



Servicio de Obstetricia y Ginecología
Hospital Universitario
Virgen de las Nieves
Granada

RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL

Juan Pérez Sabio

Fecha 29/11/2018

INTRODUCCIÓN

El estudio del endometrio es uno de los campos que en reproducción siguen suponiendo un reto para clínicos y personal de laboratorio. Su crecimiento y desarrollo se regula por mecanismos complejos, en parte inducidos por las hormonas esteroideas y con gran dificultad para ser estudiados y evaluados.

La implantación embrionaria es el proceso mediante el cual el embrión en estadio de blastocisto se fija al endometrio materno para continuar su desarrollo intrauterino. Desde que se iniciaron los primeros tratamientos de reproducción asistida hasta nuestros días son muchos los conocimientos que se han ido ampliando y mejorando en diversos campos, sobre todo tras el desarrollo de la congelación de embriones, que nos ha permitido posponer el momento de la transferencia.

Así, se han optimizado los fármacos utilizados para la estimulación ovárica y se conocen mejor las necesidades de los procesos que tienen lugar dentro del laboratorio (gametogénesis y desarrollo embrionario en sus primeras etapas). Sin embargo, en el campo de la implantación embrionaria (una vez realizada la transferencia embrionaria) no se ha conseguido una ampliación de conocimiento suficiente que nos permita mejorar nuestros resultados, sobre todo en los casos de fallo repetido de implantación (FRI) en los que, lo que falla, es precisamente

este eslabón clave en la cadena de acontecimientos para conseguir una gestación evolutiva.

CONCEPTO DE IMPLANTACIÓN, VENTANA DE IMPLANTACIÓN Y DIÁLOGO EMBRIÓN-ENDOMETRIO

La implantación en la especie humana es un proceso que podemos catalogar de "poco eficaz" ya que sólo el 30% de los embriones consiguen implantarse. Esto es debido, entre otras causas, a que este fenómeno sólo puede tener lugar en un momento muy específico dentro del ciclo menstrual, denominado "ventana de implantación".

Este periodo comprende entre el 6^o-10^o días tras la ovulación (19-20 del ciclo endometrial hasta el día 25), debe coincidir con el embrión en estadio de blastocisto.

La implantación consta de las siguientes fases, relacionadas y consecutivas:

1. Aposición: durante esta fase el blastocisto humano busca su lugar de implantación, orientándose de forma específica con su masa celular interna en el polo por el que el trofoectodermo se va a adherir al epitelio endometrial superficial (generalmente tercio superior de la pared posterior uterina).

Es necesario que previamente el blastocisto se haya liberado de la zona pelúcida, en un proceso conocido como hatching. Este proceso debe ocurrir necesariamente porque el crecimiento del blastocisto se ha hecho a expensas del número de células y no de su tamaño, hasta llegar a un punto en que no cabe dentro de la membrana pelúcida y sale de esta en un proceso similar a la eclosión de un huevo. Si en el laboratorio se observa que la membrana pelúcida está muy engrosada o más compacta de lo habitual, se puede realizar un hatching asistido, que se realiza con láser, mediante manipulación manual o con ácido hialurónico.

2. Adhesión: se produce el anclaje firme entre el epitelio endometrial y el trofoblasto del blastocisto, con lo que el embrión queda inicialmente pegado al útero y comienza a proliferar localmente en la zona del endometrio en la que se ha producido el contacto. Ambas fases se producen entre el sexto y séptimo días después de la fertilización.
3. Invasión: comienza a proliferar el sincitiotrofoblasto, que invade el estroma endometrial y acaba formando las vellosidades coriales, que quedan muy próximas a los vasos uterinos, formando el esbozo de lo que posteriormente será la circulación placentaria.

Todo este proceso está regulado y condicionado por una serie de factores, tanto a nivel endometrial como embrionario, que pueden ser sistémicos y/o locales, y en su mayoría desconocidos.

