

Estado actual del conocimiento de la implantación embrionaria humana

Actual state of human embryonic implantation knowledge.

Bernabeu R^{1,3}, Brotons A¹, Mendiola J², Guerrero J¹ y Ten J¹.

¹ Instituto Bernabeu de Fertilidad y Ginecología, Alicante. ² Instituto Bernabeu de Fertilidad y Ginecología, Cartagena ³ Cátedra de Medicina Reproductiva. Universidad Miguel Hernández. Elche. Alicante. España.

Resumen

La baja eficacia de la implantación embrionaria es uno de los factores limitantes en la reproducción humana. El estudio y comprensión de este proceso supondría un gran avance a la hora de mejorar los resultados en los tratamientos de esterilidad / infertilidad. Aún son muchas las incógnitas que rodean a la implantación y los datos conocidos hasta el momento nos dan información no contrastada, que debemos ser cautos a la hora de interpretar. Son imprescindibles las transformaciones que se dan tanto en el endometrio como en el embrión, al igual que son importantes los cambios que se producen antes, durante y tras la implantación para que el proceso llegue a término. Parte de la complejidad de la implantación radica en la multitud de moléculas que intervienen y de las cuales nos queda mucho por conocer. Todo esto nos muestra la gran cantidad de incógnitas que aún existen en este tema y que dejan campos abiertos para la investigación.

Palabras clave: Implantación embrionaria / Receptividad uterina.

Summary

The low efficiency of embryonic implantation is one of the restrain factors in human reproduction. The study and understanding of this process would be a great advance in order to improve the sterility / infertility treatments result. Nowadays there are several unknown questions about implantation. Published literature is not precise and must be cautious when interpreting it. The endometrium and embryo transformations and the changes that take place before, during and after implantation are important to the global success of the process. In fact, there are any given number of molecules that take part in the implantation process. Still now there exist a great amount of unknown questions that leave open fields of investigation.

Key words: Embryonic implantation / Uterine receptivity.

Correspondencia: Dr. Rafael Bernabeu
Avda. Albufereta, 31
03016 Alicante

INTRODUCCIÓN

A pesar de que la reproducción es indispensable para la supervivencia de nuestra especie, es un proceso relativamente ineficiente. Se calcula que la probabilidad de concepción en un ciclo menstrual es del 30 %, y que de éstos, sólo llegan a la semana 20 un 50-60 %. De todos los embarazos que se pierden, aproximadamente el 75 % son debidos a fallos de implantación, lo que nos indica que éste es uno de los factores limitantes del proceso. La implantación supone la fijación del blastocisto al endometrio materno 6-7 días tras la fecundación y lleva implícita una serie de procesos previos y posteriores de vital importancia para que el embarazo llegue a término. Debido a las limitaciones del estudio de la implantación humana, son muy pocos los casos que documentan las primeras semanas del desarrollo embrionario y gran parte de la información procede de estudios con experimentación animal y procedentes de un único espécimen y, por lo tanto, no extrapolables a nuestra especie (Norwitz et al., 2001). La comprensión de los mecanismos que intervienen en la implantación incrementaría, sin ninguna duda, la eficacia de los tratamientos en parejas con desórdenes reproductivos.

El objetivo del presente trabajo es actualizar los conocimientos sobre la implantación embrionaria, haciendo hincapié en los procesos de regulación y receptividad uterina.

PREIMPLANTACIÓN

La preimplantación es la etapa que reúne los procesos previos a la implantación, siendo imprescindibles modificaciones tanto del endometrio como del embrión.

El endometrio sufre una serie de transformaciones para que se realice con éxito el proceso. Estos cambios suponen: la disminución progresiva de las mitosis, la aparición en el epitelio endometrial de vacuolas basales ricas en glucógenos, el edema en el estroma, y la reacción decidual e infiltración leucocitaria (1). Estas transformaciones son debidas a la acción de la progesterona, que promueve modificaciones en la morfología y la función endometrial, y a los estrógenos, que permiten que el endometrio proliferare y crezca.

