

La biología de sistemas y su aplicación en el estudio de enfermedades complejas

Vargas E¹, Martínez-Castro JA¹, Díaz-Beltrán L^{1,2}, Esteban FJ^{1*}

¹Grupo de Biología de Sistemas, Departamento de Biología Experimental, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Jaén

²Departamento de Oncología Médica, Unidad de Investigación Clínica, Hospital Universitario de Jaén

*Autor para correspondencias: festeban@ujaen.es

Resumen: En la era contemporánea de la investigación biomédica, el imparable avance de las tecnologías ómicas y la biología de sistemas ha desencadenado una transformación fundamental en nuestra comprensión de las enfermedades complejas. Las tecnologías ómicas, que abarcan disciplinas como la genómica, transcriptómica, epigenómica, proteómica, metabolómica y microbiómica, han proporcionado un acceso sin precedentes a la intrincada red molecular que subyace a fenómenos fisiológicos y patológicos. En este contexto, el presente trabajo se propone explorar y describir el impacto que estas herramientas han supuesto en el avance sobre el conocimiento de enfermedades complejas. Desde la capacidad de analizar y detectar múltiples biomarcadores simultáneamente hasta la integración holística de datos mediante la biología de sistemas, estas tecnologías emergentes han allanado el camino para revelar los entresijos de enfermedades hasta ahora consideradas enigmáticas, ofreciendo perspectivas prometedoras para el desarrollo de enfoques diagnósticos y terapéuticos más precisos y eficaces.

Palabras clave: Biología computacional, investigación biomédica, ómicas.

Abstract: In the contemporary era of biomedical research, the unstoppable advancement of omics technologies and systems biology has triggered a transformation in our understanding of complex diseases. Omics technologies, spanning disciplines such as genomics, transcriptomics, epigenomics, proteomics, metabolomics, and microbiomics, have provided unprecedented access to the intricate molecular network underlying physiological and pathological phenomena. In this context, this work aims to explore and describe the impact that these tools have had on advancing our knowledge of complex diseases. From the ability to analyze and detect multiple biomarkers simultaneously to the holistic integration of data through systems biology approaches, these emerging technologies have paved the way to unveil the intricacies of diseases once considered enigmatic, offering promising perspectives for the development of more precise and effective diagnostic and therapeutic approaches.

Key words: Computational biology, medical research, omics.

Introducción

La búsqueda de las causas que conducen a las enfermedades ha cautivado a la humanidad desde tiempos inmemoriales. A lo largo de la historia, se ha tratado de descubrir y analizar el origen de las patologías utilizando diversos métodos.

Clásicamente, se han utilizado aproximaciones reduccionistas, basadas en el estudio individual de casos y posibles causas conducentes al trastorno en cuestión (1). Sin embargo, estas técnicas tradicionales se han visto complementadas en los últimos años por las llamadas tecnologías ómicas de alta resolución, que pretenden abordar de forma holística la complejidad inherente a los sistemas biológicos (2,3).

Las tecnologías ómicas implican el estudio de eventos e interacciones específicas desde las estructuras y procesos biológicos hasta las funciones biológicas subyacentes de manera compleja y global. Gracias a estas tecnologías es posible analizar en un solo experimento múltiples compuestos biológicos, biomarcadores epigenéticos, genes, proteínas o metabolitos simultáneamente (4,5). Así pues, en las últimas décadas, el abordaje integrado de disciplinas como la genómica, la transcriptómica, la epigenómica, la proteómica y la metabolómica, ha permitido una comprensión más profunda de las bases moleculares de los procesos fisiológicos y patológicos. En este sentido, la biología de sistemas, que se podría definir como la disciplina científica centrada en el estudio de organismos y sistemas biológicos en su conjunto, y que trata de comprender cómo las interacciones entre los componentes individuales dan lugar a las propiedades emergentes del sistema, ha constituido una herramienta clave para la integración de las diferentes ómicas (Figura 1).

