

Endometriyal Reseptivitenin İmplantasyondaki Rolü

The Role of Endometrial Receptivity in Implantation

Leyla BAHAR, Tülin BAYKAL

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Mersin

Özet

Blastosist implantasyonu dinamik bir süreçtir. Bu süreç, embriyonun hazırlanmış endometriyum epiteline yaklaşmasını, tutunmasını ve endometriyal stromaya yayılmasını içerir. Başarılı bir implantasyon, blastosist ve reseptif endometriyum arasında karşılıklı etkileşimlerin sonucudur. Endometriyum, reseptif olana kadar belirli morfolojik değişiklikler geçirerek gelişir. Endometriyal reseptivite, in vitro fertilizasyon ve embriyo transferi tedavilerinin başarısında önemli bir sınırlama oluşturur. Diğer bir deyişle, embriyo gelişimi ve endometriyal olgunlaşma arasındaki bir uyum eksikliği, implantasyon başarısızlığının bir sebebidir. Blastosist sadece, endometriyumun benzersiz morfolojik ve moleküler değişiklikleriyle karakterize olan reseptif fazında implante olabilir. İmplantasyon boyunca, uterin boşluğa uzanan epitelyal hücrelerin apikal membranları mikrovillüslerini kaybeder, geniş ve düz membran uzantıları gelişir. Endometriyal yüzeydeki bu uzantılar implantasyon penceresinin ince yapı belirteçleri olarak tanımlanmıştır ve pinopodlar olarak bilinirler. Pinopod ekspresyonlarında değişimlerin eşlik edebildiği, bozulmuş veya prematür endometriyal olgunlaşma, IVF sikluslerinde implantasyon oranlarında azalmaya sebep olabilir. Dahası, maternal endometriyal hücreler; direk olarak ovaryan steroidlerle, indirek olarak çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinlerle düzenlenirler. Blastosist implantasyonunu destekleyen endometriyum farklılaşması, progesteron ve östrojen tarafından ayarlanır. Yine de, blastosist implantasyonunda, endometriyum reseptivitesini sağlayan bu moleküler mekanizmalar tam olarak anlaşılmiş değildir. Bu alandaki ileri çalışmalar yeni iyileştirici fırsatlar sunabilir.

Anahtar Sözcükler: implantasyon, endometriyal reseptivite, pinopod

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg, 2008;1(2):1-6

Geliş Tarihi : 17.12.2007

Kabul Tarihi : 17.04.2008

Yazışma Adresi:

Dr. Leyla BAHAR,
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim
Dalı, Yenişehir Kampüsü, 33169- Mersin
Tel : 0-324-3413066
Faks : 0-324-3412400
E-posta : laylabahar@yahoo.com

Abstract

Blastocyst implantation is a dynamic process. This process involves embryo apposition and attachment to the prepared endometrial epithelium, and invasion into the endometrial stroma. Successful implantation is the result of reciprocal interactions between the blastocyst and receptive endometrium. The endometrium undergoes precisely defined morphological changes until receptive endometrium is developed. Endometrial receptivity represents a crucial limit for the success of in vitro fertilization and embryo transfer treatments. In other words a lack of synchrony between the embryo development and endometrial maturation results in an implantation failure. Blastocyst may implant only in the receptive phase, which is characterized by unique morphological and molecular changes of the endometrium. During implantation, the apical membranes of the epithelial cells lining the uterine cavity lose their microvilli and develop large and smooth membrane projections. These projections on the endometrial surface have been suggested as ultrastructural markers of the implantation window, which are known as pinopodes. Reduced implantation rates in IVF cycles could result from impaired or premature endometrial maturation, which could be accompanied by alterations in pinopode expression. Furthermore, maternal endometrial cells are regulated directly by ovarian steroids and indirectly by various growth factors and cytokines. Endometrial differentiation to support blastocyst implantation is coordinated by progesterone and oestrogen. Nevertheless, the molecular mechanisms that render the endometrium receptive to blastocyst implantation are not fully understood. Further research in this field may offer new therapeutic opportunities.

