

Test de receptividad endometrial ERPeakSM

Optimización de la implantación con transferencia precisa de embriones

Aspectos destacados

- La falta de sincronía entre el momento de la transferencia embrionaria y el momento de la ventana de implantación de la paciente (la cual se ha demostrado que varía entre mujeres) es probable que resulte en fallo de implantación
- El Test de receptividad endometrial ERPeakSM ayuda a personalizar el momento de la transferencia embrionaria para mejorar la probabilidad de éxito en la implantación
- El Test de receptividad endometrial ERPeakSM es un test genómico
 - » De alta sensibilidad y precisión
 - » Basado en perfiles de expresión génica validados
 - » Cuyos resultados se han comparado en un estudio de no inferioridad
- Respuestas independientes del técnico
 - » Modelos estadísticos avanzados y análisis optimizado que proporcionan resultados independientes del técnico
 - » Resultados que proporcionan una guía individualizada para la transferencia embrionaria
- Recomendado para pacientes con fallos recurrentes de implantación (RIF) y para receptoras de ovocitos donados

Introducción

Durante el ciclo menstrual, el endometrio sufre una remodelación tisular cíclica; pasa por una fase proliferativa y una fase secretora, sincronizando su fisiología con la función ovárica. En los seres humanos, el endometrio es más receptivo a la implantación del embrión durante un breve periodo de tiempo hacia la mitad de la fase secretora. Dicho período se denomina ventana de implantación (WOI, por sus siglas en inglés), y tiene lugar entre los Días 19 y 21 del ciclo menstrual natural.¹ En cualquier otra fase del ciclo menstrual, el endometrio no es receptivo al embarazo.² Por tanto, el éxito en la implantación no solo requiere un embrión viable y un endometrio receptivo, sino también que exista una sincronización entre los dos.³

La falta de sincronía entre un embrión que es competente para la implantación, y el momento de la receptividad endometrial, es una de las causas del fallo de implantación recurrente (RIF, del inglés "Recurrent Implantation Failure"). Por ello, la identificación y predicción del momento exacto de la receptividad endometrial es esencial para maximizar la eficacia de los tratamientos de reproducción asistida. De hecho, los estudios han demostrado que la optimización del momento de la transferencia embrionaria puede producir una mejora significativa en las tasas de embarazo, con tasas de hasta el 73 % observadas en pacientes con RIF que se sometieron a la evaluación de la receptividad endometrial.⁴

Antecedentes de las pruebas de receptividad endometrial

El interés en la receptividad endometrial ha existido desde hace varias décadas⁵, y fue investigada por primera vez usando análisis histológicos para la datación endometrial, aunque se descubrió que la precisión de esta datación era limitada.⁶ Se ha demostrado que, al igual que ocurre con la mayoría de los tejidos del organismo, los cambios fisiológicos que tienen lugar en el endometrio se producen como consecuencia de una transcripción diferencial de genes. En el transcurso del ciclo menstrual natural, existen ciertos genes regulados por hormonas que se encuentran expresados al alza o a la baja, y por lo tanto, la abundancia relativa y la composición de los transcritos génicos en un momento determinado proporcionan una firma transcriptómica específica. De esta forma, al estudiar la firma transcriptómica de una biopsia endometrial, es posible estimar de forma precisa el momento fisiológico de la ventana de implantación de la paciente.^{4,7}

Tecnologías utilizadas para medir las firmas transcriptómicas

La expresión de los genes tiene un rango dinámico muy amplio; a menudo, con cinco órdenes de magnitud entre los genes más expresados y los menos expresados. Ocurre algo muy distinto con el recuento de cromosomas, que tiene un rango dinámico muy limitado. Se han publicado diversos métodos para la medición exacta de la expresión génica dentro de una muestra dada, incluidos la qPCR (PCR cuantitativa) y la NGS (secuenciación de nueva generación). Está bien documentado que la RT-qPCR (PCR cuantitativa con transcriptasa inversa) ha demostrado tener el rango dinámico más amplio, los límites de cuantificación más bajos, y los resultados con menor sesgo.⁸

Aquí, presentamos una plataforma de RT-qPCR de alto rendimiento para la medición precisa y fiable de la expresión génica, así como para la identificación específica del perfil transcriptómico en una muestra de endometrial: el Test de receptividad endometrial ERPeakSM.

