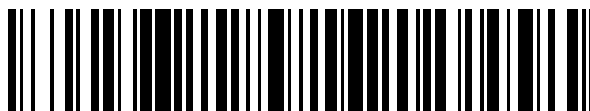


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 784 142**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/6883 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.05.2019 PCT/EP2019/062619**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.11.2019 WO19219811**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.05.2019 E 19723436 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.03.2020 EP 3607095**

54 Título: **Kit y método para determinar el estado de receptividad de un endometrio**

30 Prioridad:

16.05.2018 EP 18382334

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

22.09.2020

73 Titular/es:

**INTEGRATED GENETIC LAB SERVICES SLU
(100.0%)
C/ Britania 7
03540 Alicante, ES**

72 Inventor/es:

**AIZPURUA SÁENZ, JON;
SARASA MARCUELLO, JONÁS y
ENCISO LORENCES, MARÍA**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 784 142 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Kit y método para determinar el estado de receptividad de un endometrio

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención pertenece al campo de la medicina reproductiva. La presente invención se refiere a un kit para determinar el estado de receptividad de un endometrio que comprende medios para cuantificar la expresión de varios genes, así como a un método para determinar el estado de receptividad de un endometrio que comprende la cuantificación de la expresión de dichos genes.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Uno de los procesos clave para el establecimiento de un embarazo exitoso es la implantación embrionaria en el endometrio. La implantación es un proceso complejo que implica un diálogo enrevesado entre el embrión y las células endometriales (Singh et al., 2011). Esta interacción es esencial para la aposición, adhesión e invasión del blastocisto en el endometrio humano (Giudice y Irwin, 1999).

El endometrio humano es una estructura altamente dinámica, que sufre cambios periódicos durante el ciclo menstrual para alcanzar un estado receptivo adecuado para la implantación embrionaria. Este período de receptividad se conoce como la ventana de implantación (VDI) y ocurre entre los días 19 y 21 del ciclo menstrual (Navot et al., 1991; Harper, 1992). En cualquier otra fase del ciclo menstrual, el endometrio no está receptivo al embarazo (Garrido-Gómez et al., 2013). La implantación exitosa requiere, por lo tanto, un embrión viable y una sincronía entre este y el endometrio receptivo (Teh et al., 2016). La identificación y predicción correctas del período de receptividad uterina es esencial para maximizar la efectividad de los tratamientos de reproducción asistida.

El estudio de la receptividad endometrial no es nuevo ya que el análisis histológico se ha utilizado tradicionalmente para la datación endometrial (Noyes et al. 1950); sin embargo, se ha demostrado que la precisión de este método para predecir la receptividad endometrial es limitada (Coutifar et al., 2004; Murray et al., 2004). Se han desarrollado algunos métodos alternativos para evaluar la receptividad endometrial en la última década: marcadores bioquímicos (Zhang et al., 2012), ligandos solubles (Thouas et al., 2015), receptores hormonales (Aghajanova et al., 2009), citocinas (Paiva et al., 2011), microARN (Sha et al., 2011) o genes homeobox de clase HOX (Kwon y Taylor, 2004).

Otros estudios, centrados en la comprensión de los mecanismos moleculares subyacentes a los cambios histológicos del endometrio durante el ciclo menstrual, han identificado genes específicos responsables de las alteraciones observadas (Talbi et al., 2006) Algunos otros informes han abordado este análisis molecular desde una perspectiva más amplia, realizando un cribado global del transcriptoma en diferentes momentos del ciclo menstrual (Carson, 2002; Ponnampalam et al., 2004), o bajo diferentes condiciones de infertilidad (Koler et al., 2009; Altmáe et al., 2010), patologías (Kao et al., 2003) o protocolos de estimulación ovárica (Horcajadas et al., 2005) De estos estudios se puede extraer información valiosa sobre el proceso de proliferación endometrial. Sin embargo, a pesar de que la lista de estudios es larga, la cantidad de herramientas de diagnóstico molecular para identificar el momento de receptividad uterina es corta (Lessey et al., 1995 Dubowy et al., 2003; Díaz-Gimeno et al., 2011)

W02011147976 A1 describe un método para evaluar la receptividad del endometrio de un paciente midiendo el nivel de expresión de once genes MFAP5, ANGPTL1, PROKI, NLF2, LAMB3, BCL2L10, CD68, TRPC4, SORCSI, FST y KRT80 en una muestra de biopsia endometrial obtenida de dicho paciente.

US2018214068 A1, publicado el 02-08-2018, describe un método y un kit para determinar el estado de receptividad de un endometrio para implantación embrionaria basado en la determinación de la expresión de conjuntos de genes, que comprenden ANXA4, CATSPERB, PTGFR, PTGS1, IL8, SCGB2A2, ANGPTL1, HPRT1, MMP10, PGR, ITGA8, IFNG, PROK1, FOXO1, CXCL1, STC1, MMP9, MUC1, RPL13A, CALCA, ITGA9, RACGAP1, GPX3, PPP2R2C, ARG2, SCGB3A1, ALDH1A3, APOD, C2CD4B, TFF3, AQP3, GJA4, ARHGDI1A, SELL, APOL2, MT1H, MT1X, MT1L, MAOA y MT1F.

Por lo tanto, existe la necesidad de herramientas de diagnóstico más precisas y fáciles de usar para evaluar el estado de receptividad de un endometrio y para maximizar la efectividad de los tratamientos de reproducción asistida.

RESUMEN

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un kit para determinar el estado de receptividad de un endometrio que comprende medios para cuantificar la expresión de los siguientes genes: AREG, ATP5B, CAPN6, CIR1, CMTM5, CTNNA2, CXCL6, FOXP3, HBA1, HBG1, HMBS, HOXB7, IL1R1, IL4, IL5, ITGB1,

MAPK1, NFKBIA, PGRMC1, PLA2G4A, RHOA, SDHA, SERPIN1, donde dicho kit comprende medios para cuantificar la expresión de hasta 100 genes, preferiblemente hasta 48 genes.

DESCRIPCIÓN

5

La identificación del momento óptimo para la transferencia de embriones es esencial para maximizar la efectividad del tratamiento de reproducción asistida. Los inventores han encontrado una prueba sorprendentemente altamente fiable de receptividad endometrial, capaz de determinar si el estado de un endometrio es receptivo o no receptivo. Es más, en el caso de un tener un endometrio no receptivo, la prueba desarrollada por los inventores es capaz de distinguir entre un endometrio pre-receptivo y post-receptivo.

10

La presente invención proporciona una herramienta muy útil para la práctica clínica habitual para ayudar a guiar transferencias de embriones que se realizarán en el mejor momento endometrial, garantizando la sincronía embrio-endometrial y, por lo tanto, permitiendo el logro de mejores resultados de los tratamientos de reproducción asistida. Las parejas con fallos repetidos de implantación o ciclos de fertilización in vitro (FIV) previamente fallidos o parejas con aborto espontáneo recurrente pueden beneficiarse del análisis detallado de la receptividad endometrial y la sincronización embrio-endometrial.

