

Gratu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado  
Medikuntza Gradua / Grado en Medicina

# Endometriosisa eta ezaugarri antropometriko eta menstrualak: erlazio genetiko kausalen bila

Bi lagineko ausazkotze mendeldar analisisa

Egilea / Autor:  
Aiara Garitazelaia Gonzalez  
Zuzendaria / Director/a:  
Nora Fernández Jiménez / Jose Ramón Bilbao Catalá

© 2021, Aiara Garitazelaia Gonzalez

## ESKER ONAK

Hasteko, *FinnGen* ikerketako partaide eta azterlariak eskertu nahiko nituzke.

Era berean, nire eskerrik beroenak eman nahiko nizkieke Iraia García, Nora Fernández eta Jose Ramón Bilbao tutoreei, lanerako metodologia pazientziaz irakasteagatik, beti laguntza eskaintzeko eta zalantzak argitzeko prest egoteagatik eta euren genetikagatiko grina kutsatzeagatik.

Nire gurasoei ere eskerrak eman nahiko nizkieke, euren laguntza, pazientzia ikaragarri eta iradokizun interesgarriengatik.

Azkenik, Maddi Aizpurua eta Alazne Basterra eskertu nahiko nituzke, lana hobetzeko aholku baliogarriak emateagatik, baita azaldutako interesagatik ere.

## LABURPENA

Endometriosisia kausa ezezaguneko gaitz kroniko eta multisistemikoa da, funtzionala den endometrio-ehuna utero-barrunbetik kanpo haztean agertzen dena, besteak beste pelbiseko mina eta antzutasuna eraginez. Ugaltze-adinean dauden emakumeen %10ak pairatzen duela balioetsi da, hauengan ondoez fisiko, mental, sexual, sozial eta ekonomikoa baldintzatzen duelarik. Eritasuna, aurkezpen konplexu eta heterogeneoa duen aldetik, fenotipo ugariarekin erlazionatu da, hala nola neurri antropometriko eta ezaugarri menstrual ezberdinekin. Hala ere, azken horiek eta endometriosiak oinarri genetiko bera partekatzen ote duten ez da oraindik ezagutzen. Genetika amankomun hau aztertzeko, bi lagineko ausazkotze mendeldar (2SMR) analisia burutu genuen, GWAS ikerketetako datu publikoak erabiliz. GWASek endometriosisia eta berarekin asoziazioa erakutsi duten fenotipoak bezalako ezaugarri eta gaixotasun konplexuak ikertzeko aukera ematen dute, ezaugarriok edukitzeko joera handitzen duten aldaera genetikoak identifikatzen baitituzte. Gure 2SMR analisia burutzeko, hainbat ezaugarri antropometriko (pisua, garaiera, gorputz-masa indizea, gerri-aldaka indizea) eta menstrual (menarkia eta menopausiaren adinak, hilekoaren ziklo-luzera eta hileko-fluxuaren kantitate eta iraupena) aukeratu genuen, bakoitzak endometriosiarekin izan zezakeen lotura genetikoa ezagutzeko. Gure emaitzen arabera, pisu baxuak eta hilekoaren ziklo laburrek endometriosiarekin harreman genetikoa dute. Are gehiago, badirudi erlazioa kausala izan litekeela. Era berean, asoziazio hori bultzatzen duten zenbait aldaera genetiko identifikatzea lortu genuen. Aurkitutako ebidentzia horri esker endometriosiaren oinarria ulertzeko gertuago gaude.

**HITZ GAKOAK:** Endometriosisia, ausazkotze mendeldarra, SNP, ezaugarri antropometrikoak, ezaugarri menstrualak.

## ABSTRACT

Endometriosis, the cause of which is unknown, is a chronic and multisystemic disease, characterized by the presence of functionally active endometrial tissue outside the womb, causing pelvic pain and infertility among others. The illness approximately affects 10% of reproductive age women and compromises physical, mental, sexual, social and economic well-being of those who suffer from it. This condition, known to have a complex and heterogeneous presentation, has been associated with many phenotypes, such as anthropometric and menstrual traits. However, whether these traits and endometriosis share common genetic roots is still undetermined. To investigate this, we performed a two-sample mendelian randomization (2SMR) analysis, using public data from GWAS studies. GWASs allow the study of complex traits and diseases like endometriosis and those phenotypes associated to it, given that they identify genetic variants that increase the susceptibility to develop them. For our 2SMR analysis, we chose several anthropometric (weight, height, body-mass index, waist-to-hip ratio) and menstrual traits (ages of menarche and menopause, menstrual cycle's length, menstrual flow's quantity and duration), in order to know whether they had a genetic relation with endometriosis or not. Our results showed a genetic link between low weight and short menstrual cycles and endometriosis. Furthermore, it seems that this relationship could be causal. Moreover, we were able to identify some genetic variants driving this association. Thanks to the aforementioned information we are now closer to understanding the basis of endometriosis.

**KEY WORDS:** Endometriosis, mendelian randomization, SNP, anthropometric traits, menstrual traits.

## AURKIBIDEA

1. SARRERA .....	1
1.1. ENDOMETRIOSIA.....	1
1.1.1. Kontzeptua eta prebalentzia .....	1
1.1.2. Etiopatogenia eta semiologia .....	1
1.2. ENDOMETRIOSIARI BURUZ IKERTZEAREN GARRANTZIA.....	2
1.3. ENDOMETRIOSIAREKIN ERLAZIONATUTAKO FENOTIPOAK .....	2
1.3.1. Ezaugarri antropometrikoak.....	2
1.3.2. Hilekoarekin erlazionatutako ezaugarriak.....	3
1.4. EZAUGARRI KONPLEXUAK, GWASak ETA AUSAZKOTZE MENDELDARRA .....	3
1.4.1. Ezaugarri eta gaixotasun konplexuak.....	3
1.4.2. Genoma osoaren asoziazio ikerketak (GWAS).....	4
1.4.3. Ausazkotze mendeldarra eta bi lagineko ausazkotze mendeldarra .....	5
2. MATERIALAK ETA METODOAK.....	7
2.1. EZAUGARRI KONPLEXUEN ETA GWASen AUKERAKETA .....	7
2.2. BI LAGINEKO MR ANALISIA (2SMR).....	8
2.2.1. Esposizio-datuak .....	9
2.2.2. Ondorio-datuak .....	10
2.2.3. Harmonizazioa .....	10
2.2.4. Ausazkotze mendeldarra, grafikoen prestaketa eta analisi osagarriak.....	10
3. EMAITZAK.....	11
3.1. ENDOMETRIOSIAREKIN ERLAZIONATUTAKO EZAUGARRI KONPLEXUAK .....	11
3.2. 2SMR ANALISIA EGITEKO GWASak .....	11
3.3. 2SMR ANALISI OROKORRAREN EMAITZAK.....	12
3.4. PLEIOTROPIA ANALISIAK .....	14
3.5. SNP ESANGURATSUENEN BANAKAKO AZTERKETA .....	15
4. EZTABAIDA.....	16
5. ONDORIOAK .....	21
6. BIBLIOGRAFIA .....	21

## **1. SARRERA**

### **1.1. ENDOMETRIOSIA**

#### **1.1.1. Kontzeptua eta prebalentzia**

Endometriosisia kausa ezezaguneko gaitz kroniko eta multisistemikoa da, funtzionala den endometrio-ehuna (guruin-epitelioa eta estroma) utero-barrunbetik kanpo edukitzeagatik bereizten dena<sup>(1)</sup>. Gaixotasunaren behin betiko diagnostikoak aipaturiko endometriosisi-lesioen bistaratze kirurgikoa behar duenez, bere benetako prebalentzia ezagutzea zaila da<sup>(2)</sup>. Hala ere, ugaltze-adinean dauden emakumeen %10ak pairatzen duela balioetsi da<sup>(3)</sup> eta gaitz ginekologiko ohikoenen artean dago. Are gehiago, azterlan batzuen arabera, antzuak diren emakumeen erdiak eta pelbiseko min kronikoa jasaten duten nerabe eta emakume gazteen ia hiru laurdenek endometriosisia dutela uste da<sup>(4-6)</sup>.

#### **1.1.2. Etiopatogenia eta semiologia**

Aipatu dugun bezala, eritasun horren etiologia ez da guztiz ezaguna, baina badirudi multifaktoriala dela, hau da, Genetika- eta ingurune-faktore askoren elkarrekintzaren ondorio dela. Horrek endometriosisia gaixotasun konplexu modura sailkatzea dakar, herentzia-patroi ez-mendeldarra jarraitzen duten gaitzen artean<sup>(7)</sup>. Horren harira, esan beharra dago hainbat teoria plazaratu dela, lekuz kanpoko endometrio-zelulen jatorria azaltzeko saiakeran. Gaur egungo ustea da horien arteko nahasketa bat behar duela izan endometriosiaren patogeniaren gakoa. Teoria horiek fluxu eretrogradoarena, zelomaren metaplasiaarena eta odol- eta linfa-hedapen metastasikoarena dira. Era berean, beste faktore batzuek ere esku hartuko lukete; immunitate kaltetuak, angiogenesi-eragileek eta hormonek, alegia<sup>(7, 8)</sup>.

Patologia horretan, lekuz kanpoko endometrio-ehunak estrogenoen bidezko hantura-erantzun kronikoa pizten du eta, ondorioz, pelbiseko mina eta antzutasuna eragiten ditu<sup>(9, 10)</sup>. Azken bi horiek sintoma klasikoak diren arren, beste hainbat deskribatu dira, hala nola, pelbiseko min kronikoa, nekea, dismenorrea, menorragia, dispaurenia, disuria, diskezia, hematokezia eta abar<sup>(11, 12)</sup>.

