

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

# Plazentatik Alzheimerrez besteko dementziara ausazkotze mendeldar azterketaren bidez

Egilea /Autor:

**Nerea Santisteban Goiri**

Zuzendaria / Director/a:

**Nora Fernández Jiménez / Jose Ramón Bilbao Catalá**



2023, Nerea Santisteban Goiri

## **ESKER ONAK**

Hasteko, Nora Fernández eta Jose Ramón Bilbao tutoreei eskerrak eman nahiko nizkieke, proiektuan zehar gidari izateagatik eta beti zalantzak argitzeko prest egoteagatik.

Nire familiari ere eskerrak eman nahiko nizkioke, euren pazientziagatik, nire ardurak entzuteagatik eta eman dizkidaten iradokizun interesgarriengatik.

Azkenik, eskerrak eman nahi dizkiet unibertsitateko lagunei, eskaini didaten laguntzaz gain, haiengatik sei urte hauetako esperientzia politagoa eta berezia izan delako.

## LABURPENA

Populazioaren zahartzearekin batera, dementziaren mundu mailako prebalentziak gora egiten du etengabe, eta heriotza-kausa garrantzitsua izateaz gain, ezgaitasunaren eta mendekotasunaren kausa nagusietako bat da. Bere eragile ohikoena Alzheimer gaitza (AG) den arren, dementzia frontotemporal (DFT) eta Lewy gorputzen dementzia (LGD) ere kausa garrantzitsuak dira, eta osagai genetiko sendoa dute. Jaio aurreko inguruneak neurogarapena baldintzatzen du, eta dementzia bezalako neuroendekapenezko gaixotasunen jatorria neurogarapenera itzuli daitekeela proposatu da. Gainera, umetoki barneko inguruneak plazentaren funtzioa aldarazten du, DNAREN metilazioa (DNAm) bezalako mekanismo epigenetikoaren bidez. Plazenta umekia, ama eta kanpo ingurunearen arteko zubia izanik, jaio aurreko inguruneak neurogarapenean dituen efektuak ulertzeko giltzarri da. Horrenbestez, lan honen helburua DFT eta LGDren arrisku genetikoaren zati bat plazentaren DNAm profilen eraginez gertatzen den aztertzea da. Horretarako, SMR programaren bidez, ausazkotze mendeldarreko ikerketa egin genuen, gure taldeak burututako plazentako metilazioaren ezaugarri kuantitatiboaren lokusen (mQTL) datu basea eta DFT eta LGDren GWAS publiko bana erabiliz. Ez genuen DFTrekin erlazio estatistiko esanguratsua zuen CpG-rik aurkitu. Ordea, LGDrekin asoziazioa duen cg15133208 aurkitu genuen ( $P_{SMR\_Bonferroni} < 0.05$ ), arrisku-gene ezaguna den *SNCA* genean kokatua. Beraz, ezin da baztertu neurogarapenak, plazentako aldaketa epigenetikoak bitartekari izanik, epe luzera DFT eta LGD garatzeko arriskuarengan eragina duenik, eta aurkitutako ebidentzia hau etorkizuneko ikerketen oinarri izan daiteke.

**Hitz gakoak:** dementzia frontotemporal, Lewy gorputzen dementzia, ausazkotze mendeldarra, mQTL, plazenta.

## **LABURDUREN HIZTEGIA**

**AG:** Alzheimer Gaitza.

**DFT:** Dementia Frontotenporala.

**DNAm:** DNAREN Metilazioa.

**DPG:** Dementziadun Parkinson Gaixotasuna.

**eQTL:** Gene Adierazpenaren Ezaugarri Kuantitatiboen Lokusa.

**EWAS:** Epigenoma Osoko Asoziazio Ikerketa.

**GWAS:** Genoma Osoko Asoziazio Ikerketa.

**LGD:** Lewy Gorputzen Dementia.

**mQTL:** Metilazioaren Ezaugarri Kuantitatiboen Lokusa.

**MR:** Ausazkotze Mendeldarra.

**SNP:** Nukleotido Bakarreko Polimorfismoa.

**SPECT:** Fotoi Bakarraren Igorpen Bidezko Tomografia Konputerizatua.

## AURKIBIDEA

<b>1. SARRERA</b> .....	1
<b>1.1. DEMENTZIA</b> .....	1
<b>1.1.1. Dementia frontotemporal (DFT)</b> .....	1
<b>1.1.2. Lewy gorputzen dementia (LGD)</b> .....	3
<b>1.2. GENOMA OSOKO ASOZIAZIO IKERKETAK (GWASAK)</b> .....	5
<b>1.3. DNA-REN METILAZIOA ETA EZAUGARRI KUANTITATIBOEN LOKUSAK (QTL)</b> .....	7
<b>1.4. AUSAZKOTZE MENDELDARRA (MR)</b> .....	9
<b>1.4.1. SMR</b> .....	9
<b>1.5. PLAZENTA ETA NEUROGARAPENA</b> .....	10
<b>2. MATERIALA ETA METODOAK</b> .....	12
<b>2.1. PLAZENTAREN cis-mQTL DATU BASEA</b> .....	12
<b>2.2. GWASEN AUKERAKETA</b> .....	12
<b>2.3. SMR</b> .....	13
<b>2.4. GENEEN BILAKETA BIBLIOGRAFIKOA</b> .....	14
<b>3. EMAITZAK</b> .....	14
<b>4. EZTABAIDA</b> .....	16
<b>5. ONDORIOAK</b> .....	21
<b>6. BIBLIOGRAFIA</b> .....	21

## **1. SARRERA**

### **1.1. DEMENTZIA**

Nahaste neurokognitibo nagusia edo dementzia, gutxienez, kognizioaren eremuetako baten narriadura esanguratsua da, funtzio exekutiboa, arreta konplexua, hizkuntza, ikaskuntza, memoria, pertzepzio-motrizitatea eta kognizio soziala barne (1). Narriadurak aldaketa iraunkorra eta progresiboa dakar pazientearen aurreko gaitasun mailarekiko. Narriadura kognitiboaz gain, pazienteak funtzionatzeko eta eguneroko zereginak egiteko duen gaitasuna ere hondatu behar da.

Egun, dementziaren mundu mailako prebalentzia 55 milioi pertsonakoa da, eta urtero ia 10 milioi kasu berri gertatzen dira (2). Populazioan adinekoen proportzioa ia herrialde guztietan handitzen ari denez, 2050erako, zenbaki hori 139 milioira igotzea espero da. Kasuen kopurua ez ezik, haren eragina ere azpimarratzekoa da. Dementzia gaixotasun guztien artean zazpigarren heriotza-kausa baita, eta desgaitasunaren eta mendekotasunaren kausa nagusietako bat, mundu osoko adinekoen artean.

Hainbat gaixotasunek eragin dezakete nahaste neurokognitibo nagusia, haien artean kausa nagusia Alzheimer gaitza (AG) delarik, dementzia kasu guztien %60-80 eragiten baitu (2-4). Beste dementzia mota garrantzitsu batzuk dementzia baskularra, dementzia frontotemporal (DFT) eta Lewy gorputzen dementzia (LGD) dira (2). Dementzia baskularren arriskuarekin lotutako inguruneko faktoreak ondo definituta dauden arren, bere oinarri genetikoaren ikerketak oso urriak dira (5). Ondorioz, lan honetan, azken biak ditugu aztergai.