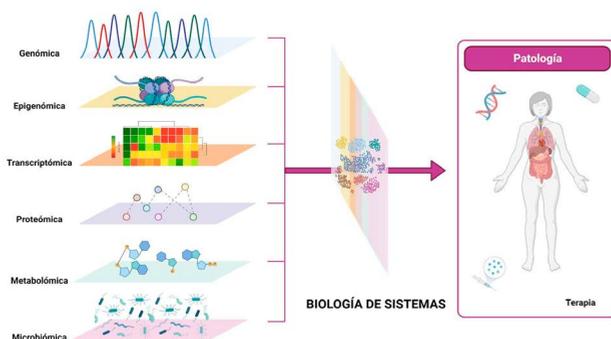


Figura 1. La integración, a través de la biología de sistemas, de diferentes tecnologías ómicas como la genómica, la epigenómica, la transcriptómica, la proteómica, la metabolómica y la microbiómica ha permitido avanzar en el conocimiento de las bases moleculares de los trastornos complejos y ha ofrecido oportunidades para el desarrollo de terapias específicas. [Adaptado de (6)].

Entre las principales ventajas de estas tecnologías destaca la gran cantidad de información que son capaces de proporcionar y que se puede obtener con un coste y esfuerzo relativamente bajos (7,8). No obstante, esta ventaja puede convertirse ocasionalmente en un obstáculo, puesto que precisa de la aplicación de herramientas potentes, matemáticas, estadísticas y computacionales, que permitan extraer conclusiones con significado biológico (9,10). Además, la complejidad inherente al cuerpo humano también puede dificultar la comprensión y el análisis de los datos derivados de la aplicación de estas potentes tecnologías (11).

En definitiva, la cantidad de datos generados por las ómicas plantean un gran desafío para la investigación biomédica, pues estos datos deben procesarse y analizarse cuidadosamente a través de aplicaciones computacionales robustas (10,11). Se podría afirmar que se ha alcanzado un cuello de botella en la gestión de datos ómicos, ya que se cuenta con más información de la que inicialmente es posible analizar y comprender completamente (12).

A lo largo del presente artículo se citarán algunos de los principales avances que han tenido lugar en los últimos años gracias a la utilización de las tecnologías ómicas de alta resolución, y cómo su aplicación y su integración a través de estrategias propias de la biología de sistemas ha permitido avanzar en el conocimiento sobre las bases moleculares de algunas enfermedades y la búsqueda de tratamientos.

Ómicas y trastornos neuropsiquiátricos

Los trastornos neuropsiquiátricos representan una carga socioeconómica y de atención médica significativa a nivel mundial (13). La esquizofrenia, el trastorno bipolar, el trastorno depresivo mayor o la ansiedad se encuentran entre los más prevalentes. Lamentablemente, su diagnóstico sigue siendo problemático y se complica por la falta de biomarcadores específicos de enfermedad, especialmente aquellos relacionados con etapas tempranas (14–16).

La investigación sobre el origen de algunos trastornos mentales ha experimentado una transformación significativa gracias al progreso de las tecnologías ómicas. Estas herramientas han permitido a los investigadores adentrarse en el complejo paisaje molecular subyacente a algunos de estos trastornos (17). La capacidad de analizar simultáneamente miles de moléculas ha brindado una visión sin precedentes de las complejas interacciones que gobiernan la función cerebral y han revelado patrones moleculares distintivos asociados (18).

Esquizofrenia

Los estudios de asociación del genoma completo, abreviados como GWAS, por sus siglas en inglés, se utilizan para identificar variantes genómicas estadísticamente asociadas con el riesgo de una enfermedad o rasgo particular (19). Este método implica examinar los genomas de múltiples personas, buscando variantes genómicas que ocurran con más frecuencia en aquellas con una enfermedad o rasgo específico, en comparación con aquellos individuos que no los tienen. Una vez que se identifican dichas variantes genómicas, se utilizan para buscar variantes cercanas que contribuyan directamente a la enfermedad o rasgo. En el caso de la esquizofrenia, los GWAS han permitido identificar variantes genéticas que podrían estar implicadas en la etiopatogénesis de este trastorno. Los resultados indican que algunos de los genes asociados a las variantes identificadas se encuentran relacionados con el neurodesarrollo, la neuroendocrinología y la inmunología (20,21).

En relación al transcriptoma, es decir, al conjunto de moléculas de ARN presentes en una célula, tejido u organismo en un momento determinado, se han podido identificar alteraciones en la expresión de genes relacionados con la esquizofrenia, lo que ha permitido arrojar luz sobre las vías moleculares afectadas. Por ejemplo, se ha detectado la alteración en los niveles de expresión de genes implicados en plasticidad sináptica, desarrollo neuronal, neurotransmisión y transducción de señales (22). Además, y gracias a la transcriptómica, se ha podido conocer que algunas poblaciones celulares presentan una función alterada, lo que podría tener un rol importante en el desarrollo de este trastorno (22,23).