Keywords: implantation, endometrial receptivity, pinopod

Giriş

İnsan gelişimi bir oositin fertilize olmasıyla başlar. Fertilizasyon birbirleriyle ilişkili karmaşık moleküler olaylar dizisi olup tek hücreli embriyo olan zigotun birinci mitoz bölünmesinin metafaz plağında anne-baba kromozomlarının bir araya gelmesiyle son bulur. Fertilizasyon sonrası yaklaşık olarak altıncı günde, blastosist sıklıkla iç hücre kitlesine yakın bölgeden (embriyonik kutup) endometriyal epitelyuma tutunur (1). Östrojen ve progesteronun stromal hücreler üzerine bir dizi etkisiyle şekillenen desidual hücreler, blastosistin implantasyonunda çok önem taşır. Dönüşüm sonucunda geniş, soluk ve glikojenden zengin olan bu hücrelerin hala kesin fonksiyonları bilinmemesine rağmen, embriyonun beslenmesi için elverişli, uygun bir çevre sağladığı açıktır (2). Sağlıklı embriyo gelişiminde çok önem taşıyan endometriyum; hormonal değişikliklere hassas ve kompleks bir dokudur (3).

İnfertilite toplumdaki çiftlerin %15-30'unu ilgilendiren bir problemdir. Günümüzde infertil çiftlerin tedavisinde yardımcı üreme tekniklerinden; en sık olarak In Vitro Fertilizasyon (IVF) ve Intrastoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI) kullanılmaktadır. ICSI sonrası ikinci ve üçüncü günde normal fertilize olan ve bölünen oositler iki ila sekiz blastomer içermektedir. Embriyolar bu evreden sonra, en yüksek implantasyon potansiyeline sahip olanların seçimi açısından dikkatlice değerlendirilmelidir. Sadece embriyo fragmantasyonu ve morfolojik kriterlere dayalı embriyo değerlendirilmesinin kısıtlılıkları iyi bilinmektedir. Pek çok çalışmada, embriyo kalitesi ve implantasyon potansiyelini değerlendirmede daha objektif kriterler araştırılmaya başlanmıştır.

İyi kalite embriyo transferine rağmen, gebe kalmadaki başarısızlık, IVF uygulamalarında önemli bir klinik problemdir. Embriyo implantasyon oranı %25-30 aralığındadır (4). İmplantasyon öncesi embriyonik ölümle sonuçlanan önemli gebelik kayıpları, birçok memeli için geneldir. Ancak implantasyon sürecinde yüksek canlıların hayatta kalabilmesi için uygun seçilmiş bir yöntem izlenmesi önemlidir (5).

Endometriyum, biyokimyasal faktörlerin çoğunun üretildiği ve damarsal yapı olarak değişen derecelerde kanlanan karmaşık bir dokudur. İmplantasyon boyunca endometriyumun kalitesinin anlaşılması için bazı kriterler vardır. Steroidlerin etkisiyle ortaya çıkan mikroskobik görüntülerin yanısıra noninvaziv yöntemlerle belirlenen endometriyal kalınlık ve morfolojinin değerlendirilmesi gibi makroskobik kriterler de vardır. Ancak hala bu değerlendirmeler subjektif olup tartışılmaktadır (3).

Blastosistlerin beşinci veya altıncı günde transferi, daha iyi bir embriyo ve endometriyum uyumu sağlaması açısından avantajlıdır. Ayrıca, zigot genom aktivasyonu sayesinde, sonradan ortaya çıkan genetik ve metabolik sorunlar nedeniyle gelişemeyen embriyoların elimine edilmesi de sağlanmaktadır. İn vitro fertilizasyonun

başarısını sınırlayan majör faktör, implantasyon yetersizliğidir. Bir blastosist, implantasyonun başlangıcı için, reseptivite kazanmış bir endometriyumla etkileşime ihtiyaç duyar (6). IVF için ovaryan stimülasyonda kullanılan seks steroidlerinin yüksek konsantrasyona ulaşması endometriyal reseptivitenin azalmasına neden olabilir. Bu durum implantasyon oranını düşüren bir sebep olarak değerlendirilebilir (7).