Test de receptividad endometrial ERPeakSM

El test ERPeakSM es una prueba genómica en la que se analiza el perfil de expresión génica de una muestra de endometrio en el momento esperado de transferencia del embrión (p.ej. 5 días después de la administración de progesterona: P+5). La habilidad de identificar en qué etapa de receptividad se encuentra el endometrio en ese momento, permite a los médicos de FIV la oportunidad de ajustar el momento de la transferencia del embrión en un ciclo posterior, con el fin de acomodar cualquier posible desplazamiento de la WOI.

Desarrollo y validación del Test ERPeakSM

Identificación de genes candidatos (Figura 1)

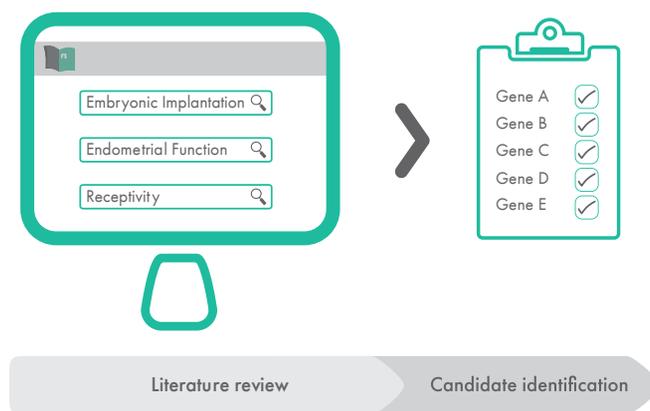
Se identificaron los genes candidatos a través de una revisión exhaustiva de la bibliografía científica y de bases de datos online, además se evaluaron las posibles funciones de los genes con DAVID ("Database for Annotation and Integrated Discovery").⁹ Mediante este enfoque, se identificaron 184 genes candidatos como potencialmente informativos.¹⁰

Selección del panel (grupo) de genes (Figura 2)

Para perfeccionar aún más el panel de genes y evaluar la eficacia de la RT-qPCR para la receptividad endometrial, se llevó a cabo un estudio de dos grupos, con consentimiento informado, comparando los perfiles de expresión génica de donadores sanos y pacientes sub-fértiles con terapia de reemplazo hormonal.

Se tomaron biopsias en LH+2 y LH+7 a las donantes sanas (Grupo A; n=96), mientras que a las pacientes sub-fértiles (Grupo B; n=120) en P+5.¹⁰ El análisis de estas biopsias endometriales mostró que, de los 184 genes identificados anteriormente, 85 mostraron diferencias significativas en el fold change entre los dos grupos de estudio, y por tanto se seleccionaron para su posterior análisis. El análisis más detallado de esos genes usando análisis de predicción

Figura 1: Identificación de genes candidatos



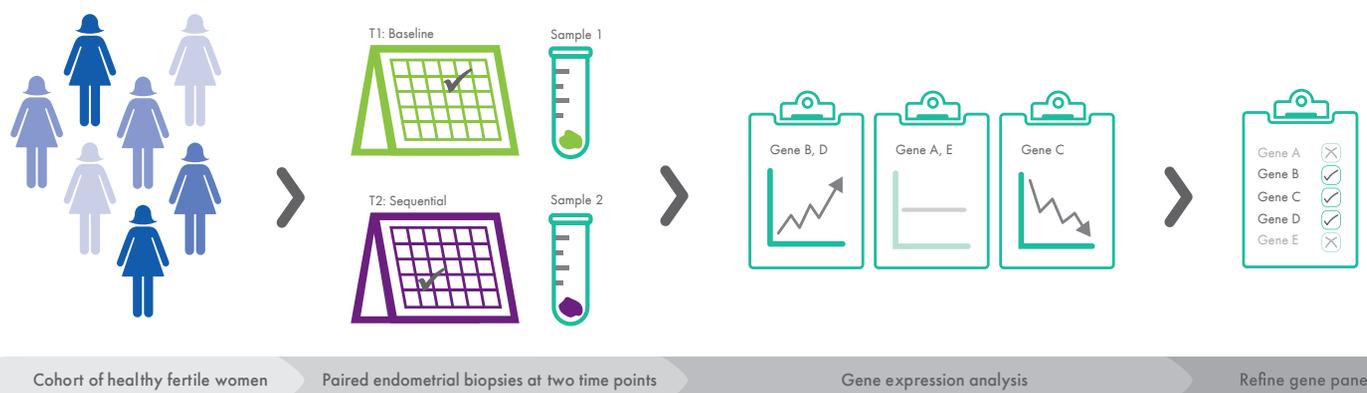
de función génica, conocido como gene ontology¹¹, reveló que todos los 85 genes estaban relacionados con división celular y proliferación, señalización celular y respuesta, organización y comunicación extracelular, actividad inmunológica, proliferación vascular, regulación de la presión arterial e implantación embrionaria, demostrando aún más la probabilidad de estar directamente involucrados en la receptividad endometrial.