Trastorno bipolar

Las investigaciones genómicas en el campo de la neuropsiquiatría han contribuido a la identificación de variantes genéticas asociadas con el trastorno bipolar y de los principales procesos biológicos involucrados (24). Los estudios llevados a cabo han conseguido detectar variantes genéticas asociadas a genes que codifican canales iónicos, transportadores de neurotransmisores y componentes sinápticos (25).

Otra aproximación interesante es la que utiliza la metabolómica, es decir, el estudio de metabolitos totales, para la búsqueda de perfiles asociados con el trastorno bipolar. Entre las principales rutas metabólicas que se asocian como relevantes en la patofisiología del trastorno bipolar, destacan las relacionadas con el metabolismo del glutamato, el

metabolismo energético y la neurotransmisión, así como las funciones mitocondriales o el metabolismo de los lípidos (15,16).

Además, cada vez es más frecuente encontrar estudios que utilizan aproximaciones de tipo multiómico, es decir, que combinan diferentes ómicas, con el objetivo de abordar el estudio desde diferentes niveles (26). Gracias a esta potente estrategia, se ha podido identificar la alteración de la hemostasia a nivel proteómico y metabolómico en pacientes con trastorno bipolar cuando se comparan con controles sanos (27).

Depresión

Los trastornos depresivos afectan a millones de personas a nivel global. Sin embargo, se desconocen los mecanismos moleculares precisos que los desencadenan (28). A nivel epigenético, es decir, de las modificaciones químicas y estructurales que ocurren en el ADN y sus proteínas asociadas, principalmente relacionadas con la relación con el ambiente, se han detectado patrones de metilación del ADN y modificaciones de las histonas específicamente asociados a la depresión (29). De igual modo, los avances en las técnicas de metabolómica basadas en espectrometría de masas han sido cruciales para impulsar el progreso de la investigación sobre la depresión (28). Concretamente, la aplicación de técnicas proteómicas ha permitido identificar biomarcadores de señalización asociados con el metabolismo celular o el ciclo celular que parecen estar asociados con este trastorno (30).

Ómicas y desórdenes ginecológicos

Los trastornos ginecológicos engloban una variedad de condiciones que afectan el sistema reproductor femenino. Estos desórdenes son de naturaleza variable, y pueden abarcar desde problemas menstruales o alteraciones en los niveles de hormonas hasta condiciones más complejas como los fibromas uterinos, la endometriosis o diferentes tipos de cánceres ginecológicos (31,32).

La amplia gama de alteraciones ginecológicas refleja la complejidad del sistema reproductivo femenino y puede manifestarse a través de síntomas como dolor pélvico, irregularidades menstruales, y cambios en la función reproductiva. La comprensión de los procesos biológicos y de los factores moleculares subyacentes a estos desórdenes ha avanzado significativamente gracias a las ómicas, que han abierto nuevas oportunidades para el diagnóstico temprano, el tratamiento personalizado y la mejora de la calidad de vida de las mujeres afectadas.

Leiomioma

Los leiomiomas son tumores ginecológicos de carácter benigno que afectan al músculo liso uterino o miometrio, y que en ocasiones también son denominados fibromas uterinos. La aplicación de la transcriptómica ha revelado perfiles de expresión génica distintivos en leiomiomas en comparación con tejido uterino normal, lo que ofrece una comprensión más profunda de las vías moleculares involucradas en su desarrollo e incluso permite identificar diferencialmente los leiomiomas de otras patologías similares (33,34). Los últimos estudios proteómicos centrados en la investigación sobre los leiomiomas han arrojado luz sobre las principales proteínas cuyos niveles se encuentran alterados en tejido afectado por leiomiomas cuando se compara con tejido uterino sano (35,36).

Cáncer de ovario

El cáncer de ovario es la alteración ginecológica con mayor letalidad y peor pronóstico (37). Debido a la ausencia de síntomas tempranos específicos, la mayor parte de los diagnósticos tiene lugar en etapas avanzadas de la enfermedad. Por lo tanto, se necesitan con urgencia biomarcadores mejorados para la investigación y la práctica clínica del cáncer de ovario. La integración de datos de varias ómicas ha aumentado el conocimiento sobre la enfermedad y con ella se han identificado interesantes biomarcadores para el cáncer de ovario (38,39). En este sentido, algunos de los estudios multiómicos realizados hasta la fecha han encontrado que las rutas de disfunción mitocondrial, del estrés oxidativo y de la señalización de la apoptosis tendrían un papel activo en el cáncer ovárico, lo que en última instancia demostraría el papel crítico que juega la mitocondria en el cáncer de ovario (40).