EVALUACIÓN DE LA RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL EN REPRODUCCIÓN

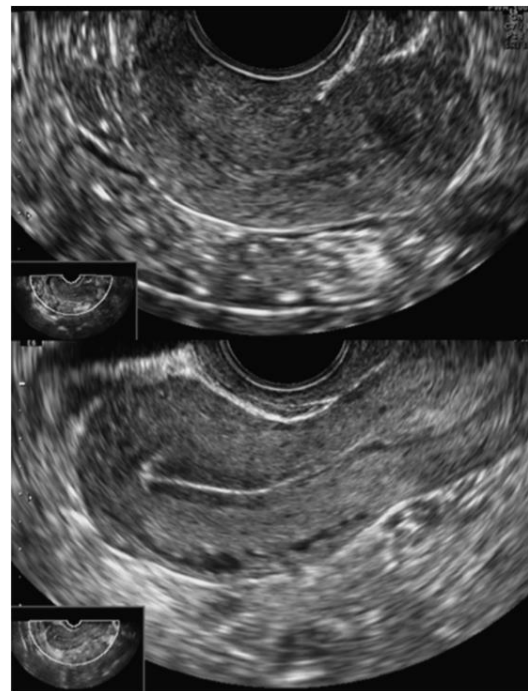
Como ya se ha comentado, durante mucho tiempo la reproducción asistida estuvo limitada técnicamente por la incapacidad de congelar embriones, por lo que la transferencia debía realizarse inmediatamente tras la fecundación. La transferencia diferida permite estudiar el endometrio, y abre un campo de investigación orientado a mejorar las condiciones uterinas de cara a la implantación.

No obstante, la práctica clínica habitual se limita a la ecografía, que ofrece la ventaja de ser un método no invasivo.

Los parámetros ultrasonográficos a estudiar son el patrón endometrial, el grosor, la delimitación con el miometrio, la contractilidad miometrial y la perfusión uterina, siendo los dos primeros los más importantes.

1. Patrón endometrial

Es el parámetro ecográfico más estudiado antes de realizar la transferencia y a lo largo del ciclo de estimulación ovárica. Por ecografía podemos distinguir 3 patrones endometriales: proliferativo, trilaminar y secretor.



Arriba, endometrio con pobre pronóstico implantatorio.

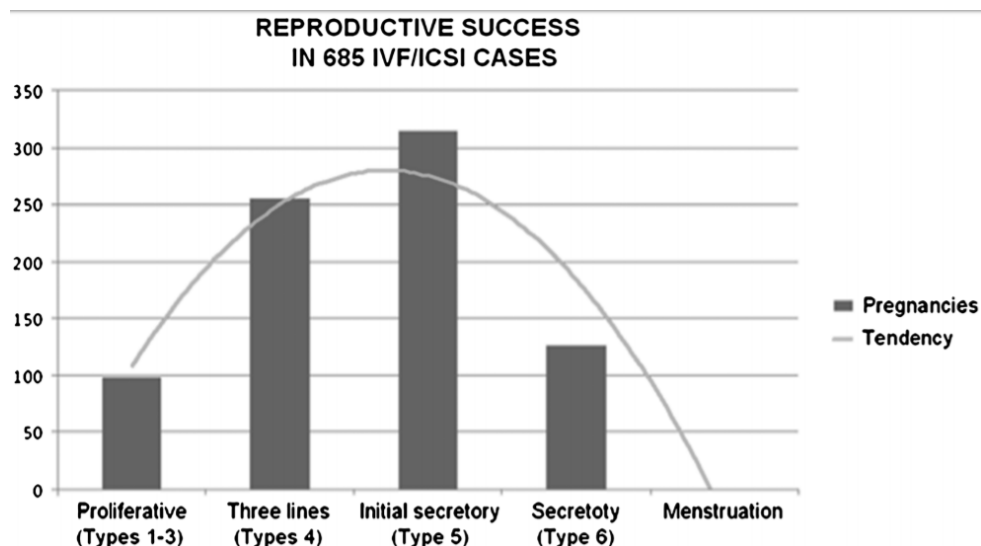
Abajo, endometrio con un patrón y grosor adecuados.

Los estudios en torno al éxito implantatorio en función del patrón endometrial arrojan datos estadísticamente significativos a favor de un mayor éxito cuando la transferencia se realiza con un patrón trilaminar frente a un endometrio homogéneo (que podemos encontrar al final de la fase proliferativa, próxima a la ovulación, y en la fase secretora). No

obstante, los resultados son limitados, y la transferencia del embrión con un endometrio trilaminar no asegura una correcta implantación, e igualmente pueden implantar embriones en endometrios que a priori no parecen receptivos.

