

Ejemplo real de aplicación de herramientas bioinformáticas en Investigación Biomédica

Desarrollo de una Herramienta Molecular Diagnóstica de la Receptividad Endometrial



Patricia Díaz Gimeno

pdiaz@cipf.es

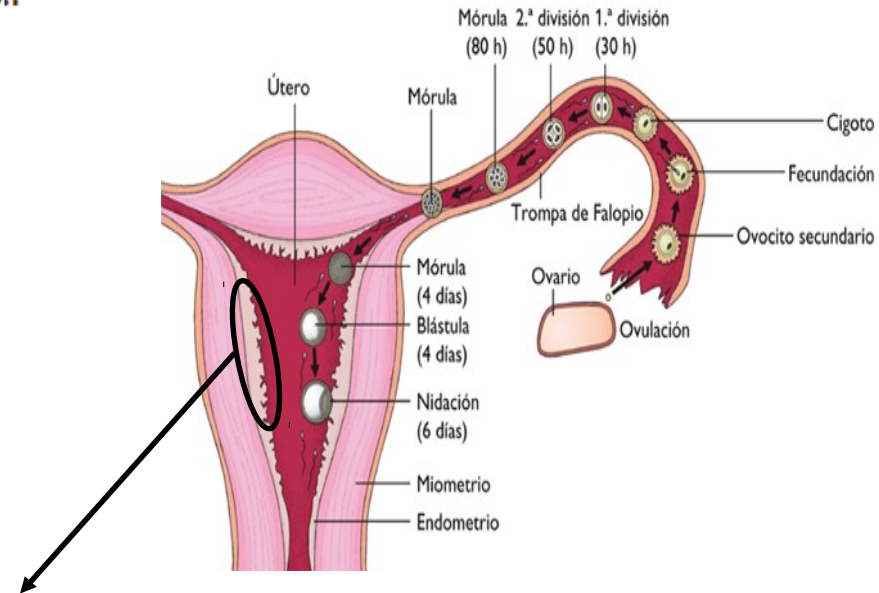
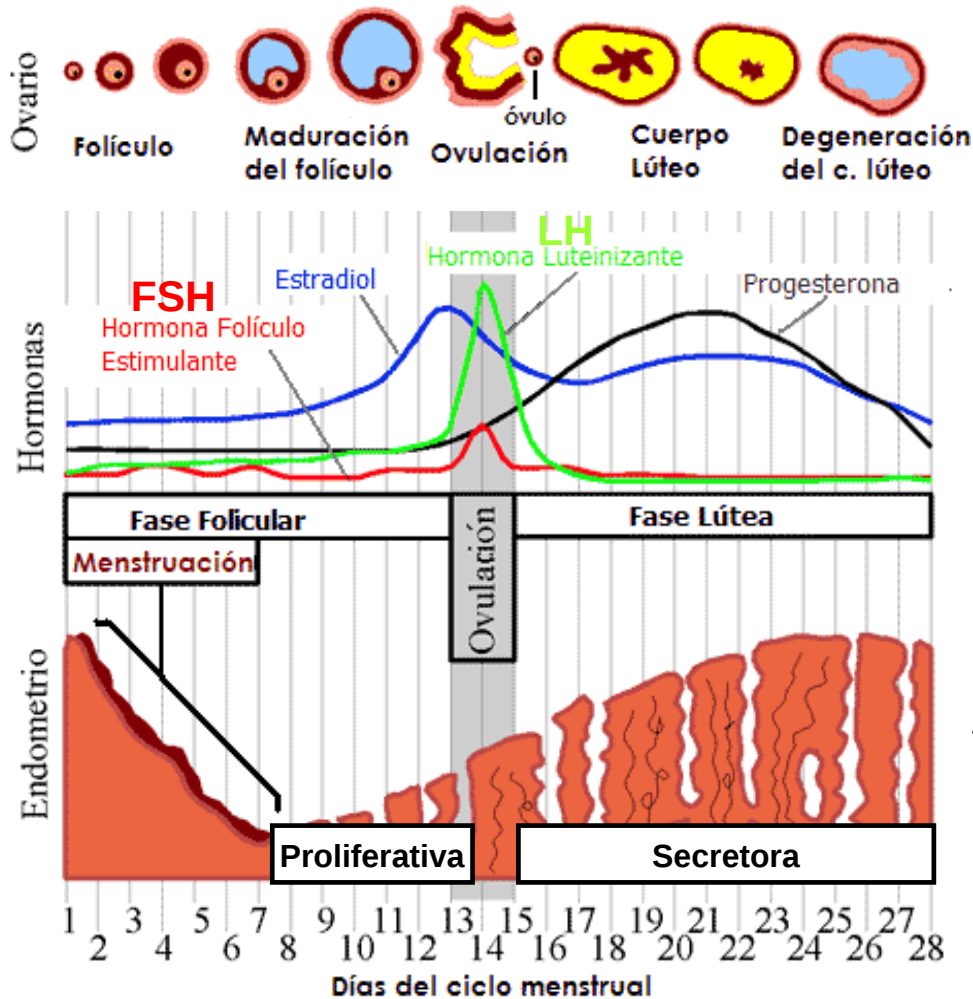
Dpto de Bioinformática y Genómica

CIPF



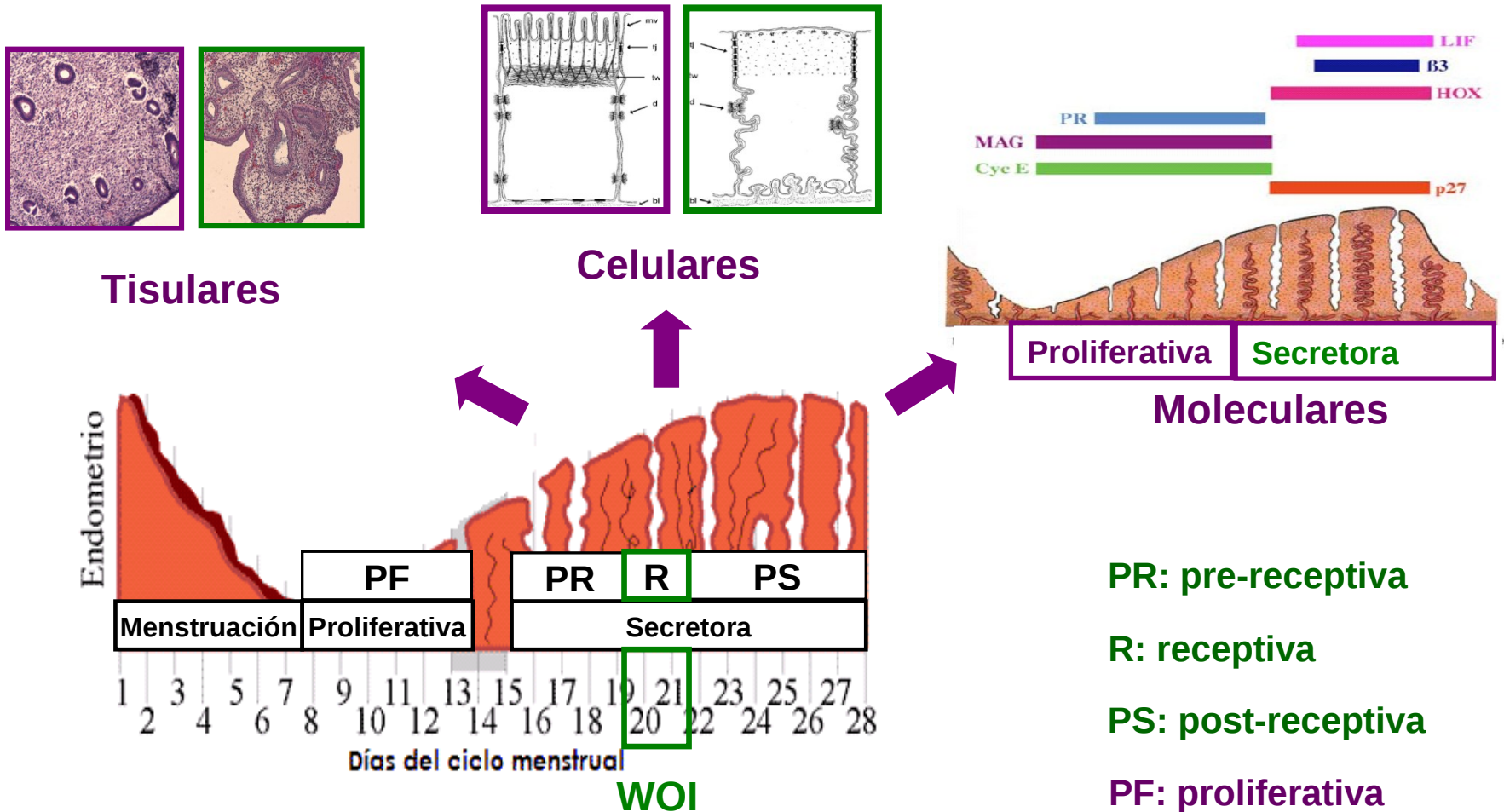
PRINCIPE FELIPE
CENTRO DE INVESTIGACION

Endometrio y Ciclo Menstrual



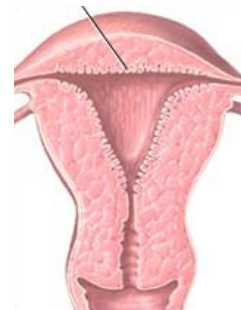
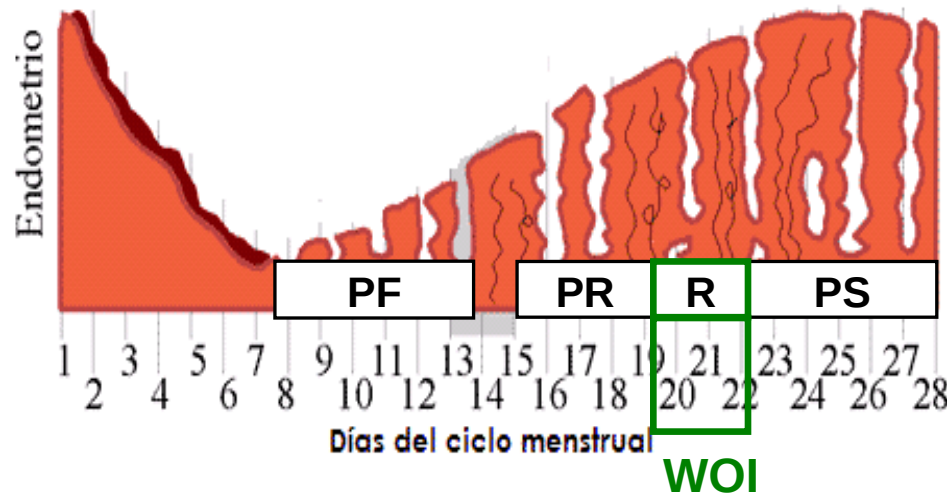
El endometrio varía a lo largo del ciclo menstrual y su principal función es la de estar preparado para la implantación embrionaria y la gestación.

Ciclo Menstrual y Receptividad Endometrial



La receptividad endometrial está inducida por cambios que se evidencian a nivel tisular, celular y molecular que permiten que el endometrio este preparado para la implantación embrionaria.

Evaluar la Receptividad Endometrial



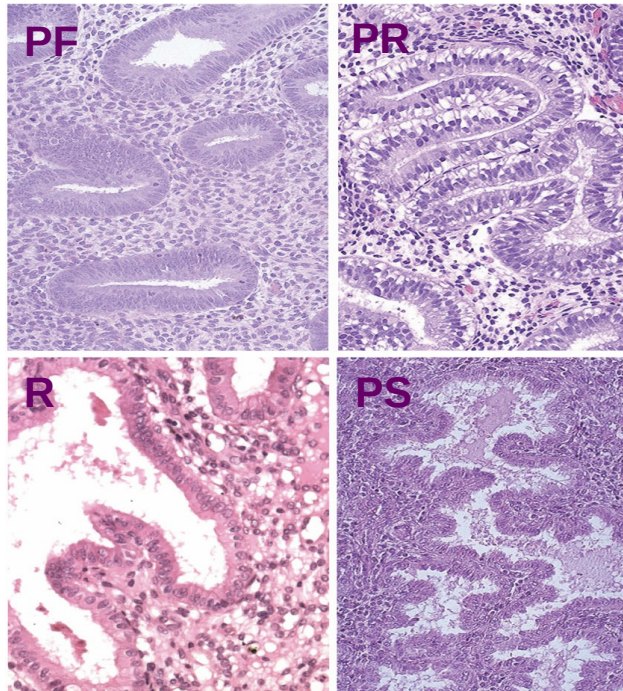
¿Endometrio normal?



Evaluar de una manera objetiva el estado de receptividad endometrial como un parámetro fiable en el tratamiento de la infertilidad.

