

Receptivnost endometrija i implantacijski prozor – tajna začeća?

Endometrial receptivity and window of implantation – secret of conceiving?

Mirela Markanović Mišan¹, Neda Smiljan Severinski^{2*}

¹Služba za ginekologiju i porodništvo,
Opća bolnica Pula, Pula

²Zavod za humanu reprodukciju,
Klinika za ginekologiju i porodništvo,
KBC Rijeka, Rijeka

Sažetak. U postupku *in vitro* fertilizacije i prijenosa zametka kontrolirana stimulacija jajnika gonadotropinima dovodi do suprafiziološkog porasta koncentracije steroidnih hormona u folikularnoj i luteinskoj fazi menstrualnog ciklusa. Takav izmijenjeni hormonski status utječe na funkcionalne te morfološke karakteristike endometrija i kaskadu aktivacije molekularnih medijatora koji definiraju razdoblje receptivnosti endometrija u ciklusu liječenja, poznato kao „implantacijski prozor“. Brojna dosadašnja istraživanja nisu u potpunosti razjasnila ovaj jedinstveni događaj u reprodukciji ljudske vrste. Potrebna su daljnja istraživanja molekularnih medijatora koji sudjeluju u implantaciji kako bi se usavršio postupak IVF/ET i povećala učinkovitost liječenja neplodnosti postupcima medicinski pomognute oplodnje.

Ključne riječi: endometrijski; endometrijska receptivnost; implantacija embrija; IVF/ET; ovarijska stimulacija; steroidni hormoni

Abstract. In the process of *in vitro* fertilisation and embryo transfer, the controlled ovarian stimulation with gonadotrophins leads to the supraphysiological increase of steroid hormone concentration in the follicular and luteal phase of the menstrual cycle. Such altered hormone levels significantly affect the morphological and functional characteristics of the endometrium in the treatment cycle and the activation cascade of the molecular mediators that define the period of the endometrial receptivity, known as the „implantation window“. Until today, the number of previous studies have not fully clarify this unique event in the human reproduction. Further researches are needed to reveal new molecular mediators involved in the implantation in order to optimise the IVF/ET procedures and to maximize the effectiveness of infertility treatment in assisted reproduction.

Key words: embryo implantation; endometrial receptivity; endometrium; fertilisation *in vitro*; ovarian stimulation; steroids

***Dopisni autor:**

Prof. dr. sc. Neda Smiljan Severinski,
dr. med.

Zavod za humanu reprodukciju
Klinika za ginekologiju i porodništvo
KBC Rijeka, Rijeka
Cambierijeva 17/5, 51 000 Rijeka
e-mail: nedass@medri.uniri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

UVOD

Endometrijska receptivnost preduvjet je za uspješnu implantaciju embrija. Hormonski reguliran, endometrij podliježe morfološkim i biokemijskim promjenama kako bi sredinom luteinske faze (19. – 24. dan) ušao u specifični period tijekom kojeg je implantacija moguća, poznat kao „implantacijski prozor“. Od prvih dostupnih metoda pomognute oplodnje (MPO) pa do danas, postignut je velik napredak u usavršavanju stimulacijskih protokola, u sprječavanju preuranjene luteinizacije, u povećanju uspješnosti fertilizacije jajnih stanica i usavršavanju uvjeta kulture zametaka. Unatoč tome, uspješnost liječenja i postotak začelih trudnoća ostali su i dalje niski, u prosjeku 25 % po stimuliranom ciklusu¹.

U slučajevima neplodnosti dvije trećine implantacijskog neuspjeha otpada na neadekvatnu endometrijsku receptivnost, a jedna trećina na lošu kvalitetu zametaka². Unatoč tome, razvoj protokola kontrolirane ovarijske hiperstimulacije većinom je bio usmjeren na usavršavanje kvalitete jajnih stanica odnosno zametaka, istodobno prihvaćajući negativni utjecaj abnormalnih vrijednosti steroidnih hormona na endometrij³.