Desde un punto de vista subjetivo y con fines de agrupar los resultados, se realiza una clasificación de los distintos tipos endometriales por ecografía:

- Tipo 1, 2 y 3, que corresponde al endometrio de tipo proliferativo, subclasificados en función del grosor.
- Tipo 4, con el endometrio de triple línea.
- Tipo 5, secretor inicial, en el que sigue distinguiéndose el patrón en triple línea, pero empieza a desaparecer el contraste de ecogenicidad entre la capa esponjosa y la capa basal.
- Tipo 6, endometrio secretor en el que ya no hay distinción entre las distintas capas endometriales.

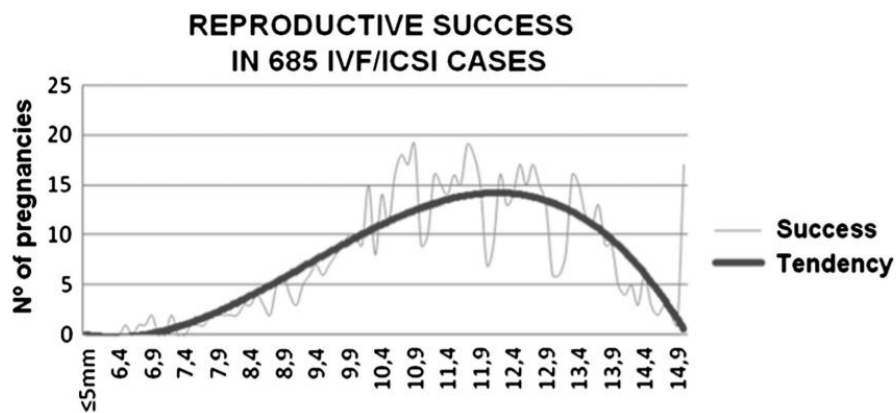


2. Grosor endometrial

El grosor endometrial es el parámetro mejor estudiado, y ofrece la ventaja de que es fácil de medir y no se ve influenciado por la administración de hCG.

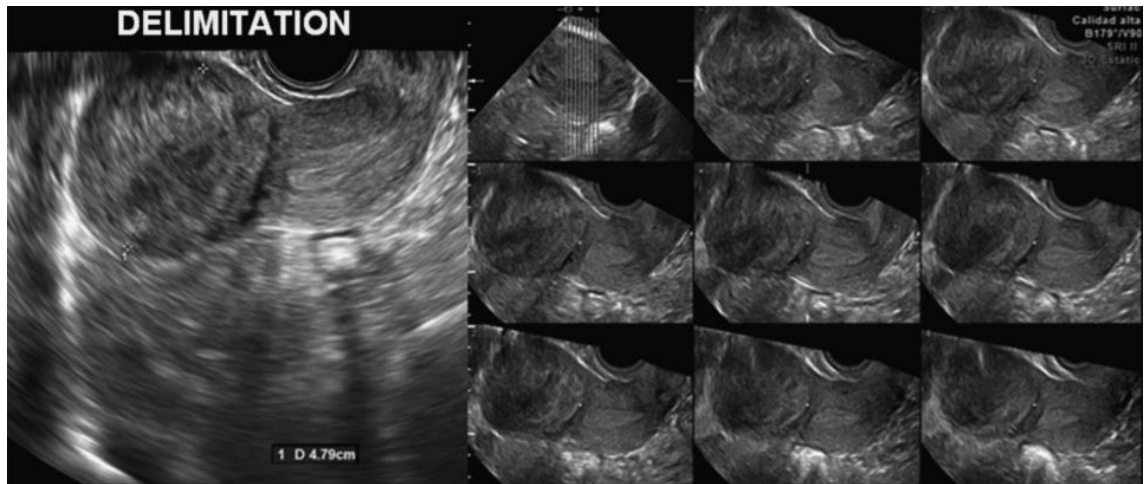
El grosor considerado normal en el momento periovulatorio es de 5-8mm. Un grosor por debajo de 6mm tiene un alto valor predictivo de fracaso implantatorio, sin embargo, en la actualidad no se recomienda suspender la transferencia embrionaria para grosores inferiores ya que aun en estos casos se pueden alcanzar tasas de éxito del 50%.