Endometriyal Reseptivite

Üreme tıbbındaki son ilerlemelere rağmen, insan infertilitesine katkıda bulunan uterin reseptivitenin oynadığı rol açık değildir. İmplantasyon başarısızlığı; IVF gebelik oranlarında başarıyı etkileyen en önemli etmenlerden biridir (8,9). Endometriyumun ultrason ile, endometriyal biyopsi ve uterin sekresyonların analizi gibi diğer tekniklerle klinik değerlendirmesi üzerine yoğun çalışmalar yapılmıştır. Endometriyal fonksiyonların gelişmesi için sağaltıcı seçenekler önerilmiş ve test edilmiştir. Çok sayıda protein ve moleküller endometriyal gelişmeyi etkileyebilir, ancak onların implantasyon sürecine katkısı ve klinik kullanıma geçişi, yeterince anlaşılabilmiştir. İnsan endometriyumu fertilite belirleyici bir faktör olarak düşünülebilir (10). İnsan embriyosunun implantasyon süreci, endometriyum ve embriyo arasında uygun bir diyaloga ihtiyaç duyar. Anne açısından, reseptif endometriyum bir önkoşul gibidir (11). İmplantasyon; blastosist ve endometriyal tabakalar arasında kendiliğinden gelişen dinamik bir süreç olmasına rağmen, implantasyon penceresi boyunca endometriyumun hazırlanması tamamen maternal kaynaklıdır. Aksine sağlıklı kadınların infertilitesinin en büyük sebebi, üreme tıbbının henüz çözümlenememiş olan implantasyon başarısızlığıdır. Gerçekte, IVF'de implantasyon oranı %25 civarındadır (4). Yetersiz uterin reseptivite, implantasyon başarısızlığının yaklaşık üçte ikisinden sorumludur (12). IVF'de tekrarlayan implantasyon başarısızlığı kompleks bir konudur ve tamamen anlaşılabilmiştir (13). Embriyonik anöploidi, uterin kavite anomalileri ve değişmiş endometriyal reseptivite potansiyel sebepler olarak rapor edilmiştir (14). Embriyo transfer öncesi morfolojik olarak bazı kriterlere uygun olmalıdır. Ancak buna rağmen anöploidi olabilir ve implantasyonu etkileyebilir (15).

Transformasyon ve stromal desidualizasyon oluşan sekretuar faz endometriyumunda belirleyici hormon progesteron iken, proliferatif fazın dominant hormonu östrojendir (16). İmplantasyonda; ovaryan steroidlere yanıt olarak oluşan uterin duyarlılık: preresptif, reseptif ve nonreseptif şeklinde üç fazda programlanır. Bilindiği gibi blastosist, endometriyumun benzersiz morfolojik ve moleküler değişimleriyle karakterize reseptif fazda implante olur (17).