## 1.2. ENDOMETRIOSIARI BURUZ IKERTZEAREN GARRANTZIA

Eman ditzakeen sintoma horietaz gain, endometriosisia beste gaixotasun askorekin batera agertu ohi dela behatu da<sup>(13)</sup>, gorputzean ondorio latz ugari eragiten dituela argi utzita. Horri eritasunak dakarren estigmatizazioa gehitzen badiogu<sup>(14)</sup>, ez da harritzekoa endometriosiak emakumeengan sortzen duen ondoez fisiko, mental, sexual, sozial eta ekonomikoa, euren bizi kalitatean inpaktu sakona eraginez<sup>(15-20)</sup>.

Orobat, diagnostikoa lortzeko 7-10 urte inguruko atzerapena egoten da<sup>(19, 20)</sup>, besteak beste, sintomatologiaren konplexutasuna eta espezifikotasun ezagatik, diagnostikorako tresna egokien faltagatik, etab. Hala ere, badago atzeratze arrazoi horien artean kontuan hartu beharreko beste alderdi garrantzitsu bat: bai emakumeon bai osasun-langileen artean ematen den min eta bestelako sintoma menstrualen normalizazioa. Aipatutakoa gutxi balitz, diagnosia burutzea lortzen den kasuetan eskura dauden aukera terapeutikoak ez dira oso eraginkorrak<sup>(21)</sup>.

Aldez aurretik esan bezala, endometriosisia gaitz ginekologiko ohikoenetarikoa da, izan ere, pelbiseko min kronikoaren kausa ohikoena da emakumeengan<sup>(22)</sup>; alabaina, berari buruzko ezjakintasuna da nagusi. Garbi dago, beraz, endometriosisia hobeto ulertzea premiazkoa dela, emakumeen osasuna hobetze aldera.

## 1.3. ENDOMETRIOSIAREKIN ERLAZIONATUTAKO FENOTIPOAK

Lehenago ikusi bezala, endometriosiaren aurkezpena konplexu eta heterogeneoa da<sup>(2)</sup> eta gainera, fenotipo ugariarekin erlazionatu da<sup>(13, 23, 24)</sup>, hainbat neurri antropometriko eta hilekoaren ezaugarri ezberdinak barne.

### 1.3.1. Ezaugarri antropometrikoak: pisua, garaiera, gorputz-masa indizea (GMI), gerri-aldaka indizea

Zenbait azterketatan asoziazio sendoak behatu dira endometriosiaren eta ezaugarri antropometriko jakinen artean. Gaitza pairatzeko arrisku handiagoa ikusi da pisu eta GMI baxuagoekin, baita garaiera altuagoarekin ere<sup>(25, 26)</sup>. Horietaz gain, gerri-aldaka indizearekin ere lotu izan da endometriosisia, indize baxuagoarekin zehazki<sup>(25)</sup>. Indize horrek gorputzaren gantz antolaketaren adierazle gisa jokatzen du. Horrela, indize baxuagoak gorpuzkera ginekoiderako joera eta indize altuagoak gorpuzkera

androiderako joera erakusten dute. Aipatzekoa da ikerlan batek lotura aurkitu zuela endometriosiaren eta gerri-aldaka indizearen artean, baina ez, ordea, endometriosiaren eta GMIaren artean, gantz kantitatea eta gantz antolaketa gaixotasunarekin bide ezberdinetatik erlazionatzen direla pentsaraziz<sup>(27)</sup>.

### **1.3.2. Hilekoarekin erlazionatutako ezaugarriak: menarkia, ziklo-luzera, fluxu kantitate eta iraupena, menopausia**

Beste alde batetik, asoziazioa aurkitu da endometriosiaren eta hilekoarekin erlazionatutako ezaugarri ezberdinen artean. Izan ere, eritasunaren intzidentzia altuagoa ikusi da menarkia goiztiarra, hileko arteko ziklo laburragoak eta hilekoaren fluxu eta iraupen handiagoa duten emakumeetan<sup>(28, 29)</sup>. Hau da, badirudi hilekoarekiko esposizio luzeago batek endometriosisia pairatzeko arriskua areagotzen duela<sup>(30)</sup>. Menopausiaren adinari dagokionez, aldiz, ez dago hainbeste adostasunik: ikerketa batzuek endometriosisia menopausia berantiarrekin erlazionatzen dute<sup>(30, 31)</sup> eta beste batzuek menopausia goiztiarrekin<sup>(32, 33)</sup>.

Hala ere, ezaugarri horiek guztiek eta endometriosiak oinarri genetiko bera partekatzen ote duten, edota euren arteko lotura zehatza zein den, ez da oraindik ezagutzen.

## **1.4. EZAUGARRI KONPLEXUAK, GWASak ETA AUSAZKOTZE MENDELDARRA**

### **1.4.1. Ezaugarri eta gaixotasun konplexuak**

Komentatu dugun moduan, endometriosisia gaixotasun konplexua da, bestela esanda, herentzia poligenikoa (ez-mendeldarra) dauka. Horrenbestez, ingurumen-faktore anitzen eta gene askoren parte-hartze txikien eraginpekoa da<sup>(34)</sup>. Bere heredagarritasuna %47-51koa dela behatu da<sup>(35, 36)</sup>, hots, Genetikaren ekarpenak gaixotasuna pairatzeko aukeraren erdia azal dezake. Horregatik, ikerkuntza ugari egin da endometriosiarengan eragina duten geneak edota aldaera genetikoak ezagutzeko, gaitzaren oinarria ulertze aldera<sup>(37)</sup>. Endometriosisia bezala, eritasunarekin erlazionatuta dauden fenotipoak ere ezaugarri konplexuak dira eta baliteke Genetikak horiengan ere eragina edukitzea. 2007az geroztik, ezaugarri eta gaixotasun

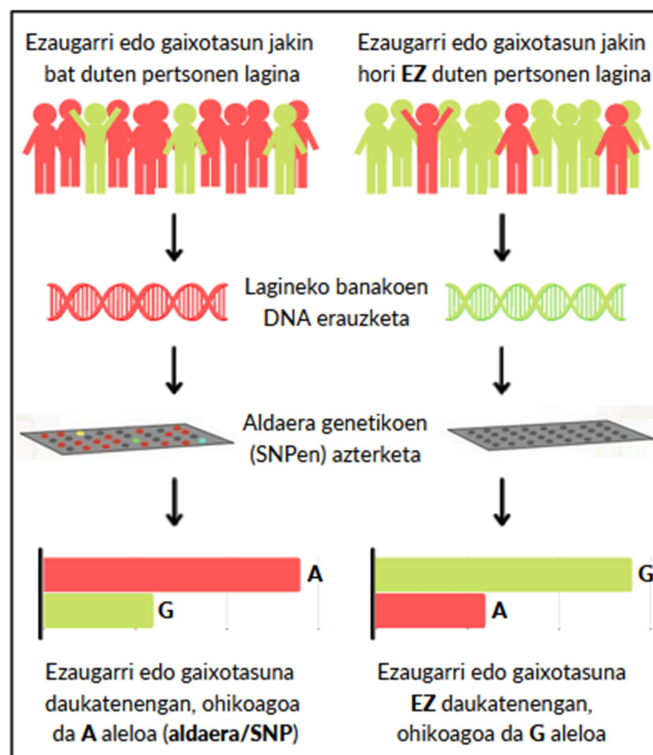


konplexuak aztertzeke, genoma osoaren asoziazio ikerketak (“*Genome-Wide Association Studies*” edo GWAS, ingelesez) erabili dira.

#### **1.4.2. Genoma osoaren asoziazio ikerketak (GWAS)**

GWASetan, *mikroarray* teknologiaz baliatuz, aztergaia den gaixotasun edo ezaugarria duten eta ez duten pertsonen DNA laginak aztertzen dira, horietako bakoitzean dauden milioika aldaera genetiko ezberdin genotipatzeko (**1. Irudia**). GWASetan ikertu ohi diren aldaera genetikoak SNP edo nukleotido bakarreko polimorfismoak (“*Single-Nucleotide Polymorphism*”, ingelesez) dira eta genomaren kokapen zehatz batean dagoen nukleotido baten aldaketak dira, nukleotidoaren base nitrogenatuaren aldaketak, hain zuzen ere. SNP bakoitzean egon daitekeen aldaera bakoitzari alelo deritzogu<sup>(38)</sup>.

GWASetan SNP bakoitzaren aleloen maiztasunak konparatu egiten dira, gaixotasuna duen taldearen (kasuak) eta ez duenaren (kontrolak) artean. Bi taldeen arteko alelo maiztasunaren ezberdintasuna estatistikoki esanguratsua denean, SNP jakin hori gaixotasun edo ezaugarriarekin erlazionatuta dagoela esan dezakegu<sup>(39)</sup> (**1. Irudia**). Goian azaldutako kasu-kontrol diseinua gaixotasunetarako baliagarriagoa den bitartean, ezaugarri konplexu arruntetarako kohorte motako diseinuak erabiltzea ohikoagoa da, populazio orokorrean ager daitezkeen ezaugarriak ikertzeke<sup>(40)</sup>. GWASetan lortutako emaitzak datu-base publikoetara igo ohi dira, erabilienak *IEU GWAS database* eta *GWAS catalog* izanik.