#### **1.1.1. Dementzia frontotemporal (DFT)**

##### **1.1.1.1. Epidemiologia**

DFTak dementzien %10-20 eragiten du mundu mailan (6), eta dementzia goiztiarren artean, hau da, 65 urtetik behera hasten direnen artean, bigarren kausa ohikoena da AGren atzetik (6,7). Zehazki, 45 eta 65 urte arteko taldean, 100.000 pertsonako 15-22 pazienteko prebalentzia du (8). Hala ere, DFT duen biztanleria osoa zehaztea zaila da, arrisku populazioaren tamaina handiarekin alderatuta, gaitzaren maiztasuna txikia

delako. Gainera DFTren eboluzioan zehar, AGren sintomak agertzen hasi ohi dira, diagnostiko diferentziala egitea zailduz (7).

#### 1.1.1.2. Semiologia eta diagnostikoa

Izenak dioen bezala, lobulu frontalen eta tenporalen endekapenaren ondoriozko sindrome-multzoa da, ez entitate kliniko bakarra (7). Bi azpimota bereizten dira: portaera-azpimota (“*behavioral variant frontotemporal dementia*” edo *bvFTD* ingelesez) eta hizkuntza-azpimota (“*primary progressive aphasia*” edo *PPA* ingelesez), lobulu frontalaren edo lobulu tenporalaren kaltea nagusitzen denean, hurrenez hurren. DFT motoneuronaren gaitzekin (ingeleseko “*motor neuron disease*” edo *MND*) ere gainjarri daiteke, DFT-MND izeneko azpitaldea sortuz (6).

Portaera azpimotaren sintoma nagusiak desinhibizioa, sozialki desegokia den portaera, empatia galera, hiperoralitatea, apatia eta emozioak adierazteko zailtasuna dira, kognizioko alterazioak ere azaldu ahal diren arren (8).

Bestetik, hizkuntza-azpimotak bi sindrome kliniko barne hartzen ditu: azpimota semantikoa (“*semantic variant primary progressive aphasia*” edo *svPPA*) eta ez-jariakorra (“*nonfluent variant primary progressive aphasia*” edo *nfvPPA*) (7). Sindrome biek hizkuntzaren urritasuna dute ezaugarri, baina kokapen neurologikoan eta aurkezpen klinikoan desberdintasunak dituzte.

Diagnostikoaren oinarria anamnesia eta azterketa neuropsikologiko sakonean datza, baina neuroirudi probetan atrofia frontotenporala, hipoperfusioa edota hipometabolismoa aurkitzeak diagnostiko klinikoa sendotzen du (8). Hala ere, kognizio eta funtzio galera sor dezaketen beste gaitzak baztertu behar dira, diagnostiko diferentzian patologia psikiatrikoak ere kontuan hartuz.

#### 1.1.1.3. Etiopatogenia

DFTren patologia molekularra oso heterogeneoa da (6). Azpimota guztietan neurona galera eta gliosi astrozitikoa ikusten dira, baina proteinen prozesamenduan eta proteina espezifikoen ez-ohiko biltegitratzean bereizten dira (8). Hala ere, neuroendekapenaren

kokapenak proteinopatia motak baino korrelazio hobe dauka aurkezpen klinikoarekin (9).

Lau proteina nagusik parte hartzen dute DFTn: pazienteen %40k Tau proteinaren patologia aurkezten dute, pazienteen %50 inguruk TDP (“*transactive response DNA-binding protein*”) proteinaren patologia dute eta azken %10ek FUS (“*fused in sarcoma*”) proteinaren edo UPS (“*ubiquitin/p62*”) UPS proteinaren inklusioak dituzte (6,8).

#### 1.1.1.4. Genetika

DFTak osagai genetiko sendoa du. Izan ere, kasuen %30-50ean gutxienez senide batek antzerako sintomatologia du, eta kasuen %10-23an herentzia patroia autosomiko gainartzailearekin heredatzen da familian zehar (9,10). Gaixotasuna familiarra denean, portaera-azpimota azaldu ohi da (7).

Azterketa genetiko molekularretan hiru arrisku-gene nagusi identifikatu dira: mikrotubuluei lotutako Tau proteina (*MAPT*), granulina (*GRN*) eta *C9orf72* (4,5). Harez gain, kasu gutxiagotan, mutazioak aurkitu dira *CHMP2B*, *VCP* eta *UBQLN2* geneetan (6,8,9). *MAPT* genearen mutazioak Tau-proteinopatiekin lotuta daude, aldiz, *GRN*, *VCP* eta *C9orf72* geneen mutazioek TDP motako aldaketa histologikoak eragiten dituzte (8).

### 1.1.2. Lewy gorputzen demenzia (LGD)

#### 1.1.2.1. Epidemiologia

LGD neuroendekapenezko demenziaren bigarren kausa prebalenteena da 65 urte baino nagusiagoetan (11), demenzia guztien %5-7 (12,13). Kasu gehienak 70 eta 85 urte bitartean agertzen dira eta LGD garatzeko arriskua handiagoa da gizonen artean (13,14). Hala ere, datu epidemiologikoak lortzea zaila da, gainjartze nabarmena baitago demenzia baskularren, AGren eta LGDren artean (14–16).



### 1.1.2.2. Semiologia eta diagnostikoa

LGD klinikoki heterogeneoa den gaixotasun neurodegeneratiboa da, narriadura kognitibo progresiboa eta fluktuatzailea, sintoma motore parkinsoniarrak, ikusmen-haluzinazioak eta REM loaren jokabide nahastea ezaugarri nagusitzat dituena (14–16). AGrekin alderatuz, epe laburreko memoria galera ez da hain nabaria, baina ikus-espazioko eremuan, arretaren eta funtzio exekutiboen defizitak nabarmenagoak dira (14).

LGD kontzeptuak bi entitate kliniko barne hartzen ditu: Lewy gorputzak dituen demenzia (LGD) eta demenziadun Parkinson gaixotasuna (DPG) (14). Biak espektriko kliniko-patologiko berdinean dauden arren, sintoma kognitiboen eta sintoma motoreen agerpenaren denbora erlazioan desberdintzen dira (12,14). Bien arteko muga urte betean ezarria dago, beraz, funtzio motorearen galera narriadura kognitiboa baino gutxienez urte bat lehenago agertzen bada, DPG diagnostikatzen da, eta alderantziz (14). Alabaina, gaixotasunaren fase aurreratuetan, ia ezinezkoa da elkarrengandik eta beste demenzia mota batzuegandik bereiztea.

Diagnostikorako anamnesia, azterketa neurologikoa eta normalizatutako eskalak erabili behar dira, aipatutako ezaugarri nagusietatik gutxienez bi bete behar direlarik (13,14,16). Honez gain, dopaminaren garraiatzaileen aktibitatea fotoi bakarraren igorpen bidezko tomografia konputerizatu (SPECT, ingeleseko “*Single photon emission computed tomography*”) bidez neurtzea lagungarria da, putamenean eta nukleo kaudatuan murriztuta egon ohi baita (14). Hala ere, eskuarki onartzen da LGD oso azpidiagnostikatua dagoela, azterketa klinikoetan deskribatutako prebalentzia nabarmen txikiagoa delako ikerketa-zentroetako demenzia dutenen autopsien emaitzekin alderatuta (%7,5 eta %20-25, hurrenez hurren).

### 1.1.2.3. Etiopatogenia

Bai LGD zein DPG  $\alpha$ -sinukleinopatiak dira.  $\alpha$ -sinukleina proteinaren metaketa disolbaezinak gertatzen dira neuronon zitoplasman, Lewy gorputzak eta Lewy neuritak izenekoak (11,13–15). Inklusio hauek mitokondrioen kaltea eta zatikatzea eragiten dute, neuronon apoptosia eraginez (14). Prozesua nerbio sisteman zehar hedatzeko

mekanismoa ez da ezaguna, baina orain arteko ebidentziak  $\alpha$ -sinukleinarene patologia zelulatik zelulara zabal daitekeela iradokitzen du (13).