15

20

La presente invención es un nuevo paso en el campo de la medicina personalizada en reproducción humana en el manejo del endometrio en preparación para la transferencia de embriones, con el objetivo final de lograr mejores resultados de tratamiento de reproducción asistida, aumentar las tasas de implantación de embriones y la probabilidad de embarazos exitosos.

25

En una realización preferida de la presente invención, el kit del primer aspecto comprende además medios para cuantificar la expresión de al menos uno de los siguientes genes: ANXA4, AQP3, ARG2, CXCL1, GPX3, ITGA9, MAOA, MMP9, MT1F, MT1H, MT1L, MT1X, PGR, PTGS1, RPL13A, SCGB2A2, TFF3.

30

En una realización preferida de la presente invención, el kit del primer aspecto comprende medios para cuantificar la expresión de los siguientes genes: AREG, ATP5B, CAPN6, CIR1, CMTM5, CTNNA2, CXCL6, FDX1, HBA1, HBG1, HMBS, HOXB7, IL1R1, IL4, IL5, ITGB1, MAPK1, NFKBIA, PGRMC1, PLA2G4A, RHOA, SDHA, SERPIN1, ANXA4, AQP3, ARG2, CXCL1, GPX3, ITGA9, MAOA, MMP9, MT1F, MT1H, MT1L, MT1X, PGR, PTGS1, RPL13A, SCGB2A2, TFF3.

35

En una realización preferida de la presente invención, el kit del primer aspecto comprende medios para cuantificar sustancialmente solo la expresión los siguientes genes: AREG, ATP5B, CAPN6, CIR1, CMTM5, CTNNA2, CXCL6, FDX1, HBA1, HBG1, HMBS, HOXB7, IL1R1, IL4, IL5, ITGB1, MAPK1, NFKBIA, PGRMC1, PLA2G4A, RHOA, SDHA, SERPIN1, ANXA4, AQP3, ARG2, CXCL1, GPX3, ITGA9, MAOA, MMP9, MT1F, MT1H, MT1L, MT1X, PGR, PTGS1, RPL13A, SCGB2A2, TFF3. Como se usa en el presente documento, la expresión "sustancialmente solo" significa que, si se cuantifica cualquier otro gen, dicho otro gen o genes es o son genes de referencia, que solo se cuantifican para servir como referencia para la cuantificación de la expresión, como referencia para la carga de muestra.

40

45

En una realización preferida de la presente invención, los medios para cuantificar los genes comprenden un par de cebadores para cada uno de los genes.

50

En una realización preferida de la presente invención, el kit del primer aspecto comprende además un par de cebadores para al menos un gen de referencia. Preferiblemente, el gen o los genes de referencia se selecciona de entre actina, beta-2 microglobulina, citocromo C1, pseudouridina metiltransferasa específica de EMG1 N1, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, proteína de unión a la caja TATA, topoisomerasa I (ADN), proteína de activación zeta de tirosina 3-monooxigenasa/triptófano 5-monooxigenasa y combinaciones de los mismos. En una realización preferida, el kit del primer aspecto comprende medios para cuantificar la expresión de los ocho genes de referencia mencionados anteriormente. En otra realización preferida, los genes de referencia son citocromo C1, pseudouridina metiltransferasa específica de EMG1 N1 y gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (CYC1, EMG1, GAPDH).

55

60

Por lo tanto, en una realización preferida, el kit de la invención consiste esencialmente en medios para cuantificar la expresión de los siguientes genes: AREG, ATP5B, CAPN6, CIR1, CMTM5, CTNNA2, CXCL6, FDX1, HBA1, HBG1, HMBS, HOXB7, IL1R1, IL4, IL5, ITGB1, MAPK1, NFKBIA, PGRMC1, PLA2G, RHOA, SDHA, SERPIN1, ANXA4, AQP3, ARG2, CXCL1, GPX3, ITGA9, MAOA, MMP9, MT1F, MT1H, MT1L, MT1X, PGR, PTGS1, RPL13A, SCGB2A2, TFF3, actina, beta-2 microglobulina, citocromo C1, pseudouridina metiltransferasa específica de EMG1 N1, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, proteína de unión a la caja TATA, topoisomerasa I (ADN) y proteína de activación zeta de tirosina 3-monooxigenasa/triptófano 5-monooxigenasa. Tal y como se usa aquí, la expresión "consiste esencialmente en" significa que no se cuantifican otros genes y que el kit puede contener otros reactivos tales como tampones, enzimas polimerasas, mezclas de nucleótidos, etc., que son necesarias para el análisis de la expresión de los genes mencionados anteriormente.

65

En una realización preferida, el kit de la invención consiste esencialmente en medios para cuantificar la expresión de los siguientes genes: AREG, ATP5B, CAPN6, CIR1, CMTM5, CTNNA2, CXCL6, FDX1, HBA1, HBG1, HMBS, HOXB7, IL1R1, IL4, IL5, ITGB1, MAPK1, NFKBIA, PGRMC1, PLA2G, RHOA, SDHA, SERPIN1, ANXA4, AQP3, ARG2, CXCL1, GPX3, ITGA9, MAOA, MMP9, MT1F, MT1H, MT1L, MT1X, PGR, PTGS1, RPL13A, SCGB2A2, TFF3, actina, beta-2 microglobulina, citocromo C1, pseudouridina metiltransferasa específica de EMG1 N1, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, proteína de unión a la caja TATA, topoisomerasa I (ADN) y proteína de activación zeta de tirosina 3-monooxigenasa/triptófano 5-monooxigenasa. Tal y como se usa aquí, la expresión "consiste esencialmente en" significa que no se cuantifican otros genes y que el kit puede contener otros reactivos tales como tampones, enzimas polimerasas, mezclas de nucleótidos, etc., que son necesarias para el análisis de la expresión de los genes mencionados anteriormente.

70

En una realización preferida de la presente invención, el kit del primer aspecto comprende además una mezcla maestra que consta de un colorante que se une al ADN.

5 En otra realización preferida de la presente invención, el kit del primer aspecto comprende además una sonda específica para cada uno de los genes. Preferiblemente, la sonda está marcada, preferiblemente doblemente marcada. Tal y como se usa aquí, el término "marcado" significa que la sonda está marcada por medio de un colorante indicador fluorescente en la base 5' y un desactivador de fluorescencia ubicado en la base 3'.

10 En una realización preferida de la presente invención, el kit del primer aspecto comprende además al menos uno de los siguientes: una ADN polimerasa, una mezcla de nucleótidos, un tampón, agua libre de DNasa.

15 En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a un método para determinar el estado de receptividad de un endometrio que comprende la cuantificación de la expresión de los siguientes genes: AREG, ATP5B, CAPN6, CIR1, CMTM5, CTNNA2, CXCL6, FOXP3, HBA1, HBG1, HMBS, HOXB7, IL1R1, IL4, IL5, ITGB1, MAPK1, NFKBIA, PGRMC1, PLA2G4A, RHOA, SDHA, SERPIN1, en una muestra.