El embrión alcanza el útero y sigue su transformación hasta la fase de blastocisto. La aparición de líquido folicular en el interior de la cavidad de la masa celular marca la transición del estadio de compactación a blastocisto. El embrión aún se encuentra protegido por la zona pelúcida (ZP). Ésta debe ser degra-

dada para que se dé la implantación. Este proceso recibe el nombre de eclosión o "hatching", y se da unos 6 días tras la fecundación (2). El blastocisto es capaz de romper la ZP in vitro o en lugares ectópicos, lo que significa que no es necesaria la participación del endometrio, aunque si se ha observado que la eclosión in vitro tarda un día más en producirse (3). La *plasmina* es el mayor candidato para ser el factor lítico responsable del mecanismo de degradación de la ZP. Se trata de una proteína sérica de amplia especificidad, producida a partir del plasminógeno. Los principales activadores del plasminógeno endógeno son el *tisular* (t-PA) y el de *tipo uroquinasa* (u-PAs), que convierten al plasminógeno inactivo (zimógeno) en plasmina. El efecto de esta proteasa ha sido observado in vitro y sus inhibidores bloquean la eclosión en embriones de rata (2).

Desde el principio del desarrollo embrionario se empiezan a segregar sustancias esenciales para el inicio del embarazo. Pocos días tras la fertilización se puede detectar en sangre materna el *factor de embarazo temprano* (EPF), el cual es secretado por el ovario como respuesta a una señal del embrión, pero tras la implantación lo genera el propio embrión. Las funciones que se le atribuyen son inmunosupresoras y se asocia con la proliferación y crecimiento celular (4). Existen otras sustancias, como la *gonadotropina coriónica humana* (HCG), que aunque no se detecten en la madre con tanta prontitud se piensa que se comienzan a producir antes de la implantación por el propio embrión, ya que se ha observado que en cultivo se sintetizado por éste 7-8 días tras la fertilización. Se sabe que uno de los papeles más importantes que juega esta hormona es el luteotrópico; manteniendo el cuerpo lúteo del ciclo menstrual y convirtiéndolo luego en el cuerpo lúteo del embarazo; esto posibilita la producción persistente de progesterona necesaria para el desarrollo decidual hasta que la placenta asume el control. Puede también regular la producción de otros esteroides en el feto e inhibir la función de los linfocitos, por lo cual puede intervenir en la modulación de la respuesta inmune durante el embarazo. Interviene también en la síntesis y secreción de otras hormonas peptídicas. Se sabe que gran parte del aumento de la actividad tiroidea observado durante el embarazo es el resultado de la estimulación de la HCG.

IMPLANTACIÓN

Para que la implantación pueda realizarse es necesaria la existencia de una relación íntima entre la madre y el embrión cuyo fin último es la formación de la placenta.

La implantación la podemos dividir en tres etapas: aposición, adhesión e invasión.

La **Aposición** consiste en la unión inestable del embrión a la pared uterina. Este proceso suele ocurrir en una cripta del endometrio, en la parte superior de la pared del útero (2, 5). Un requisito previo es la pérdida de la ZP, acción que in vitro puede realizarse por contracción y expansión del blastocisto e in vivo se produce por acción enzimática y mecánica (4). Los blastocistos se ayudan de la expansión del blastocele y de la penetración de proyecciones del trofoectodermo para realizar este delicado proceso (6).

La localización del embrión es muy importante porque va a determinar la posición de la placenta (3). Parece ser que la aposición se da por la parte de la ZP que está ligeramente lisada, para que las células del trofoectodermo entren en contacto directo con la membrana del endometrio (2). La masa celular interna (MCI) ocupa un lugar específico que varía según la especie. En humanos, se encuentra en la zona en la que se va a desarrollar el trofoblasto invasor, mientras que en el ratón se encuentra en el lado opuesto (3). La posición correcta de la MCI ocurre por rotación libre dentro de la esfera de células trofoblásticas (2).