#### 1.1.2.4. Genetika

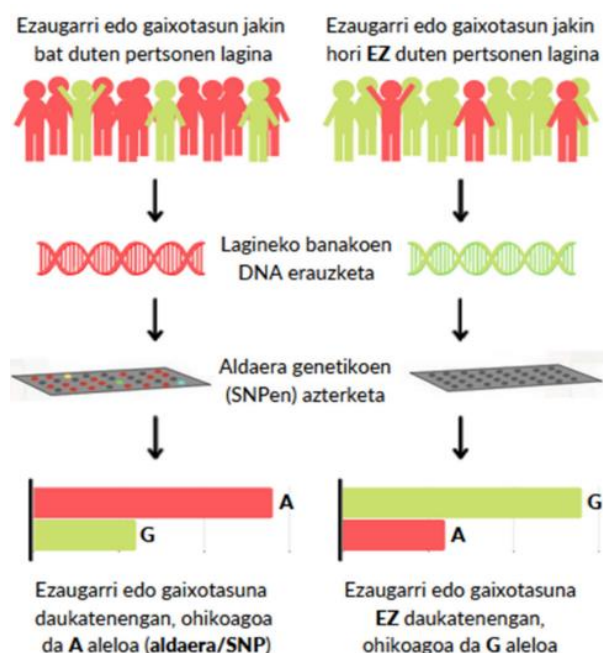
LGDren kasu gehienak esporadikoak diren arren, familia-agregazioaren zantzuak daude eta herentzia autosomiko gainartzailea duten kasuak ere deskribatu dira (13,14). Ezagunak diren arrisku-gene garrantzitsuenak hiru dira:  $\alpha$ -sinukleina (*SNCA*), *LRRK2* eta A glukozerebrosidasa (*GBA*). *GBA* genearen mutazioen eramaileek LGD garatzeko arriskuaz gain, dementzia lehenago azaltzeko arriskua dute (14). Gene hauen mutazioak LGD eta Parkinson gaixotasunaren espektro kliniko-patologikoko edozein gaixotasun modura aurkez daitezke (13). Horiez gain, ez-ohikoagoak diren mutazioak deskribatu dira *SCARB2* eta E apolipoproteina (*APOE*) geneetan (13,14). Zehazki, *APOE* genearen  $\epsilon 4$  aleloa, AGren arrisku faktore sendoa dena, LGDren kasu esporadikoetan kontroletan baino maiztasun altuagoan ikusten da, AGren eta LGDren neuropatologian gainjartzea dagoen ideiarekin bat datorrena.

## 1.2. GENOMA OSOKO ASOZIAZIO IKERKETAK (GWASAK)

FTD eta LGD herentzia poligenikoa duten gaixotasun konplexuak dira. Esan bezala, familia-agregazio nabarmena dute, baina gene anitzek parte hartzen dute beren etiopatogean, eta ingurumen faktoreek ere zeresan handia dute haien agerpen eta garapenean (10,15). Gaixotasun konplexuak aztertzeko, genoma osoaren asoziazio ikerketak (ingelesez, “*Genome-Wide Association Studies*” edo GWAS) erabiltzen dira (17).

GWASen helburua ezaugarri edo gaixotasun espezifiko bati asoziatutako genom-eskualdeak identifikatzea da. Horretarako, aztertu nahi den gaixotasun edo ezaugarria duten eta ez duten pertsonak genotipatzen dira, banako bakoitzaren milioika aldaera genetiko ikertzeko (**1. Irudia**). Honetarako *microarray* hibridazio teknika erabiltzen da. Aztertzen diren aldaera genetikoak nukleotido bakarreko polimorfismoak edo SNPak (ingelesez “*Single-nucleotide Polymorphism*”) izan ohi dira, hau da, genomaren kokapen zehatz bateko nukleotidoaren base nitrogenatuaren aldaera arruntak. SNP bakoitzak izan ditzakeen aldaeretako bakoitzari alelo deritzogu.

Ondoren, gaixotasun edo ezaugarria duen taldearen (kasuak) eta ez duenaren (kontrolak) artean, SNP bakoitzaren aleloen maiztasunak alderatzen dira (**1. Irudia**). Horrela, bi taldeen artean alelo batek duen maiztasunaren desberdintasuna estatistikoki esanguratsua bada, SNP hori aztertutako gaixotasun edo ezaugarriarekin asoziatuta dagoela esan daiteke. GWASetan lortzen diren emaitzak datu-base publikoetan eskuragarri egon ohi dira, hala nola, GWAS catalog eta IEU GWAS database.



**1. Irudia. Genoma osoko asoziazio ikerketen (GWASen) eskema.** Gaixotasun edo ezaugarri konplexu bat duten eta ez duten taldeen DNA laginak erazten dira. Ondoren, lagin bakoitzaren aldaera genetikoak (SNPak) aztertzen dira eta bi taldeen arteko aleloen maiztasunaren konparazioa egiten da. Horrela, gaixotasun edo ezaugarri horren garapenean eragina izan lezaketen SNPak identifikatzen dira. Irudia Garitazelaia A. (2021) (18) lanetik moldatua.

DFTren kasuan, aurretik ezagunak ziren *MAPT*, *GRN*, *C9orf2*, *CHMP2B*, *VCP* eta *UBQLN2* geneez gain, 2014ean Ferrari eta kideek burututako GWASean bi lokus potentzial berri identifikatu zituzten DFTerako: *RAB38/CTSC* barne hartzen duen 11q14 lokusa, portaera-azpimotarekin erlazio iradokitzailea duena, eta HLA eremua barne hartzen duen 6p21.3 lokusa, kohorte osoan estatistikoki esanguratsua dena (6).

RAB38 proteinak bitartekari moduan jokatzen du lisosomen eta fagosomen proteinen trafikoan. CTSC lisosomako proteinasak immunitate eta hantura prozesuetan parte hartzen du, fagozitosian esaterako. Bestetik, mQTL datuek erakutsi zuten HLA eremuko arriskua HLA-DRAren metilazio mailaren aldaketekin lotuta dagoela kortex frontalean. Beraz, aurkikuntza horiek iradokitzen dute immunitate-sistemaren prozesuak (6p21.3 sistemarekiko lotura) eta beharbada, bide lisosomalak eta autofagiari lotutakoak (11q14 sistemarekiko lotura) ere DFTn inplikaturik egon daitezkeela (6,19). Gainera, eQTL eta mQTL datuen analisiak lokus horiek geneen adierazpenean eta metilazioan eragina izan zezaketela erakutsi zuen.