Reseptivitenin Morfolojik Belirteçleri: Pinopodlar

Birçok çalışma; ovulasyon sonrası altıncı ve sekizinci günler arasında, uterin reseptivitenin dar bir penceresi içinde blastosist implantasyonunun önemini vurgular. Endometriyum; reseptif olana kadar, belirli morfolojik değişiklikler geçirir. Bu morfolojik değişiklikler ilk olarak 1950'lerde Noyes ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Reseptivite kazanılan bu kısa ve kesin periyot; 48 saatten daha azdır. Bu süreç endometriyum epitelyal hücrelerinin apikal membranları üzerinde gelişen geniş ve düz uzantıların olduğu bir dönemi kapsayıp "implantasyon penceresi" olarak adlandırılır (18). Endometriyumun reseptif durumuna ek olarak uterusun nötral ve saldırgan dönemlerinin de olduğu düşünülmektedir. Nötral dönemde embriyo uterus içinde yaşayabilmekte, saldırgan dönemde ise aktif olarak yok edilmektedir. Hayvanlarda reseptif dönemin dışında yapılan uterus lavajlarında, embriyotoksik ajanlara da rastlanmıştır (19). İmplantasyon döneminde uterus boşluğuna uzanan epitelyal hücrelerin apikal membranları mikrovillüslerini kaybeder, geniş ve düz membran uzantıları gelişir. Pinositotik fonksiyonları olduğu düşünülerek bu uzantılara, 1973'te Enders ve Nelson 'pinopod' adını vermişlerdir (20). Daha sonraları genel bir terim olarak "uterine-dome" denilen pinopodların birçok moleküllerin ekspresyonunu yaptığı tesbit edilmiştir (21). Murin üreme fizyolojisinin aksine insanlarda implantasyon penceresinin en değerli işaretleyicisi progesterondur. Gerçekten, başlangıçta östrojenin etkisinde olan endometriyum, progesteronun etkisiyle penceresini açar. Bazı araştırmacılar, uterin reseptivite gelişimi ve pinopod ekspresyonunun kesinlikle progesteron bağımlı olduğu, bunun yanısıra, östrojenin yüksek dozunun hem pinopod formasyonunu hem de blastosist implantasyonunu inhibe edeceğini rapor etmişlerdir. İmplantasyon penceresi, 28 günlük tipik menstrüel siklusun 20-23. günleri ile sınırlıdır (17). İlk olarak kemirgenlerde bulunan bu pinopod denilen oluşumların, insanlarda implantasyon zamanında uterin salgıyı azalttığı düşünülmüş ama kesin bağlantı bulunamamıştır. Maksimum pinopod formasyonu olduğunda, endometriyum lümen epitelyal hücrelerinde heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörünün yoğun bulunduğu ve pinopodlarla birlikte, implantasyonda önemli bir rol oynadıkları düşünülmüştür (22). Dahası, pinopod ekspresyonu, implantasyon penceresini lokalize etmede ve endometriyal reseptivitenin değerlendirilmesinde faydalı bir biyolojik belirteç olabilir (23,24). Aslında epitelyal yüzeydeki bu silya benzeri uzantılar şeklinde görülen pinopodlar, ışık mikroskobu ile de görülebilir (25). Ancak tarayıcı elektron mikroskobu ile kesin varlığı ve evresi tesbit edilebilir (21,26). Endometriyal pinopodlar spesifik bir implantasyon belirteci olabilir. Ayrıca pinopodların sayısı, hastalar arasında farklıdır ve embriyo transferinden sonra pinopod

sayısı ve implantasyon arasında güçlü bir bağlantı olduğu bulunmuştur (27,28). Son yıllarda bazı araştırmacılar tarafından, pinopodlara her canlı türünde pinositoz yapılmadığından dolayı, uterustaki kubbeler anlamında 'uterine-dome' tanımının kullanımı tercih edilmektedir.

Reseptivitenin Biyokimyasal Belirteçleri

Doğal sikluslerde, gelişen embriyo ve olgunlaşan endometriyum arasında kendiliğinden oluşan bir uyum vardır. IVF sikluslerinde azalmış implantasyon oranlarından, ovo-endometriyal uyumsuzluk sorumludur. Östrojen ve progesteronun fizyolojik birçok rolünün taslağı çıkarılmasına rağmen, bu moleküler ağ ve ortalama faaliyetleri büyük oranda bilinmez. Bu moleküller, sitokinler, büyüme faktörleri, matriks metalloproteinazları (MMP), adezyon molekülleri, ekstrasellüler matriks komponentleri ve homeoboks element içeren genlerdir (5). Hücre Adezyon Molekül ailesi; integrinler, kadherinler, selektinler ve İmmünglobulinlerdir.