1. Irudia. Genoma osoaren asoziazio ikerketek (GWASek) jarraitzen duten prozesua. Ezaugarri edo gaixotasun konplexu bat duten eta ez duten banakoz osatutako bi talderen DNA laginak aztertu egiten dira, SNP mailan. Bi taldeetako aleloen maiztasunak aztertuz, ezaugarri edo gaixotasun jakina garatzeko joera bultzatzen duten SNPak lortuko ditugu.

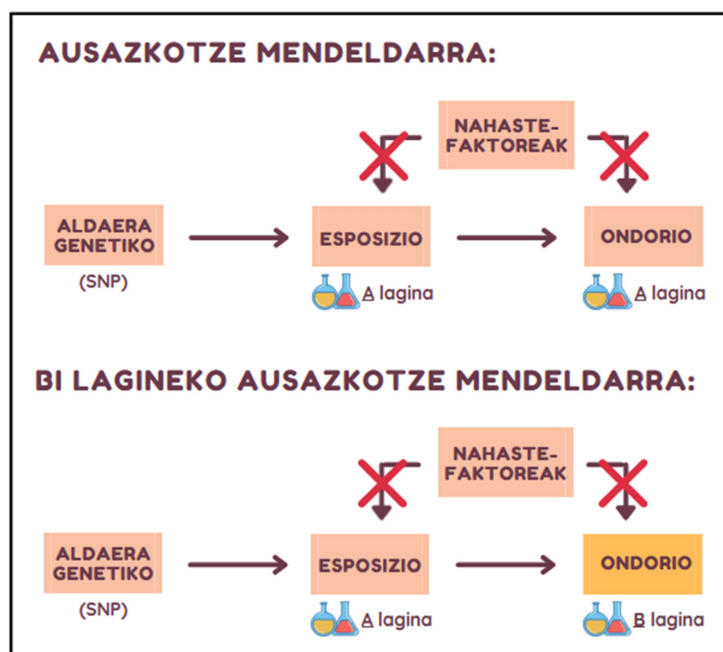
### 1.4.3. Ausazkotze mendeldarra eta bi lagineko ausazkotze mendeldarra

Aurretik aipatu dugun bezala, behaketazko ikerlan epidemiologikoez endometriosisa ezaugarri antropometriko eta menstrualekin erlazionatu dute, baina loturaren bat badagoela aurkitzeaz haratago, ezin izan dute bestelako informaziorik eman. Izan ere, azterlan horietan inferentzia kausala oztopa dezaketen nahaste-faktoreak sartzen dira jokoan<sup>(41)</sup>. Arazoa gainditzeko, ikerlariak entsegu klinikoetan erabiltzen den ausazkotzeaz baliatzen dira. Hala ere, entsegu horiek desabantailak ere badituzte, besteak beste, lagin-tamaina oso handien beharra.

Horri guztiari irtenbidea ematen, ausazkotze mendeldar (*“Mendelian Randomization”* edo MR, ingelesez) deituriko metodo estatistikoa daukagu, esposizio eta ondorioaren arteko erlazio kausala aztertuko duena, GWASetan

ikertutako aldaera genetikoak (SNPak) bitartekari gisa erabiliz (**2. Irudia**). SNPen aleloak zoriz banatzen direnez banakoetan, aurkitutako emaitzak fidagarriak direla zurta dezakegu, hau da, ez daudela nahaste-faktoreen menpe<sup>(42, 43)</sup>. GWASen azken urteotako gorakadari esker, SNPei buruzko datu asko publiko bihurtu dira, ausazkotze mendeldarraren hedapena ahalbidetuz.

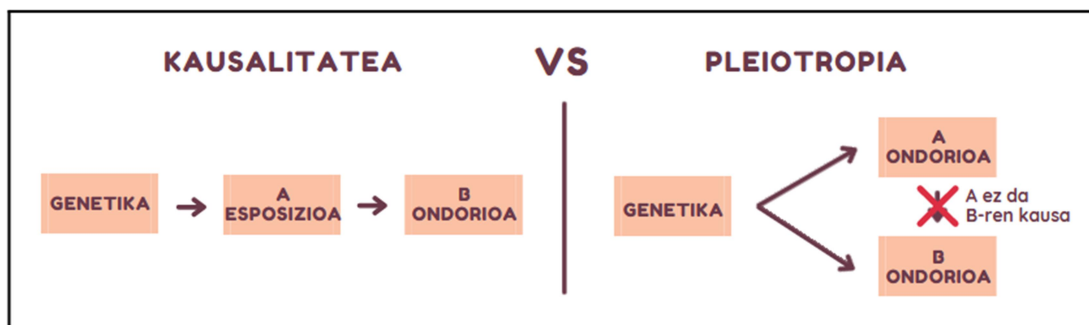
MR metodoaren baitan hainbat aukera dago. Horietako batek, bi lagineko ausazkotze mendeldarrak (*“Two-sample mendelian randomization”* edo 2SMR, ingelesez) hain zuzen, esposizio- eta ondorio-datuak bi lagin ezberdinetatik hartzen ditu<sup>(42, 43)</sup> (**2. Irudia**).



**2. Irudia. Ausazkotze mendeldar (MR) eta bi lagineko ausazkotze mendeldar (2SMR) metodoen oinarria azaltzen duten eskemak.** Metodoek esposizio baten eta ondorio baten arteko harreman kausala aurkitzeko balio dute, SNPak bitartekari gisa erabiliz, nahaste-faktoreen eragina baztertzeko.

Beraz, bi GWAS independenteren datuak esposizio eta ondorio gisa erabiliz, haien arteko asoziazio kausala aurkitzea izango da 2SMR analisiaren helburua. Hala eta guztiz ere, hori ezin da beti lortu, batzuetan asoziazio horren oinarrian ez delako kausalitatea egongo, pleiotropia baizik. Hau da, batzuetan aldaera genetikoek

(SNPek) esposizioari eta ondorioari bide ezberdinetatik eragingo diete (**3. Irudia**). Zorionez, analisi gehigarriak burutuz, aurkitutako erlazioak kausalak edo pleiotropikoak diren argitzea posible da.



**3. Irudia. Kausalitatearen eta pleiotropiaren arteko ezberdintasunak.** Bi kasuetan Genetikak A eta B-ren eragiten du, baina kausalitatean Genetikak B-ren eragingo du Aren bitartez (A B-ren kausa da). Pleiotropian, ordea, Genetikak A eta B-ren bide ezberdinetatik eragingo du (A ez da B-ren kausa).

Azaldutakoa aintzat hartuz, lan honen hipotesia honakoa da: ikerlan epidemiologikoetan endometriosiarekin erlazionatutako ezaugarri antropometrikoen zein menstrualen eta gaitzaren arteko asoziazioek jatorri genetiko kausala dute. Horrenbestez, gure helburua, ausazkotze mendeldarraz baliatuz, endometriosiaren eta ezaugarri horien arteko erlazio kausalak identifikatzea eta asoziazio horien arduradun diren aldaera genetikoak (SNPak) aurkitzea izango da.

## 2. MATERIALAK ETA METODOAK

### 2.1. EZAUGARRI KONPLEXUEN ETA GWASen AUKERAKETA

Lan honen hasierako pausua endometriosiarekin erlazionatzen diren ezaugarri konplexuak literaturan bilatzea izan zen. Horretarako, Zondervan et al. (2018) lana oinarri hartu genuen. Izan ere, berrikuspen sistematiko horretan endometriosiarekin lotura erakutsi duten ohiko ezaugarri eta fenotipo ugari agertzen dira azalduta. Behin ezaugarriok ezagututa, euren inguruan informazio gehiago biltzeko eta gaitzarekin duten harremana hobeto ulertzeko, PubMed web orrian

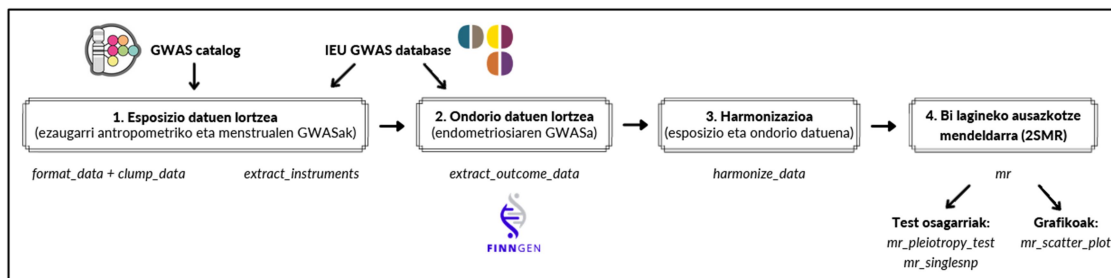
(<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) ezaugarri bakoitzerako bilaketa bideratuagoak burutu genituen.

Lanean zein ezaugarri jorratuko genituen jakin ostean, ezaugarri bakoitzaren GWAS bat aukeratu genuen, bi lagineko ausazkotze mendeldarrean (2SMR) erabili ahal izateko. Metodo hau aplikatzeko bi lagin ezberdin beharko ditugu, esposizioa eta ondorioa ordezkatzeko dituztenak hain zuzen. Kasu honetan, esposizio-datuak bilaketan aurkitutako zenbait ohiko ezaugarri konplexuen GWASetatik lortu genituen eta ondorio-datuak, berriz, endometriosiaren GWAS batetik.