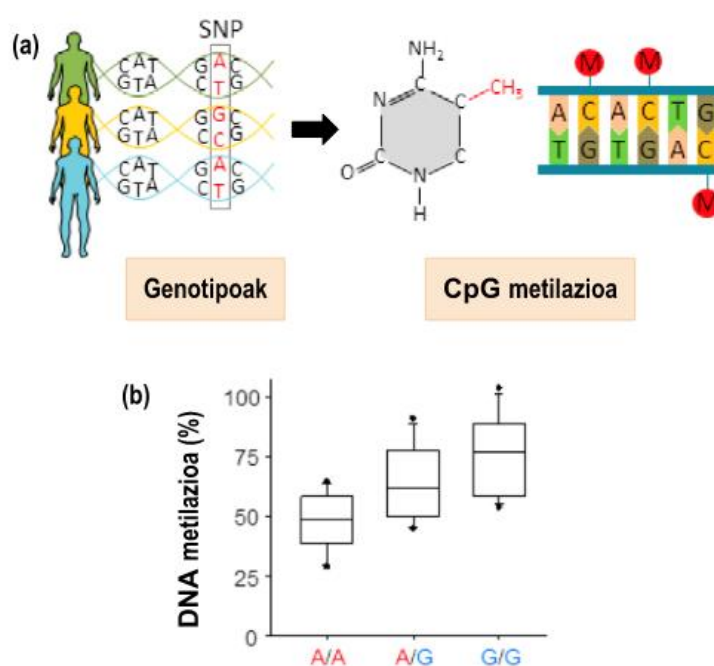
Bestetik, LGDren kasuan, Chia eta kideek 2021ean burututako GWASean bost lokus estatistikoki esanguratsu identifikatu ziren (15). Seinale horietako hiru, LGDren arriskuan aurretik ezagunak ziren lokusetan kokatuta zeuden, *GBA*, *APOE* eta *SNCA* geneen barruan. Gainerako seinaleak, *BINI* eta *TNEN175* geneetan kokatuak, LGDren arrisku-lokus berriak ziren. Aipatzekoa da lokus horiek adinarekin zerikusia duten beste gaixotasun neurodegeneratibo batzuetan ere parte hartzen dutela, AGEan (*BINI*) eta Parkinson gaixotasunarekin (*TMEM175*) alegia. Gainera, arrisku genetikoko puntuazioek LGDk AGEkin eta Parkinson gaixotasunarekin arrisku-profilak eta bideak partekatzen dituela erakutsi zuten.

### **1.3. DNA-REN METILAZIOA ETA EZAUGARRI KUANTITATIBOEN LOKUSAK (QTL)**

Aldaketa epigenetikoek ehunen adierazpen genikoa erregulatzeko funtzioa dute, DNAREN eta transkripzio-faktoreen zein beste proteina erregulatzailerik batzuen arteko loturan eraginez, beti ere DNA sekuentzian aldaketarik eragin gabe. Aldaketa epigenetiko ezagunenetakoa DNAREN metilazioa (DNAm) da. DNA metilatzea CpG dinukleotido batean dagoen zitosinari metilo talde bat gehitzean datza, eta metilazioak geneen adierazpenaren murriztea eta isiltzea ekartzen duela uste izan ohi da. Giza genomak 28 milioi CpG inguru dauka, gehienak metilatuta (20).

Ezaugarri kuantitatiboaren lokusak (ingelesez “*quantitative trait locus*” edo *QTL*) ezaugarri konplexuen aldaketa fenotipikoekin lotutako eskualde genetikokoak dira. Horien artean daude geneen adierazpenaren ezaugarri kuantitatiboaren lokusak (eQTL),

adierazpen genikoaren mailarekin asoziatzen diren lokusak, alegia. Bestetik, metilazioaren ezaugarri kuantitatiboen lokusak (mQTL) ere ezagunak dira, DNAm metilazio mailekin asoziatzen direnak (**2. Irudia**). Gainera, lokus zehatzetan, DNAm beste sekuentziaren menpe egon daiteke, eta beraz, lokus jakin bateko genotipo indibidualek metilazio-patroi desberdinak sor ditzakete CpG horretan (21). Metilazioaren aldaketa pairatzen duen CpGtik gertu dauden lokusei cis-mQTL deritzegu; aldiz, CpG horretatik urrun edo beste kromosoma batean kokatzen direnei, trans-mQTL deritzegu.



**2. Irudia. mQTL-en azalpen grafikoa.** (a) Lokus jakin batean banako bakoitzak duen genotipoak CpG posizio bateko metilazio-patroiean eragin dezake. (b) Lokus horretako alelo konbinazio bakoitza DNA metilazio mailarekin erlazionatzen da. Adibide honetan, A aleloarentzako homozigotoak diren pertsonen DNA metilazio gutxiago erakusten dute G aleloarentzako homozigotoekin edo heterozigotoekin alderatuz. Irudia Hoffman A. eta kideen (2016) (22) lanetik moldatuta.

Gure taldeak berriki MedRvix plataformara igorritako azken lanaren arabera (egun *Nature Communications* aldizkarian errebisioan), plazentako cis-mQTLetan neurogarapenarekin eta osasun mentalearekin lotutako bidezidorren aberaste handia

dago, eta gainera, cis-mQTL hauek plazentaren oso espezifikoak dira (23). Bestetik, cis-mQTLak tresna indartsuak izan litezke, beste era batera identifika ezin genitzakeen gaixotasunekiko eta ezaugarri konplexuekiko erlazio genetikoak agerian jartzeko (21).

#### 1.4. AUSAZKOTZE MENDELDARRA (MR)

Faktore kausalen eta ondorioen arteko eragina aztertzerakoan, ikerketa esperimentaletan alborapen eta nahaste faktore ugari eman ohi dira. Hauek saihesteko asmoz, ausazkotzea eta ikerketa lagina handitzeko estrategiak erabili izan dira. Ausazkotze mendeldarra (ingelesez “*Mendelian Randomization*” edo “MR”) lagina handitu gabe arazo hau gainditzeko erabili daitekeen metodo estatistikoa da.

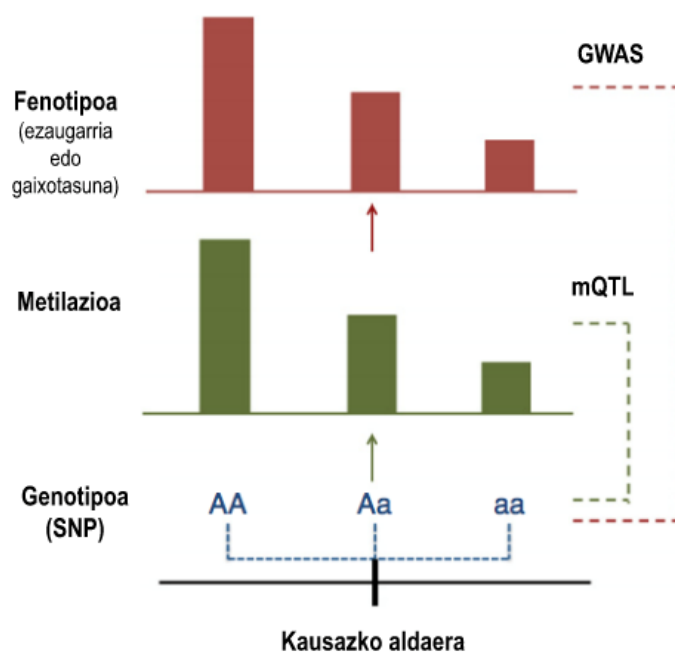
MR metodoak aldaera genetikoak aldagai instrumental gisa erabiltzen ditu, esposizio eta ondorioaren arteko erlazio kausal posiblea aztertzeko, behaketa ikerketen datuetan oinarrituta. Hau da, GWASetan aztertutako aldaera genetikoak (SNPak) erabiltzen ditu gene baten adierazpen edo metilazio mailek ezaugarri edo gaixotasun batengan eragin kausala duen aztertzeko (**3. Irudia**). Horrela, aurkitutako emaitzak nahaste-faktoreen menpe ez daudela, eta beraz, fidagarriak direla, suposatu daiteke. Izan ere, SNPen aleloak zoriz banatzen dira banakoen artean (24,25).