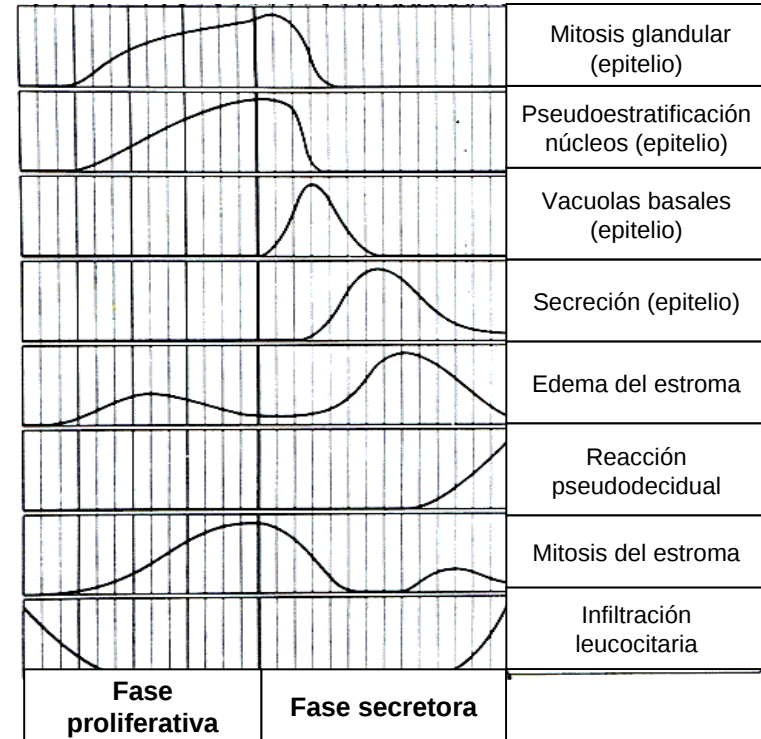
Dataje Endometrial Histológico

Gold standard



Subjetividad

Criterio de Noyes



Noyes y cols., 1950

El dataje endometrial no está relacionado con el estatus de fertilidad

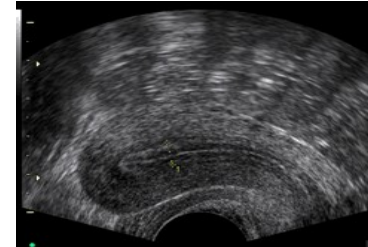
El dataje endometrial histológico es un método que no es válido para diagnosticar la receptividad endometrial y no ayuda en la clínica al tratamiento de infertilidad.

Ecografía

Grado de vascularización

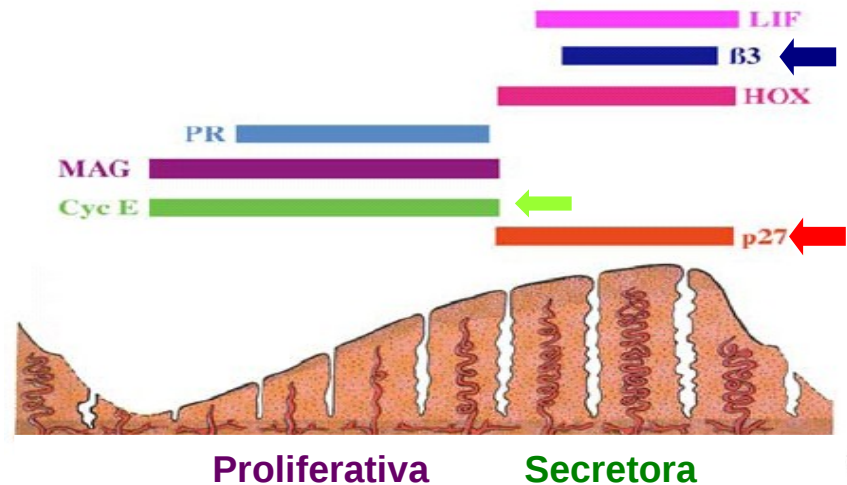
Grosor endometrial

Resultados contradictorios



Test Moleculares para Evaluar la Receptividad Endometrial

Integrina $\beta 3$
Ciclina E
p27



Los marcadores propuestos no son suficiente para la evaluación endometrial.

La receptividad endometrial es un proceso multifactorial y complejo que requiere de un análisis profundo y de multiples factores para ser evaluado.

Secuenciación Genoma Humano

1985

2003

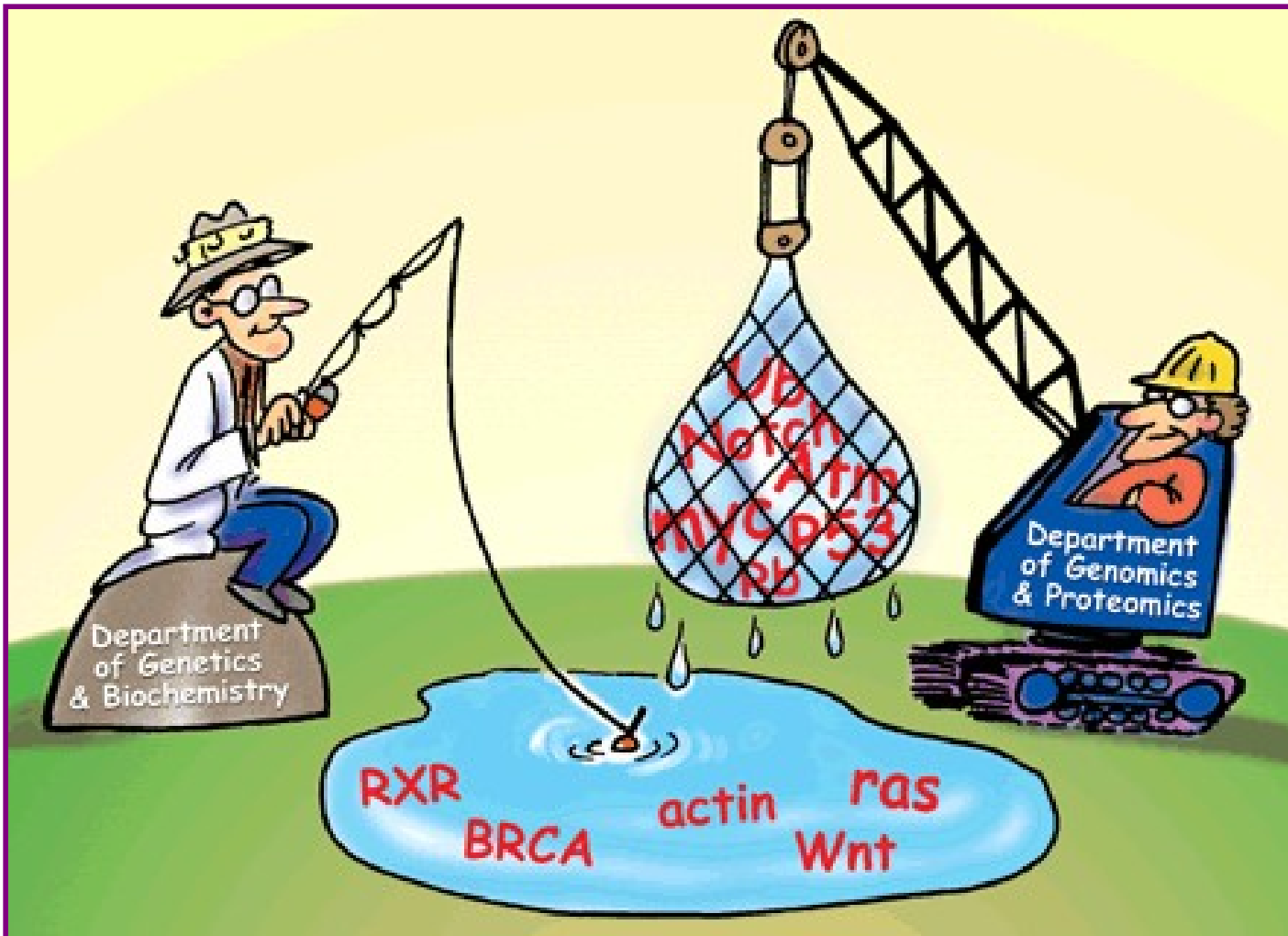
COMPLETADO!



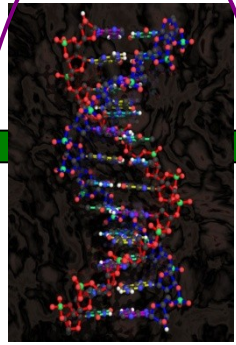
!!



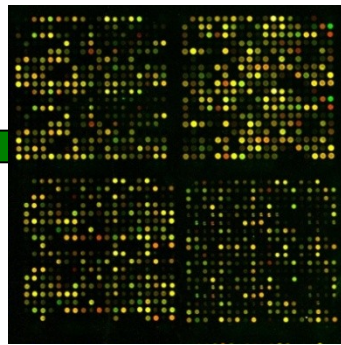
Enfoque “-ómico”



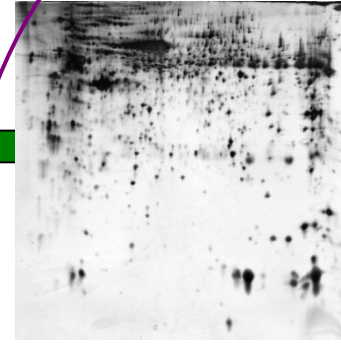
Ciencias "ómicas"



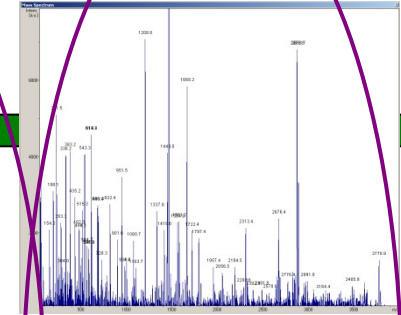
Genoma



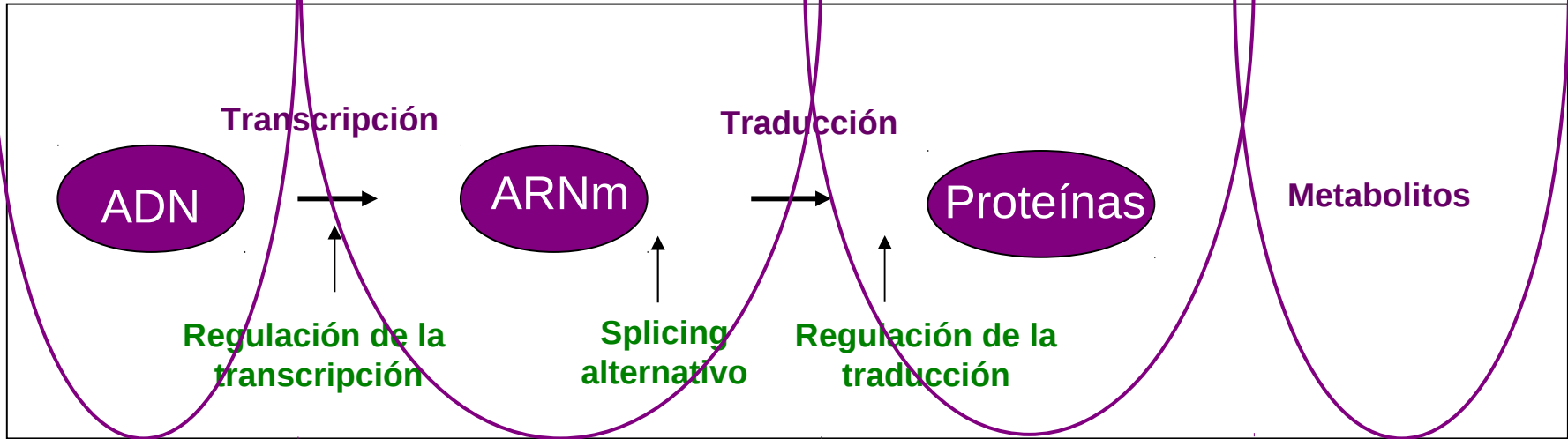
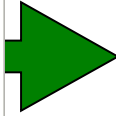
Transcriptoma



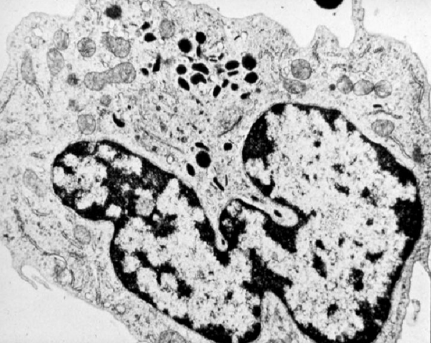
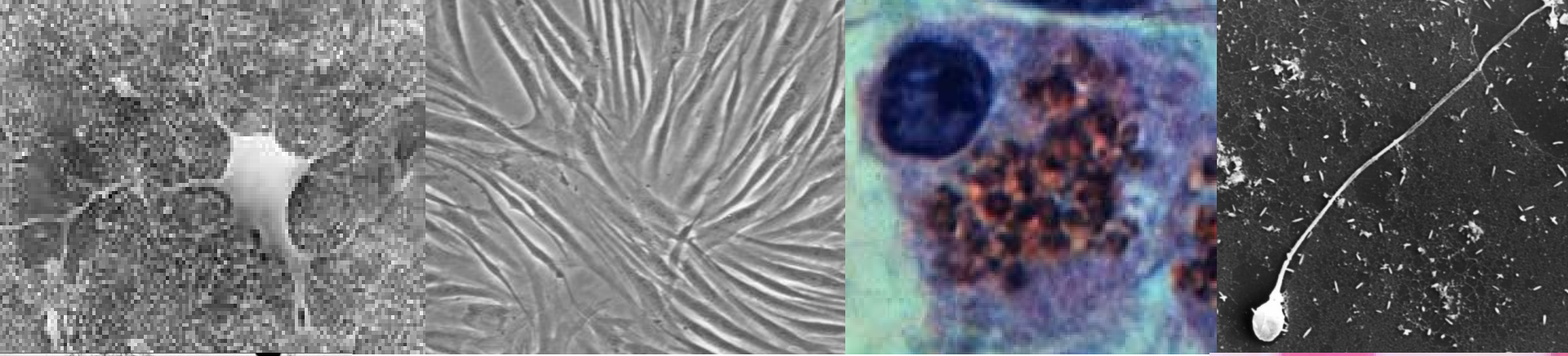
Proteoma



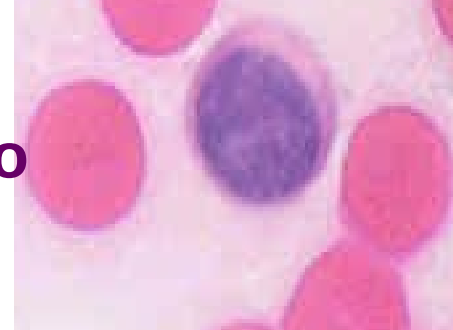
Metaboloma



La profundidad y análisis de multitud de factores que permite el enfoque ómico ha sido la apuesta más firme en la actualidad para intentar evaluar la receptividad endometrial.