Endometriosis

La endometriosis es un desorden ginecológico común que afecta a mujeres de edad reproductiva en todo el mundo y que se caracteriza por la presencia de tejido endometrial en localizaciones extrauterinas. A pesar de su alta incidencia, se desconocen las causas que causan la endometriosis. Dado el fuerte componente genético clásicamente atribuido a la endometriosis, los estudios genómicos en este trastorno son de especial interés (41). Además, en las últimas décadas, la proteómica ha permitido evidenciar la expresión diferencial de un buen número de proteínas entre controles sanos y mujeres con endometriosis, lo que conlleva que estas moléculas sean propuestas como biomarcadores candidatos para el diagnóstico precoz (42–45). Asimismo,

el uso de técnicas de metabolómica en endometriosis ha permitido la detección de biomarcadores potenciales para el diagnóstico de la endometriosis a partir de muestras de plasma y tejido endometrial eutópico (46–48).

Conclusiones

La aplicación de las tecnologías ómicas y la biología de sistemas ha demostrado ser una herramienta crucial en la investigación de trastornos complejos como los neuropsiquiátricos y los desórdenes ginecológicos, y ha proporcionado una perspectiva holística que abarca desde el nivel molecular hasta el sistémico. En el ámbito de los trastornos mentales, las ómicas han permitido detectar patrones moleculares asociados con desórdenes como la esquizofrenia y el trastorno bipolar, lo que abre nuevas vías para el diagnóstico temprano y el desarrollo de terapias personalizadas. En el caso de los desórdenes ginecológicos, las ómicas han arrojado luz sobre la biología molecular de condiciones como la endometriosis y los leiomiomas, y han ayudado en la identificación de biomarcadores potenciales y revelado alteraciones en las vías moleculares.

Sin embargo, y a pesar de sus ventajas, las ómicas también presentan ciertos desafíos. La interpretación de grandes conjuntos de datos es compleja y puede llevar a la identificación de biomarcadores que requieren validación antes de ser trasladados a la práctica clínica. Además, la necesidad de equipamiento especializado y los costes asociados limita la accesibilidad a estas tecnologías en ciertos entornos clínicos. Por otra parte, la variabilidad biológica y genética entre individuos complica la identificación de patrones aplicados a de un modo general, lo que resalta la importancia de enfoques integrados y estudios multicéntricos para validar y aplicar eficazmente estos avances en la práctica clínica.

Agradecimientos

El grupo de investigación recibe fondos para investigación de la Universidad de Jaén (PAIUA-EI_CTS02_2023) y de la Junta de Andalucía (BIO-302). FJER está parcialmente financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación, Agencia Estatal de Investigación (AEI) y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER - Ref: PID2021-122991NB-C21).

Referencias

1. Fontana JM, Alexander E, Salvatore M. Translational research in infectious disease: current paradigms and challenges ahead. *Transl Res.* 2012;159(6):430-53.
2. Bakry R, Rainer M, Huck CW, Bonn GK. New stationary phases for enrichment and separation in the «omics» era. *Bioanalysis.* 2009;1(1):151-69.
3. Hood L. Systems biology and p4 medicine: past, present, and future. *Rambam Maimonides Med J.* 2013;4(2):e0012.
4. Kirpich A, Ainsworth EA, Wedow JM, Newman JRB, Michailidis G, McIntyre LM. Variable selection in omics data: A practical evaluation of small sample sizes. *PLoS One.* 2018;13(6):e0197910.
5. Bajad S, Shulaev V. Highly-parallel metabolomics approaches using LC-MS for pharmaceutical and environmental analysis. *Trends Analyt Chem.* 2007;26(6):625-36.
6. Vargas E. Endometriomics: in silico data mining of omics studies in endometriosis. Tesis Doctoral. Universidad de Jaén; 2021.
7. Wang XY, Qu HZ, Fang XD. Omics big data and medical artificial intelligence. *Yi Chuan.* 2021;43(10):930-7.
8. Altmäe S, Esteban FJ, Stavreus-Evers A, Simón C, Giudice L, Lessey BA, et al. Guidelines for the design, analysis and interpretation of 'omics' data: focus on human endometrium. *Hum Reprod Update.* 2014;20(1):12-28.
9. Oh E, Hasan MN, Jamshed M, Park SH, Hong HM, Song EJ, et al. Growing trend of CE at the omics level: the frontier of systems biology. *Electrophoresis.* 2010;31(1):74-92.
10. Hogan JM, Higdon R, Kolker E. Experimental standards for high-throughput proteomics. *OMICS.* 2006;10(2):152-7.
11. Perco P, Rapberger R, Siehs C, Lukas A, Oberbauer R, Mayer G, et al. Transforming omics data into context: bioinformatics on genomics and proteomics raw data. *Electrophoresis.* 2006;27(13):2659-75.
12. Alyass A, Turcotte M, Meyre D. From big data analysis to personalized medicine for all: challenges and opportunities. *BMC Med Genomics.* 2015;8(1):33.
13. Dong X, Liu C, Dozmorov M. Review of multi-omics data resources and integrative analysis for human brain disorders. *Brief Funct Genomics.* 2021;20(4):223-34.