Erabilitako aldagai instrumentalek hiru arau bete behar dituzte: esposizio-faktorearekin lotuta egon behar dute (adierazgarritasun-kasua), ez dute emaitzarekin kausa komun bat partekatu behar (independentzia-kasua), eta ezin diote emaitzari eragin aztertzen ari den esposizioaren bidez ez den beste era batera (bazterketa eta murrizketa kasua) (25).

##### 1.4.1. SMR

Hainbat MR mota dago, baina gaur egun erabiltzen den arrakastatsuenetako bat SMR (ingelesez, “*Summary-based mendelian randomization*”) da, GWASen laburpen-estatistikak eta eQTL edo mQTL ikerketen datuak batzen dituena. Zehazki mQTLen kasuan, helburua ezaugarri konplexu baten eta CpG posizio konkretu baten metilazio mailen arteko pleiotropiaren bidezko harremana identifikatzea da. Horrela, SNP batek fenotipoan duen eragina DNAm bidez gertatzen den egiaztatzeko balio du. SMRn,

ezaugarri fenotipikoa ondorioa da, DNAm esposizioa, eta cis-mQTL nagusiak, gene-metilazioarekin lotura handia duten aldaerak, aldagai instrumentalak dira (26) (3. Irudia).



**3. Irudia. Genotipoaren eta fenotipoaren arteko lotura DNAm-ren bidez.** SMR metodoan egiaztatu nahi den kausalitate-eredua, non fenotipoaren desberdintasuna genotipoaren aldaerek eragiten duten, DNA metilazioa bitartekaria delarik. Irudia Zhu Z. eta kideen (2016) (27) lanetik moldatua.

### 1.5. PLAZENTA ETA NEUROGARAPENA

Neurogarapena nerbio sistemaren sorrera eta heltze prozesu konplexua da. Prozesu honetan ematen diren kalteek hainbat gaixotasunen agerpen eta bilakaeran eragin handia dutela frogatu da. Esaterako, autismoaren espektroko nahasmenen, dislexiaren, arreta-defizitaren eta hiperaktibitatearen nahasmenduaren eta gaixotasun psikiatrikoen jatorriaren atal bat neurogarapenean dagoela ikasi da (28,29).

Bestetik, jakina da jaio aurreko estresak umetoki barruko ingurunearen kalitate txarra eragiten duela, eta oso lotuta dagoela gaixotasun kardiobaskular eta metabolikoekin, baita portaeraren eta neurogarapenaren nahasmenduekin ere (30). Plazenta umekia,

ama eta kanpo ingurunearen arteko zubia izanik, jaio aurreko ingurumenak neurogarapenean dituen efektuak ulertzeko giltzarri da. Gainera, aurrerago bizitzan zehar agertuko diren gaixotasunengan eragina izan dezake, neurogarapenaren nahasmenak barne (23).

Ikerlan ugari proposatu du umetoki barneko inguruneak, plazentaren funtzioa aldarazten duela mekanismo epigenetikoaren bidez (31,32). Metilazioari dagokionez, aipatzekoa da plazentak DNAm profil bereziak dituela. Izan ere, DNAm modu bimodalean banatzen da ehun eta zelula-mota gehienetan, non CpG bakoitza erabat metilatuta edo batere metilatu gabe dagoen. Plazentaren kasuan, berriz, DNAm-k banaketa trimodala jarraitzen du, partzialki metilatutako domeinuak nahiz tarteko metilazio-mailak dituzten CpG posizioak ugariak direlako (33).

Orain arte egindako AGren GWASik handiena 2019an argitaratu zuten Jansen eta kideek (34). Bertan, AGren eta zenbait gaixotasun neuropsikiatrikoren artean erlazio genetikoa zegoela ondorioztatu zuten. Gaixotasun hauek eskizofrenia, neurotizismoa, sintoma depresiboak, insomnia eta nahaste bipolarra ziren. Gaixotasun guzti hauek oinarri genetiko amankomun bat izan dezakete, eta beraien jatorria neurogarapenean egon daitekeela proposatu da.

Bestetik, gure taldearen azken lanaren arabera, eskizofrenia, nahaste bipolarra eta depresioa plazentaren metilazio patroiekin lotuta daude, hau da, gaitz hauek izateko joera genetikoaren parte bat plazentan adierazten da (23). Gainera, plazentaren espezifikoa diren mQTLak eskizofrenian eta beste patologia neuropsikiatrikoetan aberastuta daudela aurkitu da, baina baita gaitz neurodegeneratiboetan ere (AG, adibidez). Horregatik, plazentaren metilazio patroiek, gaixotasun neuropsikiatrikoen gain, neuroendekapenezko gaixotasunetan ere eragina dutela proposatzen dugu (23).

Aurretik aipatu bezala, DFT eta LGD dementziek AGrekin gainjartze kliniko eta bide etiopatogeniko amankomunak izateaz gain, patologia hauen oinarri genetikoaren arteko erlazioak ere deskribatu dira hainbat lanetan. Esaterako, DFTrekin lotutako *TOMM40* lokusak (6,35,36) zein LGDrekin lotutako *BINI* lokusak (15), AGrekin ere erlazionatu dira. AGren arrisku faktore sendoa den *APOE*ren  $\epsilon 4$  aleloa bai DFT zein LGDrekin erlazionatu da (6,14).



Hau guztia kontuan hartuta, plazentaren, neurogarapenaren eta DFT zein LGD moduko dementzien arteko erlazioa badagoela pentsa daiteke. Beraz, lan honen hipotesia da plazentaren DNAm profilek epe luzera DFT eta LGD moduko nahaste neurodegeneratiboak garatzeko arriskuarengan eragina izan dezaketela. Ondorioz, lan honen helburua, MR-z baliatuz, DFT eta LGDren arrisku genetikoaren zati bat plazentaren DNAm-aren bidez ematen den aztertzea da. Horretarako, SMR erabili genuen DFT eta LGDren GWAS bana (6,15) plazentako mQTLen datu base batekin alderatzeko.

## **2. MATERIALA ETA METODOAK**

### **2.1. PLAZENTAREN cis-mQTL DATU BASEA**

Lan honetan, gure taldearen MedRxiv lanean argitaratutako plazentaren cis-mQTL datu-basea erabili genuen, [https://smari.shinyapps.io/shiny\\_mqtl\\_placenta/](https://smari.shinyapps.io/shiny_mqtl_placenta/) webgunean eskuragarri dagoena. Lan honetan, mQTLak “*Infancia y Medio Ambiente*” (INMA) kohorteko 368 plazenta laginetan kalkulatu genituen. Horrela, plazentaren DNAm-ari buruzko datuak lortu genituen Illuminaren EPIC *array*-en bidez, eta genoma osoaren genotipoari buruzko datuak, aldiz, Illuminaren GSA *array*-en bidez. mQTLak TensorQTL softwarearekin kalkulatu genituen, koaldagai gisa umekiaren sexua, genotipatze-datuen lehen bost osagai nagusiak eta plazenta-laginen zelula mota desberdinen proportzioaren estimazioa erabilita. Guztira, 7.921.914 cis-mQTL-ek ( $P < 5 \times 10^{-8}$ ) osatzen dute gure datu-basea, 110.721 CpG eta 1.900.580 SNP bakarrekin. Datu base honen gainerako ezaugarriak eta kalkulurako erabilitako tresna guztiak lanean deskribatuta daude (23).