Ikerketa horien bilaketa lehen aipaturiko *IEU GWAS database* (<https://gwas.mrcieu.ac.uk/>) eta *GWAS catalog* (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>) datu-base publikoetan egin genuen, jarraian datozen irizpideak oinarri harturik: ahalik eta lagin-tamaina handiena edukitzea, potentzia estatistiko handiagoa izateko; emakumeetan soilik egindako azterketak izatea, endometriosisia emakumeek bakarrik pairatzen dutelako, eta europar jatorria edukitzea. Azken irizpidearen arrazoia zera da: 2SMR egiteko lagin homogeenak behar direnez, jatorri berekoak direnak erabili behar dira eta europarra da lagin-tamaina handieneko GWASak dituen jatorria. Hortaz, europar jatorriko emakumez osatutako lagin-tamaina handiekin eginiko GWASei lehentasuna eman genien, azterlan egokienak eskuratzeko asmoz. Era berean, endometriosiaren GWAS bat ere hautatu genuen.

## 2.2. BI LAGINEKO MR ANALISIA (2SMR)

Prozedura burutu ahal izateko, analisi estatistikora bideratuta dagoen *RStudio* programa erabili dugu, R programazio-lengoaian idatzitako *Two-sampleMR* paketea maneiatzeko<sup>(44)</sup>. Paketeak 2SMR metodoaren pausu bakoitza gauzatzeko funtzio ezberdinak ditu (**4. Irudia**). Paketea deskargatzea doakoa da eta jaisten den web-orrialde berean (<https://mrcieu.github.io/TwoSampleMR/>) haren programatzaileek prestatutako gida bat eskegita dago, paketearen nondik norakoak ulertu eta aplikatzeko argibideak ematen dituena.



**4. Irudia. 2SMR analisia burutzeko jarraitutako pausuen eskema.** Lehenengo, esposizio-datuak ordezkatu zituzten ezaugarri antropometriko eta menstrualen GWASak erauzi genituen, jarraian ondorio-datuak ordezkatu zituen endometriasiaren GWASa lortzeko, hau guztia *IEU GWAS database* eta *GWAS catalog* biltegi publikoetatik. Ondoren, bi taldeen datuak harmonizatu genituen eta, azkenik, 2SMR analisia gauzatu, test osagarriekin eta grafikoekin batera.

### 2.2.1. Esposizio-datuak

*Two-SampleMR* paketearekin batera datorren *MRInstruments* paketearen<sup>(44)</sup> esposizio-datu modura erabil daitezkeen GWASetako SNPak (edo bitartekariak) daude eskuragarri. Horrela, *IEU GWAS database* eta *GWAS catalog* datu-baseetako esposizio-datuak analisisetan erabiltzeko moduan atondu genituen, *extract\_instruments* eta *format\_data* funtzioak erabiliz, hurrenez hurren.

Gerta liteke esposizio-datu gisa lortutako SNPetako batzuk lotura-desorekan (*Linkage Disequilibrium* edo LD, ingelesez) egotea haien artean, hots, elkarrekin heredatzeko joera izatea. Hortaz, bitarteko independenteak edukitzeko, eskuratutako esposizio-datuak taldekatu (“*clump*”, ingelesez) genituen, *clump\_data* komandoa idatziz. Funtzio horrek elkarrekin heredatuak izateko joera handia duten SNPak taldekatzen ditu eta talde horretatik esanguratsuen dena soilik hautatzen du. Azken pausu hori ez zen beharrezkoa izan *IEU GWAS databasetik* lorturiko SNPekin, *extract\_instruments* funtzioak urrats hori barnebiltzen baitu. *GWAS catalogetik* lortutakoekin, aldiz, bai burutu behar izan genuela.

### 2.2.2. Ondorio-datuak

Jarraian, ondorio-datuak osatzeko *finn-a-N14\_ENDOMETRIOSIS* GWASaren emaitza laburbilduak eskuratu genituen, *IEU GWAS database*etik. Horretarako, *extract\_outcome\_data* funtzioaz baliatu ginen.

### 2.2.3. Harmonizazioa

Behin esposizio- eta ondorio-datuak jasota, konbinatu genituen, datu multzo bietan zeuden SNPen efektu-aleloak berdinak zirela ziurtatzeko, hau da, esposizioan eta ondorioan eragina edukiko zuten SNPen aleloak bietan berdinak izateko. Aipatutakoa *harmonise\_data* funtzioari esker egin genuen.

### 2.2.4. Ausazkotze mendeldarra, grafikoek prestaketa eta analisi osagarriak

Azkenik, bi lagineko ausazkotze mendeldarra (2SMR) egikaritu genuen, sortutako datu bateratuak analizatzeko, eta hau *mr* funtzioaren laguntzaz izan zen posible. *mr* komandoarekin taula bat sortzen da, esposizio eta ondorioaren artean asoziazioa dagoen edo ez eta asoziazioaren indarra zenbatekoa den adierazten duena. Emaitza horien adierazpen grafikoa *mr\_scatter\_plot* funtzioarekin eskuratu genuen, sakabanatze-diagramak eratzen dituena. Programak metodo estatistiko ezberdinen bidez lortutako 2SMR analisiaren emaitzak adierazten ditu eta guk alderantzizko bariantza haztatua (“*Inverse Variance Weighted*” edo IVW, ingelesez) metodoa aukeratu genuen gure emaitzak islatzeko, kausalitate erlazioak aztertzen direnean hau erabili ohi delako.

*mr* funtzio orokorraz gain, erabilitako paketeak hainbat analisi egiteko aukera ematen du, pleiotropia-testa kasu, *mr\_pleiotropy\_test* komandoaren bidez. Horrekin batera, SNPen banakako analisiaren testa ere exekutatu genuen, *mr\_singlesnp* funtzioarekin. Bertan, 2SMR analisisian erabilitako SNP guztiek esposizio eta ondorioaren arteko erlazioan duen eraginari buruzko informazioa jasotzen da, taula batean.

Bukatzeko, SNPen banakako analisisian lortutako p-balioak zuzentzeko, *p.adjust* komandoa erabili genuen, test ugari egitean sortutako ausazko probabilitatea baztertze asmoz. 2SMR orokorra egiterakoan, konparazio bat egiten dugu bi ezaugarriaren artean, euren arteko ezberdintasunak aurkitzeko asmotan, baina SNPen

banakako analisisia egiterakoan, konparaketa anitzak egiten ditugu, ezberdintasun esanguratsuenak dituzten SNPak identifikatzeko helburuarekin. Konparaketa edo test ugari egitean, aurkitutako emaitza esanguratsuak ausaz aurkitzearen probabilitatea igotzen da, eta hau guztia zuzentzeko, aipaturiko funtzioa erabili genuen.

SNPen banakako analisisian lortutako emaitzen inguruan gehiago ezagutzeko, aldaerok AEBtako Informazio Bioteknologikorako Zentro Nazionalaren (NCBI) web orrian (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?cmd=search>) eta hainbat artikulutan bilatu genituen, SNP hauengandik gertu dauden geneak zeintzuk diren ezagutzeko.

### 3. EMAITZAK

#### 3.1. ENDOMETRIOSIAREKIN ERLAZIONATUTAKO EZAUGARRI KONPLEXUAK

Aurretik esan bezala, bilaketa bat burutu genuen PubMed online tresnarekin, endometriosiarekin erlazionaturiko ezaugarri konplexu zehatzak aukeratzeko asmotan. Anitzak izan ziren bilaketa horrekin aurkitutako fenotipoak, izan ere, dagoeneko sarrera atalean aipatu den moduan, endometriosiarekin batera ager daitekeen ezaugarri ugari dago. Lana egituratzen hasteko, horietako zenbait hautatu genituen, bi multzo nagusitan sailkatuz: ezaugarri antropometrikoak (pisua, garaiera, GMI eta gerri-aldaka indizea) eta hilekoarekin erlazionatutako ezaugarriak (menarkia eta menopausiaren adinak, hileko arteko ziklo-luzera eta hileko-fluxuaren kantitate eta iraupena). Hautaketa horren arrazoa hurrengoia izan zen: fenotipo horiek izan ziren endometriosiarekin harreman estuena erakustez gainera, GWAS datu publikoak eta lagin-tamaina handienak izan zituztenak.

#### 3.2. 2SMR ANALISIA EGITEKO GWASak

Behin ezaugarriak erabakita, horietako bakoitzaren GWAS bat hautatu genuen (**1. Taula**), *IEU GWAS database* eta *GWAS catalog* biltegi publikoetan bilatuz. Horrela, 2SMR analisirako beharrezkoak ziren esposizio-datuak eskuratu genituen. Ezaugarri antropometriko eta menstrualekin bezala, endometriosiaren GWAS bat ere aukeratu genuen, ondorio-datuak ordezkatzeko zituena (**1. Taula**). Gure kasuan, publikoki eskuragarri zegoen aproposena *finn-a-N14\_ENDOMETRIOSIS* azterketa zen, *IEU*



*GWAS database* biltegian dagoen kohorte erako GWASa. Azterketa *FinnGen Study* proiektuaren barruan barnebiltzen da, Finlandiar bio-bankuen sare nazionaleko laginak erabiltzen dituena, haien informazio genomikoa Finlandiar osasun-arretako erregistroetako datuekin konbinatzeko. Egitasmoak gaixotasun askoren inguruko informazioa biltzeko aukera ematen du, haien artean endometriosisia.

**1. Taula.** Lanean aztertu diren fenotipoen zerrenda, bakoitzarentzat aukeratutako GWASarekin eta horri buruzko informazioarekin batera. Ikerketa hauek guztiak europar jatorriko emakumeetan soilik eginikoak dira.