Además de con el éxito implantatorio se ha relacionado el grosor endometrial con el riesgo de embarazo ectópico. Para grosores inferiores a 10mm, el riesgo de ectópico aumenta en los ciclos de reproducción asistida.



3. Delimitación endometrio-miometrio

Una pobre delimitación puede observarse en adenomiosis y miomas uterinos. Se ha relacionado con bajas tasas de implantación, peor pronóstico reproductivo y complicaciones ginecológicas a largo plazo.



4. Contractilidad miometrial

La contractilidad miometrial puede influir en la receptividad. Se ha comprobado que la contractilidad es máxima durante la fase folicular del ciclo, con un pico de 4-5 contracciones por minuto, que disminuye durante la fase lútea.

También es importante el sentido en el que se producen estas contracciones: durante la fase periovulatoria las contracciones se producen en sentido ascendente, desde el cérvix hacia cuernos uterinos, para favorecer el ascenso del espermatozoide. Durante la transferencia, el lavado cervical enérgico o sujetar el cuello con pinza de Pozzi puede invertir las contracciones, produciendo la expulsión del embrión durante el acto de la transferencia o en las horas siguientes.

Se ha planteado el uso de indometacina, de progesterona y bolos de atosiban para mantener la quiescencia uterina en torno a la transferencia, pero existen pocos estudios que avalen su utilización con este objetivo.

5. Perfusión uterina

El estudio Doppler de la arteria uterina, realizado el día de la administración de bHCG, el día de la punción, o el día de la transferencia,

puede ofrecer información acerca de la receptividad. Un IP de la arteria uterina por encima de 3.3, o un índice de resistencia mayor de 0.95 próximo a la aspiración folicular, predicen malos resultados implantatorios.

Otro método sencillo que se ha planteado es la evaluación del flujo endometrial mediante Doppler color, detectándose diferencias significativas en términos de implantación cuando se detecta flujo endometrial y subendometrial (24 - 47%) frente a solo flujo subendometrial (15 - 29%) y ausencia de flujo (3.5 - 7.5%)

En lo que respecta a éstos 3 parámetros, se discute su utilización en tanto que no se dispone de medidas eficaces para su control ni puntos de corte claramente establecidos.

Además de estos parámetros, la ecografía nos puede ayudar a diagnosticar patología uterina que puede guardar relación con los fracasos implantatorios: pólipos endometriales, miomas submucosos y útero septo, susceptibles de ser tratados mediante histeroscopia.

POSIBLES INTERVENCIONES PARA MEJORAR LA RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL

1. INCREMENTO DEL GROSOR ENDOMETRIAL

El bajo grosor endometrial puede tener múltiples etiologías. A efectos prácticos, se pueden dividir entre aquellas que presumiblemente responderán a la estimulación, como los estados hipoestrogénicos (fallo ovárico prematuro, síndrome de Turner, Kallman, etc), y por otro lado las que no responderán a la estimulación hormonal (síndrome de Asherman, radioterapia pélvica).

Los tratamientos que se han planteado para mejorar el grosor endometrial son:

- Aspirina a bajas dosis: el uso de estrógenos unido a bajas dosis de aspirina mejora el flujo vascular uterino, y parece mejorar el grosor endometrial. Sin embargo, los estudios no evidencian mejoría en las tasas de embarazo.
- Sildenafil: al igual que con la aspirina, a pesar de que se encuentra incremento del grosor endometrial hasta en el 70% de pacientes, no consigue mejorar las tasas de gestación.
- Pentoxifilina: incrementa la deformabilidad de eritrocitos, causa vasodilatación, disminuye la viscosidad sanguínea y los procesos inflamatorios. Se ha planteado su uso combinado con tocoferol (vitamina E), con efecto antioxidante.
- Factor estimulador de colonias (GCSF): es una glicoproteína que estimula la proliferación de neutrófilos, pero se ha comprobado la existencia de receptoras en el endometrio y en las células trofoblásticas. A nivel endometrial, estimula el crecimiento en la fase proliferativa.

Son necesarios más estudios respecto a la mejoría del grosor endometrial, y su uso en la práctica habitual es aún muy limitado.