Todas las células de un organismo tienen el mismo genoma



Lo que diferencia a unas de otras es qué genes y en qué cantidad se expresan

Por tanto ➡ la **Transcriptómica** varía según:

-Tipo celular

-Estado celular (proceso biológico o enfermedad)

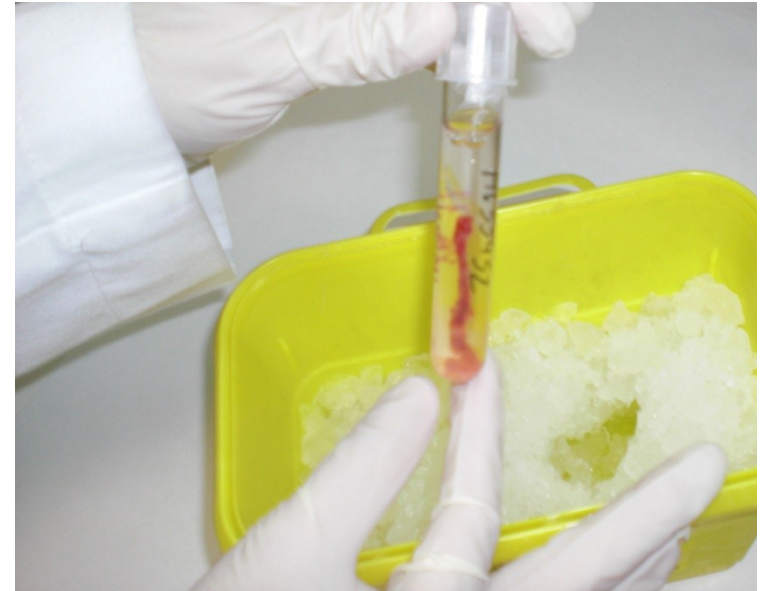
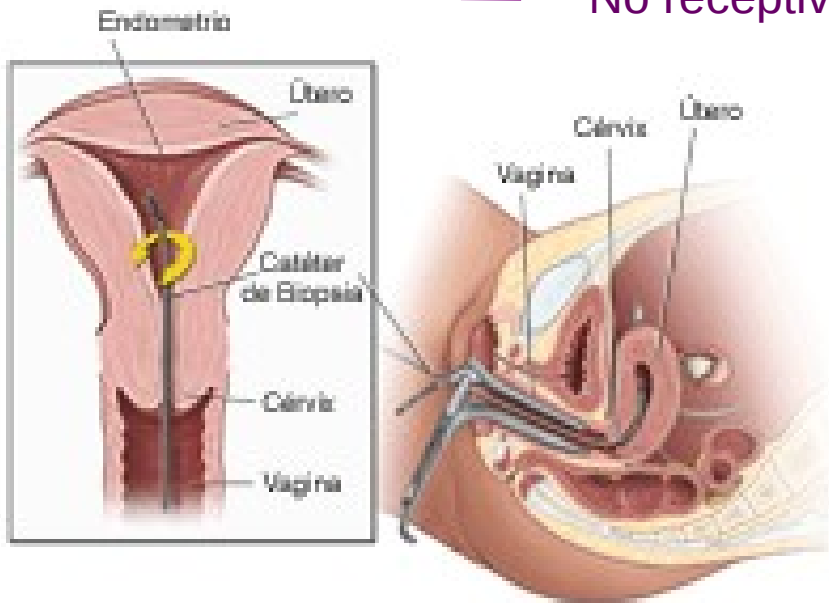
¿Cómo?

Biopsia endometrial



Receptivas

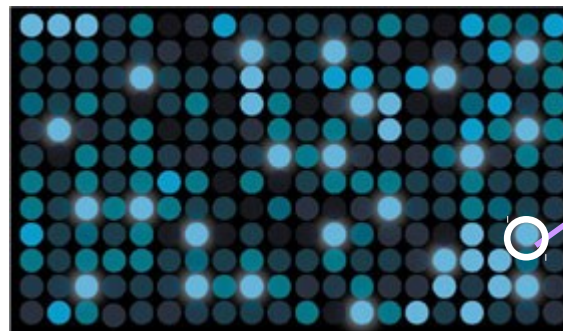
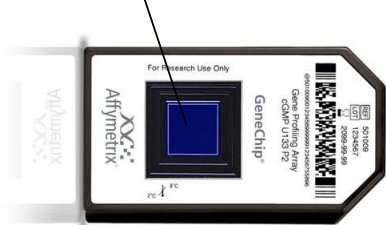
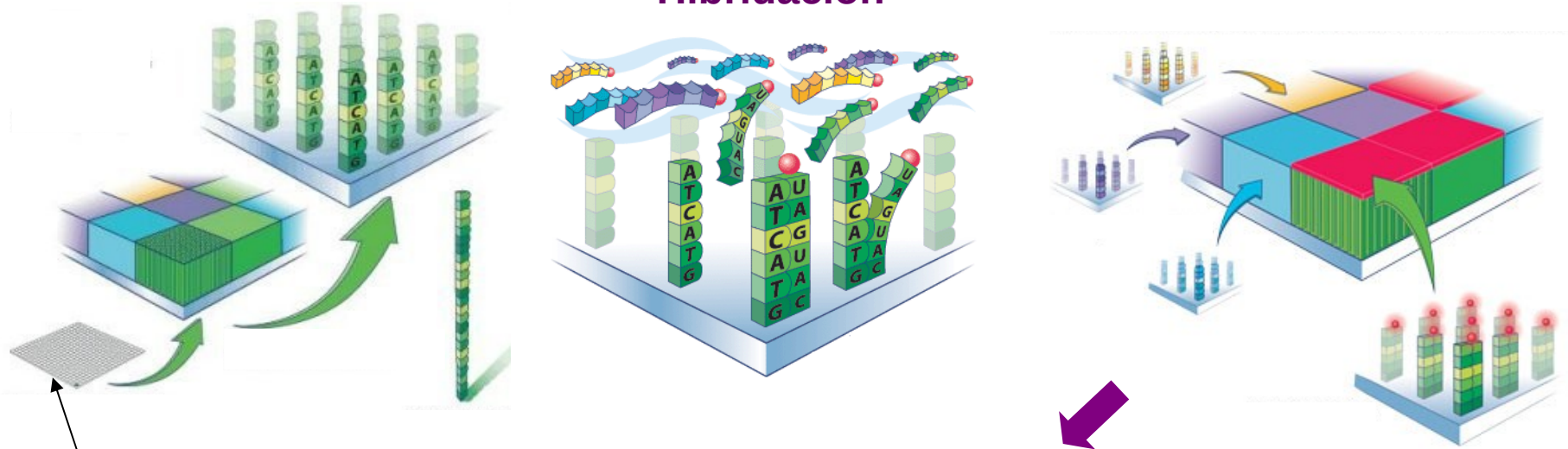
No receptivas



Extracción RNA

Tecnología de microarrays

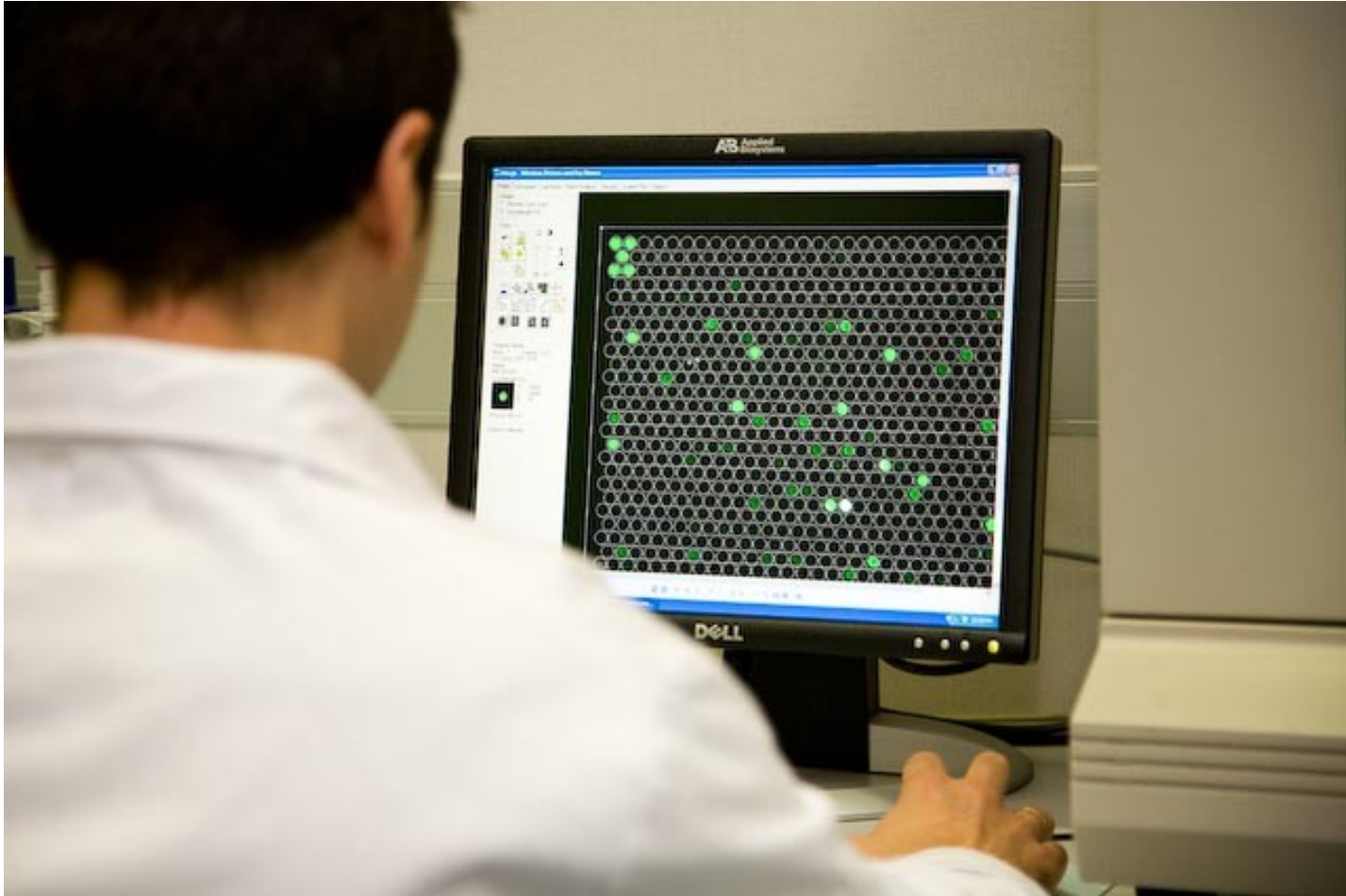
Hibridación



1 punto = 1 oligonucleótido = 1 gen

La tecnología de *microarrays* nos permite medir la expresión de todos los genes que se están expresando en un momento concreto y en un tejido concreto solo con un experimento.