İntegrinler; transmembran glikoproteini olup, embriyolojik gelişmenin hücre-matriks ve hücre-hücre yapışmasını içeren önemli fizyolojik olaylarının çoğuna katılır. $\alpha 5\beta 3$ integrin ve onun ligandı osteopontin, trofoblastla ilk etkileşimde, endometriyum lümen epitel yüzeyinden immünohistokimya ile pozitif tesbit edilmiştir. Epitelyal lokalizasyon ve ekspresyonuna bakarak $\alpha 5\beta 3$ 'ün, embriyonik tutunma için potansiyel bir reseptör olabilir (29). İntegrinler, en iyi çalışılan adezyon moleküllerindedir. İntegrin $\beta 3$ ekspresyonu; bir IVF programının başarısını tahmin etmek için faydalı olabilir (30). İntegrin $\beta 3$ ekspresyonunun artması, endometriyal reseptivite için bir işarettir. Literatüre bakılınca, $\alpha 5\beta 3$ integrin, klinik için oldukça umut vericidir (15). İntegrin ve pinopodların ekspresyonu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, farklı hormonal stimülasyon protokolleriyle değişmez (31). Selektinler; lökosit transendotelial trafiğinde çok önemlidir. L-selektin, damarlanmada lökositlerin yapışmasında gereklidir. Kadherinler; kalsiyum bağımlı hücre-hücre adezyon mekanizmasından sorumlu glikoproteinlerin bir grubudur. Menstrüel siklusun özellikle orta-sekretuar fazında insan endometriyal epitelinde progesteronla kalsitonin salınımı uyarılır. Kalsitonin implantasyonda potansiyel bir düzenleyicidir. Artmış hücre içi kalsiyum salınımını izleyen, endometriyal kalsitonin artışı, E-kadherin ekspresyonunu düzenleyebilir ve blastosist yerleşiminde etkili olabilir. İmmünglobulinler; endometriyumun hem stroma hemde epitelyal hücrelerinden salındıkları için, patofizyolojide önemlidirler. İntersellüler adezyon molekülü-1; iki farklı seviyede aktive olarak "endometriozis" patogenezinde rol oynar. Bu molekülün yüksek yapışma potansiyeli de, endometriozis sık tekrarlama nedenini açıklar (32). Musinler (MUC); adezyon sağlayan moleküllerin aksine anti-adeziv etkili