20 En una realización preferida del segundo aspecto, el método comprende además la cuantificación de la expresión de al menos uno de los siguientes genes: ANXA4, AQP3, ARG2, CXCL1, GPX3, ITGA9, MAOA, MMP9, MT1F, MT1H, MT1L, MT1X, PGR, PTGS1, RPL13A, SCGB2A2, TFF3.

25 En una realización más preferida del segundo aspecto de la invención, se cuantifica la expresión de los siguientes genes: AREG, ATP5B, CAPN6, CIR1, CMTM5, CTNNA2, CXCL6, FOXP3, HBA1, HBG1, HMBS, HOXB7, IL1R1, IL4, IL5, ITGB1, MAPK1, NFKBIA, PGRMC1, PLA2G4A, RHOA, SDHA, SERPIN1, ANXA4, AQP3, ARG2, CXCL1, GPX3, ITGA9, MAOA, MMP9, MT1F, MT1H, MT1L, MT1X, PGR, PTGS1, RPL13A, SCGB2A2, TFF3.

30 En una realización preferida de la presente invención, el método del segundo aspecto comprende además cuantificar la expresión de al menos un gen de referencia en la muestra. Preferiblemente, el gen o genes de referencia es o son seleccionados de entre actina, microglobulina beta-2, citocromo C1, pseudouridina metiltransferasa específica de EMG1 N1, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, proteína de unión a la caja TATA, topoisomerasa 3, proteína de activación zeta de tirosina 3-monooxigenasa/triptófano 5-monooxigenasa y combinaciones de los mismos. En otra realización preferida, los genes de referencia son citocromo C1, pseudouridina metiltransferasa específica de EMG1 N1 y gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (CYC1, EMG1, GAPDH).

35 En una realización preferida del segundo aspecto de la invención, la cuantificación se realiza por qPCR, preferiblemente por RT-qPCR.

40 En una realización más preferida del segundo aspecto de la invención, la muestra es una muestra de ADNc, preferiblemente un ADNc obtenido de una muestra de ARN de un sujeto femenino, preferiblemente una mujer humana. Más preferiblemente, el ARN se ha obtenido de una biopsia endometrial.

45 En una realización preferida del método de la invención, los resultados de los niveles de expresión génica pueden clasificar un endometrio en: "receptivo" o "no receptivo". Cuando un endometrio se clasifica como "receptivo", significa que la ventana de implantación coincide con el día en que se tomó la biopsia. La transferencia de embriones debe ser programada para realizarse el mismo día y tipo de ciclo en el que se realizó la biopsia. Si un endometrio se clasifica como "no receptivo" (ya sea pre-receptivo o post-receptivo), significa que la VDI está desplazada. Es necesario obtener una nueva biopsia endometrial el día estimado para que se identifique la VDI y se programe una transferencia embrionaria personalizada.

50 Otro aspecto de la presente divulgación es un método para mejorar el éxito del embarazo de un tratamiento de FIV que comprende:

- 55 (i) determinar el estado de receptividad de un endometrio siguiendo el método del segundo aspecto de la presente invención,
 (ii) determinar el día en que el endometrio es receptivo siguiendo el método de la presente invención, y
 60 (iii) transferir al menos un embrión, preferiblemente en la etapa de blastocisto, en el día determinado en la etapa (ii).

65 La presente invención se refiere a un método para determinar si el estado de un endometrio es receptivo o no receptivo, y en caso de que no sea receptivo, si es pre-receptivo o post-receptivo. El método comprende analizar en una muestra obtenida de un endometrio, preferiblemente un endometrio humano, los niveles de expresión génica de los siguientes genes: AREG, ATP5B, CAPN6, CIR1, CMTM5, CTNNA2, CXCL6, FOXP3, HBA1, HBG1, HMBS, HOXB7, IL1R1, IL4, IL5, ITGB1, MAPK1, NFKBIA, PGRMC1, PLA2G4A,

RHOA, SDHA, SERPIN1, ANXA4, AQP3, ARG2, CXCL1, GPX3, ITGA9, MAOA, MMP9, MT1F, MT1H, MT1L, MT1X, PGR, PTGS1, RPL13A, SCGB2A2, TFF3.

El ARNm de una biopsia endometrial se extrae y purifica por métodos conocidos en la técnica. Se determinan los niveles de expresión de los genes mencionados anteriormente y dichos niveles de expresión se analizan mediante un software que comprende un modelo de predicción específico que clasifica y determina el estado del endometrio dependiendo de los niveles de expresión génica. El modelo de predicción es un sistema matemático que utiliza diferentes algoritmos, fórmulas, para distinguir entre un perfil receptivo, un perfil pre-receptivo y un perfil post-receptivo.

El modelo de predicción está diseñado a partir de los datos obtenidos del análisis de la expresión de los genes mencionados anteriormente en diferentes muestras, como se explica en los ejemplos de las secciones "Selección de pacientes y recolección de muestras" y "Análisis de componentes principales y análisis funcional discriminante".

EJEMPLOS

Extracción de ARN y preparación de ADNc

Se extrajo el ARN total usando el mini kit RNeasy (Qiagen, Londres, Reino Unido); La pureza del ARN y la concentración fue confirmada por el espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) y la integridad del ARN se evaluó utilizando Agilent Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los ARN se transcribieron inversamente en ADNc utilizando Fluidigm Reverse Transcription Master Mix (Fluidigm, San Francisco, CA, EE. UU.) y fue usado inmediatamente o almacenado a -20°C hasta su posterior procesamiento.

Análisis de expresión génica

Los pares de cebadores dirigidos a los genes seleccionados y de referencia se diseñaron y se indican en la lista de secuencias. La Tabla 2 incluye las secuencias de cebadores.

La amplificación específica de la diana (STA) se llevó a cabo en muestras de ADNc utilizando los ensayos Fluidigm PreAmp Master Mix y DELTAgene siguiendo las instrucciones del fabricante (Fluidigm, San Francisco, CA). Las reacciones de RT-qPCR se realizaron siguiendo el Fast Gene Expression Analysis Using Evagreen en el Biomark HD System and 96.96 Dynamic ArrayTM IFC (Fluidigm, San Francisco, CA).

Los datos se recogieron con el software de análisis de PCR en tiempo real Fluidigm[®] utilizando el método de corrección de línea de referencia y el método global de umbral automático de Cq. Los datos se exportaron a Excel como archivos .csv y los valores de Cq se normalizaron utilizando la media de los genes de referencia seleccionados.

Diseño del estudio

Se analizaron los datos de expresión génica de biopsias endometriales obtenidas en diferentes momentos del ciclo menstrual de donantes sanas fértiles (Grupo A) y mujeres subfértiles (Grupo B).