ENDOMETRIJ U PRIRODNOM CIKLUSU

Endometrij doživljava svakodnevne morfološke promjene pod utjecajem steroidnih hormona. Prolazeći kroz period proliferacije i sekrecije endometrij se priprema za implantaciju blastociste kroz 5 do 6 dana nakon ovulacije. Zahvaljujući Noyesu i sur. koji su analizirali nekoliko tisuća uzoraka endometrijskog tkiva, razvijena je diferencijacija histoloških značajki („datiranje“) endometrija u različitim razdobljima mjesečnog ciklusa⁴. Iako se i danas smatra *zlatnim standardom* za procjenu pravilne morfologije i time funkcije stanica u površinskom sloju endometrija, ovaj sustav klasifikacije ima i svoja ograničenja. Neka od njih su: varijabilnost interpretacije podataka zbog subjektivne procjene, mogućnost jednokratne analize i morfološka varijabilnost u različitim ciklusima kod iste ispitanice. Ova morfološka analiza endometrija nije se pokazala korisnom ni u procjeni razlike receptivnog statusa u plodnih i neplodnih žena⁵.

Strukturne promjene endometrija detektirane elektronskim mikroskopom vizualiziraju pojavu pinopoda tj. baloniranih protruzija stanica na apikalnoj površini endometrija. Iako se mogu naći i u kasnoj sekrecijskoj fazi, njihova najjača morfološka izražajnost ograničena je na 2 dana u menstrualnom ciklusu i to na vrijeme koje odgovara „implantacijskom prozoru“⁶. Iako bi detekcija pinopoda mogla biti koristan marker u procjeni endometrijske receptivnosti, a time i povećanju uspješnosti implantacija, još uvijek se raspravlja o

U slučajevima neplodnosti dvije trećine implantacijskog neuspjeha otpada na neadekvatnu endometrijsku receptivnost, a jedna trećina na lošu kvalitetu zametaka. Unatoč tome, razvoj protokola kontrolirane ovarijske hiperstimulacije većinom je bio usmjeren na usavršavanje kvalitete jajnih stanica odnosno zametaka, istodobno prihvaćajući negativni utjecaj abnormalnih vrijednosti steroidnih hormona na endometrij.

tomu tvori li ljudski endometrij pinopode u vrijeme receptivnosti⁷⁻⁹.

Estrogen i progesteron su glavni hormonski modulatori razvoja endometrija. U prvom dijelu ciklusa estrogen dovodi do proliferacije endometrija te indukcije estrogenskih i progesteronskih receptora. Da bi endometrij postao receptivan, estrogen treba postići zadovoljavajuću koncentraciju u perifernoj krvi i održati je takvom u dovoljno dugom razdoblju te endometrijski receptori moraju slijediti zadani obrazac svoje izražajnosti (prisutnosti) u menstrualnom ciklusu. Pokazalo se da dugotrajna izloženost endometrija estrogenu (i do 6 tjedana), iza koje slijedi izloženost progesteronu, ne mijenja endometrijsku receptivnost. Suprotno tome, izloženost progesteronu u proliferacijskoj fazi ciklusa može imati štetan učinak na razvoj endometrija. Naime, progesteron u proliferacijskoj fazi poništava proliferacijski učinak estradiola smanjujući koncentraciju estrogenskih receptora, što posljedično dovodi i do smanjenja progesteronskih receptora¹⁰. Takav antagonistički odnos dvaju hormona stvara pretpostavku da omjer estrogen/progesteron može biti značajan za kvalitetnu sekrecijsku transformaciju endometrija.

Molekularne i imunohistokemijske metode identificirale su velik broj endometrijskih molekularnih medijatora koji pod utjecajem steroidnih hormona kaskadnom aktivacijom ili inaktivacijom omogućuju apoziciju, adheziju i invaziju blastociste (preimplantacijski zametak star 5 do 6 dana) u endometriju. Iako se radi o velikom broju otkrivenih medijatora koji pripadaju grupi citokina, adhezijskih molekula, faktora rasta, lipida i ostalima, samo njih par su klinički značajni. Integrini su adhezijske molekule detektirane na površini endometrija. Neki od njih su predloženi kao markeri implantacijskog prozora. Izraženost integrina $\alpha\beta 3$, naglo započinje 20. dana ciklusa (teorijsko otvaranje implantacijskog prozora) i nastavlja se do kraja ciklusa, dok izraženost integrina $\alpha 4\beta 1$ započinje 14., a završava 24. dana (zatvaranje implantacijskog prozora)^{11,12}. Inhibicijski čimbenik leukemije (LIF) drugi je marker koji pripada grupi citokina. Njegova maksimalna izraženost poklapa se s teorijskim vremenom implantacije, 19. – 25. dan idealnog ciklusa^{13,14}. Osim toga, on bi mogao biti i važan regulator implantacije embrija modulirajući trofoblastnu diferencijaciju¹⁴. Treći biomarker, interleukin-1 (IL-1), je parakrini i autokrini medijator lokalnih međustaničnih interakcija na endometriju s izraženošću kroz cijeli ciklus, no najjačom u drugom dijelu ciklusa. U vrijeme implantacijskog prozora izraženost antagonista interleukina-1 smanjuje se što dokazuje „up“ i „down“ regulacijski odnos endometrijskih modulatora, iza kojih se krije djelovanje niza regulacijskih gena. Sadašnji morfološki, hormonski i molekularni markeri su slabi prediktori začeca. Potrebne su nove neinvazivne *in vivo* metode koje će proučiti endometrijsku receptivnost i implantacijski proces prvenstveno kod žena kod kojih se zanese spontana trudnoća. Jedna od predloženih tehnika je endometrijska sekrecijska aspiracija uz pomoć koje bi se analizirali navedeni procesi na razini genske regulacije i proteinske ekspresije, čime bi se proširio spektar poznatih markera^{15,16}.