Es importante destacar la acción de las **quimioquinas** en la etapa de aposición; son polipéptidos de la familia de las **citoquinas**, que ejercen una atracción selectiva sobre distintos tipos celulares (quimiotaxis). Parece ser que la acción de estas moléculas queda restringida a la atracción de linfocitos y otras células inmunitarias (7). Se dividen en dos subfamilias:

* α o quimioquinas CXC: tienen dos cisteínas separadas por un aminoácido. Pertenecen a este grupo la interleuquina 8 (IL-8), la proteína activadora de neutrófilos 1 (NAP-1) y el inositol fosfato 10 (IP-10).

* β o quimioquinas CC: tienen dos cisteínas adyacentes. Entre ellos se encuentran el regulador de la activación de la expresión y secreción de células T (RANTES), las proteínas quimiotácticas de monocito (MCP) y las proteínas quimiotácticas de macrófagos (MIP).

La **Adhesión** se caracteriza por un contacto directo entre el epitelio luminal endometrial y el trofoectodermo del blastocisto. Aparecen interdigitaciones de las microvellosidades y formación de uniones intercelulares laxas entre el trofoblasto y el epitelio, siendo su mecanismo molecular desconocido (3). Probablemente estén involucradas interacciones ligando-receptor de distintos tipos. Algunos posibles ejemplos son las cadenas de heparan-sulfato de los proteoglicanos de la superficie celular que interaccionan con

proteínas básicas de la superficie celular opuesta (HSPG), las uniones homologas entre cadherinas 11 (Cad-11), uniones de una lectina con un glicano, de dos glicanos o de dos tropinas. Aparte de los ya mencionados, los receptores más frecuentes son a menudo de la familia de las integrinas y pueden estar en el blastocisto o en el endometrio (Figura 1). La detección de estas moléculas podría indicar un incremento de la receptividad endometrial, ya que en mujeres con infertilidad inexplicada y endometriosis están ausentes (8). La expresión de las integrinas disminuye con la administración de anticonceptivos orales, repercutiendo en la capacidad de adhesión al endometrio (9).

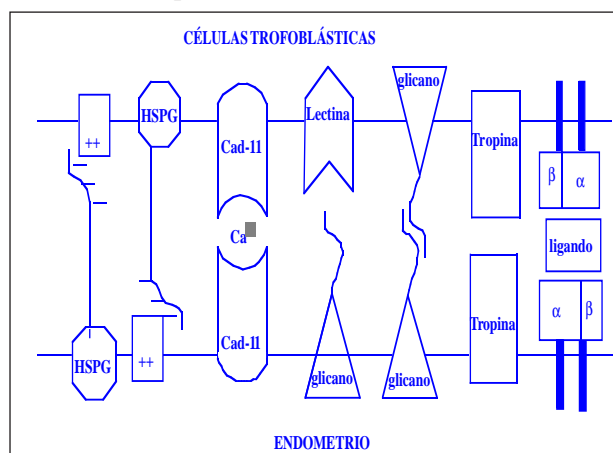


Figura 1

MOLÉCULAS DE ADHESIÓN

En el proceso de adhesión pueden estar implicadas distintos ligandos y receptores. En la imagen podemos observar algunos ejemplos. De izquierda a derecha: las cadenas de heparan-sulfato de los proteoglicanos de la superficie celular que interaccionan con proteínas básicas de la superficie celular opuesta (HSPG), las uniones homologas entre cadherinas 11 (Cad-11), uniones de una lectina con un glicano, de dos glicanos o de dos tropinas y las integrinas