Recogida de Datos



Análisis de microarrays

- Datos brutos : Procesado (limpieza ruido de fondo; Normalización...)
- Matriz con tantas columnas como muestras y con tantas filas como variables (genes)

Sondas	M1	M2	M3	M4	M5	M6
1007_s_at	11.08578155	11.04457022	11.02479206	11.00837346	11.04430518	11.01921026
1053_at	7.787503325	8.010263804	7.872064511	7.711140759	7.703846348	7.509845931
117_at	7.487539205	7.526590226	7.442468793	7.394731634	7.450764725	7.558967177
121_at	9.589979282	9.516503297	9.610811352	9.282059896	8.323068371	8.664237594
1255_g_at	5.000099854	5.127166256	4.952998877	4.881038876	4.948734762	5.087888404
1294_at	8.358097049	8.403219181	8.255863646	7.947778797	8.328705461	8.230633848
1316_at	7.187245349	6.652952654	6.445444909	6.463659189	6.399722565	6.404821127
1320_at	5.645994428	5.765206267	5.772052661	5.609287091	5.621417391	5.723352308
1405_i_at	7.138444163	7.490198393	7.382302176	7.379200666	7.541671446	6.493521779
1431_at	4.697298725	4.722480562	4.795825627	4.703361751	4.701914661	4.904298823
1438_at	7.430761532	8.112797873	7.578819384	7.699611607	7.496504531	7.776384116
1487_at	7.646126117	7.544048497	8.754540699	8.476873549	9.084035203	9.028724488
1494_f_at	7.498031252	7.679595836	7.662561072	7.201093115	7.426192546	7.669669586
1598_g_at	10.31770877	10.92530764	10.50092321	9.630201704	10.23473332	10.49766918
160020_at	8.529411037	8.738065073	8.617216353	8.445386532	8.425365655	8.76023381
1729_at	9.607320487	8.171988017	8.73040537	8.978602862	9.156752025	8.033237589
1773_at	6.216319215	6.441555855	6.165785507	6.325464779	6.121753223	6.229420354
177_at	6.535525364	6.453887146	6.519400663	6.333366799	6.385077422	6.407541976

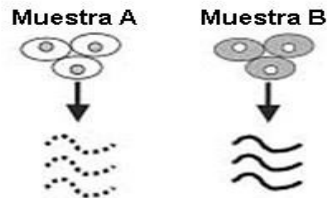
Arrays



Análisis masivo de datos: **BIOINFORMÁTICA**

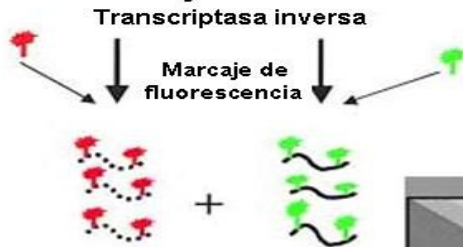
- Preprocesado: quitar el ruido de fondo de la técnica y normalizar
- Expresión génica diferencial: genes implicados en un proceso biológico o enfermedad

A. Aislamiento del RNA

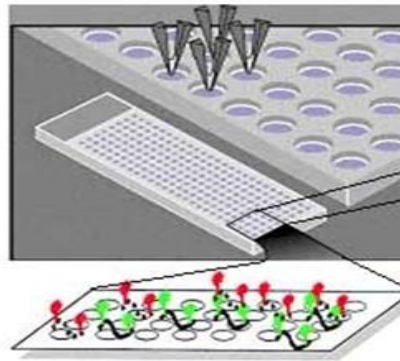


B. Obtención del cDNA

C. Marcaje de las muestras

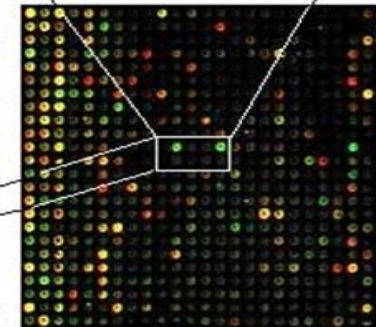
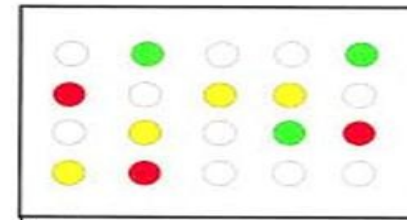


D. Hibridación en el array



E. Obtención de la imagen

- Muestra A>B
- Muestra B>A
- Muestra A=B



- Clustering de muestras: patrones de expresión génica: **detectar nuevos fenotipos de la enfermedad**
- Agrupamiento de genes según su comportamiento de expresión a lo largo de un experimento
- Análisis de componentes principales, PCA
- Interacciones entre genes
- Pathways
- Estudios funcionales: **Gene Ontology**
- Predicción: **diagnóstico**

J.A.Horcajadas, A.Pellicer and C.Simón

Table I. Summary of studies performed in human endometrium using microarray analysis

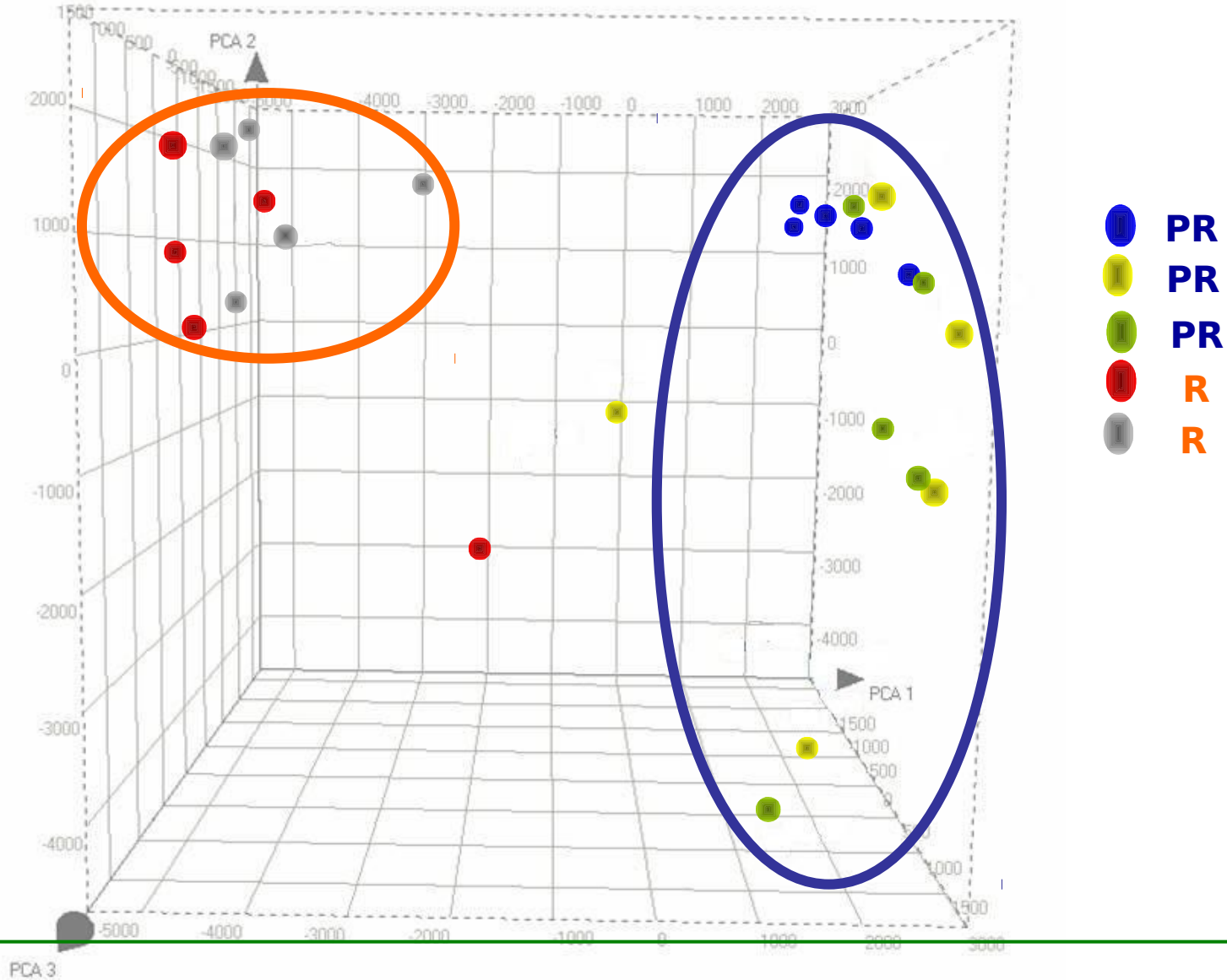
Process studied	Microarray	Company	Number of gene targets	Study
Decidualization	Clontech Atlas array	Stanford University	588	Popovici <i>et al.</i> (2000)
Decidualization	Incyte human GEM-V	Incyte Genomics	6918	Brar <i>et al.</i> (2001)
Endometrial cancer	Hu6800	Affymetrix	6000	Mutter <i>et al.</i> (2001)
WOI	HG-U95A	Affymetrix	12 686	Kao <i>et al.</i> (2002)
WOI	HG-U95A	Affymetrix	12 686	Carson <i>et al.</i> (2002)
Endometriosis	Human gene genefilter GF211	Research Genetics	4133	Eyster <i>et al.</i> (2002)
Endometriosis	Atlas human cDNA expression Array	Clontech	597	Lebovic <i>et al.</i> (2002)
Endometrial cancer	Oncochip	Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas	6386	Moreno-Bueno <i>et al.</i> (2003a)
WOI	Human cytokine expression array	R&D Systems	375	Domínguez <i>et al.</i> (2003)
Decidualization	HU-95A	Affymetrix	12 686	Tierney <i>et al.</i> (2003)
Endometriosis	Home-made	University of Tokio	23 040	Arimoto <i>et al.</i> (2003)
WOI	HG-U95A-E	Affymetrix	>60 000	Borthwick <i>et al.</i> (2003)
WOI	HG-U95A	Affymetrix	12 686	Riesewijk <i>et al.</i> (2003)
RU486	Home-made	University of Cambridge	~1000	Catalano <i>et al.</i> (2005)
Endometriosis	HG-U95A	Affymetrix	12 686	Kao <i>et al.</i> (2003)
Endometrial cancer	Home-made	National Cancer Institute	9984	Risinger <i>et al.</i> (2003)
Progesterone effect	Human Chip 1K set 1	Takara Shuzo	1000	Okada <i>et al.</i> (2003)
Endometriosis	Atlas human 1.2 cDNA expression array	Clontech	1172	Matsuzaki <i>et al.</i> (2004)
Endometrial cancer	GEMarray clones	Incyte Genomics	18 098	Cao <i>et al.</i> (2004)
Endometrial cancer	Home-made	University of Cambridge	1056	Saidi <i>et al.</i> (2004)
Endometrial cancer	U133A	Affymetrix	>22 000	Ferguson <i>et al.</i> (2004)
Stimulated cycles	HG_U95Av2	Affymetrix	12 686	Mirkin <i>et al.</i> (2004)
Menstrual cycle	Home-made	Peter MacCallum Cancer Institute	10 500	Ponnampalam <i>et al.</i> (2004)
Endometrial cancer	U133A	Affymetrix	>22 000	Ferguson <i>et al.</i> (2005)
WOI	HG-U95Av2	Affymetrix	12 686	Mirkin <i>et al.</i> (2005)
Proliferative phase	BD Atlas nylon cDNA expression array	BD Biosciences Clontech	1200	Yanahara <i>et al.</i> (2005)
Stimulated cycles	HG_U133A	Affymetrix	>22 000	Horcajadas <i>et al.</i> (2005)
Stimulated cycles	HG_U133A	Affymetrix	>22 000	Simón <i>et al.</i> (2005)
Menstrual cycle	HGU133 Plus 2.0	Affymetrix	54 600	Talbi <i>et al.</i> (2005)
Menstrual cycle	HU-133A	Affymetrix	>22 000	Punyadeera <i>et al.</i> (2005)
RU486	Home-made	University of Cambridge	>15 000	Sharkey <i>et al.</i> (2005)
Endometriosis	Atlas human 1.2 cDNA expression array	Clontech	1172	Matsuzaki <i>et al.</i> (2005)
IUD	Home-made	University of Cambridge	>16 000	Horcajadas <i>et al.</i> (2006)

Los trabajos realizados en transcriptómica del endometrio han mostrado el poder del perfil de expresión génica para su clasificación.