Selección de pacientes y recolección de muestras

El grupo A consistió en 96 donantes fértiles sanas (18-34 años), con ciclos menstruales regulares e IMC normal (25-30). Las biopsias endometriales de este grupo se obtuvieron en dos días diferentes del mismo ciclo menstrual natural: LH + 2, es decir, 2 días después del aumento de la hormona luteinizante y LH + 7, es decir, 7 días después del aumento de LH. El grupo B consistió en 120 pacientes subfértiles (30-42 años) sometidos a ciclos de terapia de reemplazo hormonal (TRH). Se obtuvieron biopsias endometriales de este grupo de pacientes después de cinco días completos de administración de progesterona (P4 + 5). Se obtuvieron biopsias endometriales de aproximadamente 30 mg del fondo uterino utilizando un catéter Pipelle (Gynetics, Namont-Achel, Bélgica) en condiciones estériles. Luego se colocó el tejido en un CryoTube[®] (Nunc, Roskilde, Dinamarca) que contiene 1 ml de RNAlater[®] (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EE. UU.) y se almacenó a -20°C hasta su posterior procesamiento.

Análisis de componentes principales y análisis funcional discriminante

La expresión diferencial de genes de los grupos LH + 2 y LH + 7 se evaluó comparando valores de ΔCq (prueba t pareada ($P < 0.05$)). Se calculó el número de veces de cambio ($-\Delta\Delta\text{Cq}$) para determinar los genes regulados al alza y a la baja en la VDI. Con el fin de evaluar si el estado de receptividad podría establecerse con un número reducido de genes, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) de los genes que muestran un cambio significativo entre LH + 2 y LH + 7. El análisis funcional discriminante (AD) se

utilizó para evaluar la capacidad de los genes con el valor de coeficiente absoluto más alto de cada uno de los componentes principales para discriminar con precisión las muestras en los siguientes estados: proliferativo, receptivo, pre-receptivo y post-receptivo. Se realizó una validación de muestra dividida del AD para evaluar la fiabilidad y la solidez de los hallazgos discriminantes. Las muestras de pacientes fértiles e infértiles se dividieron en dos subconjuntos. Un conjunto de datos (70% de las muestras) se utilizó como conjunto de entrenamiento y el otro como set de prueba (30% restante de las muestras). El porcentaje de clasificaciones correctas se calculó para determinar la fiabilidad del modelo AD. Los análisis de datos se realizaron utilizando el software IBM SPSS Statistics versión 19.0.

10 **Experiencia clínica: resultados reproductivos**

El análisis de los resultados después de la primera transferencia de embriones (blastocisto) cuando se usó el método de la invención indicó una tasa de embarazo positiva (saco gestacional a las 8 semanas y latido positivo a las 12 semanas) significativamente mayor en el grupo de pacientes que siguieron la recomendación de pretratamiento de progesterona usando el método de la invención, en comparación con aquellos que se desviaron más de 12 h de esta recomendación.

Dentro del grupo de casos que siguieron la recomendación utilizando el método de la presente invención, los embarazos clínicos fueron casi dos veces más altos que los del grupo cuyas transferencias se desviaron más de 12 h de la recomendación (es decir, que se desviaron más de 12 h de la VDI). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas (44.5% vs 26%, $p = 0,002$, $n = 741$).

Las tasas de embarazo del grupo de transferencias realizadas con una desviación de más de 12 h se estudiaron con más detalle. Este grupo se dividió en:

- (i) transferencias realizadas entre 12 y 24 h desde la recomendación utilizando el método de la invención (VDI), y
- (ii) transferencias realizadas con más de 24 h de desviación de esta ventana.

Para el grupo que se desvió de 12 a 24 h de la recomendación, se transfirieron un promedio de 1,29 embriones y la edad media de las mujeres fue de 41,40 años. Para el grupo que se desvió más de 24 h de la recomendación, se transfirieron un promedio de 1,27 embriones y la edad media de las mujeres fue de 40,62 años.

El grupo donde se realizó la transferencia con más de 24 h de desviación de la VDI mostró una disminución significativa en las tasas de embarazo. Las tasas de embarazo de los tres grupos fueron las siguientes:

- Siguiendo el método de la invención: 44,5%
- Desviación de 12 a 24 h: 33,3%
- Desviación de más de 24 h: 15,6%

Estas diferencias en las tasas de embarazo de los tres grupos fueron significativas ($p = 0,001$).

Dentro del grupo de casos que siguieron la recomendación utilizando el método de la presente invención, los embarazos clínicos fueron casi cuatro veces más altos que los del grupo cuyas transferencias se desviaron más de 24 h de la recomendación.

Embarazos exitosos después de seguir las recomendaciones de transferencia embrionaria de la prueba de la invención

La receptividad del endometrio se analizó utilizando el método de la invención y se obtuvieron los resultados de la siguiente tabla.

Cuando se descubrió que el endometrio era Receptivo, se recomendó transferir el embrión (en la etapa de blastocisto) después del mismo número de días de administración de progesterona como cuando se obtuvo la biopsia.

Tabla 1. Ejemplos de embarazos exitosos después de usar el método de la invención.

Biopsia en P₄₊

Muestra	Tipo de Ciclo	Biopsia en P ₄₊	Resultado del test de la invención	Transferencia recomendada en P ₄₊	Transferencia en P ₄₊	Desarrollo Embrionario (día)	Tasa de Embarazo			
							β-hCG positiva	Saco Positivo	Latido Positivo	Parto Positivo
1	HRT	5	Receptivo	5	5	5	1	1	1	1
2	HRT	5	Pre-Receptivo	6	6	5	1	1	1	1
3	HRT	4,5	Receptivo	4,5	4,5	5	1	1	1	1
4	HRT	5,5	Receptivo	5,5	5,5	5	1	1	1	1
5	HRT	5	Pre-Receptivo	6	6	5	1	1	1	1
6	HRT	4	Pre-Receptivo	4,5	4,5	5	1	1	1	1
7	HRT	5	Receptivo	5	5	5	1	1	1	1
8	HRT	5	Post-Receptivo	4,5	4,5	5	1	1	1	1
9	HRT	6	Post-Receptivo	5	5	5	1	1	1	1
10	HRT	5	Post-Receptivo	6	6	5	1	1	1	1
11	HRT	5,5	Post-Receptivo	4	4	5	1	1	1	1

TRH: Ciclo de terapia de reemplazo hormonal (TRH)

P₄₊5: obtenido después de cinco días completos de impregnación de progesterona

Resultado positivo de β-hCG > 25 UI / l; Saco y latidos positivos determinados por ecografía a las 8 y 12 semanas respectivamente.

Cuando se descubrió que el endometrio era pre-receptivo, se recomendó transferir el embrión (en la etapa de blastocisto) después de un día o medio día más con respecto al número de días de administración de progesterona cuando se obtuvo la biopsia.

- 5 Cuando se descubrió que el endometrio era post-receptivo, se recomendó transferir el embrión (en la etapa de blastocisto) después de un día o medio día menos con respecto al número de días de administración de progesterona cuando se obtuvo la biopsia.