La **Invasión** es la penetración del trofoblasto embrionario en el endometrio materno, que empieza poco después de la adhesión. Las células trofoblásticas desplazan, disocian y sustituyen a las células epiteliales, continuando la invasión de la membrana basal y estroma subyacente. Los embriones producen proteasas que degradan la membrana basal, permitiendo la penetración de los trofoblastos. La profundidad de la penetración, probablemente venga regulada por un estado de equilibrio entre las proteasas del trofoblasto y los inhibidores de proteasas de la decidua (10, 11). Existen diferentes proteasas que intervienen en el proceso, de las cuales, las más importantes son las se-

rinproteasas y las metaloproteasas. Las Serinproteasas más significativas son la u-PA y el t-PA. Se ha observado que ratones sin u-PA o t-PA no ven disminuida la fertilidad, sin embargo, los que tienen ambas mutaciones sí que sufren problemas de fertilidad (1). Esto puede significar que existe una compensación del defecto de uno de los componentes con el aumento de la producción del otro, consiguiendo de esta forma, asegurar la continuidad de la especie. El mecanismo con el que actúan es el siguiente: el trofoblasto produce u-PA y posee a su vez los receptores para u-PA (U-PAR). Al unirse ambos, se forma el complejo u-PA-U-PAR y se produce un efecto proteolítico que permite el avance del trofoblasto. Si inhibimos esta enzima con el inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1), no se produce la invasión trofoblástica. Este proceso se regula a través del **receptor proteico para lipoproteínas de baja densidad** (LRP), el cual captura el complejo u-PA-PAI-1 para que pueda continuar la invasión (3) (Figura 2). Las metaloproteinasas pertenecen a la familia de las endopeptidasas dependientes de zinc. Poseen actividad proteolítica contra muchos componentes de las células endometriales. Existen distintos tipos: las colagenasas digieren colágeno tipo I, II, III, VII y X, las gelatinasas digieren colágeno tipo IV y desnaturalizado y las estromalisinas degradan fibronectina, laminina, colágeno tipo IV, V, VI y proteoglicanos. El colágeno tipo IV es el componente principal de la membrana basal y debe ser disgregado para que se produzca la invasión (1). La acción de las metaloproteinasas es regulada por la acción del inhibidor de metaloproteinasas de tejido (TIMP). La acción combinada de las metaloproteinasas y TIMP es la responsable de la degradación de la matriz extracelular (Figura 2).

Una vez el trofoblasto encuentra su destino final, sintetiza una matriz de proteínas extracelulares, que facilita la unión a las arteriolas maternas. Invade el estroma uterino estableciendo una placentación hemocorial, en la cual la sangre materna en el espacio intervilloso está en contacto directo con el trofoblasto embrionario (11, 1).

RECEPTIVIDAD UTERINA

Para que la implantación pueda darse, el embrión y la madre deben encontrarse sincronizados tanto en el tiempo, como en el espacio. Ese período en el cual se da el diálogo entre ambos se denomina **Ventana de Implantación**. Ésta se da en distintos momentos dependiendo de la especie. En nuestro caso la ventana

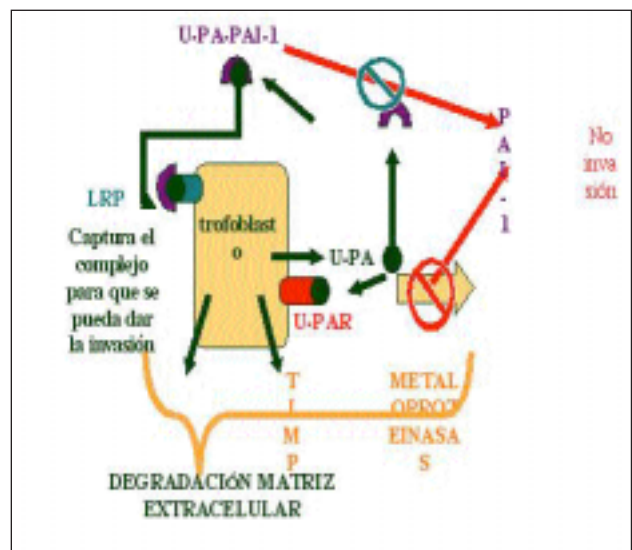


Figura 2

ESQUEMA ACTIVADOR UROQUINASA

El efecto proteolítico del trofoblasto se regula gracias a la producción de u-PA y a la acción del PAI-1 y el LRP. La acción combinada de las metaloproteinasas y TIMP es la responsable de la degradación de la matriz extracelular

se abre alrededor del día 5 tras la ovulación y se cierra del 20 al 24, en un ciclo ideal de 28 días (12).