### **2.2. GWASEN AUKERAKETA**

Bigarren pausoa, DFT eta LGDren GWAS bana bilatzea izan zen. Bilaketa hau lehen aipaturiko GWAS catalog (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>) datu-base publikoan egin genuen, Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) eta Google Scholar-ekin (<https://scholar.google.es/>) osatuz. Aurkitutako GWASen artean aukeratzeko irizpide

nagusia laginaren tamaina ahalik eta handiena izatea izan zen, potentzia estatistiko handiagoa izateko.

DFTren GWASa Ferrari eta kideek (2014) burutu zuten. Bi faseko GWAS horretan, DFTdun 3526 paziente eta 9402 kontrol aztertu zituzten, guztiak europar jatorrikoak. Aurkikuntza-fasean (2154 paziente eta 4308 kontrol), azpimota bakoitzarentzat asoziazio-analisi independenteak egin zituzten (bvFTD, svPPA, nvPPA, FTD-MND) eta, ondoren, datu-multzo osoaren metaanalisia (6).

LGDren GWASa Chia eta kideek (2021) burutu zuten. Guztira europar jatorriko 6618 lagin erabili zituzten, horien artean 2591 kasu eta 4027 kontrol. Beste kohorte independente batean erreplikazioa egin ostean, datu guztien metaanalisia burutu zuten. Halaber, gene-agregazioaren probak burutu zituzten, eta AGren eta Parkinson gaixotasunaren arrisku-aldarek LGDri eragiten dizkioten ekarpen erlatiboak ikertu zituzten (15).

GWASen laburpen-estatistikoak aurkitu eta deskargatu ondoren, plazentako mQTL datu basearekin batera, SMR egin genuen.

### 2.3. SMR

SMR programak datuen formatu zehatza eskatzen du analisia egiteko. Horrenbestez, R studio erabili genuen aukeratutako bi GWASetako datu publikoak formateatzeko, gure taldeak garatutako script propioak baliatuz (37).

SNP anitzetan oinarritutako SMR analisia egin genuen (SMR-multi) SMR softwarearen bidez, lehenetsitako parametroekin. Lehenbizi, SMR-multik  $P < 5 \times 10^{-8}$  betetzen zuten *cis* eskualdeko SNP guztiak hautatu zituen (CpGtik gehienezko 0.5Mb-ko distantziara). Ondoren, asoziazio sendoena zuen SNParekin lotura-desoreka (*Linkage disequilibrium* edo LD, ingelesez) oso handian zeuden ( $r^2 > 0.9$ ), hau da, elkarrekin heredatzeko joera zuten SNPak, ezabatu zituen. Jarraian, gainontzeko SNPetan esposizioak (DNAm) ondorioaren (LGD eta DFT) gain duen kausazko eragina estimatu zuten. Horretaz gain, HEIDI (ingeleseko “*Heterogeneity in Dependent Instruments*”) proba burutu zen. Proba honek *cis*-mQTL eskualde bateko SNP anitz erabiltzen ditu pleiotropia eta lotura bereizteko. HEIDIk SNP anitzetarako

estimatutako emaitza-balioen heterogeneotasuna egiaztatu zuen cis-mQTL eskualdean. Emaitzak lortzeko, plazentaren DNAm eta DFT eta LDGren arteko asoziazio pleiotropiko iradokitzaileak hautatu ziren, hau da,  $P_{SMR} < 5 \times 10^{-5}$  (SMR probaren P balioa) eta  $P_{HEIDI} > 0,05$  (HEIDI probaren P balioa) (heterogeneotasunik gabe) betetzen zutenak. Amaitzeko,  $P_{SMR}$  Bonferroni bidez zuzendu zen. Horrela, plazentaren DNAm eta DFT zein LGDren arteko asoziazio pleiotropiko esanguratsuek Bonferroni bidez zuzendutako  $P_{SMR} < 0,05$  zutenak kontsideratu ziren. SMR-multi analisisia hautatutako bi GWASekin egin zen, plazenta mQTL datu-basearekin batera.

#### 2.4. GENEEN BILAKETA BIBLIOGRAFIKOA

SMRaren emaitzak lortu eta gero, DFT eta LGDrekin erlazionatutako CpG adierazgarrienak UCSC (*University of California Santa Cruz*, <https://genome.ucsc.edu>) bilatzaile genomikoan bilatu genituen, gertueneko geneak aurkitzeko. Ondoren, gene hauen bilaketa egin genuen Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) bilatzailean, haien funtzio fisiologikoa, DFT eta LGDrekin duten erlazioa eta neurogarapenean duten funtzioa hobeto ulertzeko.

### 3. EMAITZAK

SMR bidez DFTren GWASa plazentako mQTLekin alderatzean ez genuen estatistikoki esanguratsua zen erlazorik aurkitu. Hala ere, **1. Taulan** azaltzen den moduan, bi posiziotan emaitza iradokitzaileak identifikatu genituen. Hain zuzen ere, 6. kromosoman kokatutako cg24009529 eta 14. kromosoman kokatutako cg18003662 posizioak. Bilatzaile genomikoen bidez, bi CpG hauen hurbileneko geneak *PPT2* eta *SYNE3* direla aurkitu genuen, hurrenez hurren.

**1. Taula. DFTren GWASa plazentako mQTLekin alderatzean lortutako emaitzen laburpena.** Analisiarekin eskuratutako beta balioak, errore estandarrak eta P balioak ageri dira.  $P_{SMR\_Multi} < 5 \times 10^{-5}$  eta  $P_{HEIDI} > 0.05$  betetzen duten CpG-ak, hau da, iradokitzaileak direnak beltzez adierazi dira.

#### DEMENTZIA FRONTOTENPORALA

CG	Posizioa	Genea <sup>a</sup>	b_SMR <sup>b</sup>	ee_SMR <sup>b</sup>	P_SMR_Multi	P_HEIDI
cg23184690	19:45422946	<i>APOC1P1</i>	-9.656	2.514	1.648x10 <sup>-05</sup>	NA
cg23184690	6:32589791	<i>HLA-DRB6</i>	0.507	0.769	1.752x10 <sup>-05</sup>	7.568x10 <sup>-04</sup>
cg08269402	6:32589791	<i>HLA-DRB1</i>	-0.186	0.282	2.326x10 <sup>-05</sup>	3.056x10 <sup>-02</sup>
<b>cg24009529</b>	<b>6:32146997</b>	<b><i>PPT2</i></b>	<b>-51.347</b>	<b>14.783</b>	<b>3.485x10<sup>-05</sup></b>	<b>9.911x10<sup>-02</sup></b>
<b>cg18003662</b>	<b>14:95916119</b>	<b><i>SYNE3</i></b>	<b>6.060</b>	<b>1.929</b>	<b>3.967x10<sup>-05</sup></b>	<b>3.033x10<sup>-01</sup></b>
cg18003662	6:32429011	<i>HLA-DRB5</i>	1.545	0.371	4.084x10 <sup>-05</sup>	3.062x10 <sup>-03</sup>

<sup>a</sup>CpG bakoitzaren hurbileneke genea. <sup>b</sup>Beta balioa edo asoziazioaren efektuaren tamaina edo indarra. <sup>c</sup>Errore estandarra.

LGDren kasuan aldiz, asoziatuta dagoen cg15133208 CpGa identifikatu genuen, **2. Taulan** ageri den bezala. 4. kromosomako CpG honen gene hurbilena *SNCA* genea da, **4. Irudian** ikusten den bezala. Honez gain, gene berdinarekin erlazionatutako beste 4 emaitza iradokitzaile aurkitu genituen. Horien artean, cg01966878 Bonferroni bidez zuzendutako  $P_{SMR} < 0.05$  izatetik oso hurbil zegoen.