2. HISTEROSCOPIA

La histeroscopia solo se realiza en los casos en los que por ecografía se sospeche patología intracavitaria, en casos de fallo repetido de implantación y puede formar parte del estudio de abortabilidad.

Permite una visualización directa de la cavidad endometrial, y ahora se plantea que incluso en los casos de histeroscopia diagnóstica, la instilación de líquido y la distensión de la cavidad puede poner en marcha mecanismos reparadores en el endometrio similares al scratch endometrial.

Una de las causas por las que es más solicitada es para la exéresis de pólipos., que son lesiones hiperplásicas intracavitarias y que se identifica por ecografía como estructuras hiperecogénicas inmersas en el endometrio. Cómo interfieren en la implantación no se conoce con certeza, aunque se han postulado como posibles causas la interferencia con la movilidad de los espermatozoides, dificulta la aposición del embrión al endometrio y altera la producción de factores implicados en la receptividad endometrial.

Esta limitación de la evidencia, unido al hecho de que hay mujeres que se quedan embarazadas espontáneamente a pesar de la existencia de pólipos y a que una gran parte de los pólipos endometriales son hallazgos incidentales y que se resuelven espontáneamente, la práctica de una histeroscopia para su resección ha sido discutida. No obstante, la tendencia actual es la práctica de histeroscopia y polipectomía en toda paciente en la que en el estudio ecográfico se sospeche de la existencia de pólipo.

Otras patologías que pueden ser corregidas por histeroscopia son el septo uterino y el istmocele, dos anomalías intracavitarias que se han asociado a la esterilidad, y se puede realizar exeresis de miomas submucosos, único tipo de mioma que de acuerdo a la evidencia actual parece interferir en la implantación embrionaria.

3. SCRATCH ENDOMETRIAL

El scratch consiste en realizar una lesión local sobre el endometrio sirviéndose de una cánula de aspiración, que rasga las 4 caras del endometrio. Con ello se persigue poner en marcha fenómenos de reparación que conllevan un aumento en la síntesis de factores de crecimiento, factores proinflamatorios, factor de necrosis tumoral, factor inhibidor de leucemia y factores inmunomoduladores, que mejorarían la angiogénesis y el flujo endometrial, la reparación del endometrio y ayudaría con la inmunomodulación endometrial a fin de tener un endometrio más receptivo.

Durante los ciclos de estimulación se produce una disrupción en el desarrollo normal del endometrio, en el que se acelera la maduración endometrial y se acorta el desarrollo folicular, por lo que se ha planteado el uso del scratch durante la estimulación para sincronizar el desarrollo del endometrio tras transferencias fallidas en ciclos previos.

A pesar de ser un procedimiento prometedor, todavía hay dudas en cuanto al momento en que debe ser realizado, a que pacientes, que técnica emplear y en cuantas ocasiones hay que realizarlo para obtener beneficio. En cuanto al momento del ciclo, no hay consenso si se debe realizarse en la fase folicular del ciclo actual o en la fase lútea del ciclo previo. Si bien está más extendida la realización en fase lútea del ciclo anterior, realizarlo en la fase folicular del ciclo actual parece tener la ventaja de que el proceso inflamatorio y la liberación de los factores mencionados en el mismo ciclo podría mejorar la tasa de implantación.

Este efecto no solo es beneficioso en pacientes que van a someterse a técnicas de reproducción asistida, también se pueden beneficiar de él potencialmente aquellas mujeres que busquen embarazo de forma espontánea.

La revisión Cochrane en 2015 (O Nastri et al.) concluye que el scratch se asociaba con incremento de la tasa de embarazo clínico y de gestación evolutiva cuando se realizaba en los 7 días previos al ciclo o en los primeros 7 días del mismo, pero en una revisión posterior en 2016, llevada a cabo por el mismo grupo de investigación, concluye que es incierta la relación del scratching endometrial con la tasa de embarazo y aborto, con un nivel de evidencia bajo-muy bajo.

4. MICROBIOTA ENDOMETRIAL. FLORA NORMAL, DISBIOSIS Y ENDOMETRITIS.

Durante mucho tiempo se pensó que el endometrio era un tejido estéril, pero hoy sabemos que no es así. Se ha definido un patrón de microbiota normal, constituido fundamentalmente por bacterias del género *Lactobacillus*, y

desviaciones de la normalidad (disbiosis) y el extremo patológico, que es la endometritis.