10 Siguiendo esta estrategia, se lograron embarazos y partos saludables en los 11 casos (tabla 1).

10 **Informes de casos clínicos**

Caso 1:

- 15 Una mujer con antecedentes de 2 gestaciones, 2 abortos espontáneos y ningún parto había recibido 5 tratamientos de FIV sin ningún resultado del embarazo y 5 FIV después de las pruebas genéticas previas a la implantación de aneuploidía (PGT-A), sin ningún embarazo. El método de la invención se realizó en una biopsia endometrial de esta mujer al día P4 + 7 (7 días completos de administración de progesterona) y se determinó que era receptivo. Se recomendó transferir los embriones en el día P4 + 7. Siguiendo esta recomendación, se logró el embarazo (positivo [β-hGC (beta gonadotropina coriónica humana) y latidos cardíacos positivos).

Caso 2:

- 25 Una mujer sin antecedentes de gestaciones, abortos espontáneos ni partos había recibido 4 tratamientos de inseminación artificial, 9 tratamientos de FIV + PGT-A y 1 donación de ovocitos sin ningún resultado del embarazo. El método de la invención se realizó en una biopsia endometrial de esta mujer en el día P4 + 5.5 (5.5 días de administración de progesterona) y se determinó que era Pre-receptivo. Se recomendó transferir los embriones en el día P4 + 6.5. Siguiendo esta recomendación, se logró el embarazo (positivo [β-hGC (beta gonadotropina coriónica humana), latido cardíaco y nacimiento).

Caso 3:

- 35 Una mujer con antecedentes de 5 gestaciones, 5 abortos espontáneos y ningún parto había recibido 3 tratamientos de inseminación artificial seguidos de 2 abortos espontáneos, 1 tratamiento de FIV + PGT-A seguido de aborto espontáneo y 1 ovodonación + PGT-A seguido de 2 criotransferencias y 2 abortos bioquímicos espontáneos. El método de la invención se realizó en una biopsia endometrial de esta mujer en el día P4 + 5,5 (5,5 días de administración de progesterona) y se determinó que era pre-receptivo. Se recomendó transferir los embriones en el día P4 + 7. Siguiendo esta recomendación, se logró el embarazo (β-hGC positivo (beta gonadotropina coriónica humana) y latido cardíaco positivos).

Referencias:

- 45 Aghajanova L et al. Fertil Steril 2009;91:2602-2610.
- Altmáe S et al. Mol Hum Reprod 2010;16:178-187.
- Carson DD. Mol Hum Reprod 2002;8:871-879.
- 50 Coutifaris C et al. Fertil Steril 2004;82:1264-1272.
- Dubowy RL et al. Fertil Steril 2003;80:146-156.
- Díaz-Gimeno P et al. Fertil Steril 2011;95: 50-60.60-15.
- 55 Garrido-Gómez T et al. Fertil Steril 2013;99:1078-1085.
- Giudice LC, Irwin JC. Semin Reprod Endocrinol 1999;17:13-21.
- 60 Harper MJK. Baillieres Clin Obstet Gynaecol 1992;6:351-371.
- Horcajadas JA et al. Mol Hum Reprod 2005;11:195-205.
- Kao LC et al. Endocrinology 2003;144:2870-2881.
- 65 Koler M et al. Hum Reprod 2009;24:2541-2548.

ES 2 784 142 T3

Kwon HE, Taylor HS. Ann N Y Acad Sci 2004;1034:1-18.

Lessey BA et al. Fertil Steril 1995;63:535-542.

5 Murray MJ et al. Fertil Steril 2004;81:1333-1343.

Navot D et al. Fertil Steril 1991;55:114-118.

Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Fertil Steril 1950;1:561-564.

10

Paiva P et al. Hum Reprod 2011;26:1153-1162.

Ponnampalam AP et al. Mol Hum Reprod 2004;10:879-893.

15 Sha AG et al. Fertil Steril 2011;96:150-155.e5.

Singh M J Endocrinol 2011;210:5-14.

Talbi Set al. 2006;147:1097-1121.

20

Teh WT et al. J Assist Reprod Genet 2016;33:1419-1430.

Thouas GA et al. Endocr Rev 2015;36:92-130.

25 Zhang D et al. Reprod Biol Endocrinol 2012;10:106.

Tabla 2. Secuencias de cebadores.

Gen	Cebador	SEQ ID NO:	Secuencia	Nombre completo del gen
ANXA4	Sentido (S)	1	CAGGAGATCAGGACAGCCTA	anexina A4
	antisentido (A)	2	AGTTGCCACTCAGTTCTGAC	
AQP3	S	3	TACCCCTCTGGACACTTGGATA	acuaporina 3 (Grupo sanguíneo Grill)
	A	4	CAACAATGGCCAGCACACA	
AREG	S	5	GGTGGTGCTGTCGCTCTT	anfiregulina
	A	6	GCTTCCCAGAGTAGGTGTCATT	
ARG2	S	7	AGCTGTGTCAGATGGCTACA	arginasa 2
	A	8	GGCATGGCCACTAATGGTAC	
ATP5B	S	9	TGTCGATCTGCTAGCTCCCTA	ATP sintasa, transporte de H ⁺ , complejo F1 mitocondrial, polipéptido beta
	A	10	TCAGTACAGTCTTGCCAACTCC	
CAPN6	S	11	TGGAAAGGTGGTGTGGAAAC	calpaina 6
	A	12	GTCAGCTGGTGGTTGCTAA	

ES 2 784 142 T3

CIR1	S	13	TCAATGCAAGTTCGGTCCCC	Corepressor interactuando con RBPJ, 1
	A	14	CAAACCCACTGTTTCTCATCTCC	
CMTM5	S	15	AAGGGCATCCTGCTGGAAA	Dominio transmembrana MARVEL similar a CKLF que contiene 5
	A	16	CAGAGATGGAGGCCGTGAA	
CTNNA2	S	17	TGGAAATCCGGACGCTAACA	catenina (proteína asociada a cadherina), alfa 2
	A	18	GCCTTTGTTGCTTGTGTTGAC	
CXCL1	S	19	CTTGCTCAATCCTGCATCC	quimiocina (motivo C-X-C) ligando 1 (actividad estimuladora del crecimiento del melanoma, alfa)
	A	20	AGCCACCAGTGAGCTTCC	
CXCL6	S	21	ACGCTGAGAGTAAACCCCAA	quimiocina (motivo C-X-C) ligando 6
	A	22	CAAACCTTGCTTCCCGTTCTTCA	
FOXP3	S	23	TGTGGGGTAGCCATGGAAA	caja de horquilla P3
	A	24	GGGTCCGATGTTGTGGAA	
GPX3	S	25	TTTGTCACGTGGCCAGCTA	glutación peroxidasa 3 (plasma)
	A	26	AAAGCCCAGAATGACCAGACC	
HBA1	S	27	TCTCCTGCCGACAAGACCAA	hemoglobina alfa 1
	A	28	GTGGTGGGGAAGGACAGGA	
HBG1	S	29	GCAAGAAGGTGCTGACTTCC	hemoglobina, gamma A
	A	30	GCTTGTACAGTGCAGTTCA	
HMBS	S	31	AGAGTGATTCGCGTGGGTA	hidroximetilbilano sintasa
	A	32	CTTCAATGTTGCCACCACAC	
HOXB7	S	33	TTCCGGATCTACCCCTGGAT	homeobox B7
	A	34	TCTGGTAGCGGGTGTAGGT	
IL1R1	S	35	GGGCAAGCAATATCCTATTACCC	receptor de interleucina 1, tipo I
	A	36	TAGCTGGGCTCACAATCACA	