A fin de comprender mejor las firmas transcriptómicas clave, se realizó un análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) de los 85 genes, y se observó que un subconjunto de esos genes explicaba más del 99,5 % de la varianza del total de las muestras a la hora de calcular el estado de receptividad del endometrio.¹⁰

Estudio de no inferioridad (Figura 3)

A fin de evaluar la eficacia del Test de receptividad endometrial ERPeakSM, se elaboró un comité ético de investigación clínica (IRB, por sus siglas en inglés), para la realización de un estudio de validación en el que comparar los resultados con el ensayo clínico actualmente aceptado. Se eligió a las pacientes para que se sometieran al test de receptividad como parte de la asistencia médica, para los cuales dieron su consentimiento. A todos

Figura 2: Proceso de selección de genes



las pacientes se les otorgó un código desidentificador único, con el que se compararon los resultados.

El objetivo principal de este estudio de no inferioridad era verificar la eficacia del recién desarrollado Test de receptividad endometrial ERPeakSM, a fin de caracterizar el estado de receptividad del endometrio. El resultado principal de este estudio fue la evaluación de las tasas de concordancia entre el Test ERPeakSM y el ensayo clínico aceptado actualmente y realizado bajo asistencia clínica.

CooperSurgical recibió y testó de 173 muestras de tejido endometrial. Los campos resaltados en verde en la Figura 4 demuestran la concordancia entre los resultados obtenidos a través de la prueba clínica actual frente a los del test de receptividad ERPeakSM.

En base a estos resultados y la asunción de la verdad absoluta en los resultados del test aceptado clínicamente, el Test ERPeakSM tiene una precisión del 92,4 %, y una sensibilidad y especificidad observadas del 90,0 % (IC del 95 %: 80,5 - 95,9 %) y del 94,1 % (87,5 - 97,8 %), respectivamente.

Además de las 173 muestras de tejido endometrial que se recibieron y testaron, CooperSurgical recibió otras 8 muestras clasificadas por el test clínico actual como "RNA insuficiente", "RNA erróneo" o "No informativa". Para estas muestras, el test ERPeakSM de CooperSurgical clasificó 5 de 8 muestras (el 62,5 %) como "Pre-receptivas", "Receptivas", o "Post-receptivas", y clasificó 3 de 8 muestras (el 37,5 %) como "No informativas", lo que indicaba que la calidad del tejido endometrial no era óptima (Figura 5).

Figura 3: Diseño del estudio de no inferioridad

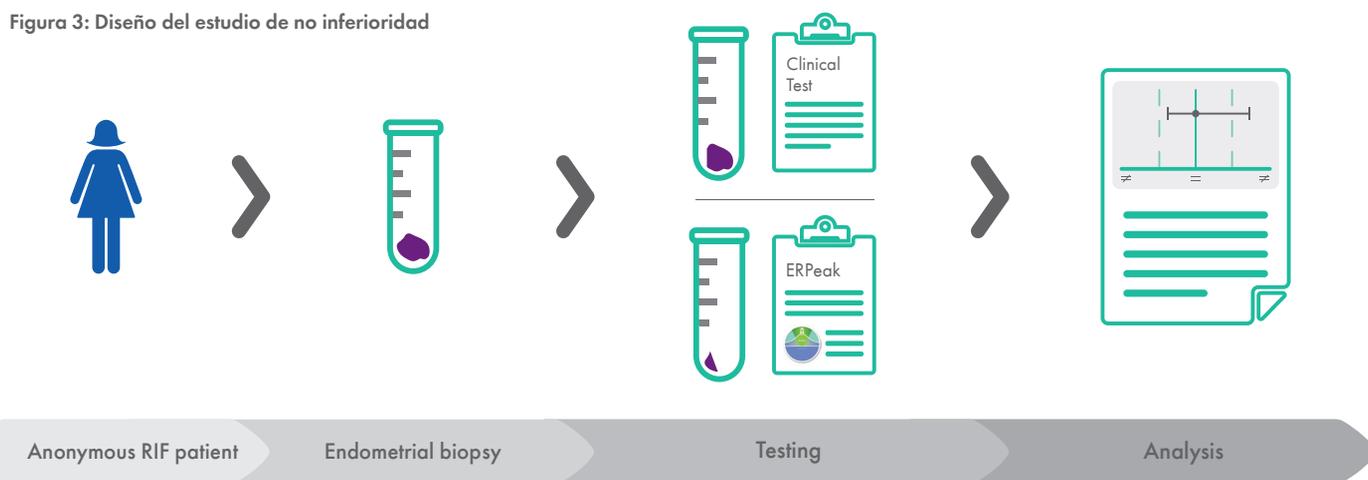


Figura 4: Concordancia de las muestras entre el Test de receptividad endometrial ERPeakSM y la prueba clínicamente aceptada