En el contexto de la implantación, se ha comentado la importancia del equilibrio en los factores inflamatorios y la inmunomodulación endometrial para conseguir una implantación adecuada. Todo ello puede verse alterado por una inflamación crónica (endometritis) producida por microorganismos patógenos, y también en los casos en los que existe una desviación de la microbiota normal.

El diagnóstico de certeza se realiza por el hallazgo en el estudio anatomopatológico de células plasmáticas (monocitos) infiltrando el estroma endometrial y el cultivo. Por histeroscopia, se pueden ver micropolipos, edema estromal e hiperemia focal y difusa, con una correlación de casi el 95% entre hallazgos histeroscópicos e histológicos.

Las bacterias causantes suelen ser bacterias habituales del tracto genital femenino, destacando bacilos gram negativos y mycobacterias, y con menor prevalencia otras bacterias como *C. trachomatis*, que se disponen en el endometrio formando biofilm.



Hay distintas pautas antibióticas recomendadas para el tratamiento de la endometritis, desde el uso de pauta única de doxiciclina a 100mg cada 12h durante 14 días (con tasas de resolución de signos inflamatorios de hasta el 96%), al uso de quinolonas combinadas con metronidazol. Otro mecanismo que

se ha propuesto en el tratamiento de la endometritis es el scratching endometrial, que ayudaría a desprender el biofilm bacteriano y facilitaría la actividad posterior de los antibióticos.

En ausencia de endometritis, se plantea que la microbiota uterina en el momento de la implantación puede ser determinante. El estudio de esta microbiota es complejo, pues el cultivo de los microorganismos es largo, costoso, y en algunos casos imposible, por lo que para estudiar la flora bacteriana se usan otros métodos.

Con el desarrollo de la microbiómica (por medio de la detección de ARN ribosomal 16S, que es exclusivo de bacterias, y que presenta dos regiones hipervariables distintivo de cada especie bacteriana), disponemos de la herramienta para identificar que microorganismos habitan en un tejido y como es un método que cuantifica material genético, también en qué proporción.

La microbiota normal que se aísla en mujeres sanas y asintomáticas está compuesta mayoritariamente por *Lactobacillus*. No obstante, también en estas mujeres puede encontrarse flora en la que no predomina este microorganismo. Como curiosidad, en el estudio de la microbiota del endometrio y de los endometriomas en mujeres con endometriosis, se ha podido comprobar que predominan enterobacterias, estafilococos, estreptococos y bacterias del género *Prevotella*, *Actinomyces*, *Corynebacterium*, entre otras, que podrían ser responsables en parte de la esterilidad asociada a esta enfermedad.

Con el fin de predecir la receptividad, se diferencian dos tipos de microbiota: *Lactobacillus* Dominante (LD), cuando éstos representan más del 90% de la flora bacteriana), y No *Lactobacillus* Dominante (NLD), cuando estos constituyen menos del 90% de la flora, independientemente de que otros microorganismos se aislen.

La consecución de embarazo, gestación evolutiva, e hijo nacido vivo fue significativamente mayor en el grupo LD frente a NLD, tal y como se muestra en la siguiente tabla:

| Descriptive characteristics of subjects, cycles, transfers, and outcome results | | | |
|---|------------------|---------------------------|---------------------|
| Characteristics and outcomes | LDM, n = 17 | NLDM, n = 15 | Pvalue |
| Age, y | 40.06 ± 3.47 | 39.00 ± 5.09 | .49 |
| BMI, kg/m ² | 24.18 ± 5.18 | 22.45 ± 4.02 | .30 |
| Previous pregnancies | 1.71 ± 2.44 | 1.53 ± 2.32 | .84 |
| Previous miscarriages | 1.53 ± 2.21 | 1.14 ± 1.56 | .58 |
| Metaphase II oocytes/cycle | 11.94 ± 4.27 | 10.20 ± 4.81 | .28 |
| Fertilization rate/cycle | 157/203 (77.34%) | 118/153 (77.12%) | .62 |
| Transferred embryos/cycle | 1.65 ± 0.49 | 1.73 ± 0.59 | .65 |
| Time between EF and transfer, mo | 2.82 ± 2.55 | 1.80 ± 1.08 | .16 |
| Pregnancy rate/transfer | 12/17 (70.6%) | 5/15 (33.3%) | .03 ^{a,b} |
| Implantation rate/transfer | 17/28 (60.7%) | 6/26 (23.1%) | .02 ^{a,b} |
| Ongoing pregnancy/transfer | 10/17 (58.8%) | 2/15 (13.3%) | .02 ^{a,b} |
| Miscarriage rates | 2/12 (16.7%) | 3/5 (60%) | .07 |
| Live birth rate/transfer | 10/17 (58.8%) | 1 ^c /15 (6.7%) | .002 ^{a,b} |