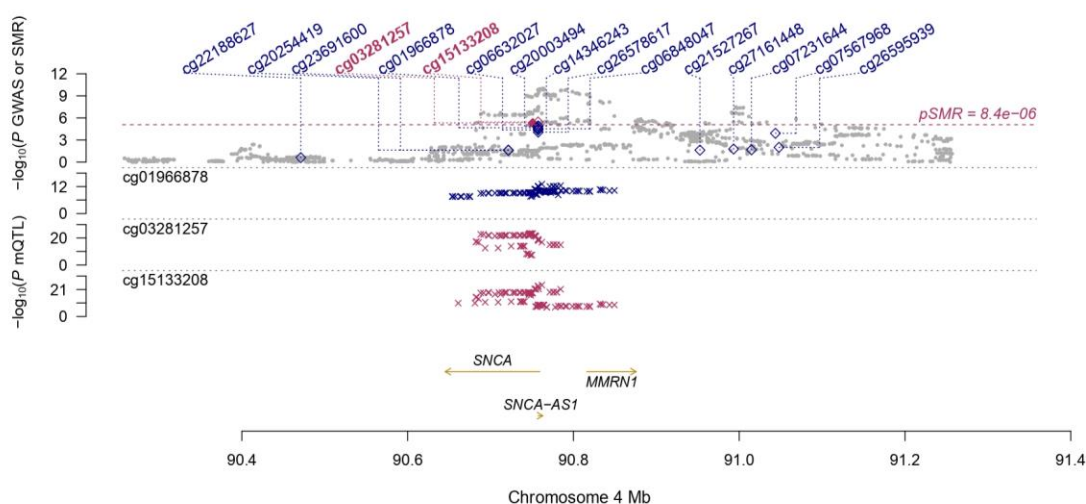
**2. Taula. LGDren GWASa plazentako mQTLekin batzean lortutako emaitzen laburpena.** Analisiarekin eskuratutako beta balioak, errore estandarrak eta P balioak ageri dira.  $P_{SMR\_Multi} < 5 \times 10^{-5}$  eta  $P_{HEIDI} > 0.05$  betetzen duten CpG-ak, hau da, iradokitzaileak direnak beltzez adierazi dira. Gainera, Bonferroniz zuzendutako  $P_{SMR\_Multi} < 0.05$  betetzen duen CpGa beltzez eta azpimarratuta adierazi da.

#### LEWY GORPUTZEN DEMENTZIA

CG	Posizioa	Genea <sup>a</sup>	b_SMR <sup>b</sup>	ee_SMR <sup>c</sup>	P_SMR_Multi	P_HEIDI	P_SMR_Multi_bonf <sup>d</sup>
<b>cg15133208</b>	<b>4:90761944</b>	<b><i>SNCA</i></b>	<b>-4.105</b>	<b>0.886</b>	<b>4.292x10<sup>-07</sup></b>	<b>1.871x10<sup>-02</sup></b>	<b>0.046</b>
<b>cg01966878</b>	<b>4:90761944</b>	<b><i>SNCA</i></b>	<b>-6.212</b>	<b>1.462</b>	<b>5.206x10<sup>-07</sup></b>	<b>1.227x10<sup>-01</sup></b>	<b>0.056</b>
cg12177758	19:45325309	<i>BCAM</i>	3.757	1.203	1.014x10 <sup>-06</sup>	7.647x10 <sup>-07</sup>	0.110
cg17370934	19:45398264	<i>TOMM40</i>	22.264	8.722	3.570x10 <sup>-06</sup>	1.853x10 <sup>-10</sup>	0.386

<b>cg03281257</b>	<b>4:90750844</b>	<b>SNCA</b>	<b>-3.551</b>	<b>0.776</b>	<b><math>3.738 \times 10^{-06}</math></b>	<b><math>1.168 \times 10^{-01}</math></b>	<b>0.404</b>
cg20254419	4:90744100	SNCA	2.934	1.302	$1.499 \times 10^{-05}$	$1.025 \times 10^{-05}$	1.000
<b>cg14346243</b>	<b>4:90761944</b>	<b>SNCA</b>	<b>-2.433</b>	<b>0.557</b>	<b><math>3.212 \times 10^{-05}</math></b>	<b><math>4.693 \times 10^{-01}</math></b>	<b>1.000</b>
cg23184690	19:45416291	APOC1P1	-9.507	2.288	$3.252 \times 10^{-05}$	NA	1.000
<b>cg20003494</b>	<b>4:90761944</b>	<b>SNCA</b>	<b>-2.336</b>	<b>0.535</b>	<b><math>3.263 \times 10^{-05}</math></b>	<b><math>4.891 \times 10^{-01}</math></b>	<b>1.000</b>

<sup>a</sup>CpG bakoitzaren hurbileneko genea. <sup>b</sup>Beta balioa edo asoziazioaren efektuaren tamaina edo indarra. <sup>c</sup>Errore estandarra. <sup>d</sup>Bonferroni zuzendutako P balioa.



**4. Irudia. LGDren CpG esanguratsuenaren inguruko eremu genomikoa, SMR plot scriptaren bidez marraztuta.** X ardatzak laugarren kromosomako posizioa adierazten du Mb-tan. Y ardatzak mQTL eta GWASeko datuen P balioen logaritmoa adierazten du. Azpialdeko gezi horiek geneak irudikatzen dituzte. Erronbo itxurako ikonoek CpG posizioak adierazten dituzte. Erronbo hutsek P balioa estatistikoki esanguratsua izan ez dela adierazten dute. Aldiz, errobo beteak estatistikoki esanguratsua den CpG posizio bakarra irudikatzen du, cg15133208, alegia.

## 4. EZTABAIDA

Gure lanaren emaitzetan aurkitutako gene batzuk aurretik deskribatutako DFTrako edo LGDrako arrisku gene ezagunak dira, baina beste batzuk ez dira inoiz dementziekin ezta neuroendekapenezko gaixotasunekin lotu. Gainera, aipatutako geneek neurogarapenean eragina ote duten proposatu eta ikertu duten lanak gutxi dira.

Alde batetik, DFTrekin erlazioa izan dezakeen *PPT2* genea dugu. *PPT2* histokonpatibilitate konplexu nagusian (MHC-III) dago eta aipagarria da lokus hau ez dela aurretik inolako giza gaixotasunekiko kausalitatearekin lotu. Hala ere, *PPT2* genea neuronen garapenean inplikaturik dagoela ikusi da (38). Izan ere, gene honek kodetzen duen palmitoil-tioesterasa familiako proteina (*PPT2*) *PPT1* proteinaren homologoa da, eta azken entzima honen gabezia pairatzen dute lipofusinosi zeroide neuronalaren haurtzaroko mota duten gaixoei (39). *PPT2*ren gabezia ez da gizakian deskribatu, baina Gupta P eta kideek (2003) saguetan egindako ikerketan ikusi zenez, bere urritasunak nahaste neurodegeneratiboa eragiten du homozigotoetan, zehazki, erraietako kalte handia pilatzen duen lipofusinosi zeroide neuronalaren aldaera berezia. Gainera, *PPT2* gabeziadun saguek garuneko atrofia kortikala adierazi zuten.

Orain arte, *PPT2* genearen eta dementzien arteko lotura bakarra epigenoma osoko asoziazio ikerketetan (ingeleseko “*epigenome-wide association study*” edo EWAS) aurkitu dugu. 2014ean De Jager PL eta kideek (40) eta Lunnon K eta kideek (41) AGEan egindako EWASetan metilazio diferentzialeko eskualdeak (ingeleseko DMR, “*differentially methylated region*”) aurkitu zituzten *PPT2*n.