En los ciclos de fecundación in vitro (FIV) es importante conocer los marcadores de la ventana de implantación para que se transfiera durante este período. El endometrio presenta diversos cambios histológicos: vascularización y edema estromal, actividad secretora glandular y aparición de pinópodos en la superficie luminal del epitelio (5). Los pinópodos son largas proyecciones citoplasmáticas del epitelio, cuya aparición coincide con la ventana de implantación y, por tanto, pueden ser consideradas como marcadores morfológicos. Aunque su función no es realmente conocida, se han realizado estudios para relacionarlos mejor con el estado receptivo; empleando microscopía electrónica de barrido y de transmisión en pacientes tras estimulación hormonal y en mujeres durante la fase secretora de su ciclo natural, se ha intentado averiguar el periodo de máxima receptividad (11, 13). En los ciclos naturales, los pinópodos se desarrollan antes que en los ciclos de estimulación y después que en los ciclos de sustitución hormonal (14). La aparición de pinópodos está regulada hormonalmente, ya que se ve afectada por niveles elevados de estradiol, inhibiendo su formación (15), en cambio los pinópodos ya desarrollados varía de una paciente a otra, con diferencias que no se correlacionan con el nivel de

estradiol o progesterona (16), Por tanto, la detección de los pinópodos en ciclos de reproducción asistida podría ayudar a asegurar la receptividad en la transferencia embrionaria.

También existen marcadores bioquímicos de la ventana de implantación como las integrinas y las mucinas. Las integrinas son proteínas integrales bifuncionales: en su lado intracelular interactúan con el citoesqueleto, mientras que en el lado extracelular tienen receptores para una matriz de proteínas como el colágeno, laminina, fibronectina y vitronectina. Las integrinas son moléculas de adhesión que pertenecen a una familia de moléculas que está codificada por un grupo de genes que tiene cierta homología, lo que indica un gen ancestral común como en la familia de las inmunoglobulinas. La familia de las integrinas está formada por un grupo de cerca de 30 proteínas con homología estructural que promueven las interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular. Todas las integrinas son heterodímeros compuestas por dos cadenas unidas de manera no covalente, α y β (la α de 120 a 200 Kd, la β de 90 a 110 Kd). La posición aminoterminal constituye un dominio globular que funciona uniendo ligandos específicos e interactuando entre sí con el resto de cadenas. Este dominio contiene subdominios catiónicos de uniones divalentes esenciales para su función como receptor; esta porción extracelular interactúa con varios ligandos incluyendo la matriz extracelular (glicoproteínas) y proteínas en la superficie de otras células. Durante la ventana de implantación se expresan las subunidades $\alpha 1$, $\alpha 4$ (su desaparición cierra la ventana) y $\beta 3$ (su aparición abre la ventana) (10).

Respecto a las **mucinas**, son glicoproteínas voluminosas, altamente glicosiladas, que constituyen el mayor componente del moco. Son moléculas de antiadhesión (inhibidores de la unión célula-célula y célula sustrato). En mujeres con abortos de repetición se ha visto que los niveles de **mucina-1** (muc-1) son más bajos de lo normal, lo que permitiría la implantación de embriones "defectuosos" que no pueden terminar su desarrollo (10). Durante las etapas de división embrionaria se produce un aumento de muc-1 en el epitelio materno, mientras que en las etapas de adhesión se observa una pérdida local de dicha molécula, lo que sugiere que la muc-1 puede que actúe como barrera para la implantación (17).