Utilizando esta tecnología hay métodos como EMMA y ALICE, el primero más completo, ya que realiza un estudio de la microbiota en su conjunto, mientras que el método ALICE, usando la misma tecnología, se centra solo en detectar microorganismos patógenos responsables de endometritis crónica.

La muestra se toma entre el día 15 y 25 del ciclo. Además de determinar el tipo de microbiota, permite identificar gérmenes patógenos que por cultivo no es posible identificar (bien por ser caro, por ser un proceso muy largo o bien por imposibilidad técnica). Finalmente se emite un informe, que orientará al uso de antibióticos en caso de gérmenes patógenos, o bien al uso de probióticos.

El uso de EMMA ha sido discutido en términos de eficiencia, porque salvo el uso de probióticos, no disponemos de otro tratamiento para mejorar la flora endometrial. Se plantea por tanto la cuestión de si es rentable económicamente realizarlo y si merece la pena someter a la paciente a una biopsia para estudio de la microbiota, cuando de entrada podríamos comenzar con el tratamiento probiótico en toda paciente que se vaya a someter a técnica de reproducción asistida.

5. PATRÓN GÉNICO DE RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL.





Las líneas de investigación se centran actualmente en el estudio molecular, y más concretamente en el estudio de la “ómica” (genómica, epigenómica, transcriptómica). De todas ellas, la más prometedora en el uso clínico es el estudio de la transcriptómica (expresión de genes).

A lo largo del ciclo menstrual, numerosos genes intervienen en la modulación del ciclo y la actividad celular que en definitiva va constituyendo paso a paso la transición de una fase a otra del ciclo. La expresividad de los genes viene determinada por la concentración de estrógenos y progesterona en cada fase del ciclo.

La transcriptómica estudia que genes se expresan en cada fase del ciclo endometrial (catalogada previamente por histología), estableciendo así una firma genética para cada fase. Esta información se vuelca en microarrays, a los que posteriormente podemos enfrentar la muestra de nuestra paciente, y en función de la lectura obtenida podremos saber en qué momento del ciclo se encuentra. El array de receptividad endometrial (ERA) compara los perfiles de expresión génica de las distintas fases, recogiendo un total de 238 genes con expresividad variable en cada fase del ciclo.

Con los microarrays se abre la posibilidad de realizar **transferencias personalizadas**. La muestra no se puede tomar en el mismo ciclo en el que se realizará la transferencia, por lo que el estudio se deberá realizar reproduciendo las condiciones que se darán en éste último. Así, si vamos a realizar un ciclo natural, se deberá realizar el microarray también siguiendo un ciclo natural de la paciente, y lo mismo con un ciclo sustituido. Además, si vamos a realizar alguno de los tratamientos hasta ahora mencionados, deberían mantenerse en el ciclo en el que realicemos el estudio, y posteriormente en el ciclo de la transferencia, a fin de evitar sesgos.