Fenotipoa	GWASaren izena	Egilea, Urtea	Lagin-tamaina	SNP kopurua
<b>ESPOSIZIO-DATUAK</b>				
<b>Ezaugarri antropometrikoak</b>				
Pisua	ieu-a-974	J.C. Randall, 2013	73.137	2.747.007
Garaiera	ieu-a-107	J.C. Randall, 2013	73.137	2.748.546
GMI	ieu-a-75	A.E. Locke, 2015	171.977	2.494.613
Gerri-aldaka indizea	ieu-a-97	D. Shungin, 2015	118.003	2.466.102
<b>Ezaugarri menstrualak</b>				
Menarkia	ukb-b-3768	B. Elsworth, 2018	243.944	9.851.867
Ziklo-luzera	ukb-b-3278	B. Elsworth, 2018	43.125	9.851.867
Fluxu kantitate eta iraupena	ukb-b-11572	B. Elsworth, 2018	463.010	9.851.867
Menopausia	ukb-b-18105	B. Elsworth, 2018	211.114	9.851.867
<b>ONDORIO-DATUAK</b>				
Endometriosisia	finn-a-N14-	FinnGen, 2020	35.133	16.152.119
ENDOMETRIOSIS				

### 3.3. 2SMR ANALISI OROKORRAREN EMAITZAK

Ikerlan epidemiologikoen bidez endometriosiarekin erlazonaturiko fenotipoen artean neurri antropometriko ugari agertu izan dira, hala nola, pisua, garaiera, GMI eta gerri-aldaka indizea. Asoziazio horien oinarrian Genetikak parte hartzerik ba ote duen aztertzeko, **1. Taulako** GWASez baliatuz, 2SMR analisiak burutu genituen, pisua, garaiera, GMI eta gerri-aldaka indizea esposizio moduan hartuz eta endometriosisia ondorio bezala. Emaitzetan, patologia horrek pisuarekin erlazio genetiko estatistikoki esanguratsua duela ikusi genuen (**2. Taula**).

**2. Taulako** efektu-ingar edo beta balioei erreparatzen badiegu, esposizioak (ezaugarri antropometriko eta menstrualek) ondorioarengan (endometriosiarengan) duen efektuaren tamaina ikus dezakegu. Zentzu horretan, pisuaren efektua negatiboa da, hots, pisu baxuagoa edukitzeko joera endometriosisia garatzeko arrisku handiagoarekin erlazionatzen da (**5. Irudia**).

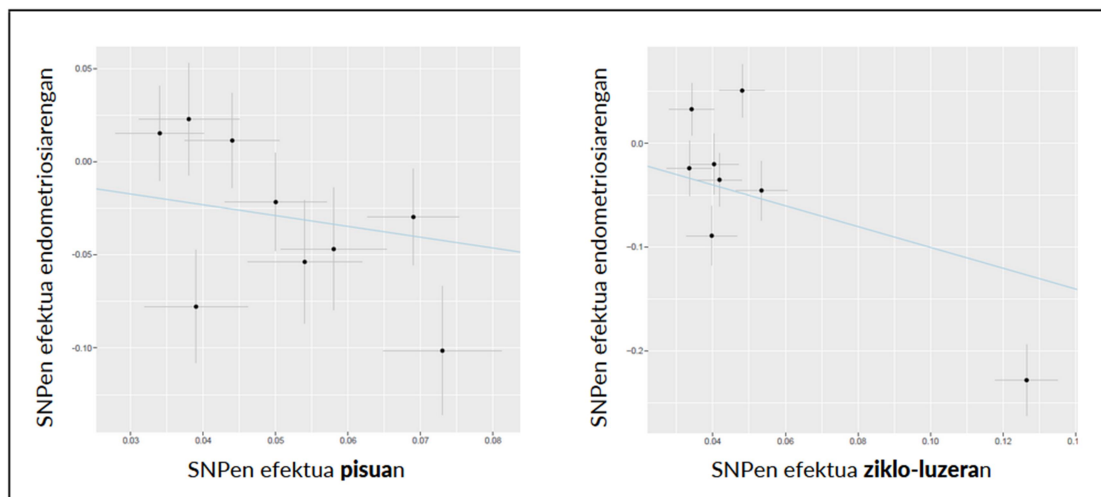
Neurri antropometrikoetatik aparte, endometriosisia hainbat ezaugarri menstrualekin ere erlazionatuta dago, menarkia eta menopausiaren adinak, hilekoaren ziklo-luzera eta hileko-fluxuaren kantitate eta iraupena kasu. Aurrekoen antzera, hauetako bakoitzak endometriosiarekin duen erlazio genetiko posiblea aztertzeko 2SMR analisiak gauzatu genituen. Kasu honetan, menarkia eta menopausiaren adinak, hilekoaren ziklo-luzera eta hileko-fluxuaren kantitate eta iraupena esposizio moduan eta endometriosisia ondorio moduan erabili genituen. Eraitzen arabera, ziklo-luzerak aurkeztu zuen asoziazio genetiko esanguratsua endometriosiarekin (**2. Taula**).

**2. Taulako** beta balioen arabera, hileko arteko iraupen laburragoak endometriosisia jasateko arriskua emendatzen du (**5. Irudia**). Esan beharra dago hileko-fluxuaren eta endometriosiaren arteko 2SMR analisiak SNP bakarra aurkitu zuela harremana bultzatzen eta, ondorio sendoak ateratzeko ezintasunagatik, ezaugarri horren emaitza orokorrak analitiko kanpo utzi ditugu.

**2. Taula. Ezaugarri antropometriko eta menstrual bakoitza esposizio bezala hartuta lortutako 2SMR analisiaren emaitzak.** Analisiarekin eskuratutako efektu-ingar edo beta balioak, errore estandarrak eta p balioak ageri dira. Emaitza estatistikoki esanguratsuak ( $p < 0,05$ ) beltzez markatuak.

Esposizioa	SNP kopurua <sup>a</sup>	Beta	Errore estandarra	p balioa
Pisua	9	<b>-0,579</b>	<b>0,239</b>	<b>0,015</b>
Garaiera	43	-0,025	0,104	0,808
GMI	31	-0,279	0,144	0,053
Gerri-aldaka indizea	18	-0,108	0,249	0,665
Menarkiaren adina	156	-0,315	0,169	0,061
Hilekoaren ziklo-luzera	8	<b>-1,004</b>	<b>0,403</b>	<b>0,013</b>
Menopausiaren adina	6	-1,883	1,042	0,070

<sup>a</sup>2SMR analisi bakoitzean esposizio eta ondorioaren arteko erlazioa bultzatu duten SNPen kopurua.



**5. Irudia. Pisu eta hilekoaren ziklo-luzera ezaugarrien sakabanatze-diagramak.** Bi hauek dira endometriosiarekin asoziazio genetiko estatistikoki esanguratsua erakutsi dutenak. Grafikoen maldek adierazten duten bezala, pisu baxuagoa eta ziklo-luzera laburragoak edukitzeko joera genetikoak endometriosisia garatzeko arriskua handitzen du.

### 3.4. PLEIOTROPIA ANALISIAK

Aurretik azaldutako analisiek ezaugarri ezberdinen eta endometriosiaren arteko erlazio genetikoari buruz soilik eskaini diezagukete informazioa, baina ezingo dugu harremana pleiotropikoa den jakin. Aukera hori ebaluatzeko, pleiotropia testak egikaritu genituen *RStudio*n. Emaitzek GMI eta endometriosiaren artean lotura pleiotropikoa dagoela erakutsi zuten eta gainontzeko ezaugarri guztien eta endometriosiaren arteko harreman pleiotropiko esanguratsurik ez zen identifikatu (**3. Taula**). Pisu eta ziklo luzeraren ezaugarriekin pleiotropia analisia esanguratsua ez izateak euren eta endometriosiaren artean erlazio kausalak egon litezkeela iradokitzen du.

3. Taula. Ezaugarri antropometriko eta menstrual bakoitzaren eta endometriosiaren arteko pleiotropia testen emaitzak. Emaitza estatistikoki esanguratsuak ( $p < 0,05$ ) beltzez markatuak.

Esposizioa	p balioa
Pisua	0,218
Garaiera	0,186
<b>GMI</b>	<b>0,035</b>
Gerri-aldaka indizea	0,259
Menarkiaren adina	0,378
Hilekoaren ziklo-luzera	0,098
Menopausiaren adina	0,329

### 3.5. SNP ESANGURATSUENEN BANAKAKO AZTERKETA

Esposizio eta ondorioaren arteko harreman genetiko orokorra aztertzeaz gain, harreman horretan SNP bakoitzak duen ekarpena ikusteko aukera ere ematen du 2SMRak (4. Taula). Neurri antropometrikoen analisisian, bi izan ziren estatistikoki esanguratsu suertatutako SNPak, bata pisuaren eta endometriosiaren arteko erlazioan (rs2867131, gene gertukoena: *TMEM18*) eta bestea gerri-aldaka indizearen eta endometriosiaren artekoan (rs193605, gene gertukoena: *RSPO3*). Ezaugarri menstrualei dagokienez, ostera, hurrengo SNPak lortu genituen: rs9397414 (gene gertukoena: *ARMT1* eta *CCDC170*), menarkia adinaren eta endometriosiaren arteko harremanean eragiten zuena, eta rs1702119 (gene gertukoena: *EEFSEC*), ziklo-luzerarekin lotua.