HORMONSKI UTJECAJ NA RECEPTIVNOST ENDOMETRIJA U CIKLUSU STIMULIRANOM GONADOTROPINIMA

Stimulirani ciklus koji je standard u liječenju postupcima medicinski pomognute oplodnje, karak-

teriziran je suprafiziološkim vrijednostima estrogena i progesterona i njihovim narušenim omjerom, što posljedično snižava ukupnu ekspresiju receptora za te steroide u endometriju^{17,18}. Kliničke studije u programu liječenja doniranim jajnim stanicama dokazale su niži udio implantacija u pacijentica s povišenom razinom estradiola iznad 2500pq/ml¹⁹. Suprotno tome, velika, komparativna, retrospektivna studija uspoređujući skupinu pacijentica u IVF/ET postupku s prijenosom zametka i primateljice doniranih jajnih stanica, nije dokazala negativni učinak ovarijske stimulacije kod onih kod kojih su izmjerene suprafiziološke vrijednosti estradiola^{20,21}. Povišene vrijednosti steroidnih hormona narušavaju luteinsku fazu ciklusa, čak i kada se sa stimulacijom započne u kasnoj folikularnoj fazi²¹. U studijama postoji uniformnost što se tiče snižene izraženosti progesteronskih receptora u periovulacijskoj i luteinskoj fazi stimuliranog ciklusa dok su podaci za izraženost estrogenskih receptora suprotni i nedovoljno jasni^{22,23}. Uzevši u obzir negativan učinak povišenih vrijednosti steroidnih hormona, u stimuliranim postupcima je moguće smanjiti njihove koncentracije na dva načina: 1) „step down“ protokolom (smanjivanjem doze gonadotropina) kod pacijentica s pojačanim odgovorom na liječenje ili 2) početkom primjene gonadotropina sredinom folikularne faze. Prvim načinom se nakon odgovarajuće primjene gonadotropina (FSH) i postignutog razvoja folikula smanjivao egzogeni unos FSH-a kako bi se dobio manji broj zrelih folikula. Udio implantacija i začelih trudnoća u takvom postupku liječenja bio je veći (29 % i 64 %), za razliku od pacijentica s pretjeranim odgovorom na gonadotropine („high responder“) koje su liječene standardnim protokolom (9 % i 24 %)²⁴. Drugi pristup je bio davanje umjerenih doza FSH-a kroz duže vrijeme, čime se dobio manji broj embrija bolje kvalitete i očekivano veći postotak implantacija²⁵.

MARKERI „IMPLANTACIJSKOG PROZORA“ U STIMULIRANOM CIKLUSU

Opservacije morfoloških i molekularnih čimbenika koje definiraju „implantacijski prozor“ dovele su do pretpostavke pomaka „implantacijskog prozora“ u stimuliranom ciklusu. Ustanovljeno je da

se maksimalna izraženost pinopoda u stimuliranom ciklusu očekuje 1 – 2 dana ranije u usporedbi s prirodnim ciklusom. Takva promjena može se odraziti i na signalnu asinkronost jajne stanice i endometrija, što može smanjiti implantacijski uspjeh²⁶. I u slučaju pinopoda i intergrina $\alpha\beta 3$ jačina izraženosti u stimuliranom ciklusu ostaje nepromijenjena i korelira sa stupnjem zrelosti endometrija koji je vremenski ubrzan. Marker poput LIF, IL-1 i IL-11 nisu se pokazali korisnim u procjeni receptivnosti endometrija u stimuliranom ciklusu. Promjene izraženosti ovih markera istražuju se u području steriliteta, endometrioze i habitualnog pobačaja.