14. de Jesus JR, de Araujo Andrade T, de Figueiredo EC. Biomarkers in psychiatric disorders. *Adv Clin Chem.* 2023;116:183-208.
15. MacDonald K, Krishnan A, Cervenka E, Hu G, Guadagno E, Trakadis Y. Biomarkers for major depressive and bipolar disorders using metabolomics: A systematic review. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2019;180(2):122-37.
16. Sethi S, Brietzke E. Omics-Based Biomarkers: Application of Metabolomics in Neuropsychiatric Disorders. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2015;19(3):pyv096.
17. Chen HH, Petty LE, Bush W, Naj AC, Below JE. GWAS and Beyond: Using Omics Approaches to Interpret SNP Associations. *Curr Genet Med Rep.* 2019;7(1):30-40.
18. Derks EM, Thorp JG, Gerring ZF. Ten challenges for clinical translation in psychiatric genetics. *Nat Genet.* 2022;54(10):1457-65.
19. Zhou W, Kanai M, Wu KHH, Rasheed H, Tsuo K, Hirbo JB, et al. Global Biobank Meta-analysis Initiative: Powering genetic discovery across human disease. *Cell Genom.* 2022;2(10):100192.
20. Hosák L, Silhan P, Hosáková J. Genome-wide association studies in schizophrenia, and potential etiological and functional implications of their results. *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2012;55(1):3-11.
21. Williams HJ, Owen MJ, O'Donovan MC. New findings from genetic association studies of schizophrenia. *J Hum Genet.* 2009;54(1):9-14.
22. Hakak Y, Walker JR, Li C, Wong WH, Davis KL, Buxbaum JD, et al. Genome-wide expression analysis reveals dysregulation of myelination-related genes in chronic schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(8):4746-51.
23. Yu S, Qu Y, Du Z, Ou M, Lu R, Yuan J, et al. The expression of immune related genes and potential regulatory mechanisms in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2023;S0920-9964(23)00419-X.
24. Ikeda M, Takahashi A, Kamatani Y, Okahisa Y, Kunugi H, Mori N, et al. A genome-wide association study identifies two novel susceptibility loci and trans population polygenicity associated with bipolar disorder. *Mol Psychiatry.* 2018;23(3):639-47.
25. Stahl EA, Breen G, Forstner AJ, McQuillin A, Ripke S, Trubetskov V, et al. Genome-wide association study identifies 30 loci associated with bipolar disorder. *Nat Genet.* 2019;51(5):793-803.