Aipatzekoa da, analisi honetan aurkitutako SNP esanguratsuena rs11031006 zela (gene gertukoena: *FSHB*). SNP hori bai menarkiaren adinaren bai hilekoaren ziklo-luzeraren ezaugarrietan agertu zen, esangura-maila oso altuarekin gainera. Gainera, fluxu kantitate eta iraupen ezaugarriaren 2SMRan beste SNP bat agertu zen (rs122778989), rs11031006rekin LDn dagoena.

4. Taula. 2SMR analisiaren banakako SNPen azterketan agertutako emaitza esanguratsuenak, SNP bakoitzaren informazioarekin.

SNP	Esposizioa	Beta (esp) <sup>a</sup>	Beta (ond) <sup>a</sup>	p balioa	FDR <sup>b</sup>	Genea <sup>c</sup>
rs2867131	Pisua	0,073	-0,101	3x10 <sup>-3</sup>	3,5x10 <sup>-2</sup>	<i>TMEM18</i>
rs193605	Gerri-aldaka indizea	0,044	0,093	2x10 <sup>-4</sup>	5x10 <sup>-2</sup>	<i>RSPO3</i>
rs9397414	Menarkia	-0,014	0,131	1,4x10 <sup>-6</sup>	2,6x10 <sup>-4</sup>	<i>ARMT1, CCDC170</i>
rs1702119	Ziklo-luzera	-0,040	0,089	1,6x10 <sup>-3</sup>	1,4x10 <sup>-2</sup>	<i>EEFSEC</i>
rs11031006 <sup>d</sup>	Menarkia	0,021	-0,228	2,4x10 <sup>-11</sup>	2,3x10 <sup>-8</sup>	<i>FSHB</i>
	Ziklo-luzera	0,126	-0,228	2,4x10 <sup>-11</sup>	1,5x10 <sup>-9</sup>	
rs12278989 <sup>d</sup>	Hilekoaren fluxua	-0,002	-0,221	2,7x10 <sup>-11</sup>	1,6x10 <sup>-10</sup>	<i>FSHB</i>

<sup>a</sup>SNPak esposizioan (esp) eta ondorioan (ond) duen beta balioa, hau da, duen efektuaren tamaina. <sup>b</sup>p balio zuzendua. <sup>c</sup>SNPetik gertuen dagoen genea. <sup>d</sup>rs11031006 eta rs12278989 SNPak lotura-desorekan daude.

#### 4. EZTABAIDA

Azken urte hauetan zehar, endometriosisia ohikoak diren fenotipo edo ezaugarri konplexu askorekin batera azaldu ohi dela aditzera eman dute ikerketa epidemiologiko ugari<sup>(2)</sup>. Askoz murrizagoak izan dira, ordea, asoziazio horren oinarri genetikoa ikertzen literaturan aurkitutako azterlanak. Esku artean daukagun lan honetan, bi lagineko ausazkotze mendeldar metodoa medio, endometriosiaren eta ohiko ezaugarri horien arteko lotura genetikoa aztertu dugu, lehenengo aldiz, guztiz publikoak diren GWAS azterketen datuak erabilia.

Lehenik eta behin, endometriosiaren eta hainbat neurri antropometrikoren arteko harremanari buruz gehiago jakiteko analisiak gauzatu genituen. Horietan, gaitzaren eta pisuaren arteko erlazio estatistikoki esanguratsua azaldu zitzaigun. Zehazki, pisu baxuagoak endometriosisia garatzeko arriskua handitzen duela erakutsi digute eskuratutako datuek, orain arte literaturan agertutako ebidentziak zioen bezalaxe<sup>(26)</sup>. Gainera, bi horien arteko loturaren oinarrian ez da pleiotropiarik aurkitu, hortaz, pisu baxua izatera baldintzatzen duten aldaera genetikoek endometriosiarengan eragin kausala izan dezaketela aditzera ematen dute gure datuek. Aipatzea GMI eta gaitzaren artean erlazio pleiotropikoa aurkitu dugula, bi hauek, kausala ez izan arren, harreman genetikoa eduki lezaketela iradokiz.

Honetaz gain, ezaugarri menstrual eta endometriosiaren arteko asoziazio genetikoak miatu genuen. Análisi honetan, gaixotasunak hilekoaren ziklo-luzerarekin lotura esanguratsua duela ikusi dugu, hain zuzen ere, ziklo-luzera laburrarekin lotutako predisposizio genetikoak endometriosisia pairatzeko aukera handitzen duela aurkitu dugu, sarreran aipatutako ebidentziak erakutsi moduan<sup>(29)</sup>. Beraz, hein batean behintzat, informazio hau bat dator hilekoarekiko esposizio handiagoak eritasuna azaltzeko aukerak emendatzen dituela defendatzen duen orain arteko teoriarekin<sup>(30)</sup>. Horrenbestez, eta jakinda hilekoaren ziklo-luzeraren eta endometriosiaren artean harreman pleiotropikorik ez dagoela, dagoeneko ezaguna zen bi hauen arteko loturaz haratago, lan honek lotura honek, hein batean behintzat, oinarri genetikoak duela aurkitu du. Hain zuzen ere, hilekoarekiko esposizio handiagoa eragiten duten aldaera genetikoak patologiarenekausetako bat izan liratekeela da gure ekarpena.

Kontrara, garaierak, gerri-aldaka indizeak, menarkia eta menopausiaren adinek eta hileko-fluxuak endometriosiarekin eduki dezaketeneka asoziazioari buruz ez dugu informazio sendorik lortu. Horrenbestez, ezin izan dugu ondorioztatu ezaugarri horien inguruan orain arte zenbait lanetan aurkitutakoak oinarri genetikoak duen.

Ezaugarrien eta endometriosiaren arteko harreman orokorrak alde batera utzita eta hauen erlazioaren arduradun diren aldaera genetiko zehatzetan zentratuta, hainbat SNP interesgarri aurkitu ditugula esan beharra dago. Pisuaren eta gaitzaren arteko asoziazioa bultzatzen, rs2867131 daukagu, pisua handitzearen eta endometriosiarekiko arriskua txikitzearen efektuak dituena. SNP honengandik gertu obesitaterako markatzaile genetikoak den *TMEM18* (mintz-zeharreko 18 proteina) genea daukagu. Ezaguna da obesitatea endometrio-minbizirako arrisku faktorea dela eta, honen harira egindako ikerketa batean, *TMEM18* genea minbizi hau izateko aukerarekin erlazionatu zen<sup>(45)</sup>. Halaber, gene horrek menarkia adinean ere eragina duela baieztatu da<sup>(46)</sup>. Hortaz, orain arte gene horren eta endometriosiaren artean erlazio zuzenik aurkitu ez den arren, endometrio-minbiziarekin eta menarkiarekin lotura daukala bai ikusi da. Horrek guztiak argi uzten du gorputzeko gantz kantitatearen, hilekoaren berezitasunen eta endometrioko asalduren artean oinarri genetikoak duten harreman estuak daudela, lan honek berretsi duen bezala.

SNPen banakako analisiarekin jarraituz, gerri-aldaka indizearekin erlazionatutakoei dagokienez, rs193605 azaldu zaigu, bai indizea eta bai endometriosisia edukitzeko arriskua handitzen dituen (indize altuagoak gorpuzkera androidea adierazten du). Aipatu beharko litzateke, gure emaitzetan agertutakoaren kontrara, literaturan endometriosisia gerri-aldaka indize baxuarekin (gorpuzkera ginekoidearekin) lotu izan dela. Hala ere, oso aurkikuntza mamitsua izan da, SNPetik gertu dagoen genea, *RSPO3* (R-spondin-3 proteina kodetzen duena), endometriosiarekin lotura edukitzeaz gain<sup>(27, 47)</sup>, emakume eta gizonen arteko gantz banaketaren ezberdintasunekin erlazionatu baita, emakumeetan eragin handiagoa omen duelarik<sup>(48)</sup>. Horrek iradokitzen du aldaera genetiko horrek, *RSPO3* genearengan eragitekotan, emakumeen gantz antolaketa molda lezakeela, endometriosisia aurkezteko joera handitzearekin batera. Hala ere, oraindik ez dakigu gantz antolaketak endometriosisia eragiten duen (harreman kausala duten) edo, oinarri genetiko amankomuna izanda ere, lotura pleiotropikoa duten.

Ezaugarri menstrualetan aurkitutako SNPen artean rs9397414 daukagu menarkia adinarekin egindako analisisian, *ARMT1* eta *CCDC170* geneetatik gertu dagoena. *ARMT1* (hondakin azidoen 1 metiltransferasa) geneak kodetutako proteina metiltransferasa da, hots, DNA metilatzeaz arduratzen da. Horrela, geneen eskuragarritasuna aldarazten du eta, ondorioz, euren adierazpen-maila handitu edo txikitu liteke. Jakina da endometrio-ehunaren DNA-metilazio aberrantearekin erlazionatua izan dela endometriosisia, ikerlan batean hainbat metiltransferasa gaixotasun honekin lotu direlarik<sup>(49)</sup>. Eritasuna *ARMT1* metiltransferasarekin zuzenean lotu ez den arren, lan honetan egindako aurkipeak iradokitzen du endometriosiarekin erlazionatutako metiltrasferasen artean egon litekeela.