PCA Transcriptóma del Endometrio

Receptivas

Pre-receptivas

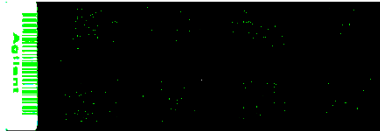


Obtener una herramienta diagnóstica molecular que me permita testar el estado receptivo del endometrio a partir del perfil de expresión génica

Fases del Diseño Experimental

I
Genes Receptividad Endometrial

Diseño ERA

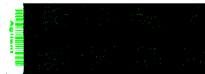


II
Perfil de Expresión Génica de Receptividad Endometrial

Modelo de predicción
Perfil de Receptividad Endometrial Normal



Predictor



ERA

Herramienta Molecular
Diagnóstica
de la Receptividad
Endometrial

III
Evaluación Receptividad Endometrial

Herramienta Molecular
Diagnóstica
de la Receptividad
Endometrial

Diagnóstico



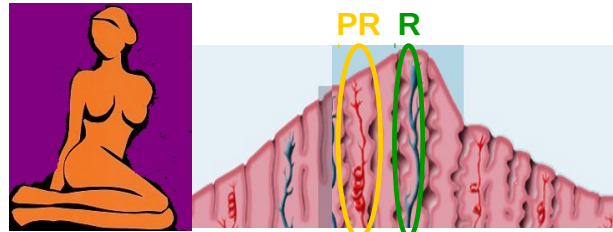
Endometrio
Receptivo

Endometrio
No Receptivo

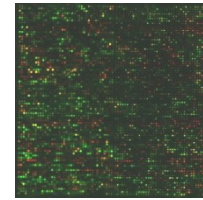
I. Genes Receptividad Endometrial

Selección de genes

Control normales



n
15 5



Affymetrix
HG-U133A

Transcriptoma

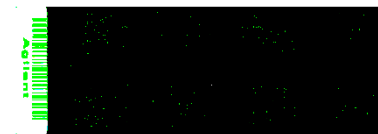
PR vs R
Expresión génica
diferencial

Selección de
genes

Genes
Receptividad
Endometrial

Agilent eArray 4.5

Diseño ERA



Análisis Funcional
FatiGO
Babelomics

- **Proceso biológico o enfermedad a estudiar**
- **Genes implicados en el proceso biológico o enfermedad a diagnosticar. ¿cómo los determinamos?**

Bibliografía

Análisis funcionales

Expresión génica diferencial

- **El diseño del microarray “personalizado” específico para nuestro estudio.**
- **¿Qué tipo de microarray? : de expresión génica; de SNP...**
- **Análisis bioinformático de los datos generados**

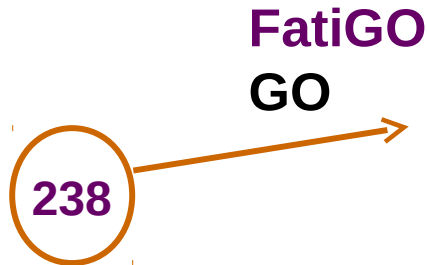
Selección de Genes de Receptividad Endometrial

Expresión Génica Diferencial

PR vs R

p-valor<0,05

Tasa de cambio>3



Procesos Biológicos

- Respuesta inmune
- Respuesta al estrés
- Mecanismos de defensa
- Circulación
- Respuesta a estímulos externos
- Comportamiento
- Ciclo celular
- Adhesión celular
- Estructura anatómica del desarrollo
- Respuesta inmune humoral
- Señalización célula a célula
- Respuesta inmune innata
- Ciclo celular mitótico
- Respuesta a heridas

Funciones Moleculares

- Actividad óxido reductasa
- Carbohidratos de unión
- Receptores de unión

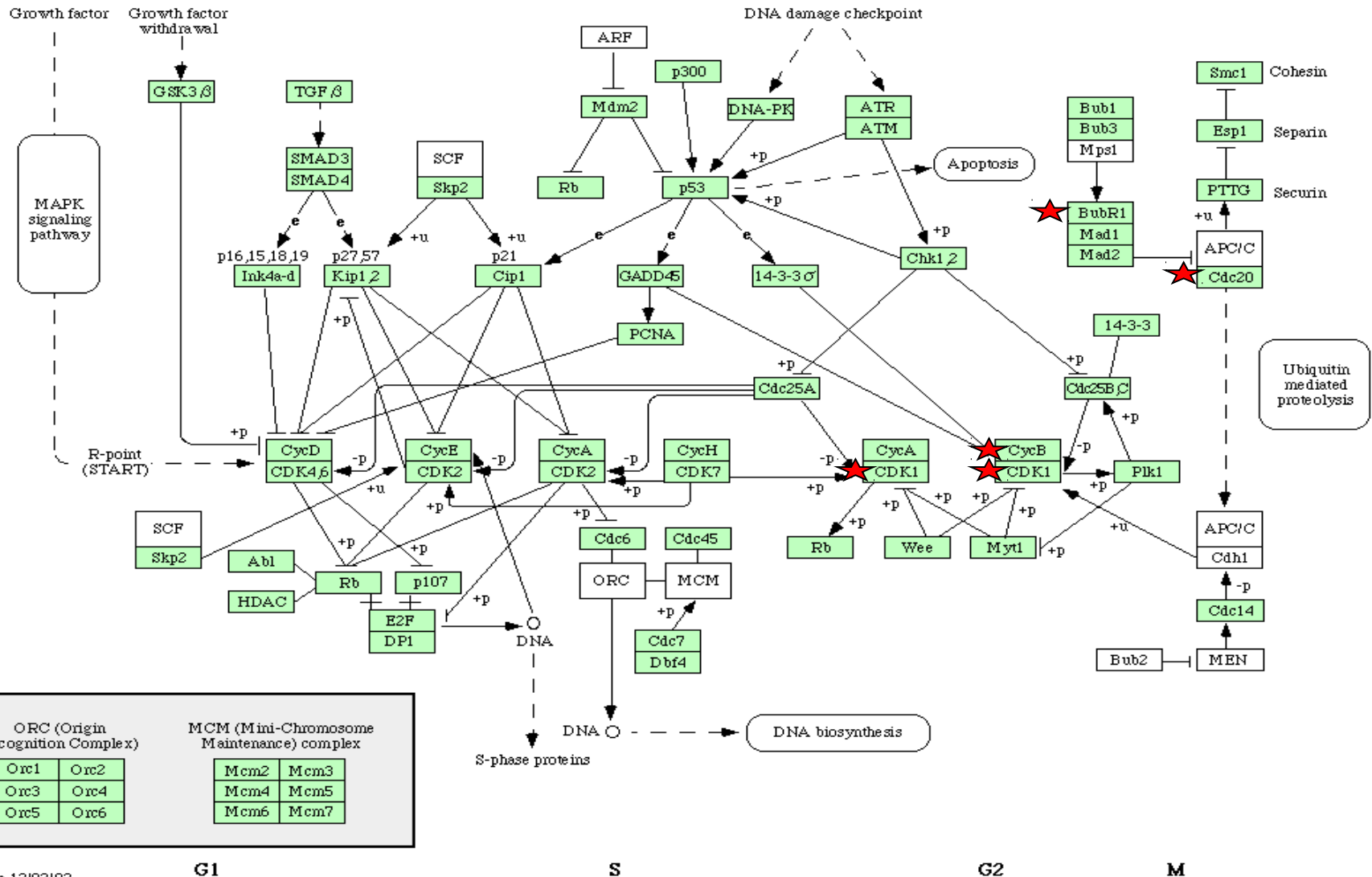
Componentes Celulares

- Huso acromático
- Microtúbulos del huso acromático

238 genes diferencialmente expresados con significatividad estadística, una tasa de cambio mayor que 3 y con consonancia funcional en el proceso de la receptividad endometrial formaron parte del ERA.

Pathways

CELL CYCLE



04110hsa 12/02/02

G1

S

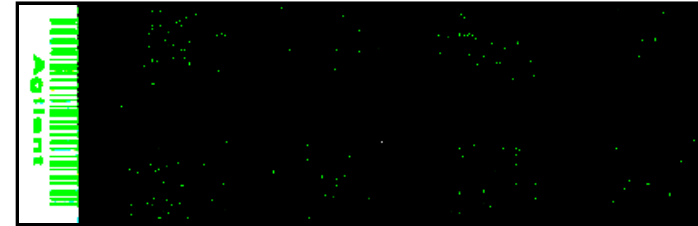
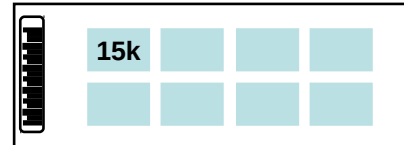
G2

M

238 genes / 569 sondas



8x15K

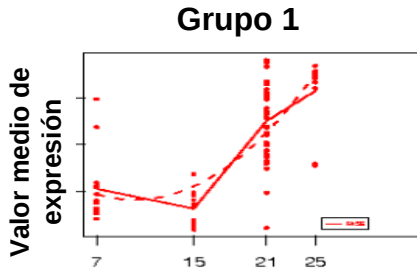


El ERA fue validado mediante RT-PCR mostrando que los genes GPX3, FXVD2, SPP1 y MT1G aumentaban su expresión en fase receptiva con respecto a la fase proliferativa y pre-receptiva.

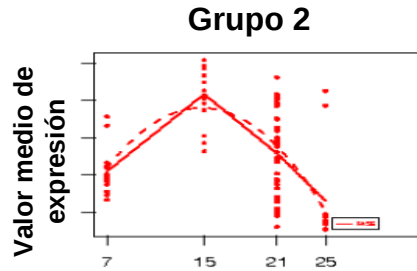
El ERA se diseñó en un formato 8x15K y quedó constituido por 238 genes representados por 569 sondas y fue validado mediante RT-PCR.