La muestra se toma cuando presumiblemente sabemos que se abre la ventana de implantación (día 21 de un ciclo natural o día 5 tras inicio de impregnación con progesterona en un ciclo sustituido). Enfrentándolo a la muestra de nuestra paciente, clasificará la muestra como receptivo y no receptivo, y dentro de este último subgrupo, diferencia entre el endometrio pre-receptivo y post-receptivo. Ello nos permite reajustar el momento de la toma de la muestra en el siguiente ciclo, hasta dar con el perfil de receptividad de nuestra paciente y realizar la transferencia en el momento óptimo.

| Proliferative | Pre-Receptive | Receptive | Post-Receptive |
|---|--|--|--|
|  |  |  |  |
| Proliferative functions | Secretory functions | | |
| <ul style="list-style-type: none"> Cellular proliferation Cellular differentiation Extracellular matrix remodeling Angiogenesis and vasculogenesis DNA synthesis Adhesion Ion channels | Early-secretory <ul style="list-style-type: none"> Metabolism Transport Proliferation inhibition Mitosis inhibition | Mid-secretory <ul style="list-style-type: none"> Metabolism Glandular secretion Cell differentiation Cell communication Innate immune response Response to stress Response to wounding Adhesion Proteolysis regulation | Late-secretory <ul style="list-style-type: none"> Extracellular matrix degradation Inflammatory response Apoptosis |

CONCLUSIONES

- Importancia de la receptividad endometrial y su repercusión en los fracasos de implantación. El avance en las técnicas de laboratorio permite congelar los embriones y diferir la transferencia, lo cual abre

la posibilidad a estudios centrados en el endometrio para conseguir un entorno óptimo para la implantación.

- En la práctica habitual, la ecografía sigue siendo la herramienta de mayor utilidad, y parámetros como el patrón endometrial y el grosor los más utilizados para evaluar la receptividad.
- El avance en la transcriptómica y la microbiómica parece prometedor, pero aún no está arraigado en la práctica clínica.
- Se han planteado tratamientos para mejorar la receptividad endometrial, orientados a mejorar los parámetros ecográficos, a corregir trastornos intracavitarios y a mejorar la flora uterina, pero el fracaso de implantación sigue siendo un paso limitante en el éxito de las técnicas de reproducción asistida.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ruiz-Alonso M, Blesa D, Simón C, et al. The genomics of human endometry; *Biochimica et Biophysica Acta* 1822 (2012); 1931-1942.
2. Talbi S, Hamilton AE, Vo KC, et al. Molecular phenotyping of human endometrium distinguishes menstrual cycle phases and underlying biological processes in normo-ovulatory women; *Endocrinology* 147 (2006); 1097-1121.
3. Singh M, Chaudhry P, Asselin E. Bridging endometrial receptivity and implantation: network of hormones, cytokines, and growth factors, *J. Endocrinol.* 2011; 210: 5-14.

4. Bonilla-Musoles F, Raga F, Osborne NG, et al. Endometrial receptivity: Evaluation with ultrasound; *Ultrasound Q.* 2013; 29: 3-20.
5. Park HJ, Kim YS, Yoon TK, et al. Chronic endometritis and infertility. *Clin Exp Reprod Med*; 2016 Dec; 43(4): 185-192.
6. Al Chami A, Saridogan E. Endometrial Polyps and Subfertility. *J Obstet Gynaecol India*; 2017; 67(1): 9-14.
7. Moreno I, Franasiak J. Endometrial microbiota – new player in town. *American Society for Reproductive Medicine*; 2017; Volume 108, Issue 1, Pages 32-39.
8. Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol.* 2016; 215 (6): 684-703.
9. Antanu A, Ephraim Y, Balen A. The use of a combination of pentoxifylline and tocopherol in women with a thin endometrium undergoing assisted conception therapies – a report of 20 cases. *Human Fertility*, 2009; 12(4): 198–203.
10. Sarvi F, Arabahmadi M, Alleyassin A. Effect of Increased Endometrial Thickness and Implantation Rate by Granulocyte Colony-Stimulating Factor on Unresponsive Thin Endometrium in Fresh In Vitro Fertilization Cycles: A Randomized Clinical Trial. *Obstet Gynecol Int.* 2017.
11. Wadhwa L, Mishra M. Therapeutic Efficacy of Endometrial Scratching in Repeated Controlled Ovarian Stimulation (COS) Failure Cycles. *J Hum Reprod Sci.* 2018; 11(1): 59–71.
12. O Nastro C, Lensen S, Gibreel A. Endometrial injury in women undergoing assisted reproductive techniques. *Cochrane Systematic Review*, 2015.

13. Lensen S, Manders M, O Natri C, et al. Endometrial injury for pregnancy following sexual intercourse or intrauterine insemination. Cochrane Systematic Review, 2016.