 727-729
44. Cicinelli E, Borracino V, Petrucci D, Mazzotta N, Cerundolo ML, Schonauer LM. Pharmacokinetics and endometrial effects of the vaginal administration of micronized progesterone in an oil-based solution to postmenopausal women. *Fertil Steril* 1996;65:860-862.
45. Cicinelli 1991 Cicinelli E, Ragno G, Cagnazzo I, Fanelli F, Vetuschi C, Schonauer S. Progesterone administration by nasal spray. *Fertil Steril* 1991;56:139-141
46. Cicinelli E, Cignarelli M, Resta L, Scordia P, Petrucci D, Santoro G. Effects of the repetitive administration of progesterone by nasal spray in postmenopausal women. *Fertil Steril* 1993;60:1020-1024

47. Cicinelli E, Petruzzi D, Scordia P, Resta L. Effects of progesterone administered by nasal spray on the human postmenopausal endometrium. *Maturitas* 1993;18:65-72.
48. Cicinelli E, Ragno G, Fanelli F, Vetusch C, Cantatore FP. Nasally-administered progesterone: comparison of ointment and spray formulation. *Maturitas* 1991;13:313-317.
49. Wattanakumtornkul S, Pinto AB, Williams DB. Intranasal hormone replacement therapy. *Menopause* 2003;10:88-98.
50. Levine H, Watson N. Comparison of the pharmacokinetics of Crinone 8% administered vaginally versus Prometrium administered orally in postmenopausal women. *Fertil Steril* 2000;73:516-521.
51. Maxson WS, Hargrove JT. Bioavailability of oral micronized progesterone. *Fertil Steril* 1985;44:622-626.
52. Hargrove JT, Maxson WS, Wentz AC. Absorption of oral progesterone is influenced by vehicle and particle size. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:948-951.
53. Chakmakjian ZH, Zachariah NY. Bioavailability of progesterone with different modes of administration. *J Reprod Med* 1987;32:443-448.
54. McAuley JW, Kroboth FJ, Froboth PD. Oral administration of micronized progesterone: a review and more experience. *Pharmacotherapy* 1996; 16:453-457.
55. Ottoson UB, Carlstrom K, Damber JE, von Schoultz B. Serum levels of progesterone and some of its metabolites including deoxycorticosterone after oral and parenteral administration. *Br J Obstet Gynaecol* 1984;91:1111-1119.
56. Nahoul K, Dehennin L, Jondet M, Roger M. Profiles of plasma estrogens, progesterone and their metabolites after oral or vaginal administration of estradiol or progesterone. *Maturitas* 1993;16:185-202.
57. Vanselow W, Dennerstein L, Greenwood KM, de Lignieres B. Effect of progesterone and its 5 α and 5 β metabolites on symptoms of premenstrual syndrome according to route of administration. *J Psychosom Obstet Gynaecol* 1996;17:29-38.
58. Buvat J, Marcolin G, Guittard C, Herbaut JC, Louvet AL, Dehaene JL. Luteal support after luteinizing hormone releasing hormone agonist for in vitro fertilization; superiority of human chorionic gonadotropin over oral progesterone. *Fertil Steril* 1990;53:490-494.
59. Wilson MA. GABA physiology: modulation by benzodiazepines and hormones. *Crit Rev Neurobiol* 1996; 10:1-17.
60. Licciardi FL, Kwiatkowski A, Noyes NL, Berkeley AS, Krey T-I, Grifo JA. Oral versus intramuscular progesterone for in vitro fertilization: a prospective randomized study. *Fertil Steril* 1999;71:614-618.
61. Pouly JL, Bassil S, Frydman R, Hedon B, Nicollet B, Prada Y, Antoine JM, Zambrano R, Donnez J. Luteal support after (intra) fertilization: Crinone 8%, a sustained release vaginal progesterone gel, versus Utrogestan, an oral micronized progesterone. *Hum Reprod* 1996; 11:2085-2089.
62. Antonipillai J, Moghissi E, Hawks D, Schneider T, Horton R. The origin of plasma deoxycorticosterone in men and in women during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;56:93-98.
63. Casey ML, MacDonald PC. Formation of deoxycorticosterone from progesterone in extraadrenal tissues: demonstration of steroid 21-hydroxylase activity in human aorta. *J Clin Endocrinol Metab* 1982;55:804-806.
64. Fanchin R, de Ziegler D, Bergeron C, Righini C, Torrisi C, Frydman R. Transvaginal administration of progesterone. *Obstet Gynecol* 1997;90:396-401.
65. Perusquia M, Villalon CM. The relaxant effect of sex steroids in rat myometrium is independent of the gamma-amino butyric acid system. *Life Sci*. 1996;58(11):913-26.
66. Shantha S i wsp. 2001 Natural Vaginal Progesterone Is Associated with Minimal Psychological Side Effects: A Preliminary Study. *Journal of Women's Health & Gender-Based Medicine* Dec 2001, Vol. 10, No. 10: 991-997.
67. Buckler HM, Bangah M, Healy DL, Burger HG. Vaginal progesterone administration in physiological doses normalizes raised luteinizing hormone levels in patients with polycystic ovarian syndrome. *Gynecol Endocrinol* 1992;6: 275-282.
68. Simon JA, Robinson DE, Andrews MC, Hildebrand JR 3rd, Rocci ML Jr, Blake RE, Hodgen GD. The absorption of oral micronized progesterone: the effect of food, dose proportionality, and comparison with intramuscular progesterone. *Fertil Steril* 1993;60:26-33.
69. Can KJ. ABC of endocrinology. I. Hormones in general. *Lancet* 1970; 1:763-765.
70. Smitz J, Devroey P, Faguer B, Bourgain C, Camus M, Van Steirteghem AC. A prospective randomized comparison of intramuscular or intravaginal natural progesterone as a luteal phase and early pregnancy supplement. *Hum Reprod* 1992;7:168-175.
71. Nilu S, Johansson EDB. Plasma progesterone levels after intramuscular or rectal administration of progesterone. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1971;50:46.