REGULACIÓN DE LA IMPLANTACIÓN

La implantación es un proceso regulado por multitud de moléculas, de las cuales en muchos casos no

conocemos su función exacta. Se han realizado multitud de experimentos para poder determinar qué ligandos y receptores se expresan en cada estadio embrionario y averiguar en qué momento es importante la acción de cada uno de ellos. Partiendo de embriones obtenidos mediante FIV, se puede extraer su ARN, y transformarlo en el ADN complementario (ADNc) con ayuda de la transcriptasa inversa. Tras la realización de una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) empleando cebadores específicos para el ARNm que nos interesa, se puede analizar el producto en un gel de agarosa. Esto nos permite conocer algunas de las moléculas que están presentes durante todo el proceso, cuáles de ellas las podríamos encontrar en determinados estadios y cuáles no están en ninguno de ellos (18).

Las moléculas más importantes que intervienen en la regulación de la implantación las podemos resumir en el siguiente listado:

* **Mediadores locales de acción preponderante durante la fase proliferativa:** factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento insulínico tipo 1 y 2 (IGF-1, IGF-2), factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y factor de crecimiento vasculo-endometrial (VEGF).

* **Señales locales que actúan durante la fase secretora:** factor de crecimiento queratinocítico (KGF), interferón gamma (IFN), factor de necrosis tumoral (TNF- α) y factor estimulador de colonias tipo 1 (CSF-1).

* **Señales locales que actúan durante la implantación:** factor de crecimiento epidérmico ligador de heparina (HB-EGF), factor inhibidor de leucocitario (LIF) y la interleuquina 1 (IL-1).

* **Señales locales que actúan al final de la implantación:** factor de crecimiento transformante β (TGF- β) y proteína ligadora del factor de crecimiento insulínico tipo-1 (IGF-BP-1).

De estos factores, los más importantes para la regulación de la implantación son los que se detallan a continuación.

El **factor de crecimiento epidérmico** (EGF), es un polipéptido de cadena simple constituido por 53 aminoácidos, con un peso molecular de 6.045 Da. Es producido en altas cantidades en el riñón, el ovario, el endometrio, la decidua, las membranas fetales y la placenta, al igual que en los astrocitos del cerebelo y la materia gris del telencéfalo. El receptor para EGF (EGF-R) pertenece a la subclase I de la familia de los receptores tirosín quinasa. Es un monómero con dos

secuencias ricas en cisteína en el dominio extracelular. La activación del receptor, por unión de los ligandos EGF o factor de crecimiento transformador α (TGF- α), induce la autofosforilación de los residuos de tirosina del dominio intracelular. En el trofoblasto humano la unión de EGF a su receptor induce la producción de gonadotropina coriónica (hCG), lactógeno placentario (hPL) y progesterona. La presencia del sistema ligando receptor para EGF en el útero y en el embrión, sugiere su participación en el reconocimiento materno de la gestación y en las señales bioquímicas entre el embrión y el útero (19). La familia EGF está formada por EGF, TGF- α , factor de crecimiento epidérmico ligado a la heparina (HB-EGF), Amfiredulina A y Betacelulina A. Estos ligandos actúan sobre el EGF-R. Durante años se ha pensado que estos factores de crecimiento mediaban los efectos de los esteroides en el crecimiento endometrial y la diferenciación. Actualmente se sabe que el EGF-R tiene un factor crítico en el desarrollo del blastocisto. De hecho, en un estudio reciente obtuvieron ratones con el fenotipo EGF-R^{-/-} y se observó que los blastocistos podían realizar la eclosión, pero fallaba la aposición. Aunque los trofoblastos invadían la decidua, la masa celular interna era muy reducida, y los fetos morían a mitad de gestación con placentas defectuosas. Por tanto, concluyeron que la expresión de EGF-R era esencial para el desarrollo de la masa celular interna en el ratón (18).