MORFOLOŠKE PROMJENE ENDOMETRIJA U STIMULIRANOM CIKLUSU

Većina studija provela je istraživanje utjecaja lijekova na sazrijevanje endometrija koristeći protokole liječenja s klomfen citratom i analozima oslobađajućih hormona za gonadotropine (GnRH agonisti ili antagonisti) u kombinaciji s gonadotropinima.

U protokolu stimulacije s kombinacijom klomifen citrat/hMG (humani menopauzalni gonadotropin) endometrija ostaje još par dana nakon aspiracije jajnih stanica u proliferacijskoj fazi.

Stimulacija takvim protokolom osim zakašnjelog sazrijevanja endometrija uzrokuje i smanjenu gustoću žljezdanih stanica u endometriju i vakuolizaciju. Antiestrogensko djelovanje klomfen citrata na endometrija objašnjenje je za niski udio začetih trudnoća unatoč uspješno postignutoj indukciji ovulacije^{27,28}.

U agonističkom protokolu stimulacije pokazalo se da u preovulacijskoj fazi dolazi do naglašene proliferacije i ranih sekrecijskih promjena endometrija, čak i prije porasta vrijednosti progesterona u serumu²⁹. Na dan aspiracije jajnih stanica dokazano je ubrzano sazrijevanje endometrija^{30,31}, a dva dana nakon aspiracije neujednačeno sazrijevanje strome endometrija s preranim nastajanjem edema i vaskularne hipertrofije³².

Usporedbom endometrija u prirodnom ciklusu i ciklusu stimuliranom agonistima nije nađena razlika u morfologiji endometrija^{22,33}, što je različit rezultat od prethodno navedenih. Sredina luteinske faze u agonističkom protokolu stimulacije

karakterizirana je žljezdano-stromalnom nesinkroniziranošću. Za takav narušeni izgled endometrija u sredini luteinske faze mogle bi biti odgovorne visoke koncentracije estrogena i davanje hCG-a, koji stimulira završno sazrijevanje folikula^{34,35}. U antagonističkom protokolu stimulacije takav poremećaj sazrijevanja endometrija u sredini luteinske faze također je prisutan, ali slabije izražen³⁶. Uspoređujući morfološke karakteristike endometrija u agonističkom i antagonističkom protokolu stimulacije na dan aspiracije jajnih sta-

Potrebna su daljnja istraživanja u području molekularnih medijatora i genomike kojima ćemo bolje razumjeti izmijenjenu endometrijsku receptivnost u ciklusima medicinski pomognute oplodnje koji su stimulirani lijekovima. U budućnosti bi nove tehnike trebale omogućiti individualnu analizu implantacijskog prozora u stimuliranom ciklusu i omogućiti njegovo proširenje, a time pridonijeti većoj uspješnosti liječenja neplodnosti.

nica, u obje grupe je zabilježeno ubrzano sazrijevanje endometrija za 2 ± 4 dana³⁷. Zaključno, u agonističkom i antagonističkom protokolu stimulacije, peri- i postovulacijski period su karakterizirani ubrzanom sazrijevanjem endometrija, nepromijenjenom morfologijom u ranoj luteinskoj fazi i žljezdano-stromalnom nesinkroniziranošću endometrija od sredine prema kraju luteinske faze.

ZAKLJUČAK

Primjena lijekova u liječenju neplodnosti značajno mijenja endokrinološka zbivanja, koja utječu na promjene endometrija u odnosu na prirodni ciklus. U stimuliranim ciklusima sazrijevanje endometrija je ubrzano, biokemijski modificirano i genomski disregulirano. Budući da stimulacijski protokoli liječenja negativno utječu na razvoj endometrija u luteinskoj fazi zbog suprafizioloških vrijednosti steroidnih hormona, potrebno ih je mijenjati, prilagoditi i učiniti manje agresivnim. Potrebna su daljnja istraživanja u području molekularnih medijatora i genomike kojima ćemo bolje razumjeti izmijenjenu endometrijsku receptivnost u ciklusima medicinski pomognute oplodnje koji su stimulirani lijekovima. U budućnosti bi

nove tehnike trebale omogućiti individualnu analizu implantacijskog prozora u stimuliranom ciklusu i omogućiti njegovo proširenje, a time pridonijeti većoj uspješnosti liječenja neplodnosti.