Comportamiento de los genes *ERA* en el ciclo menstrual

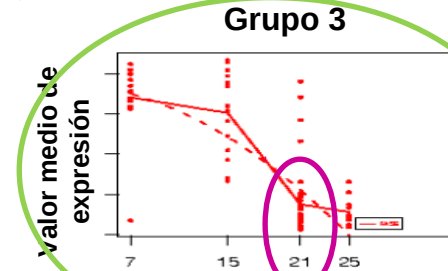
Expresión ↑
Tiempo →



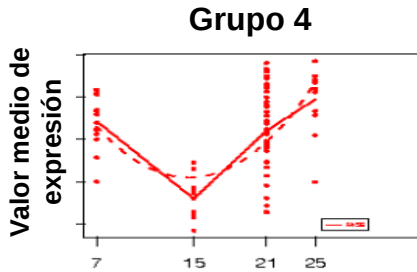
Mediana del perfil de 31 genes



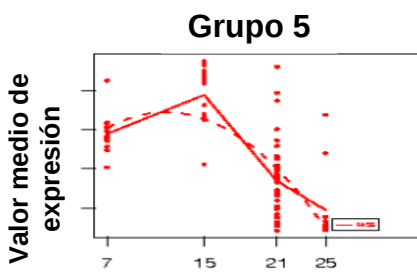
Mediana del perfil de 23 genes



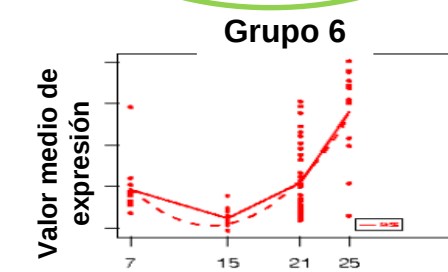
Mediana del perfil de 47 genes



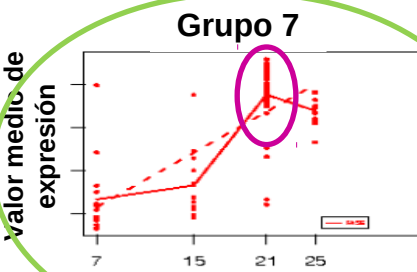
Mediana del perfil de 9 genes



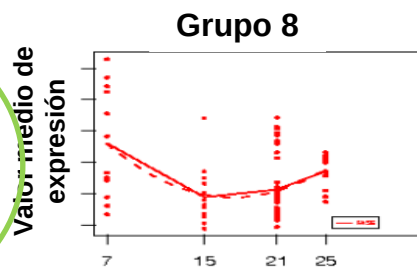
Mediana del perfil de 18 genes



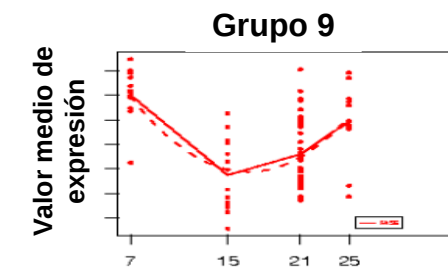
Mediana del perfil de 13 genes



Mediana del perfil de 34 genes



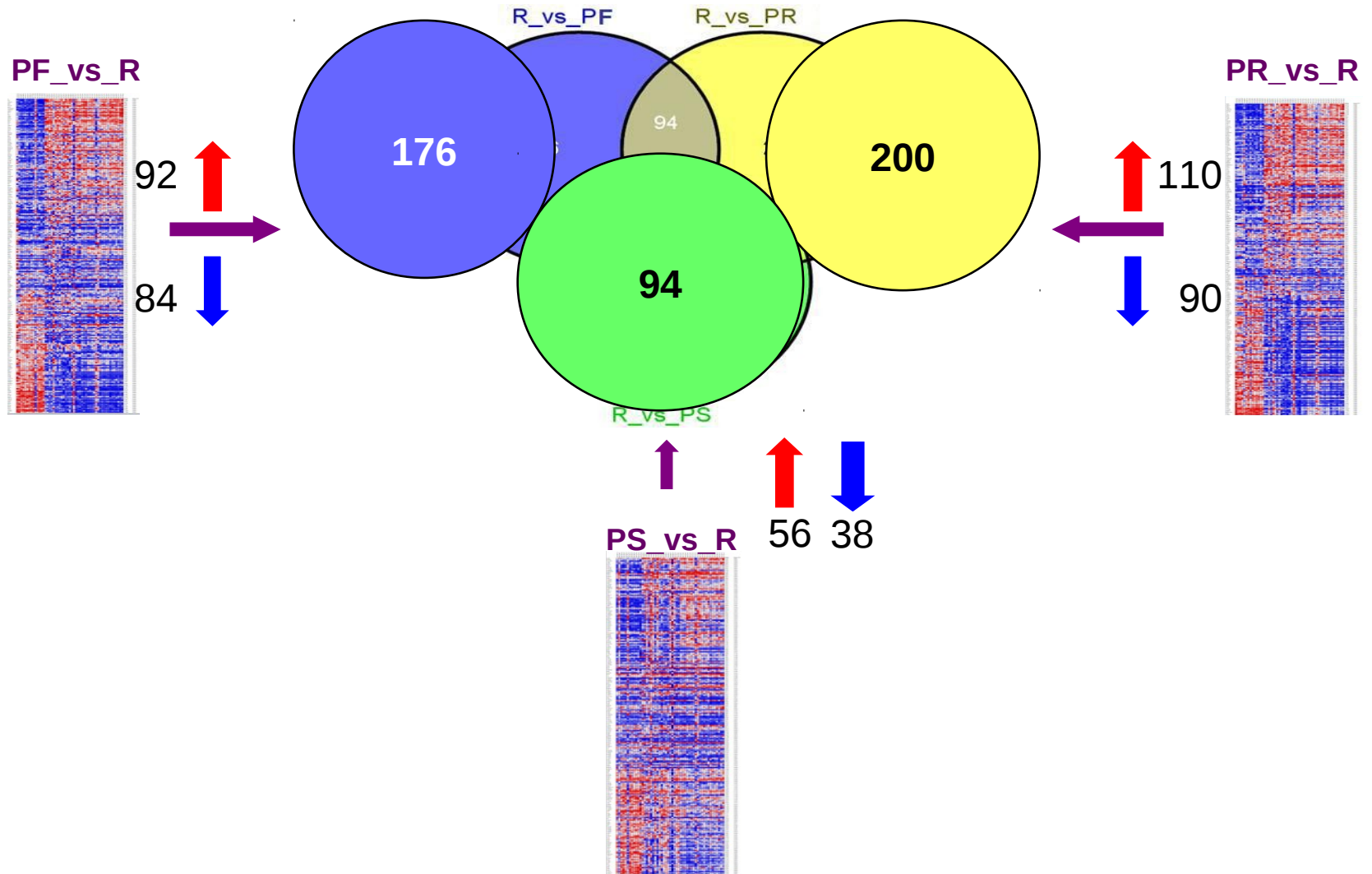
Mediana del perfil de 3 genes



Mediana del perfil de 10 genes

El grupo 3 y el grupo 7 destacaron por contener genes con mínima y máxima expresión en fase receptiva con respecto al resto de fases del ciclo menstrual.

Firma Transcriptómica de Receptividad Endometrial

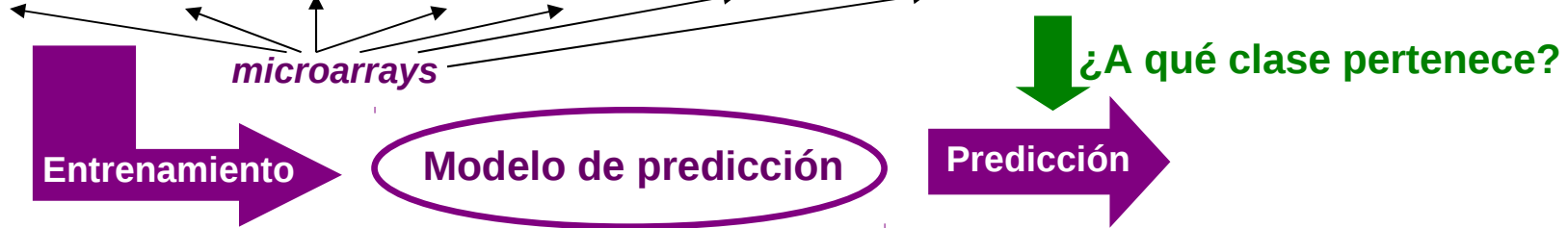


Se seleccionaron 56 genes por ser aquellos genes expresados diferencialmente en fase receptiva con respecto a todas las fases del ciclo menstrual.

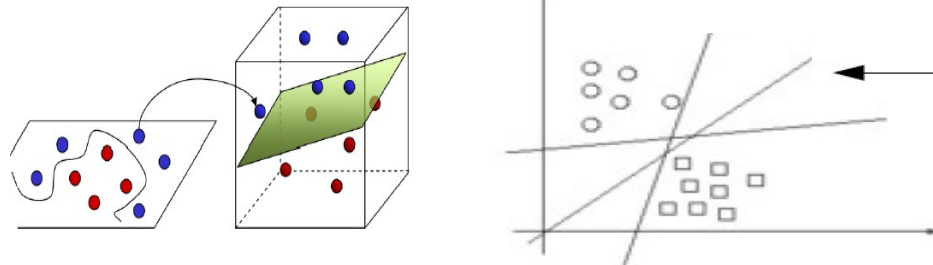
II. Perfil de Expresión Génica de Receptividad Endometrial: Predictor

Clases conocidas (set de entrenamiento)

Sondas	R	R	R	No R	No R	No R	Clase desconocida	
1007_s_at	11.08578155	11.04457022	11.02479206	11.00837346	11.04430518	11.01921026	1007_s_at	11.28578155
1053_at	7.787503325	8.010263804	7.872064511	7.711140759	7.703846348	7.509845931	1053_at	7.787503325
117_at	7.487539205	7.526590226	7.442468793	7.394731634	7.450764725	7.558967177	117_at	7.487539205
121_at	9.589979282	9.516503297	9.610811352	9.282059896	8.323068371	8.664237594	121_at	9.489979282
1255_g_at	5.000099854	5.127166256	4.952998877	4.881038876	4.948734762	5.087888404	1255_g_at	5.000099854
1294_at	8.358097049	8.403219181	8.255863646	7.947778797	8.328705461	8.230633848	1294_at	8.358097049
1316_at	7.187245349	6.652952654	6.445444909	6.463659189	6.399722565	6.404821127	1316_at	7.187245349
1320_at	5.645994428	5.765206267	5.772052661	5.609287091	5.621417391	5.723352308	1320_at	5.645994428
1405_i_at	7.138444163	7.490198393	7.382302176	7.379200666	7.541671446	6.493521779	1405_i_at	7.138444163
1431_at	4.697298725	4.722480562	4.795825627	4.703361751	4.701914661	4.904298823	1431_at	4.697298725
1438_at	7.430761532	8.112797873	7.578819384	7.699611607	7.496504531	7.776384116	1438_at	7.430761532
1487_at	7.646126117	7.544048497	8.754540699	8.476873549	9.084035203	9.028724488	1487_at	8.646126117
1494_f_at	7.498031252	7.679595836	7.662561072	7.201093115	7.426192546	7.669669586	1494_f_at	7.498031252
1598_g_at	10.31770877	10.92530764	10.50092321	9.630201704	10.23473332	10.49766918	1598_g_at	10.31770877
160020_at	8.529411037	8.738065073	8.617216353	8.445386532	8.425365655	8.76023381	160020_at	8.529411037
1729_at	9.607320487	8.171988017	8.73040537	8.978602862	9.156752025	8.033237589	1729_at	9.107320487
1773_at	6.216319215	6.441555855	6.165785507	6.325464779	6.121753223	6.229420354	1773_at	6.216319215
177_at	6.535525364	6.453887146	6.519400663	6.333366799	6.385077422	6.407541976	177_at	6.535525364



Distintas estrategias



El predictor es un algoritmo matemático que puede distinguir clases fenotípicas en función del perfil de expresión génica.

Buscando genes que discriminan clases

¿Cómo?

Clase1 Clase1 Clase2 Clase2 Clase3 Clase3

1007_s_at	11.08578155	11.04457022	11.02479206	11.00837346	11.04430518	11.01921026
1053_at	7.787503325	8.010263804	7.872064511	7.711140759	7.703846348	7.509845931
117_at	7.487539205	7.526590226	7.442468793	7.394731634	7.450764725	7.558967177
121_at	9.589979282	9.516503297	9.610811352	9.282059896	8.323068371	8.664237594
1255_g_at	5.000099854	5.127166256	4.952998877	4.881038876	4.948734762	5.087888404
1294_at	8.358097049	8.403219181	8.255863646	7.947778797	8.328705461	8.230633848
1316_at	7.187245349	6.652952654	6.445444909	6.463659189	6.399722565	6.404821127
1320_at	5.645994428	5.765206267	5.772052661	5.609287091	5.621417391	5.723352308
1405_i_at	7.138444163	7.490198393	7.382302176	7.379200666	7.541671446	6.493521779
1431_at	4.697298725	4.722480562	4.795825627	4.703361751	4.701914661	4.904298823
1438_at	7.430761532	8.112797873	7.578819384	7.699611607	7.496504531	7.776384116
1487_at	7.646126117	7.544048497	8.754540699	8.476873549	9.084035203	9.028724488
1494_f_at	7.498031252	7.679595836	7.662561072	7.201093115	7.426192546	7.669669586
1598_g_at	10.31770877	10.92530764	10.50092321	9.630201704	10.23473332	10.49766918
160020_at	8.529411037	8.738065073	8.617216353	8.445386532	8.425365655	8.76023381
1729_at	9.607320487	8.171988017	8.73040537	8.978602862	9.156752025	8.033237589
1773_at	6.216319215	6.441555855	6.165785507	6.325464779	6.121753223	6.229420354
177_at	6.535525364	6.453887146	6.519400663	6.333366799	6.385077422	6.407541976

genes que no cambian
no dan ninguna información

genes que cambian aleatoriamente
un poco pueden ser usados
para clasificar

Buscando Patrones en los Datos

	Clase1	Clase1	Clase2	Clase2	Clase3	Clase3
1007_s_at	11.08578155	11.04457022	11.02479206	11.00837346	11.04430518	11.01921026
1053_at	7.787503325	8.010263804	7.872064511	7.711140759	7.703846348	7.509845931
117_at	7.487539205	7.526590226	7.442468793	7.394731634	7.450764725	7.558967177
121_at	9.589979282	9.516503297	9.610811352	9.282059896	8.323068371	8.664237594
1255_g_at	5.000099854	5.127166256	4.952998877	4.881038876	4.948734762	5.087888404
1294_at	8.358097049	8.403219181	8.255863646	7.947778797	8.328705461	8.230633848
1316_at	7.187245349	6.652952654	6.445444909	6.463659189	6.399722565	6.404821127
1320_at	5.645994428	5.765206267	5.772052661	5.609287091	5.621417391	5.723352308
1405_i_at	7.138444163	7.490198393	7.382302176	7.379200666	7.541671446	6.493521779
1431_at	4.697298725	4.722480562	4.795825627	4.703361751	4.701914661	4.904298823
1438_at	7.430761532	8.112797873	7.578819384	7.699611607	7.496504531	7.776384116
1487_at	7.646126117	7.544048497	8.754540699	8.476873549	9.084035203	9.028724488
1494_f_at	7.498031252	7.679595836	7.662561072	7.201093115	7.426192546	7.669669586
1598_g_at	10.31770877	10.92530764	10.50092321	9.630201704	10.23473332	10.49766918
160020_at	8.529411037	8.738065073	8.617216353	8.445386532	8.425365655	8.76023381
1729_at	9.607320487	8.171988017	8.73040537	8.978602862	9.156752025	8.033237589
1773_at	6.216319215	6.441555855	6.165785507	6.325464779	6.121753223	6.229420354
177_at	6.535525364	6.453887146	6.519400663	6.333366799	6.385077422	6.407541976

¿A qué clase pertenece?

1007_s_at	11.28578155
1053_at	7.787503325
117_at	7.487539205
121_at	9.489979282
1255_g_at	5.000099854
1294_at	8.358097049
1316_at	7.187245349
1320_at	5.645994428
1405_i_at	7.138444163
1431_at	4.697298725
1438_at	7.430761532
1487_at	8.646126117
1494_f_at	7.498031252
1598_g_at	10.31770877
160020_at	8.529411037
1729_at	9.107320487
1773_at	6.216319215
177_at	6.535525364

¿Clase 2?

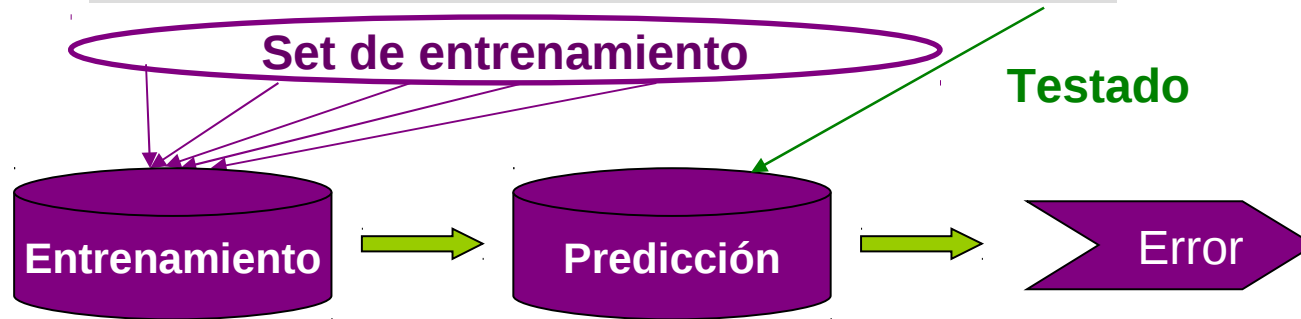
Forma objetiva de discriminar: estadística

Estimación del Error de Predicción

Validación cruzada

Clases conocidas (set de entrenamiento)

R	R	R	No R	No R	No R
11.28578155	11.28578155	11.28578155	11.28578155	11.28578155	11.28578155
7.787503325	7.787503325	7.787503325	7.787503325	7.787503325	7.787503325
7.487539205	7.487539205	7.487539205	7.487539205	7.487539205	7.487539205
9.489979282	9.489979282	9.489979282	9.489979282	9.489979282	9.489979282
5.000099854	5.000099854	5.000099854	5.000099854	5.000099854	5.000099854
8.358097049	8.358097049	8.358097049	8.358097049	8.358097049	8.358097049
7.187245349	7.187245349	7.187245349	7.187245349	7.187245349	7.187245349
5.645994428	5.645994428	5.645994428	5.645994428	5.645994428	5.645994428
7.138444163	7.138444163	7.138444163	7.138444163	7.138444163	7.138444163
4.697298725	4.697298725	4.697298725	4.697298725	4.697298725	4.697298725
7.430761532	7.430761532	7.430761532	7.430761532	7.430761532	7.430761532



El predictor calcula su error de clasificación en función de su capacidad para distinguir las muestras y nos da un valor de su poder diagnóstico.