bir gruptur. Endometriyal musinlerin salınımı ilginçtir. Musin ailesinden olan MUC1, embriyo implantasyon için doğru yer ve doğru zamanı bulana kadar embriyoyu kovan bir moleküldür. Bu durumda lokal aktivasyon mekanizmalarına ihtiyaç vardır. Embriyonun, MUC1 engelini aşmak için, eksprese ettiği tetikleyici faktörler olabilir (33). Sitokinler; çok sayıda fizyolojik role sahip küçük multifonksiyonel glikoproteinlerdir. Bu moleküllerin davranışları, vücuttaki implantasyon ve immün fonksiyonla ilgili çoğu süreçle bağlantılıdır. Sitokinler ve kimokinler, implantasyon bölgesinde trofoblast farklılaşmasında ve trafığında rol oynar. İmplantasyon ve plasentasyonda önemli bir potansiyele sahiptir (34). İnterlökinlerden (IL) ; IL-1, IL-6, IL-10, IL-11, IL-15 ve IL-18, lösemi inhibitör faktör (LIF), koloni uyarıcı faktör (KUF), tümör nekroz faktör (TNF) ve transforming growth faktör (TGF) bu geniş ailenin en kritik öneme sahip üyeleridir (17). LIF ekspresyonu luteal fazda maksimumdur ancak, bu düzenlemede steroid hormonlarının etkisinin nasıl olduğu bilinmemektedir. IL-1; başarılı bir gebelik oluşumunda çok önemli bir rol oynayabilir. Bu sistem insan endometriyumunda, menstrüel siklus boyunca hem glandüler hem de stromal hücrelerde tesbit edilmiştir. IL-1 aktivasyonundaki düzenlemenin bozulması endometriozis patogenezinde rol oynayabilir (35). Endometriyal dokudaki IL ekspresyonunda değişimlerin olması, infertil vakalarla bağlantılı bulunmuştur (15). İnsan endometriyumunda IL-6 ekspresyonunun, luteal faz boyunca en yüksek seviyelere ulaşması, geçici bir durum olarak değerlendirilir (36). IL-6 reseptörünün; blastosist, trofoblast ve endometriyum tarafından eksprese edildiği ortaya çıkarılmıştır. Prostaglandinler'in (PG) başarılı embriyo implantasyonundaki rolü, son zamanlarda çok tartışılan bir konudur. Bilindiği gibi, başarılı IVF sonuçları embriyonun kalitesiyle yakından ilgilidir. Son çalışmalarda; PGI2 veya prostosiklinlerin, embriyonun invitro gelişimini çok ileri düzeylere götürdüğü ve implantasyon potansiyelini zenginleştirdiği bulunmuştur. Ancak PGI2 ile ilgili mekanizmalar henüz açık değildir. Peroksizom proliferatör aktive reseptör-δ (PPAR-δ) implantasyon bölgesinde PGI2'nin etkisiyle ortaya çıkar. İmplantasyon öncesinde embriyolar, reverse transcription polymerase chain reaction yöntemiyle incelenmiştir ve bu embriyoların PPAR-δ eksprese ettiği görülmüştür (37). Ekzojen PG uygulaması embriyo implantasyonunu doğru zamanda yeniden düzenleyebilir (38). PG konsantrasyonunun, endometriozisli kadınlarda arttığı rapor edilmiştir. PG'ler implantasyon penceresinde, zamanlama aşamasında önemlidir. Blastosist implantasyonunda zamanlamada gecikme, embriyonun serviks duvarına tutunmasına, anormal plasentasyona ve fetal emilime neden olabilir. PG desteği, kısmen normal bir fenotipi yeniden yapılandırabilir (9). Embriyo pasif değildir hatta yapışmasını ve kendi akibetinin düzenlenmesini sağlayabilir. Son zamanlarda ko-kültür

teknikleriyle endometriyal hücreler ve stroma geliştirilmiş olup donör embriyolar kullanılarak in vitro şartlarda ko-kültür endometriyumunun değerlendirilmesi sağlanabilmiştir (39). Bu şekildeki in vitro yaklaşım embriyo-endometriyum arası kompleks etkileşimi daha iyi anlamamıza katkıda bulunacaktır (39). Bu tartışılardan sonra geriye bir soru kalmaktadır; embriyo implantasyonu, yardımcı üreme tekniklerinde gerçekten en son bariyer midir? Şu an ki bilgilerimize göre kesinlikle bir bariyerdir ancak bunun yanısıra implantasyon bariyerine eşit veya daha fazlasıyla önemli başka bariyerlerde olduğunu göz ardı etmemek gerekir (40).

Sonuç

Pre-implantasyon sürecinde gelişen embriyo ve implantasyon için endometriyumun hazırlığı, bu konunun iki ana belirteci olmuştur. Olayların daha iyi anlaşılması kadın fertilitésinin düzenlenmesine ve infertilite problemlerini hafifletmeye yardım edecektir. Önceki çalışmalarda, açıklanamayan infertilitenin, birçok değişik endometriyal proteinin baskılanmasından sorumlu olduğu ortaya konmuştur. Yeni yaklaşım, düzenlenmesi bozulmuş endometriyal proteinlerin direk tedavisiyle implantasyonun geliştirilmesidir. İmplantasyon penceresine giden endometriyal gelişmede çok sayıda değişik faktörün birlikte uygun işbirliğine ihtiyaç vardır. Ayrıca çoğu çalışmanın, insan sisteminde gerçekleştirilmesi zor olduğu için fonksiyonel deneyimler eksiktir. Dahası, tanımlayıcı deneyler için bilinenler hala oldukça sınırlıdır. In vitro çalışmalar veya hayvan deneyleri, endometriyumda implantasyon sürecinin hücresel çatısının ve mekanizmasının daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Blastosist ve endometriyum arasında karşılıklı etkileşim, implantasyon için zorunludur. Tutunma reaksiyonu boyunca, blastosistin tutunduğu yerde, endometriyal vasküler geçirgenlik artarak lokalize olur. Böylece birçok etik ve pratik anlamdaki zorluklara rağmen, insan implantasyon mekanizmasının anlaşılmasına dair bazı sinyal yollarının tanınması ve adım adım özelliklerinin ortaya konulması bundan sonraki sürecin hedefi olmalıdır.