ES 2 784 142 T3

IL4	S	37	CAGCTGATCCGATTCTGAAA	interleucina 4
	A	38	GTTGGCTTCCTTCACAGGAC	
IL5	S	39	ACTCTGAGGATTCTGTTCTGTA	interleucina 5 (factor estimulante de colonias, eosinófilos)
	A	40	CCAGTGTGCCTATTCCCTGAAA	
ITGB1	S	41	GAATGTATACAAGCAGGGCCAAA	integrina, beta 1 (receptor de fibronectina, polipéptido beta, antígeno CD29 incluye MDF2, MSK12)
	A	42	CGTGCAGAAGTAGGCATTCC	
ITGA9	S	43	AAATGCAGCGTGGGATTTCC	integrina alfa 9
	A	44	CCAGACAGGTGGCTTGTATCA	
MAOA	S	45	ATGGTCTCGGGAAGGTGAC	monoamino oxidasa A
	A	46	GGTGATTTCTACCGCTGGAAC	
MAPK1	S	47	TTGGTACAGGGCTCCAGAAA	proteína quinasa activada por mitógeno 1
	A	48	TCTGCCAGAATGCAGCCTA	
MMP9	S	49	AGTGGCACCACCACAACA	metalopectidasa matriz 9 (gelatinasa B, gelatinasa de 92 kDa, colagenasa de tipo IV de 92 kDa)
	A	50	GCAAAGGCGTCGTCAATCA	
MT1F	S	51	TCCTCGGCTTGCAATGGA	metalotioneína 1F
	A	52	CTTTGCACTTGCAAGAACCA	
MT1H	S	53	GCTCCTGCAAGTGCAAAA	metalotioneína 1H
	A	54	GCAGCTGCACTTCTCTGAC	
MT1 L	S	55	CAGCTCCTGCAAGTGCAAAA	metalotioneína 1L (gen / pseudogen)
	A	56	GACGCCCTTTGCAGAC	
MT1X	S	57	CCTCGAAATGGACCCCAACT	metalotioneína 1X
	A	58	GCACTCTTTGCATTTGCAGGA	
NFKBIA	S	59	CACCTCCACTCCATCCTGAA	Inhibidor del potenciador en células B del gen del factor nuclear del polipéptido de cadena ligera, alfa
	A	60	GGTAGCCATGGATAGAGGCTAA	

ES 2 784 142 T3

PGR	S	61	AGCCAAGAAGAGTTCCTCTGTA	receptor de progesterona
	A	62	TTGACTTCGTAGCCCTTCCA	
PGRMC1	S	63	GGCAAGGTGTTGATGTGAC	componente 1 de la membrana del receptor de progesterona
	A	64	CTCTTCCAGCAAAGACCCATA	
PLA2G4A	S	65	AGGCTCCACAATGGAGGAA	fosfolipasa A2, grupo IVA (citósólico, dependiente de calcio)
	A	66	TCATCATCACTGTCCGAGCTA	
PTGS1	S	67	GCGGCTCTTTAAGGATGGGAA	prostaglandina-endoperóxido sintasa 1 (prostaglandina G / H sintasa y ciclooxigenasa)
	A	68	AACACAGGCGCCTCTTCTAC	
RHOA	S	69	GTGCCACAGTGTGAGAA	Miembro de la familia homóloga ras
	A	70	TGTGTCCCAAAGCCAAC	
RPL13A	S	71	GAGGCCCTACCACTTCC	proteína ribosómica L13a
	A	72	GCCGTCAAACACCTTGAGAC	
SCGB2A2	S	73	CTCTCCCAGCACTGCTAC	secretoglobina, familia 2A, miembro 2
	A	74	CTTGTGGATTGATTGTCTTGAA	
SDHA	S	75	ACATCGGAACTGCGACTCA	complejo de succinato deshidrogenasa, subunidad A, flavoproteína (Fp)
	A	76	TTCTTGCAACACGCTTCCC	
SERPINA1	S	77	CCACGATATCATCACCAAGTTCC	inhibidor de la peptidasa de serpina, clado A (alfa-1 antiproteinasas, antitripsina), miembro 1
	A	78	TTGACCCAGGACGCTCTTCA	
TFF3	S	79	GGCCTTGCTGTCTCCA	factor trébol 3 (intestinal)
	A	80	CCCGGTTGTTGCACTCC	

ES 2 784 142 T3

ACTB	S	81	CCAACCGCGAGAAGATGAC	actina beta
	A	82	TAGCACAGCCTGGATAGCAA	
B2M	S	83	TTAGCTGTGCTCGCGCTAC	beta-2-microglobulina
	A	84	CTCTGCTGGATGACGTGAGTAA	
CYC1	S	85	CCATGGCCCCTCCCATCTA	citocromo c-1
	A	86	GGTGCACACATCCTTGGCTA	
EMG1	S	87	CAGACCCGAATTCCCAGAAC	Pseudouridina metiltransferasa específica de EMG1 N1
	A	88	CTCGAACACTGAGCTTGTGTAA	
GAPDH	S	89	GAACGGGAAGCTTGTCAATCA	gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa
	A	90	ATCGCCCCACTTGATTTTGG	
TBP	S	91	TGCCCGAAACGCCGAATATA	Proteína de unión a la caja TATA
	A	92	CGTGGTTCGTGGCTCTCTTA	
TOP1	S	93	ACGCTACAGCAGCAGCTAA	topoisomerasa (ADN) 1
	A	94	AGCTCGATTGGCACGGTTA	
YWHAZ	S	95	AGACAGCACGCTAATAATGCA	tirosina 3-monooxigenasa / triptófano 5- proteína de activación de monooxigenasa, zeta
	A	96	AGCTTCGTCTCCTTGGGTA	

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Integrated Genetic Lab Services SLU
 <120> Kit y método para determinar el estado de receptividad de un endometrio
 <130> PCT-924
 5
 <150> EP18382334
 <151> 2018-05-18
 <160> 96
 10
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 20
 15 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 1
 caggagatca ggacagccta 20
 20
 <210> 2
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 2
 agttgccact cagttctgac 20
 <210> 3
 <211> 22
 30 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 3
 35 taccctctg gacactgga ta 22
 <210> 4
 <211> 19
 <212> DNA
 40 <213> Homo sapiens
 <400> 4
 caacaatggc cagcacaca 19
 45 <210> 5
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 50 <400> 5
 ggtggtgctg tcgctctt 18
 <210> 6
 <211> 22
 55 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 6
 gcttcccaga gtaggtgtca tt 22
 60
 <210> 7
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 65
 <400> 7