		Prueba clínica actualmente aceptada				
		Endometrio pre-receptivo	Endometrio receptivo temprano	Endometrio receptivo	Endometrio receptivo tardío	Endometrio post-receptivo
Test ERPeak SM	Endometrio pre-receptivo	56	6			
	Endometrio receptivo	6	24	59	12	1
	Endometrio post-receptivo					7
	No informativas	1 *		1 *		

* Las biopsias denominadas no informativas por el Test ERPeakSM se excluyeron de todos los cálculos debido a que correspondían a muestras de tejido de calidad insuficiente

Figura 5: Desglose de los resultados de las muestras No informativas

		Prueba clínica actualmente aceptada		
		ARN insuficiente	ARN no válido	No informativas
Test ERPeak SM	Endometrio pre-receptivo	2		
	Endometrio receptivo		1	1
	Endometrio post-receptivo		1	
	No informativas	2		1

Discusión y resumen

El Test de receptividad endometrial ERPeakSM es un test genómico que analiza el perfil de expresión génica de una biopsia de endometrio con el fin de estimar el momento óptimo para la transferencia embrionaria. El estudio de validación descrito demuestra un alto grado de similitud con el test aceptado comercialmente en la práctica clínica.

El Test ERPeakSM tiene una precisión del 92,4 %, y una sensibilidad y especificidad observadas del 90,0 % (IC del 95 %: 80,5 - 95,9 %) y 94,1 % (87,5 - 97,8 %), respectivamente. Cabe destacar que incluso la prueba clínica actualmente aceptada, utilizada como elemento de

comparación en este estudio, tiene una especificidad del 97 % y una sensibilidad del 90 %. Por tanto, en el caso de muestras discordantes, es difícil concluir qué test, si es que lo hay, es el correcto a menos que se disponga de resultados provenientes de datos clínicos.

Los estudios que rastrean el momento personalizado de transferencia embrionaria y el resultado obstétrico asociado están en curso, y deberían proporcionar información valiosa sobre la función del Test ERPeakSM. El test es capaz de hacer uso de estos datos clínicos para mejorar a través del aprendizaje estadístico y se beneficiará de las mejoras regulares a medida que se obtengan más muestras clínicas, datos de evaluaciones y resultados.

Referencias

1. Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR. Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *N Engl J Med*. 1999;340:1796-1799
2. Garrido-Gómez T, et al. Profiling the gene signature of endometrial receptivity: clinical results. *Fertil Steril*. 2013;99:1078-1085
3. Teh WT, McBain J, Rogers P. What is the contribution of embryo-endometrial asynchrony to implantation failure? *J Assist Reprod Genet*. 2016;33:1419-1430
4. Ruiz-Alonso M, et al. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril*. 2013;100:818-824
5. Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril*. 1950;1:561-564
6. Coutifaris C, et al. Histological dating of timed endometrial biopsy tissue is not related to fertility status. *Fertil Steril*. 2004;82:1264-1272
7. Ruiz-Alonso M, et al. What a difference two days make: «personalized» embryo transfer (pET) paradigm: a case report and pilot study. *Hum Reprod*. 2014;29:1244-1247
8. Petek M. qPCR, Microarrays or RNA-sequencing: When to choose one over the other? Disponible en: <https://biosistemika.com/blog/qpcr-microarrays-rna-sequencing-choose-one/> Fecha del último acceso: junio de 2019
9. DAVID Bioinformatics Resource. Disponible en: <https://david.ncifcrf.gov/> Fecha del último acceso: junio de 2019
10. Enciso M, et al. Development of a new comprehensive and reliable endometrial receptivity map (ER Map/ER Grade) based on RT-qPCR gene expression analysis. *Hum Reprod*. 2018;33:220-228
11. The Gene Ontology Resource. Disponible en: <http://geneontology.org/> Fecha del último acceso: junio de 2019