26. Ribeiro HC, Zandonadi F da S, Sussulini A. An overview of metabolomic and proteomic profiling in bipolar disorder and its clinical value. *Expert Rev Proteomics*. 2023;20(11):267-80.
27. Ribeiro HC, Sen P, Dickens A, Santa Cruz EC, Orešič M, Sussulini A. Metabolomic and proteomic profiling in bipolar disorder patients revealed potential molecular signatures related to hemostasis. *Metabolomics*. 2022;18(8):65.
28. Liu M, Ma W, He Y, Sun Z, Yang J. Recent Progress in Mass Spectrometry-Based Metabolomics in Major Depressive Disorder Research. *Molecules*. 2023;28(21):7430.
29. Suseelan S, Pinna G. Heterogeneity in major depressive disorder: The need for biomarker-based personalized treatments. *Adv Clin Chem*. 2023;112:1-67.
30. Huang TL, Lo LH. Proteomics Approach for Biomarker Research in Major Depression: Antidepressant Effects. *Curr Drug Metab*. 2018;19(6):502-12.
31. Neinstein LS. Menstrual dysfunction in pathophysiologic states. *West J Med*. 1985;143(4):476-84.
32. Elkafas H, Walls M, Al-Hendy A, Ismail N. Gut and genital tract microbiomes: Dysbiosis and link to gynecological disorders. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:1059825.
33. Kim K, Kim S, Ahn T, Kim H, Shin SJ, Choi CH, et al. A differential diagnosis between uterine leiomyoma and leiomyosarcoma using transcriptome analysis. *BMC Cancer*. 2023;23(1):1215.
34. Li F, Wang J, Liu W. Search for key genes, key signaling pathways, and immune cell infiltration in uterine fibroids by bioinformatics analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2023;102(20):e33815.
35. Sahar T, Nigam A, Anjum S, Waziri F, Biswas S, Jain SK, et al. Interactome Analysis of the Differentially Expressed Proteins in Uterine Leiomyoma. *Anticancer Agents Med Chem*. 2019;19(10):1293-312.
36. Jamaluddin MFB, Nahar P, Tanwar PS. Proteomic Characterization of the Extracellular Matrix of Human Uterine Fibroids. *Endocrinology*. 2018;159(7):2656-69.
37. Lusk H, Burdette JE, Sanchez LM. Models for measuring metabolic chemical changes in the metastasis of high grade serous ovarian cancer: fallopian tube, ovary, and omentum. *Mol Omics*. 2021;17(6):819-32.
38. Xiao Y, Bi M, Guo H, Li M. Multi-omics approaches for biomarker discovery in early ovarian cancer diagnosis. *EBioMedicine*. 2022;79:104001.

39. Clifford C, Vitkin N, Nersesian S, Reid-Schachter G, Francis JA, Koti M. Multi-omics in high-grade serous ovarian cancer: Biomarkers from genome to the immunome. *Am J Reprod Immunol*. 2018;80(2):e12975.
40. Shen L, Zhan X. Mitochondrial Dysfunction Pathway Alterations Offer Potential Biomarkers and Therapeutic Targets for Ovarian Cancer. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:5634724.
41. Zondervan KT, Rahmioglu N, Morris AP, Nyholt DR, Montgomery GW, Becker CM, et al. Beyond endometriosis GWAS: from Genomics to Phenomics to the Patient. *Semin Reprod Med*. 2016;34(4):242-54.
42. Cho S, Choi YS, Yim SY, Yang HI, Jeon YE, Lee KE, et al. Urinary vitamin D-binding protein is elevated in patients with endometriosis. *Hum Reprod*. 2012;27(2):515-22.
43. Hwang JH, Lee KS, Joo JK, Wang T, Son JB, Park JH, et al. Identification of biomarkers for endometriosis in plasma from patients with endometriosis using a proteomics approach. *Mol Med Rep*. 2014;10(2):725-30.
44. Hwang JH, Oh JJ, Wang T, Jin YC, Lee JS, Choi JR, et al. Identification of biomarkers for endometriosis in eutopic endometrial cells from patients with endometriosis using a proteomics approach. *Mol Med Rep*. 2013;8(1):183-8.
45. Wang L, Ding XY, Yu JK, Zhang SZ, Zheng W. Biomarkers of peritoneal fluid in endometriosis identified by surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2014;41(1):72-4.
46. Dutta M, Joshi M, Srivastava S, Lodh I, Chakravarty B, Chaudhury K. A metabonomics approach as a means for identification of potential biomarkers for early diagnosis of endometriosis. *Mol Biosyst*. 2012;8(12):3281-7.
47. Vouk K, Hevir N, Ribić-Pucelj M, Haarpaintner G, Scherb H, Osredkar J, et al. Discovery of phosphatidylcholines and sphingomyelins as biomarkers for ovarian endometriosis. *Hum Reprod*. 2012;27(10):2955-65.
48. Li J, Guan L, Zhang H, Gao Y, Sun J, Gong X, et al. Endometrium metabolomic profiling reveals potential biomarkers for diagnosis of endometriosis at minimal-mild stages. *Reprod Biol Endocrinol*. 2018;16(1):42.