Izjava o sukobu interesa: Autori izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

LITERATURA

- 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:S13-9.
- Ledee-Bataille N, Lapree-Delage G, Taupin JL, Dubanchet S, Frydman R, Chaouat G. Concentration of leukemia inhibitory factor (LIF) in uterine flushing fluid is highly predictive of embryo implantation. *Hum Reprod* 2002;17:213-8.
- Paulson RJ, Sauer MV, Lobo RA. Embryo implantation after human in vitro fertilization: importance of endometrial receptivity. *Fertil Steril* 1990;53:870-4.
- Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril* 1950;1:3-25.
- Coutifaris C, Myers ER, Guzik DS, Diamond MP, Carson SA, Legro RS et al. Histological dating of timed endometrial biopsy tissue is not related to fertility status. *Fertil Steril* 2004;82:1264-72.
- Nikas G. Pinopodes as markers of endometrial receptivity in clinical practice. *Hum Reprod* 1999;14:99-106.
- Murphy CR. Understanding the apical surface markers of uterine receptivity: pinopods-or uterodomes? *Hum Reprod* 2000;15:2451-4.
- Creus M, Ordi J, Fabregues F, Casamitjana R, Ferrer B, Coll E et al. (alpha)v(beta)3 integrin expression and pinopod formation in normal and out-of-phase endometria of fertile and infertile women. *Hum Reprod* 2002;17:2279-86.
- Quinn CE, Casper RF. Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity. *Hum Reprod Up* 2009;15:229-36.
- Garcia E, Bouchard P, De Brux J, Berdah J, Frydman R, Schaison G et al. Use of immunocytochemistry of progesterone and estrogen receptors for endometrial dating. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67:80-7.
- Lessey BA, Castelbaum AJ, Buck CA, Lei Y, Yowell CW, Sun J. Further characterization of endometrial integrins during the menstrual cycle and in pregnancy. *Fertil Steril* 1994;62:497-505.
- Tabibzadeh S. Patterns of expression of integrin molecules in human endometrium during the menstrual cycle. *Hum Reprod* 1992;7:876-82.
- Cullinan EB, Abbondanzo SJ, Anderson PS, Pollard JW, Lessey BA, Stewart CL. Leukemia inhibitory factor (LIF) and LIF receptor expression in human endometrium suggests a potential autocrine/paracrine function in regulating embryo implantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:3115-20.
- Nachtigal MJ, Kliman HJ, Feinberg RF, Olive DL, Engin O, Arici A. The effect of leukemia inhibitory factor (LIF) on trophoblast differentiation (a potential role in human implantation) . *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:801-6.
- Haouzi D, Mahmoud K, Fourar M, Bendhaou K, Dechaud H, De Vos J et al. Identification of new biomarkers of human endometrial receptivity in the natural cycle. *Hum Reprod* 2009;24:198-205.
- Van Vaerenbergh I, McIntire R, Van Lommel L, Devroey P, Giudice L, Bourgain C. Gene expression during successful implantation in a natural cycle. *Fertil Steril* 2010;93:268e15-8.
- Beckers NG, Laven JS, Eijkemans MJ, Fauser BC. Follicular and luteal phase characteristics following early cessation of gonadotrophin-releasing hormone agonist during ovarian stimulation for in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 2000;15:43-9.
- Papanikolaou EG, Bourgain C, Kolibianakis E, Tournaye H, Devroey P. Steroid receptor expression in late follicular phase endometrium in GnRH antagonist IVF cycles is already altered, indicating initiation of early luteal phase transformation in the absence of secretory changes. *Hum Reprod* 2005;20:1541-7.
- Simon C, Cano F, Valbuena D, Remohi J, Pellicer A. Clinical evidence for a detrimental effect on uterine receptivity of high serum oestradiol concentrations in high and normal responder patients. *Hum Reprod* 1995;10:2432-7.
- Levi AJ, Drews MR, Bergh PA, Miller BT, Scott RT Jr. Controlled ovarian hyperstimulation does not adversely affect endometrial receptivity in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 2001;76:670-4.
- Kolibianakis EM, Bourgain C, Platteau P, Albano C, Van Steirteghem AC, Devroey P. Abnormal endometrial development occurs during the luteal phase of nonsupplemented donor cycles treated with recombinant follicle-stimulating hormone and gonadotropin-releasing hormone antagonists. *Fertil Steril* 2003;80:464-6.
- Bourgain C, Ubaldi F, Tavaniotou A, Smitz J, Van Steirteghem AC, Devroey P. Endometrial hormone receptors and proliferation index in the periovulatory phase of stimulated embryo transfer cycles in comparison with natural cycles and relation to clinical pregnancy outcome. *Fertil Steril* 2002;78:237-44.
- Develioglu OH, Hsiu JG, Nikas G, Toner JP, Oehninger S, Jones HW Jr. Endometrial estrogen and progesterone receptor and pinopode expression in stimulated cycles of oocyte donors. *Fertil Steril* 1999;71:1040-7.
- Simon C, Garcia Velasco JJ, Valbuena D, Peinado JA, Moreno C, Remohi J et al. Increasing uterine receptivity by decreasing estradiol levels during the preimplantation period in high responders with the use of a follicle-stimulating hormone step-down regimen. *Fertil Steril* 1998;70:234-9.
- de Jong D, Macklon NS, Fauser BC. A pilot study involving minimal ovarian stimulation for in vitro fertilization: extending the 'follicle-stimulating hormone window' combined with the gonadotropin-releasing hormone antagonist cetrorelix. *Fertil Steril* 2000;73:1051-4.
- Nikas G, Develioglu OH, Toner JP, Jones HW Jr. Endometrial pinopodes indicate a shift in the window of receptivity in IVF cycles. *Hum Reprod* 1999;14:787-92.
- Palomino WA, Fuentes A, Gonzalez RR, Gabler F, Boric MA, Vega M and al. Differential expression of endometrial integrins and progesterone receptor during the window of implantation in normo-ovulatory women treated with clomiphene citrate. *Fertil Steril* 2005;83:587-93.
- Sereepapong W, Suwajanakorn S, Triratanachat S, Sampatanukul P, Pruksananonda K, Boonkasemsanti W and