Son las muestras control a partir de las que se define el perfil de expresión génica para clasificar

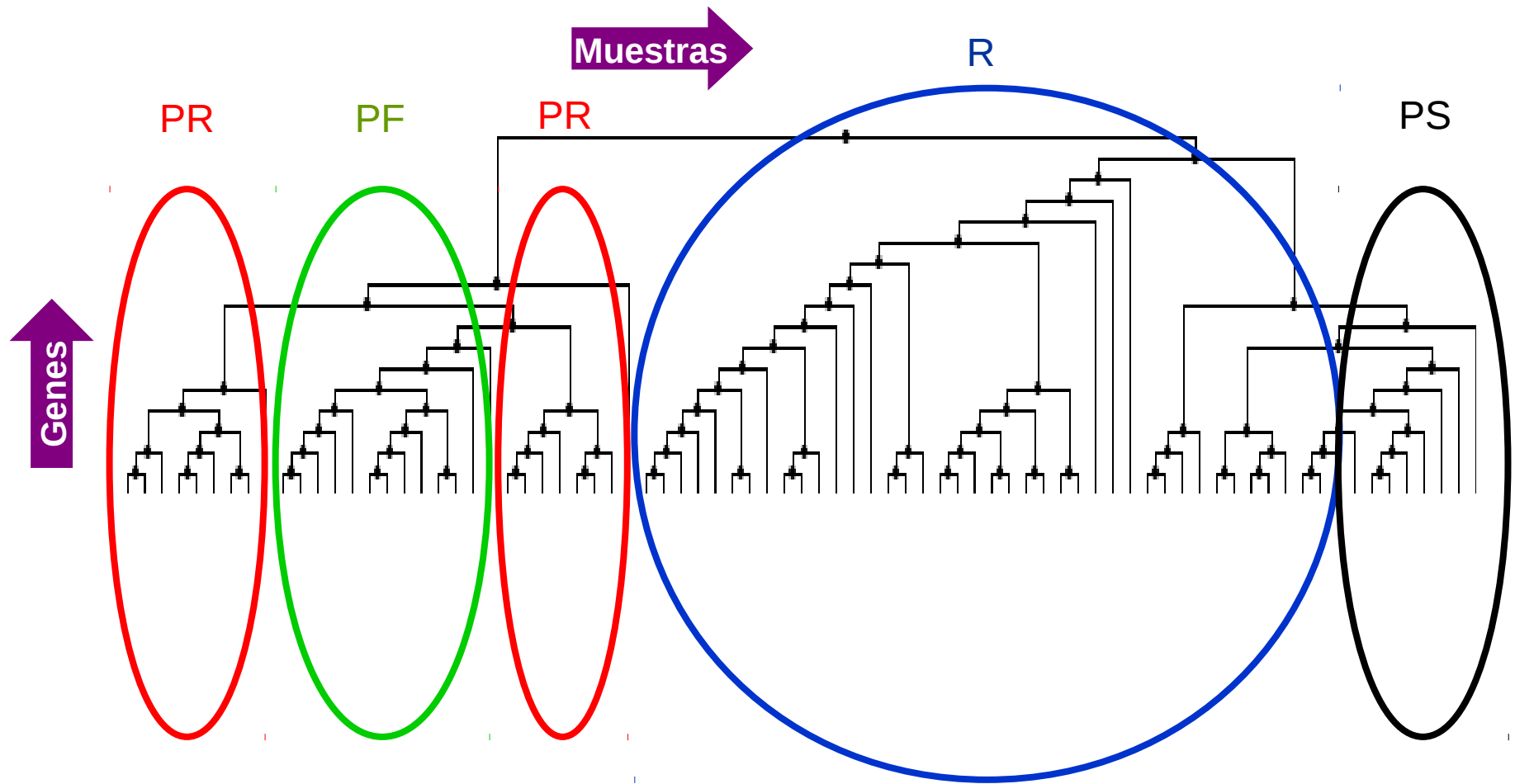
Control normales ciclo natural: PF PR R PS

Pruebas exploratorias:

Clustering

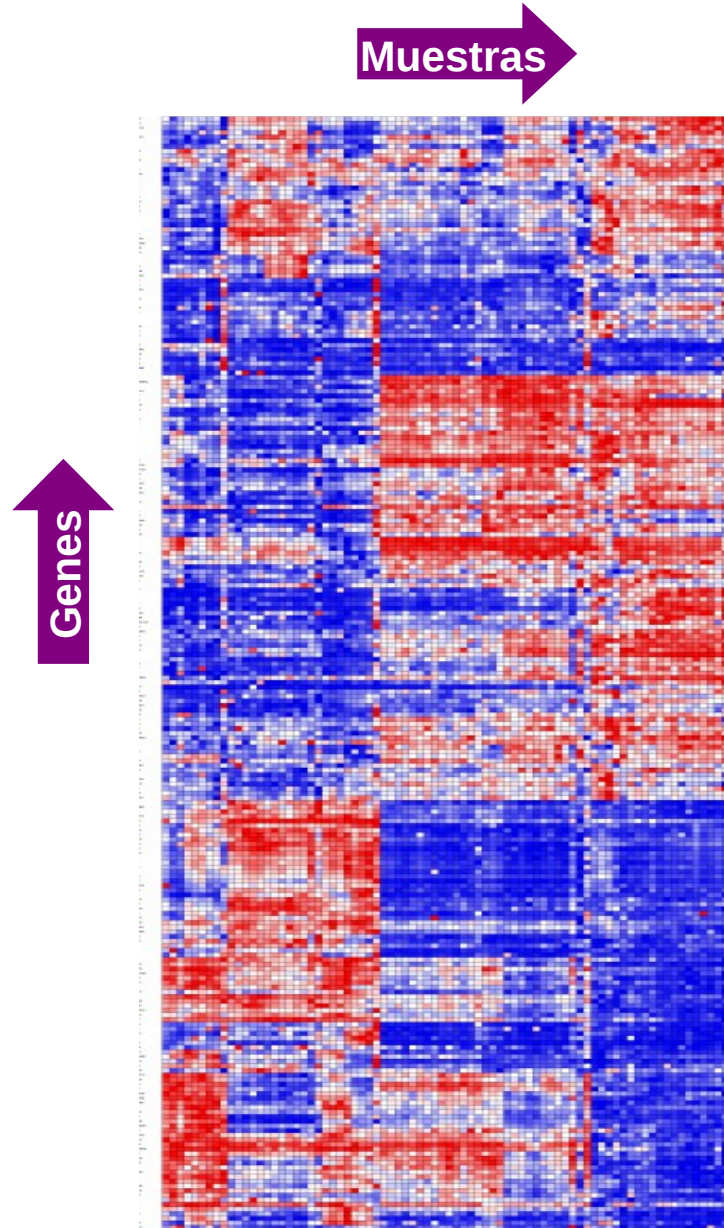
Análisis de Componentes Principales, PCA

Clustering de las Muestras Control Normales

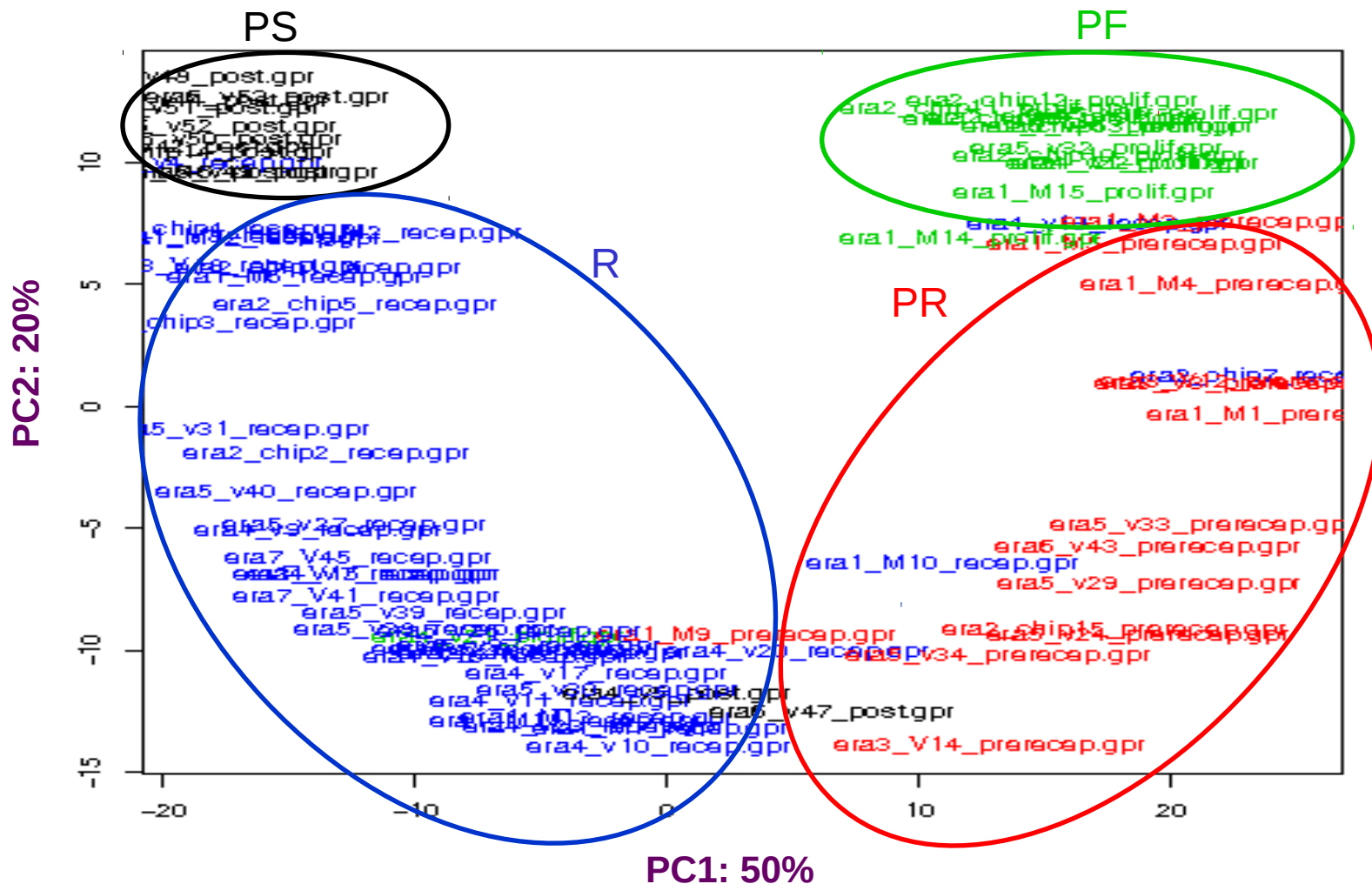


Las muestras se agruparon en función de los genes del ERA según la fase del ciclo menstrual.

Clustering de las Muestras Control Normales



Análisis Exploratorio Muestras Control Normales



El transcriptoma del *ERA* mostró tener la capacidad de distinguir las muestras según la fase del ciclo menstrual y que las muestras receptivas se agrupaban juntas de forma homogénea.

N= 79

Algoritmo	Correctos	Incorrectos	Especificidad	Sensibilidad
SVM	73 (92,4%)	6 (7,6%)	0,83	1,00
KNN	69 (87,3%)	10 (12,7%)	0,90	0,86
RF	68 (86%)	11 (14%)	0,84	0,89

MATRIZ DE CONFUSIÓN

PF 14
 PR 14
R 39
 PS 12
 N= 79

		PREDICCIÓN											
		R			PR			PF			PS		
CLASE REAL		SVM	KNN	RF	SVM	KNN	RF	SVM	KNN	RF	SVM	KNN	RF
	R	39	34	35	0	2	2	0	1	1	0	2	1
	PR	1	1	1	13	12	13	0	1	0	0	0	0
	PF	2	1	2	0	0	0	12	13	12	0	0	0
	PS	3	2	4	0	0	0	0	0	0	9	10	8

• Se corroboró el poder diagnóstico de la firma transcriptómica obteniendo unos resultados de predicción muy similares a los de la predicción con los genes del ERA.