ES 2 784 142 T3

agctgtgtca gatggctaca 20
 <210> 8
 <211> 20
 5 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 8
 ggcatggcca ctaatggtac 20
 10 <210> 9
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 15 <400> 9
 tgtcgatctg ctagctccct a 21
 <210> 10
 20 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 10
 25 tcagtacagt cttgccaaact cc 22
 <210> 11
 <211> 20
 <212> DNA
 30 <213> Homo sapiens
 <400> 11
 tggaaaggtg gttggaaac 20
 35 <210> 12
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 40 <400> 12
 gtcagctggt gttgctaa 19
 <210> 13
 <211> 20
 45 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 13
 tcaatgcaag ttcggttccc 20
 50 <210> 14
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 55 <400> 14
 caaaccact gtttctcatc tcc 23
 <210> 15
 60 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 15
 65 aaggcatcc tgctggaaa 19
 <210> 16

ES 2 784 142 T3

<211> 19
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

5 <400> 16
 cagagatgga ggccgtgaa 19

<210> 17
 <211> 20
 10 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 17
 15 tggaaatccg gacgctaaca 20

<210> 18
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

20 <400> 18
 gccttgttg cttgtgtga c 21

<210> 19
 25 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 19
 30 cttgcctcaa tcctgcatcc 20

<210> 20
 <211> 18
 <212> DNA
 35 <213> Homo sapiens

<400> 20
 agccaccagt gagcttcc 18

40 <210> 21
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

45 <400> 21
 acgctgagag taaaccccaa a 21

<210> 22
 <211> 22
 50 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 22
 55 caaactgtct tcccgttctt ca 22

<210> 23
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

60 <400> 23
 tgtgggtag ccatggaaa 19

<210> 24
 65 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

ES 2 784 142 T3

	<400> 24 gggtcgc atg ttgtggaa	18
5	<210> 25 <211> 20 <212> DNA <213> Homo sapiens	
10	<400> 25 ttgtcaacg tggccagcta	20
15	<210> 26 <211> 21 <212> DNA <213> Homo sapiens	
20	<400> 26 aaagcccaga atgaccagac c	21
25	<210> 27 <211> 20 <212> DNA <213> Homo sapiens	
30	<400> 27 tctcctgccg acaagaccaa	20
35	<210> 28 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens	
40	<400> 28 gtggtgggga aggacagga	19
45	<210> 29 <211> 20 <212> DNA <213> Homo sapiens	
50	<400> 29 gcaagaaggt gctgacttc	20
55	<210> 30 <211> 20 <212> DNA <213> Homo sapiens	
60	<400> 30 gcttgcaca gtgcagtca	20
65	<210> 31 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens	
	<400> 31 agagtgattc gcgtgggta	19
	<210> 32 <211> 21 <212> DNA <213> Homo sapiens	
	<400> 32 ctttcaatgt tgccaccaca c	21

ES 2 784 142 T3

<210> 33
 <211> 20
 <212> DNA
 5 <213> Homo sapiens

 <400> 33
 ttccggatct acccctggat 20

 10 <210> 34
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 15 <400> 34
 tctggtagcg ggtgtagt 19

 <210> 35
 <211> 23
 20 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 35
 25 gggcaagcaa taccctatta ccc 23

 <210> 36
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 36
 tagctgggct cacaatcaca 20

 <210> 37
 35 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 37
 40 cagctgatcc gattcctgaa a 21

 <210> 38
 <211> 20
 <212> DNA
 45 <213> Homo sapiens

 <400> 38
 gttggctcc tcacaggac 20

 50 <210> 39
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 55 <400> 39
 actctgagga ttctgttcc tgta 24

 <210> 40
 <211> 22
 60 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <400> 40
 65 ccagtgtgcc tattccctga aa 22

 <210> 41
 <211> 23

ES 2 784 142 T3

	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 41	
5	gaatgtatac aagcagggcc aaa	23
	<210> 42	
	<211> 20	
	<212> DNA	
10	<213> Homo sapiens	
	<400> 42	
	cgtgcagaag taggcattcc	20
15	<210> 43	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
20	<400> 43	
	aaatgcagcg tgggatttcc	20
	<210> 44	
	<211> 21	
25	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 44	
	ccagacaggt ggctgtatc a	21
30	<210> 45	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 45	
	atggctcgcg gaaggtgac	19
	<210> 46	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 46	
	ggtgatttct accgctggaa c	21
	<210> 47	
	<211> 20	
	<212> DNA	
50	<213> Homo sapiens	
	<400> 47	
	ttggtacagg gctccagaaa	20
55	<210> 48	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 48	
	tctgccagaa tgcagccta	19
	<210> 49	
	<211> 18	
65	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	

ES 2 784 142 T3

	<400> 49 agtggcacca ccacaaca	18
5	<210> 50 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens	
10	<400> 50 gcaaaggcgt cgtaatca	19
15	<210> 51 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens	
20	<400> 51 tcctcgctt gcaatggsa	19
25	<210> 52 <211> 20 <212> DNA <213> Homo sapiens	
30	<400> 52 ctttgcactt gcaggaacca	20
35	<210> 53 <211> 18 <212> DNA <213> Homo sapiens	
40	<400> 53 gctcctgcaa gtgcaaaa	18
45	<210> 54 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens	
50	<400> 54 gcagctgcac ttctctgac	19
55	<210> 55 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens	
60	<400> 55 cagctcctgc aagtgcaaa	19
65	<210> 56 <211> 17 <212> DNA <213> Homo sapiens	
70	<400> 56 gacgcccctt tgagac	17
75	<210> 57 <211> 20 <212> DNA <213> Homo sapiens	
80	<400> 57 cctcgaaatg gacccaact	20

ES 2 784 142 T3

	<210> 58	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 58	
	gcactcttgg cattgcagg a	21
	<210> 59	
10	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 59	
15	cacctccact ccactctgaa	20
	<210> 60	
	<211> 22	
	<212> DNA	
20	<213> Homo sapiens	
	<400> 60	
	ggtagccatg gatagaggct aa	22
25	<210> 61	
	<211> 22	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 61	
	agccaagaag agtcctctg ta	22
	<210> 62	
	<211> 20	
35	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 62	
40	ttgacttcgt agccctcca	20
	<210> 63	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
45	<400> 63	
	ggcaagggtg tcgatgtgac	20
	<210> 64	
50	<211> 22	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 64	
55	ctctccagc aaagaccca ta	22
	<210> 65	
	<211> 19	
	<212> DNA	
60	<213> Homo sapiens	
	<400> 65	
	aggctccaca atggaggaa	19
65	<210> 66	
	<211> 21	
	<212> DNA	