- al. Effects of clomiphene citrate on the endometrium of regularly cycling women. *Fertil Steril* 2000;73:287-91.
29. Marchini M, Fedele L, Bianchi S, Losa GA, Ghisletta M, Gandiani GB. Secretory changes in preovulatory endometrium during controlled ovarian hyperstimulation with buserelin acetate and human gonadotropins. *Fertil Steril* 1991;55:717-21.
30. Ubaldi F, Bourgain C, Tournaye H, Smitz J, Van Steirteghem A, Devroey P. Endometrial evaluation by aspiration biopsy on the day of oocyte retrieval in the embryo transfer cycles in patients with serum progesterone rise during the follicular phase. *Fertil Steril* 1997;67: 521-6.
31. Lass A, Peat D, Avery S, Brinsden P. Histological evaluation of endometrium on the day of oocyte retrieval after gonadotrophin-releasing hormone agonist-follicle stimulating hormone ovulation induction for invitro fertilization. *Hum Reprod* 1998;13:3203-5.
32. Noci I, Borri P, Coccia ME, Criscuoli L, Scarselli G, Messeri G et al. Hormonal patterns, steroid receptors and morphological pictures of endometrium in hyperstimulated IVF cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1997; 75:215-20.
33. Tavaniotou A, Smitz J, Bourgain C, Devroey P. Ovulation induction disrupts luteal phase function. *Ann NY Acad Sci* 2001;943:55-63.
34. Basir GS, O WS, Ng EH, Ho PC. Morphometric analysis of peri-implantation endometrium in patients having excessively high oestradiol concentrations after ovarian stimulation. *Hum Reprod* 2001;16:435-40.
35. Han SW, Lei ZM, Rao CV. Treatment of human endometrial stromal cells with chorionic gonadotrophin promotes their morphological and functional differentiation into decidua. *Mol Cell Endocrinol* 1999;147:7-16.
36. Saadat P, Boostanfar R, Slater CC, Tourgeman DE, Stanczyk FZ, Paulson RJ. Accelerated endometrial maturation in the luteal phase of cycles utilizing controlled ovarian hyperstimulation: impact of gonadotropin-releasing hormone agonists versus antagonists. *Fertil Steril* 2004;82:167-71.
37. Kolibianakis E, Bourgain C, Albano C, Osmanagaoglu E, Smitz J, Van Steirteghem A et al. Effect of ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone, gonadotropin releasing hormone antagonists, and human chorionic gonadotropin on endometrial maturation on the day of oocyte pick-up. *Fertil Steril* 2002;78:1025-9.