El **factor inhibidor leucocitario** (LIF) es una citosina que tiene efectos de proliferación, de diferenciación y de supervivencia celular. Estos efectos están relacionados con el desarrollo del blastocisto, la implantación y el mantenimiento inicial del embarazo. Pertenecen a otro grupo de citocinas, el cual incluye la interleuquina 6 (IL-6), factor neurotrófico ciliar (CNTF), oncostatina M (OM), interleuquina 11 (IL-11) y cardiotropina. Éstas también tienen una función importante en la implantación. En este caso cuando se deleta el gen LIF y se obtienen ratones LIF^{-/-}, se consiguen blastocistos normales, pero que no pueden soportar la implantación. La preimplantación es normal, pero el endometrio de estos ratones falla en la deciduación (18). La localización del receptor de LIF en el epitelio uterino indica el lugar crítico para la acción del endometrio materno. Se puede deducir que la expresión materna de LIF parece ser necesaria para preparar el endometrio para la implantación. La IL-11 es un ligando importante del cual no se sospechaba ningún papel en la implantación hasta hace bien poco. El receptor de la IL-11 (IL-11R) es máximo en los días 5º al 8º del embarazo. En los ratones IL-11R^{-/-} se observa que el fallo se de-

be a una deciduación incorrecta. Se puede llegar a la conclusión de que la función del IL-11R se requiere para la amplificación de la respuesta primaria decidua (la deciduación normal no ocurre en su ausencia) (18).

En los últimos años también han sido relacionadas las leptinas con la regulación del ciclo reproductivo. Las leptinas son péptidos pleiotrópicos pequeños, de unos 146 aa (16kDa), que inicialmente se conocían por ser secretadas por el tejido adiposo. Son codificadas a partir del gen *ob*. Las hembras de ratón *ob/ob* se caracterizan por obesidad y esterilidad como resultado de la no síntesis de leptina. La fertilidad en estos animales puede ser restaurada con un tratamiento de leptina exógena, sugiriendo que la leptina es necesaria para la reproducción. En machos *ob/ob* también se ve la función reproductiva alterada y se corrige del mismo modo con la administración de leptinas. El mecanismo de regulación de estas moléculas no es conocido (19).

CONCLUSIONES

La implantación embrionaria humana representa un área de conocimiento en la que existen pocos estudios, y que aportan datos no contrastados. Por tanto, no disponemos de información fiable para poder utilizarlos con propósito diagnóstico. Se conoce la existencia de diferentes factores que intervienen en el proceso, pero no de su forma de actuación, su función o de cómo interactúan. Además, debemos ser cautos a la hora de interpretar los resultados, ya que la mayoría proceden de investigaciones que emplean el modelo animal, y no todas las conclusiones se pueden extrapolar a la especie humana.