Los modelos de predicción generados eran capaces de clasificar las muestras receptivas de forma similar y muy efectiva. Destacó el SVM por su sensibilidad y su acierto y el KNN por su especificidad.

BABELOMICS 4

gene expression and functional profiling analysis suite

Upload data

Processing

Expression

Genomic

Functional analysis

Utilities

Expression

- Differential expression

- Class comparison:

Study differential expression among more two or more array classes....[read more](#)

- Correlation

Study expression among more two or more array classes....[read more](#)

- Survival

Study the relationships between the expression of the genes and the survival time of the cells.

- Time/dosage series

The module finds genes with a changing pattern along time or increasing dose concentrations, ...[read more](#)

- Predictors

- Class prediction

Builds prediction rules and allows using them for further sample classification.

- Clustering

These methods use (implicitly or explicitly) a distance function and an algorithm to join together genetic elements....[read more](#)

- Biclustering

Integrated environment for biclustering analysis of time series gene expression data



Functional analysis

- Single enrichment analysis

- FatiGO

Provides significant over-representation of functional annotations by single enrichment analysis

- Marmite

Single enrichment analysis using text-mining derived annotations

- SNOW

PPI Network enrichment analysis. Finds subnetworks of protein-protein interactions with significant network parameters within a list of genes

- Set enrichment analysis

- Gene set analysis

Finds gene-sets with common annotations coordinately associated to high and/or low values in a ranked gene list by gene-set analysis

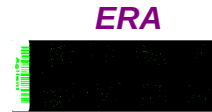
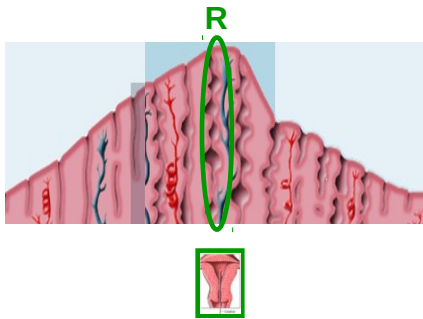


● Utilities

- Microarray raw-data plots
- MA plot
- Histogram and Box plot
- Clustering
- PCA Graph viewer
- GO Graph viewer

III. Evaluación Receptividad Endometrial

Pacientes
n = 40
Ciclo natural



Herramienta molecular
diagnóstica
de la receptividad
endometrial

Diagnóstico

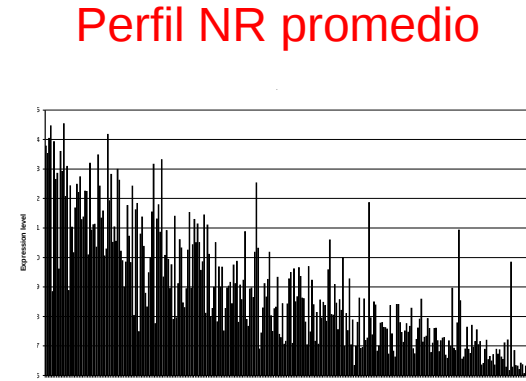


38 Endometrios
Receptivos
P 0,944

2 Endometrios
No Receptivos
P 0,784

La herramienta molecular generó un diagnóstico con una probabilidad asociada resultado del poder diagnóstico de los modelos de predicción generados.

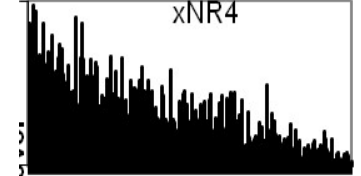
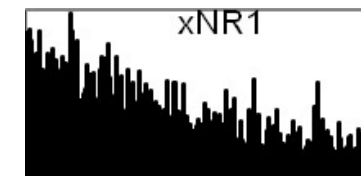
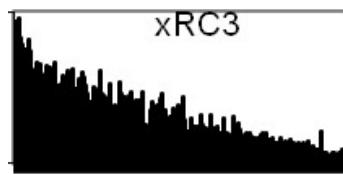
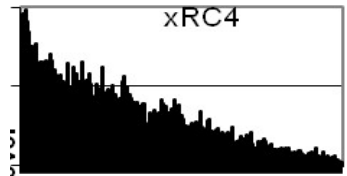
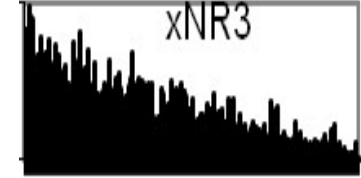
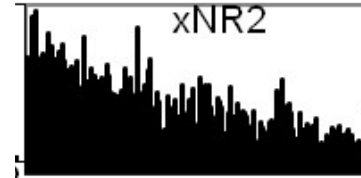
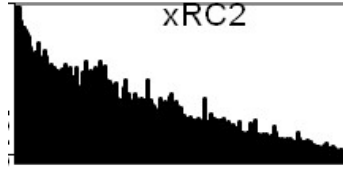
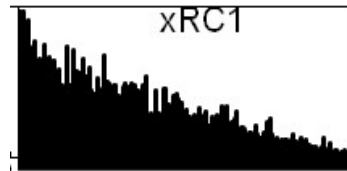
Perfil de Expresión génica de la Receptividad Endometrial



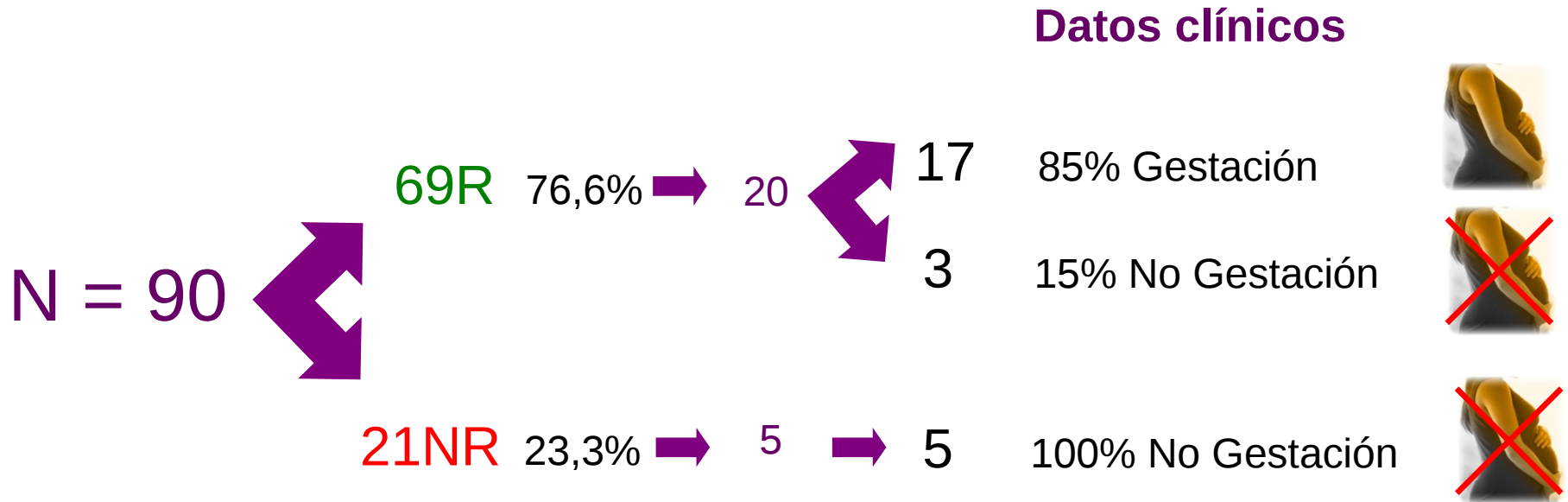
Muestras Problema Población de Pacientes

Perfil R

Perfil NR



Al estudiar los genes en los que difieren las muestras R de las NR se pueden identificar las vías que están alteradas desde la perspectiva de la Biología de Sistemas.



Los resultados preliminares de la validación clínica indican que podría haber una correlación entre el diagnóstico de la herramienta molecular y la probabilidad de implantar.

GENETICS

A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature

Patricia Díaz-Gimeno, Ph.D.,^{a,b} José A. Horcajadas, Ph.D.,^c José A. Martínez-Conejero, Ph.D.,^c
Francisco J. Esteban, Ph.D.,^d Pilar Alamá, M.D.,^{a,b} Antonio Pellicer, M.D.,^{a,b} and Carlos Simón, M.D.^{a,b,e}

^a Fundación IVI-Instituto Universitario IVI, University of Valencia, Valencia; ^b Instituto de Investigación, Sanitaria del Hospital Clínico de Valencia, Valencia University, Valencia; ^c iGenomix, Valencia; ^d Department of Experimental Biology, University of Jaén, Jaén; and ^e Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia, Spain

Objective: To create a genomic tool composed of a customized microarray and a bioinformatic predictor for endometrial dating and to detect pathologies of endometrial origin. To define the transcriptomic signature of human endometrial receptivity.

Design: Two cohorts of endometrial samples along the menstrual cycle were used: one to select the genes to be included in the customized microarray (endometrial receptivity array [ERA]), and the other to be analyzed by ERA to train the predictor for endometrial dating and to define the transcriptomic signature. A third cohort including pathological endometrial samples was used to train the predictor for pathological classification.

Setting: Healthy oocyte donors and patients.

Patient(s): Healthy fertile women (88) and women with implantation failure (5) or hydrosalpinx (2).

Intervention(s): Human endometrial biopsies.

Main Outcome Measure(s): The gene expression of endometrial biopsies.

Result(s): The ERA included 238 selected genes. The transcriptomic signature was defined by 134 genes. The predictor showed a specificity of 0.8857 and sensitivity of 0.99758 for endometrial dating, and a specificity of 0.1571 and a sensitivity of 0.995 for the pathological classification.

Conclusion(s): This diagnostic tool can be used clinically in reproductive medicine and gynecology. The transcriptomic signature is a potential endometrial receptivity biomarkers cluster. (*Fertil Steril*® 2011;95:50–60. ©2011 by American Society for Reproductive Medicine.)

Key Words: Endometrial receptivity, endometrial dating, microarray, transcriptomic signature, predictor, diagnostic tool

PCT Biblio. Data Description Claims National Phase Notices Documents

Latest bibliographic data on file with the International Bureau

Pub. No.: WO/2010/010201 **International Application No.:** PCT/ES2008/000513
Publication Date: 28.01.2010 **International Filing Date:** 22.07.2008
IPC: C12Q 1/68 (2006.01)

Applicants: EQUIPO MI INVESTIGACION SL [ES/ES]; c/Guadassuar, 1 Bajo E-46015 Valencia (ES) (*For All Designated States Except US*).
SIMON VALLES, Carlos [ES/ES]; (ES) (*For US Only*).
HORCAJADAS ALMANSA, José Antonio [ES/ES]; (ES) (*For US Only*).
DIAZ GIMENO, Patricia [ES/ES]; (ES) (*For US Only*).
PELLICER MARTINEZ, Antonio [ES/ES]; (ES) (*For US Only*)

Inventors: SIMON VALLES, Carlos; (ES).
HORCAJADAS ALMANSA, José Antonio; (ES).
DIAZ GIMENO, Patricia; (ES).
PELLICER MARTINEZ, Antonio; (ES)

Agent: ARIZTI ACHA, Monica; C /Hermosilla, 3, E-28001 Madrid (ES)

Priority Data:

Title
(EN) GENE EXPRESSION PROFILE AS A MARKER OF ENDOMETRIAL RECEPTIVITY
(ES) PERFIL DE EXPRESION GENETICA COMO MARCADOR DE LA RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL
(FR) PROFIL D'EXPRESSION GÉNÉTIQUE UTILISÉ COMME MARQUEUR DE LA RÉCEPTIVITÉ ENDOMÉTRIALE

Abstract:
(EN) The present invention relates to determination of human endometrium receptivity based on a gene expression profile. More specifically, it comprises preparation of a specific endometrial receptivity expression microarray (ERA or Endometrial Receptivity Array) permitting evaluation of the receptive state of a human endometrium, together with assessment of the state of the endometrium having diagnostic and therapeutic objectives.
(ES) La presente invencion se refiere a la determinación de la receptividad del endometrio humano a partir de un perfil de expresión genética. Más concretamente, consiste en la elaboración de un microarray de expresión específico de receptividad endometrial (ERA o Endometrial Receptivity Array) que permita evaluar el estado receptivo de un endometrio humano, así como valorar el estado del endometrio con fines diagnóstico y terapéuticos.
(FR) La présente invention concerne la détermination de la réceptivité de l'endomètre humain à partir d'un profil d'expression génétique. Plus particulièrement, l'invention consiste en l'élaboration d'un microréseau d'expression spécifique de la réceptivité endométriale (ERA ou *Endometrial Receptivity Array*) permettant d'évaluer l'état réceptif d'un endomètre humain et d'estimer l'état de l'endomètre à des fins diagnostiques et thérapeutiques.

Aceptada como patente por la Oficina Europea de Patentes (OEP)



Gracias por vuestra atención

¿Alguna pregunta?