*CCDC170* (helize superkiribildu eremua daukan 170 proteina) geneak, berriz, oraindik ezezaguna den funtzioa du. Dena den,  $\alpha$  estrogeno-hartzailea kodetzen duen *ESR1* genearekin batera erregulatzen dela behatu da, beraz, sexu hormonekin nolabaiteko lotura duela susmatzen da<sup>(50)</sup>. Hau horrela, zenbait azterlanetan *CCDC170* endometriosiarekin zein hormona-menpeko bularreko minbiziarekin erlazionatu da<sup>(50, 51)</sup>. Horrenbestez, badirudi gene horrek, guztiz argi ez dagoen bide batetik, sexu hormoneen bideetan aldaketak bultzatzen dituela, menarkia adina

aurreratuz eta hormona menpeko gaitz ginekologikoak (bular-minbizia eta endometriosisia kasu) eraginez.

2SMR analisiarekin aurkitutako beste SNP esanguratsuetako bat rs1702119 izan da, hilekoaren ziklo-luzeraren eta endometriosiaren asoziazioaren bitartekarietako bat hain zuzen. SNP hori hileko arteko denbora laburragoarekin dago erlazionatua, baita endometriosisia izateko joera handiagorekin ere. SNPak gertuen daukan genea *EEFSEC* da eta honek endometriosiarekin lotura erakutsi du, haurdunaldiko iraupenarekin eta menarkia adinarekin harremana izatearekin batera. *EEFSEC* geneak kodeturiko proteinak, selenozisteina tRNAren espezifikoa den elongazio faktore eukariotikoak, selenoproteinen (glutation peroxidasa eta tioredoxina erreduktasa, besteak beste) eraketan parte hartzen du. Azken horiek zelulen homeostasirako funtsezkoak dira, errebox estatusa mantentzeaz, defentsa antioxidatzaileaz eta hantura-erantzuna modulatzeaz arduratzen baitira<sup>(52)</sup>. Nabarmendu dugu dagoeneko hanturak eta endometriosiak lotura estua dutela eta esan genezake, lortutako emaitzen arabera, haurdunaldiaren iraupenarekin eta ezaugarri menstrualekin (menarkia eta ziklo-luzera) erlazionatuta dagoen *EEFSEC* geneak endometriosiaren patogeniaren oinarrian dagoen hantura-erantzun kronikoan ekarpen txiki bat izan lezakeela.

Azkenik, rs11031006 SNPari buruz mintzatu behar gara, menarkiaren adinaren zein hilekoaren ziklo luzeraren eta endometriosiaren arteko loturan parte hartzen duen aldaera genetikoa. Hilekoaren fluxu kantitatearen ezaugarriaren analisisian ez da SNP hori azaldu, baina berarekin lotura-desorekan dagoen bat agertu zaigu (rs12278989). DNA sekuentziaren aldaera horiek hormona folikulu estimulatzailearen  $\beta$  unitatea kodetzen duen *FSHB* genetik daude gertuen. Gene hori endometriosiari erlazionaturiko gene garrantzitsuetako bat da<sup>(51, 53)</sup>.

rs11031006 SNPak zehazki endometriosiarekin duen erlazioa baieztatzen duten azterlanak ere badaude. Horietako batean, polimorfismo horrek *FSHB* proteinak  $\alpha$  estrogeno-hartzailearekin lotzeko duen eremua eraldatzen duela aurkitu da, horrela atzeraelikadura bidezko inhibizio hormonal gerta daitekeela proposatzen dutelarik<sup>(54)</sup>. *FSHB* geneak, besteen artean, LH (hormona luteinizatzaile) eta FSH hormonon mailetan, menarkia eta menopausiaren adinetan eta endometriosisia eta



obulutegi polikistikoaren sindromea bezalako eritasun ginekologikoetan eragiten duela ikusi da<sup>(55)</sup>. Lan honetan, gene horrek, eta zehazki SNP horrek, hormonengan duen eraginaren ondorioz, ezaugarri menstrual eta hainbat gaitz ginekologikotan (endometriosisa kasu) esku hartzen duela indartu ahal izan dugu.

Ikerlan honen abantaila nabarmenetako bat 2SMR analisisia publikoak diren datuak erabiliz aurrera eraman dugula da. Prozesu osoa burutzeko erabilitako programa (*RStudio*) eta pakete ezberdinak (*TwoSampleMR*, *MRInstruments*, etab.), baita hauek maneiatzen ikasteko gidak ere, doakoak eta publikoak dira. Modu berean, MRa egin ahal izateko behar genituen esposizio- eta ondorio-datu guztiak *IEU GWAS database* eta *GWAS catalog* biltegi publikoetan eskuragarri zeuden GWASetatik atera genituen. Lanean jarraitu ditugun pausu guztiak edonork jarrai ditzake, guk lortutako emaitzak oso errepikakorrek bihurtuz. Datu publikoak erabiltzerakoan, beste ikerketatan lortutako emaitzak baliozkotu, ondorio berriak ateratzeko dagoeneko existitzen diren datuak berraztertu eta hipotesi berriak kaleratu daitezke, hau guztia modu efizientean gauzatuz. Pribatua ez den jakintzarekin lan egiteak era horretako jakintza gehiago sortzea dakar, guztion eskura dagoen ezagutza zientifikoa eratuz.

Hau esanda, ezin dugu ahaztu datu publikoak erabiltzeak muga batzuk ere badituela. Hasteko, esposizio-datuak lortzeko erabilitako GWASek ez dituzte lagin-tamaina oso handiak (horretan emakumeetan soilik burututako ikerketak behar izateak ere eragin du) eta, gainera, europar jatorriko pertsonetan egindako GWASak dira ohikoenak eta lagin-tamaina handienak dituztenak, honenbestez, lortutako emaitzak europar jatorria ez duten emakumeetara zabaltzearekin kontuz ibili beharko ginateke. Halaber, ondorio-datuak lortzeko egokiena izango litzatekeen kasu-kontrol motako GWAS bat badago, baina datuak ez dira oraindik publiko egin. Hortaz, gure irizpideetara hoberen egokitutako hurrengo azterketa aukeratu behar izan genuen. Honegatik guztiagatik, interesgarria litzateke lan honetako analisiak berregitea, datu osatuago eta egokiagoak dituzten azterketak publikoak egiten direnean, ikusteko ea guk lortutako emaitzak baliozkotzen diren edo ez.

Bukatzeko, aipatzea aurkitutako emaitzek (edota emaitza hauek oinarri hartuta gerora lor daitezkeen emaitza berriek) praktika klinikoan eduki lezaketen erabilgarritasuna sakonago aztertzea jomuga duten ikerlanak ere egitea interesgarria litzatekeela.

Azken finean, lan honekin endometriosisia edukitzeko arriskua handitzen duten faktoreak aurkitu ditugu, gaitza daukaten emakumeak identifikatzen lagundu gaitzaketenak. Esaterako, geureganatutako informazioarekin, badakigu pelbiseko minagatik kontsultatzen duten pazienteek pisu baxua edota hileko-ziklo laburrak dituztenean euren jarraipena arreta handiagoz egitea probetxugarria izan litekeela. Honen inguruan ikertzen jarraitzeak endometriosisia pairatzen duten emakumeen egunerokotasunean onurak eduki litzake etorkizun hurbilean.

## 5. ONDORIOAK

Gutziz publikoak diren datuak eta 2SMR metodoa erabiliz, endometriosiaren eta berarekin erlazionaturiko ohiko ezaugarri konplexuen Genetika amankomun posiblea aztertu duen lehen analisi sistematikoa da hau. Lan honi esker, pisu baxua eta hilekoaren ziklo laburrak, Genetika tartean dela, endometriosiaren kausa direla ezagutu dugu. Halaber, asoziazio genetiko kausal hori bultzatzen duten hainbat aldaera genetiko (SNP) identifikatu ditugu. Aurkitutako ebidentzia horrek endometriosiaren inguruan eta zehazki emakumeon osasunean aurrerapausoak emateko balio diezaguke.

## 6. BIBLIOGRAFIA

1. Ginekologia eta Obstetriziaren Espainiako Elkarte (SEGO). Endometriosis. *Prog Obstet Ginecol*. 2014;57(9):436-444.
2. Zondervan KT, Becker CM, Missmer SA. Endometriosis. *N Engl J Med*. 2020;382(13):1244-1256.
3. Shafrir AL, Farland LV, Shah DK, Harris HR, Kvaskoff M, Zondervan KT, et al. Risk for and consequences of endometriosis: A critical epidemiologic review. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018;51:1-15.
4. Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 1997;24(2):235-258.
5. Reese KA, Reddy S, Rock JA. Endometriosis in an adolescent population: the Emory experience. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 1996;9(3):125-128.