Kaynaklar

1. Moore KL, Persaud TVN. İnsan Gelişiminin Başlangıcı. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi, Altıncı İngilizce Baskıdan Çeviri, Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002; 1-47.
2. Roos MH, Kaye GI, Pawlina W. Female Reproductive System. Histology a Text and Atlas with Cell and Molecular Biology, Fourth Ed. Baltimore: Williams&Wilkins, 2003;743-63.

3. Maugey-Laulom B, Commenges-Ducos M, Jullien V, Papaxanthos-Roche A, Scotet V, Commenges D. Endometrial vascularity and ongoing pregnancy after IVF. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Bio* 2002;104:137-43.
4. De los Santos MJ, Mercader A, Galan A, Albert C, Romero JL, Pellicer A. Implantation rates after two, three or five days of embryo culture. *Placenta* 2003;24:13-9.
5. Dey SK, Das SK, Reese J, Paria BC, Daikoku T, Wang H. Molecular cues to implantation. *EndocrRev* 2004;25:341-73.
6. Nikas G, Develioglu O, Toner P, Jones HW. Endometrial pinopodes indicate a shift in the window of receptivity in IVF cycles. *Hum Reprod* 1999;14:787-92.
7. Macklon NS, Fauser BC. Impact of ovarian hyperstimulation on the luteal phase. *J Reprod Fertil Suppl* 2000;55:101-8.
8. Nardo LG. Human embryo implantation failure and recurrent miscarriage: basic science and clinical. *Reprod Biomed Online* 2006;13:11-2.
9. Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update* 2006;12:731-46.
10. Strowitzki T, Germeyer A, Popovici R, Wolff M. The human endometrium as a fertility-determining factor. *Hum Reprod Update* 2006;12:617-30.
11. Giudice LC. Potential biochemical markers of uterine receptivity. *Hum Reprod* 1999;14:3-16.
12. Ledee-Bataille N, Lapree-Delage G, Taupin JL. Concentration of leukaemia inhibitory factor (LIF) in uterine flushing fluid is highly predictive of embryo implantation. *Hum Reprod* 2002;17:213-8.
13. Tan BK, Vandekerckhove P, Kennedy R, Keay SD. Investigation and current management of recurrent IVF treatment failure in the UK. *BJOG* 2005;112:773-80.
14. Urman B, Yakın K, Balaban B. Recurrent implantation failure in assisted reproduction: how to counsel and manage. A. General considerations and treatment options that may benefit the couple. *Reprod Biomed Online* 2005;11:371-81.
15. Haddad-Filho J, Cedenho AP, Katz SG. Endometrial expression of IL-1RtI in patients undergoing miscarriage or unsuccessful IVF cycles. *Reprod Biomed Online* 2007;14:117-24.
16. Hoozemans DA, Schats R, Lambalk CB, Homburg R, Hompes PGA. Human embryo implantation: current knowledge and clinical implications in assisted reproductive technology. *Reprod Biomed Online* 2004;9:692-715.
17. Makrigiannakis A, Minas V. Mechanisms of implantation. *Reprod Biomed Online* 2007;14:102-9.
18. Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Am J Obstet Gynecol* 1975;122(2):262-3.
19. Rogers P, Leeton J. Uterine receptivity and embryo transfer. Trounson AO, Gardner DK, Handbook of in vitro fertilization, 2nd Ed. CRC Press. 2000;499-528.
20. Enders AC, Nelson DM. Pinocytotic activity of the uterus of the rat. *Am J Anat* 1973;138:277-99.
21. Nardo LG, Sabatini L, Rai R and Nardo F. Pinopode expression during human implantation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Bio* 2002;101:104-8.
22. Leach RE, Khalifa R, Armant R, Brudley A, Das SK, Dey SK, Fazleabas AT. Heparin-binding EGF-like growth factor modulation by antiprogesterin and CG in baboon. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4520-8.
23. Nikas G. Pinopodes as markers of endometrial receptivity in clinical practice. *Hum Reprod* 1999; 14: 99-106.
24. Nikas G, Aghajanova L. Endometrial pinopodes: some more understanding on human implantation? *Reprod Biomed Online* 2002;4:18-23.
25. Develioglu OH, Nikas G, Hsiu JG, Toner JP, Jones HW. Detection of endometrial pinopodes by light microscopy. *Fertil&Steril* 2000;74:767-70.
26. Stavreus-Evers A, Nikas G, Sahlin L, Eriksson H, Landgren B-M. Formation of pinopodes in human endometrium is associated with the concentrations of progesterone and progesterone receptors. *Fertil&Steril* 2001; 76: 782-91.
27. Nikas G, Psychoyos A. Uterine pinopodes as markers of uterine receptivity. *Assist Reprod Rev* 1994;4:26-32.
28. Nikas G, Psychoyos A. Uterine pinopods in peri-implantation human endometrium. Clinical relevance. *Ann N Y Acad Sci* 1997;816:129-42.
29. Lessey BA. Two pathways of progesterone action in the human endometrium: implications for implantation and contraception. *Steroids* 2003;68:809-15.
30. Revel A. Implementation of integrin 3 level as predictor of implantation in an IVF program. ASRM/CFAS Annual Meeting, Montreal, Canada 2005.
31. Creus M, Ordi J, Fabregues F, Casamitjana R, Carmona F, Cardesa A, Vanrell JA and Balasch J. The effect of different hormone therapies on integrin expression and pinopode formation in the human endometrium: a controlled study. *Hum Reprod* 2003;18:683-93.