ES 2 784 142 T3

	<213> Homo sapiens	
	<400> 66	
5	tcatcatcac tgtccgagct a	21
	<210> 67	
	<211> 21	
	<212> DNA	
10	<213> Homo sapiens	
	<400> 67	
	gctgctcttt aaggatggga a	21
	<210> 68	
15	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 68	
20	aacacaggcg cctcttctac	20
	<210> 69	
	<211> 20	
	<212> DNA	
25	<213> Homo sapiens	
	<400> 69	
	gtgccacag tgttgagaa	20
30	<210> 70	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 70	
	tgtgtcccac aaagccaac	19
	<210> 71	
	<211> 18	
40	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 71	
45	gaggccccta ccacttcc	18
	<210> 72	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
50	<400> 72	
	gccgtcaaac accttgagac	20
	<210> 73	
55	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 73	
60	ctctcccagc actgctac	18
	<210> 74	
	<211> 23	
	<212> DNA	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 74	

ES 2 784 142 T3

	ctgtggatt gattgtcttg gaa	23
	<210> 75	
	<211> 19	
5	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 75	
10	acatcgggaac tgcgactca	19
	<210> 76	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 76	
	ttcttgcaac acgcttccc	19
	<210> 77	
20	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 77	
25	ccacgatatc atcaccaagt tcc	23
	<210> 78	
	<211> 20	
	<212> DNA	
30	<213> Homo sapiens	
	<400> 78	
	ttgaccagg acgcttcca	20
35	<210> 79	
	<211> 17	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 79	
	ggccttgctg tcctcca	17
	<210> 80	
	<211> 17	
45	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 80	
	cccggttgtt gcactcc	17
50	<210> 81	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
55	<400> 81	
	ccaaccgcga gaagatgac	19
	<210> 82	
60	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 82	
65	tagcacagcc tggatagcaa	20
	<210> 83	

ES 2 784 142 T3

<211> 19
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

5 <400> 83
 ttagctgtgc tcgcgctac 19

<210> 84
 <211> 22
 10 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 84
 ctctgctgga tgacgtgagt aa 22

15 <210> 85
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

20 <400> 85
 ccatggcccc tcccatcta 19

25 <210> 86
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

30 <400> 86
 ggtgcacaca tcctggcta 20

35 <210> 87
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 87
 cagacccgaa tcccagaac 20

40 <210> 88
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

45 <400> 88
 ctogaacact gagcttgtgt aa 22

50 <210> 89
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 89
 gaacgggaag ctgtcatca a 21

55 <210> 90
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

60 <400> 90
 atcgccccac ttgatttgg 20

65 <210> 91
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

ES 2 784 142 T3

	<400> 91	
	tgcccgaaac gccgaatata	20
5	<210> 92	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
10	<400> 92	
	cgtaggtcgt ggctctcta	20
	<210> 93	
	<211> 19	
15	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 93	
	acgctacagc agcagctaa	19
20	<210> 94	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 94	
	agctcgattg gcacggta	19
	<210> 95	
30	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 95	
35	agacagcacg ctaataatgc a	21
	<210> 96	
	<211> 19	
	<212> DNA	
40	<213> Homo sapiens	
	<400> 96	
	agcttcgtct ccttggta	19
45		

REIVINDICACIONES

1. Un kit para determinar el estado de receptividad de un endometrio que comprende medios para cuantificar la expresión de los siguientes genes: AREG, ATP5B, CAPN6, CIR1, CMTM5, CTNNA2, CXCL6, FOXP3, HBA1, HBG1, HMBS, HOXB7, IL1R1, IL4, IL5, ITGB1, MAPK1, NFKBIA, PGRMC1, PLA2G4A, RHOA, SDHA, SERPIN1, donde dicho kit comprende medios para cuantificar la expresión de hasta 100 genes, preferiblemente hasta 48 genes.
2. El kit según la reivindicación 1, que además comprende medios para cuantificar la expresión de al menos uno de los siguientes genes: ANXA4, AQP3, ARG2, CXCL1, GPX3, ITGA9, MAOA, MMP9, MT1F, MT1H, MT1L, MT1X, PGR, PTGS1, RPL13A, SCGB2A2, TFF3.
3. El kit según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, que comprende medios para cuantificar la expresión de los siguientes genes: AREG, ATP5B, CAPN6, CIR1, CMTM5, CTNNA2, CXCL6, FOXP3, HBA1, HBG1, HMBS, HOXB7, IL1R1, IL4, IL5, ITGB1, MAPK1, NFKBIA, PGRMC1, PLA2G4A, RHOA, SDHA, SERPIN1, ANXA4, AQP3, ARG2, CXCL1, M MT1F, MT1H, MT1L, MT1X, PGR, PTGS1, RPL13A, SCGB2A2, TFF3.
4. El kit según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde los medios para cuantificar los genes comprenden un par de cebadores para cada uno de los genes.
5. El kit según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que además comprende un par de cebadores para al menos un gen de referencia, o que además comprende un par de cebadores para al menos un gen de referencia, donde el gen o genes de referencia es o son seleccionados de entre actina, beta-2 microglobulina, citocromo C1, pseudouridina metiltransferasa específica de EMG1 N1, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, proteína de unión a la caja TATA, topoisomerasa I (ADN), proteína de activación zeta de tirosina 3-monooxigenasa/triptófano 5-monooxigenasa y combinaciones de los mismos.
6. El kit según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende además una sonda específica para cada uno de los genes.
7. El kit según la reivindicación 6, donde la sonda está marcada, preferiblemente doblemente marcada.
8. El kit según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que además comprende al menos uno de los siguientes: una ADN polimerasa, una mezcla de nucleótidos, un tampón, agua libre de DNasa.
9. Un método para determinar el estado de receptividad de un endometrio que comprende la cuantificación de la expresión de los siguientes genes: AREG, ATP5B, CAPN6, CIR1, CMTM5, CTNNA2, CXCL6, FOXP3, HBA1, HBG1, HMBS, HOXB7, IL1R1, IL4, IL5, ITGB1, MAPK1, NFKBIA, PGRMC1, PLA2G4A, RHOA, SDHA, SERPIN1, en una muestra
10. El método según la reivindicación 9, que además comprende la cuantificación de la expresión de al menos uno de los siguientes genes: ANXA4, AQP3, ARG2, CXCL1, GPX3, ITGA9, MAOA, MMP9, MT1F, MT1H, MT1L, MT1X, PGR, PTGS1, RPL13A, SCGB2A2, TFF3.
11. El método según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, donde se cuantifica la expresión de los siguientes genes: AREG, ATP5B, CAPN6, CIR1, CMTM5, CTNNA2, CXCL6, FOXP3, HBA1, HBG1, HMBS, HOXB7, IL1R1, IL4, IL5, ITGB1, MAPK1, NFKBIA, PGRMC1, PLA2G4A, RHOA, SDHA, SERPIN1, ANXA4, AQP3, ARG2, CXCL1, GPX3, ITGA9, MAOA, MMP9, MT1F, MT1H, MT1L, MT1X, PGR, PTGS1, RPL13A, SCGB2A2, TFF3.
12. El método según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, que además comprende cuantificar la expresión de al menos un gen de referencia en la muestra.
13. El método según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, donde la cuantificación se hace por qPCR, preferiblemente por RT-qPCR.
14. El método según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, donde la muestra es una muestra de ADNc, preferiblemente un ADNc obtenido de una muestra de ARN de un sujeto femenino, preferiblemente una mujer humana.