6. Laufer MR, Goitein L, Bush M, Cramer DW, Emans SJ. Prevalence of endometriosis in adolescent girls with chronic pelvic pain not responding to conventional therapy. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 1997;10(4):199-202.
7. Zondervan KT, Becker CM, Koga K, Missmer SA, Taylor RN, Viganò P. Endometriosis. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4(1):9.
8. Practice Bulletin No. 114: Management of Endometriosis. *Obstet Gynecol*. 2010;116(1):223-236.
9. Leyland N, Casper R, Laberge P, Singh SS, Allen L, Arendas K, et al. Endometriosis: Diagnosis and Management. *J Endometr Pelvic Pain Disord*. 2010;2(3):107-134.
10. Vercellini P, Viganò P, Somigliana E, Fedele L. Endometriosis: pathogenesis and treatment. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(5):261-275.
11. Dunselman GAJ, Vermeulen N, Becker C, Calhaz-Jorge C, D'Hooghe T, De Bie B, et al. ESHRE guideline: management of women with endometriosis. *Hum Reprod*. 2014;29(3):400-412.
12. Fedele L, Berlanda N, Corsi C, Gazzano G, Morini M, Vercellini P. Ileocecal endometriosis: clinical and pathogenetic implications of an underdiagnosed condition. *Fertil Steril*. 2014;101(3):750-753.
13. Mortlock S, Kendarsari RI, Fung JN, Gibson G, Yang F, Restuadi R, et al. Tissue specific regulation of transcription in endometrium and association with disease. *Hum Reprod*. 2020;35(2):377-393.
14. Seear K. The etiquette of endometriosis: Stigmatisation, menstrual concealment and the diagnostic delay. *Soc Sci Med*. 2009;69(8):1220-1227.
15. Gallagher JS, DiVasta AD, Vitonis AF, Sarda V, Laufer MR, Missmer SA. The Impact of Endometriosis on Quality of Life in Adolescents. *J Adolesc Health*. 2018;63(6):766-772.
16. O'Hara R, Rowe H, Fisher J. Self-management factors associated with quality of life among women with endometriosis: a cross-sectional Australian survey. *Hum Reprod*. 2021;36(3):647-655.
17. Namazi M, Behboodi Moghadam Z, Zareiyan A, Jafarabadi M. Exploring the impact of endometriosis on women's lives: A qualitative study in Iran. *Nurs Open*. 2020.

18. Missmer SA, Tu FF, Agarwal SK, Chapron C, Soliman AM, Chiuve S, et al. Impact of Endometriosis on Life-Course Potential: A Narrative Review. *Int J Gen Med.* 2021;14:9-25.
19. Nnoaham KE, Hummelshoj L, Webster P, d'Hooghe T, de Cicco Nardone F, de Cicco Nardone C, et al. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries. *Fertil Steril.* 2011;96(2):366-373.
20. Krebs E, Schoenbauer KV. Hysterics and Heresy: Using Dialogism to Explore the Problematics of Endometriosis Diagnosis. *Health Commun.* 2020;35(8):1013-1022.
21. Maddern J, Grundy L, Castro J, Brierley SM. Pain in Endometriosis. *Front Cell Neurosci.* 2020;14:590823.
22. Quintero MF, Vinaccia S, Quiceno JM. Endometriosis: Aspectos Psicológicos. *Rev Chil Obstet Ginecol.* 2017;82(4):447-452.
23. Parazzini F, Esposito G, Tozzi L, Noli S, Bianchi S. Epidemiology of endometriosis and its comorbidities. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2017;209: 3-7.
24. Viganò P, Somigliana E, Panina P, Rabellotti E, Vercellini P, Candiani M. Principles of phenomics in endometriosis. *Hum Reprod Update.* 2012;18(3):248-259.
25. Shah DK, Correia KF, Vitonis AF, Missmer SA. Body size and endometriosis: results from 20 years of follow-up within the Nurses' Health Study II prospective cohort. *Hum Reprod.* 2013;28(7):1783-1792.
26. Farland LV, Missmer SA, Bijon A, Gusto G, Gelot A, Clavel-Chapelon F, et al. Associations among body size across the life course, adult height and endometriosis. *Hum Reprod.* 2017;32(8):1732-1742.
27. Rahmioglu N, Macgregor S, Drong AW, Hedman AK, Harris HR, Randall JC, et al. Genome-wide enrichment analysis between endometriosis and obesity-related traits reveals novel susceptibility loci. *Hum Mol Genet.* 2015;24(4):1185-1199.
28. Nnoaham KE, Webster P, Kumbang J, Kennedy SH, Zondervan KT. Is early age at menarche a risk factor for endometriosis? A systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Fertil Steril.* 2012;98(3):702-712.

29. Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, Barbieri RL, Malspeis S, Willett WC, et al. Reproductive History and Endometriosis Among Premenopausal Women. *Obstet Gynecol.* 2004;104(5):965-974.
30. Giudice LC. Endometriosis. *N Engl J Med.* 2010;362(25), 2389–2398.
31. Coleman L, Overton C. GPs have key role in early diagnosis of endometriosis. *Practitioner.* 2015;259(1780):13-17.
32. Ruth KS, Beaumont RN, Tyrrell J, Jones SE, Tuke MA, Yaghootkar H, et al. Genetic evidence that lower circulating FSH levels lengthen menstrual cycle, increase age at menopause and impact female reproductive health. *Hum Reprod.* 2016;31(2):473-481.
33. Boneva RS, Lin J-MS, Unger ER. Early menopause and other gynecologic risk indicators for chronic fatigue syndrome in women. *Menopause.* 2015;22(8):826–834.
34. Boyle EA, Li YI, Pritchard JK. An Expanded View of Complex Traits: From Polygenic to Omnigenic. *Cell.* 2017;169(7):1177-1186.
35. Saha R, Pettersson HJ, Svedberg P, Olovsson M, Bergqvist A, Marions L, et al. Heritability of endometriosis. *Fertil Steril.* 2015;104(4):947-952.
36. Treloar SA, O'Connor DT, O'Connor VM, Martin NG. Genetic influences on endometriosis in an Australian twin sample. *Fertil Steril.* 1999;71(4):701-710.
37. Chou Y-C, Chen M-J, Chen P-H, Chang C-W, Yu M-H, Chen Y-J, et al. Integration of genome-wide association study and expression quantitative trait locus mapping for identification of endometriosis-associated genes. *Sci Rep.* 2021;11(1):478.
38. Iniesta R, Guinó E, Moreno V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gac Sanit.* 2005;19(4):333-341.
39. Frayling TM. Genome-wide association studies: the good, the bad and the ugly. *Clin Med.* 2014;14(4):428–431.
40. Anaya Chávez Y, Martínez B. Estudios de asociación mediante rastreo genómico y su contribución en la genética del asma. *Salud Uninorte.* 2010;26(2):223-231.
41. Haycock PC, Burgess S, Wade KH, Bowden J, Relton C, Davey Smith G. Best (but oft-forgotten) practices: the design, analysis, and interpretation of Mendelian randomization studies. *Am J Clin Nutr.* 2016;103(4):965-978.

42. Zheng J, Baird D, Borges M-C, Bowden J, Hemani G, Haycock P, et al. Recent Developments in Mendelian Randomization Studies. *Curr Epidemiol Rep.* 2017;4(4):330–345.
43. Davey Smith G, Hemani G. Mendelian randomization: genetic anchors for causal inference in epidemiological studies. *Hum Mol Genet.* 2014;23(1):89-98.
44. Rasooly D, Patel CJ. Conducting a Reproducible Mendelian Randomization Analysis Using the R Analytic Statistical Environment. *Curr Protoc Hum Genet.* 2019;101(1):e82.
45. Delahanty RJ, Beeghly-Fadiel A, Xiang Y-B, Long J, Cai Q, Wen W, et al. Association of Obesity-related Genetic Variants With Endometrial Cancer Risk: A Report From the Shanghai Endometrial Cancer Genetics Study. *Am J Epidemiol.* 2011;174(10):1115-1126.
46. Elks CE, Perry JRB, Sulem P, Chasman DI, Franceschini N, He C, et al. Thirty new loci for age at menarche identified by a meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet.* 2010;42(12):1077-1085.
47. Uimari O, Rahmioglu N, Nyholt DR, Vincent K, Missmer SA, Becker C, et al. Genome-wide genetic analyses highlight mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling in the pathogenesis of endometriosis. *Hum Reprod.* 2017;32(4):780-793.
48. Heid IM, Jackson AU, Randall JC, Winkler TW, Qi L, Steinthorsdottir V, et al. Meta-analysis identifies 13 new loci associated with waist-hip ratio and reveals sexual dimorphism in the genetic basis of fat distribution. *Nat Genet.* 2010;42(11):949–960.
49. Naqvi H, Ilagan Y, Krikun G, Taylor HS. Altered genome-wide methylation in endometriosis. *Reprod Sci.* 2014;21(10):1237-1243.
50. Dunning AM, Michailidou K, Kuchenbaecker KB, Thompson D, French JD, Beesley J, et al. Breast cancer risk variants at 6q25 display different phenotype associations and regulate ESR1, RMND1 and CCDC170. *Nat Genet.* 2016;48(4):374-386.
51. Sapkota Y, Steinthorsdottir V, Morris AP, Fassbender A, Rahmioglu N, De Vivo I, et al. Meta-analysis identifies five novel loci associated with endometriosis

- highlighting key genes involved in hormone metabolism. *Nat Commun.* 2017;8:15539.
52. Zhang G, Feenstra B, Bacelis J, Liu X, Muglia LM, Juodakis J, et al. Genetic Associations with Gestational Duration and Spontaneous Preterm Birth. *N Engl J Med.* 2017;377(12):1156-1167.
53. Angioni S, D'Alterio MN, Coiana A, Anni F, Gessa S, Deiana D. Genetic Characterization of Endometriosis Patients: Review of the Literature and a Prospective Cohort Study on a Mediterranean Population. *Int J Mol Sci.* 2020;21(5):1765.
54. Matalliotakis M, Zervou MI, Matalliotaki C, Rahmioglu N, Koumantakis G, Kalogiannidis I, et al. The role of gene polymorphisms in endometriosis. *Mol Med Rep.* 2017;16(5):5881-5886.
55. Laisk T, Kukuškina V, Palmer D, Laber S, Chen C-Y, Ferreira T, et al. Large-scale meta-analysis highlights the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the genetic regulation of menstrual cycle length. *Hum Mol Genet.* 2018;27(24):4323-4332.