32. Defrere S, Van Langendonck A, Moulin P, Befahy P, Gonzalez D, Martinez-Madrid B, Dolmans MM, Donnez J. Human endometrial epithelial cells (EEC) constitutively express more intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 than endometrial stromal cells (ESC) in culture. *Am J Reprod Immunol* 2005;54:5-12.
33. Thathiah A and Carson DD. MT1-MMP mediates MUC1 shedding independent of TACE/ADAM17. *Biochem J* 2004; 382:363-73.
34. Dimitriadis E, White CA, Jones RL, Salamonsen LA. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. *Hum Reprod Update* 2005;11:613-30.
35. Kondera-Anasz Z, Sikora J, Mielczarek-Palacz A, Jonca M. Concentrations of interleukin (IL)-1 alpha, IL-1 soluble receptor type II (IL-1 sRII) and IL-1 receptor antagonist (IL-1 Ra) in the peritoneal fluid and serum of infertile women with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Bio* 2005;123:198-203.
36. Wolff M, Thaler CJ, Zepf C, Becker V, Beier HM, Strowitzki T. Endometrial expression and secretion of interleukin-6 throughout the menstrual cycle. *Gynecol Endocrinol* 2002b;16:121:29.
37. Huang JC, Wun WSA, Goldsby JS, Wun IC, Noorhasan D, Wu KK. Stimulation of embryo hatching and implantation by prostacyclin and peroxisome proliferator-activated receptor activation: implication in IVF. *Hum Reprod* 2007;22:807-14.
38. Ye X, Hama K. LPA3-mediated lysophosphatidic acid signalling in embryo implantation and spacing. *Nature* 2005;435:104-8.
39. Horne AW, White JO, Lalani EN. The endometrium and embryo implantation. *BMJ* 2000;321:1301-2.
40. Edwards RG. Human Implantation: the last barrier in assisted reproduction technologies? *Reprod Biomed Online* 2006;13:887-904.