Sería de gran utilidad en los tratamientos de reproducción asistida, conocer con precisión la función y mecanismo de los marcadores que intervienen durante la ventana de implantación, tanto los morfológicos (pinópodos), como los bioquímicos (integrinas y mucinas), ya que ello nos permitiría realizar la transferencia embrionaria en el momento de mayor receptividad y seleccionar aquellos embriones con mayores probabilidades de anidación, permitiendo de esta forma aumentar el porcentaje de embarazo, y al mismo tiempo disminuyendo la gestación múltiple. Los fallos de implantación constituyen, por tanto, un factor limitante fundamental en el éxito de la TRA. Un mejor entendimiento de los mecanismos moleculares de este proceso podría permitir tratar no sólo estas situaciones sino además la pérdida temprana y las enfermedades hipertensivas del embarazo.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Caballero-Campo P, Martín JC, Domínguez F, Meseguer M, Valbuena D, Mercader A.:** La implantación embrionaria: aspectos clínicos y básicos. In: Hernández E, Simón C, Veiga A, editors. Actualizaciones de la Sociedad Española de Fertilidad 2000. Técnicas de reproducción asistida. Nº 2. 1ªed. 2000.
2. **Jones EE, DeCherney AH.:** Fertilization, pregnancy and lactation. Elsevier Science. USA. 2003; p. 1167-1189.
3. **Simón C, Portolés E, Mercader A, Frances A, Remohi J.:** Implantación embrionaria. En: Remohi J editors. Reproducción Humana. 1ª ed. Madrid. 1996; p. 70-76.
4. **Speroff L, Glass RH, Kase NG.:** Transporte del espermatozoide y el óvulo, fertilización e implantación. En: Endocrinología, ginecología e infertilidad. 6ª ed. Buenos Aires. 2000; p. 247-274.
5. **Norwitz ER, Schust DJ, Fisher SJ.:** Implantation and the survival of early pregnancy. Mechanism of disease, 2001 Nov; 345: 1400-1408.
6. **Gonzales DS, Jones JM, Pinyopummintr T, Carnevale EM, Ginther OJ, Shapiro SS, et al.:** Trophectoderm projections: a potencial means for locomotion, attachment and implantation of bovine, equine and human blastocysts. Hum Reprod, 1996; Vol 11, 2739-2745.
7. **Caballero-Campo P, Domínguez F, Coloma J, Meseguer M, Remohi J, Pellicer A et al.:** Hormonal and embrionic regulation of chemokines IL-8, MCP-1 and RANTES in the human endometrium during the window implantation. Mol Hum Reprod. 2002; Apr; 8(4):375-84.
8. **Wilks J.:** El impacto de la píldora en los factores de implantación. Nuevos descubrimientos de la investigación científica. Ethics and Medicine (2000); vol 16:1, p.15-22.
9. **Somkuti SG, Sun J, Yowell CW, Fritz MA, Lessey BA.:** The effect of oral contraceptive pills on markers of endometrial receptivity. Fertil Steril. 1996 Mar; 65(3):484-8.
10. **Moyano PD.:** Implantación embrionaria. Tesina presentada en el marco del master en endocrinología ginecológica y de la reproducción de la fundación universitaria dr Rene Favalaro. Supervisión a cargo del dr Vladimir Flores. 1999.
11. **Sher G, Zouves C.:** Optimizing implatation: diagnostic 20 and therapeutic considerations. En: Brinsden P.R., editor. In vitro fertilization and Assisted Reproduction. The Bourn Hall guide to clinical and laboratory practice. 2º ed. New York. 1999. p. 275-283.
12. **Aplin JD.:** Adhesión molecules in implantation. Reviews of reproducción 1997; 2, 84-93
13. **Novotn_ R, Malínsk_ J, Oborná I, Dostál J.:** Ultrastructure of endometrial surface relied in normal menstrual cycle and after hormonal stimulation. Acta Univ. Palacki. Olomuc., Fac. Med 1999; Vol.142
14. **Nikas G.:** Pinopodes as markers of endometrial receptivity inclincal practice. Hum Reprod. 1999 Dec; 14 suppl 2:99-106.
15. **Psychoyos A, Nikas G.:** Uterine pinopodes as markers of uterine receptivity. Assisted Reproduction Review 1994; 4:26-32
16. **Nikas G, Drakaskis P, Loutradis D, Mara-Skoufari C, Koumantakis E, Michalas S, et al.:** Uterine pinopodes as markers of the `nidation window´ in cycling woman receiving exogenous oestradiol and progesterone. Hum Reprod 1995 May; 10(5):1208-13.
17. **Meseguer M, Martinez-Conejero JA, Aplin JD, Remohi J, Pellicer J, Simon C.:** TGF-β1 regula in vitro a la mucina endometrial humana MUC-1 durante la implantación embrionaria. Revista iberoamericana de fertilidad. Vol 20, nº 3. Mayo-Junio 2003.
18. **Sharkey AM, Smith SK.:** Local regulators of embryo-endometrial interactions at implantation. En: Brinsden PR, editor. In vitro fertilization and assisted reproduction. The bourn hall guide to clinical and laboratory practice. 2ª ed. New York. 1999. p. 267-273.
19. **Maldonado J.G., Jaramillo H.N.:** Factores de crecimiento epidérmico, factores estimuladores de colonias, neurotrofinas Iatreia; vol 12 ; Nº12. Junio 1999; p. 61-62.
20. **González RR, Caballero-Campo P, Jasper M, Mercader A, Devoto L, Pellicer A, et al.:** Leptin and leptin receptor are expressed in the human endometrium and endometrial leptin secretion is regulated by the human blastocyst. JCEM. 2000; vol 85; Nº12: 4883-4888