Neuroendekapenezko gaitzekin frogatu den erlazio txiki hori ikusita, gaixotasun neuropsikiatrikoekin izan lezakeen loturaren bila joan ginen, eta bi datu interesgarri aurkitu genituen. Alde batetik, Meijer M eta kideek (2020) arreta-defizitaren eta hiperaktibitatearen nahasmenduaren DNAm patroiak ikertzerakoan, DMR bat aurkitu zuten *PPT2* genean, gaixotasun hau duten pazienteen artean nabarmen hipometilatua zegoena (42). Bestetik, Vangeel EB eta kideek (2017) haurdunaldiko antsietatea eta jaioberrien zilbor-hesteko odoleko DNAm aztertu zutenean, beste DMR bat aurkitu zuten *PPT2* genean (40).

Gure emaitzen artean, DFTrekin lotura izan dezakeen beste genea *SYNE3* da. Gene honek kodetutako proteinak zitoeskeletoaren antolakuntzan eta zelularen itxuran parte hartzen du (43). Hainbat gaixotasun erlazionatu dira *SYNE3*-rekin, ataxia espinozerebelarra eta 3. motako Emery-Dreifuss muskulu distrofia, adibidez. Gainera, Huntington gaixotasunaren biomarkatzailea da. Alabaina, ez da inolako dementziarekin, neuroendekapenezko gaixotasunekin edo neurogarapenarekin erlazionatu eta ez da plazentan ikertu.

Bestetik, LGDrekin asoziatutako cg15133208 CpGa *SNCA* genean dago, 4. kromosoman. Genea garun osoan zehar adierazten da eta kodetzen duen  $\alpha$ -sinukleina proteina kontzentrazio handietan aurkitzen da neurona presinaptikoen axoi muturretan. Bere funtzio fisiologikoa ondo ezagutzen ez den arren, besikula sinaptikoen trafikoan eta ondorengo neurotransmisoreen askatze eta birziklatze prozesuetan parte hartzen duela iradoki da (44).  $\alpha$ -sinukleina Lewy gorputzen osagai nagusia denez, *SNCA* genea aurretik ere Parkinson gaixotasunaren eta LGDren arrisku gene modura deskribatu izana ez da harrizkoa (13).

Hala ere, *SNCA* genea Parkinson gaixotasunean ikertu da gehien, eta LGDren genetikan eta etiopatogenian duen papera oraindik ez dago argi. Esaterako, Bras J eta kideen (2014) lanean *SNCA* lokusaren eta Parkinson gaixotasunaren zein LGDren arteko erlazioa aurkitu zuten, baina asoziazio profil desberdinarekin, gaixotasun bakoitzean arriskua ematen duten haplotipoak desberdinak zirelako (45). Horrela, Parkinson gaixotasunarekin alderatuz, LGDak arrisku genetikoaren profil berezia duela ondorioztatu zuten. Desberdintasun horren ondorioak zein diren argi ez dagoen arren, litekeena da Lewy gorputzek garun-ehunean duten banaketan eragina izatea; izan ere, horiek, oro har, Parkinson gaixotasunean enbor entzefalikoan kokatzen dira, eta banaketa orokorragoa dute LGD kasu guztietan, ustez genearen adierazpen desberdinaren bidez.

Honez gain, *SNCA* genea AGren arrisku gene modura identifikatu da lan ugaritan (46). Hau AGren eta bestelako dementzien arteko gainjartze etiopatogenikoak azaltzen du, Lewy gorputzak AGdun pazienteetan ere ikusten baitira.

Ordea, *SNCA* genearen eta LGDren arteko lotura lan ugaritan deskribatu den arren, gene honek plazentarekin duen harremana ez da asko ikertu. Alde batetik, Yi eta kideek (2019) plazentaren hanturaren eta garaiz aurreko erditzearen arteko erlazioa arratoi eruedetan ikertu zutenean, plazentan  $\alpha$ -sinukleina gutxituta zegoela ikusi zuten eta, beste batzuen artean, *SNCA* geneak hanturaren aurkako *feedback*-a eragiten duela proposatu zuten (47). Bestetik, Alexandre-Gouabau eta kideek (2012) haurdunaldian zeharreko amaren proteina-murrizketak eragindako umetoki barruko hazkundearen murriztea ikertu zuten arratoi eruedetan (48). Zehazki, hipotalamoko hainbat proteinen adierazpenaren aldaketa ikertu zuten, haien artean  $\alpha$ -sinukleina, hipotalamoa

homeostasiaren erregulazio osagai garrantzitsua delako. Horrela, amaren proteina-murrizketak metabolismoko bidezidor ugari aldarazten dituela ondorioztatu zuten, hipotalamoaren energia hornitzea hondatuz. Gainera, energia gutxitze horrek garuneko plastikotasuna edo neuronen heltze prozesua oztopatu ditzake, bide metaboliko horietako batzuk seinaleztapen-bideetan inplikaturata baitaude.

Orain arte, ez dugu plazentaren eta dementzien arteko lotura argia ezartzen duen lanik aurkitu, are gutxiago DFT eta LGDren jatorria plazentan kokatzen dutenik. Lotura hau iradokitzen duen datu bakarra Bateman A. eta kideek (2009) burututako progranulinaren (PRGN) azterketa da (49). PRGN enbriogenesisian parte hartzen duen hazkunde faktorea da eta enbrioiaren nerbio sisteman eta bereziki plazentan adierazten da. Aurretik azaldu bezala, PRGN kodetzen duen *GRN* genearen mutazio autosomiko gainartzaile batek DFT eragiten du (49,50), eta plazentan oso adierazpen handia duen proteinak dementziaren etiopatogenian parte hartzen du.

Alabaina, badira neurogarapenezko eta neuroendekapenezko gaixotasunak erlazionatzen dituzten argitalpenak. Morato Torres eta kideek (2020) autismoaren espektroko nahasmenen eta Parkinson gaixotasunaren ezaugarri kliniko, genomiko eta molekular amankomunak aztertu zituzten haien arteko lotura ezartzen saiatzeko (44). Zehazki, aurretik aipatutako *SNCA* genea eta patologia sinaptikoa erabili zuten bien arteko lotune modura. Izan ere, *SNCA*ren gainadierazpena Parkinson gaixotasunaren eta antzerako neuroendekapenezko gaitzen kausa den bitartean, *SNCA*ren delezio edo bikoizte partzialek garapenaren atzerapena edota autismoaren espektroko nahasmena eragin dezaketela proposatu da. Gainera, badirudi  $\alpha$ -sinukleinak bai umeki aroan zein helduaroan parte hartzen duela neuronen garapenean. Alde batetik,  $\alpha$ -sinukleinen adierazpena goiz gertatzen da (15. astea), eta horrek giza garapenaren lehen faseetan garrantzia izan dezakeela iradokitzen du. Bere gainadierazpenak neurona post-mitotikoen endekapen garbia eragiten du jaio ondorengo garapenean; eta horrek adierazten du neuronan zelula aitzindariak ahulagoak direla  $\alpha$ -sinukleinen aurrean, neurona helduekin alderatuta. Bestetik,  $\alpha$ -sinukleinen gainadierazpenak edo urritasunak helduaroan neurogenesia eta plastizitatea kaltetzen dutela frogatu da.



Honen aurretik ere, Geschwind eta kideek (2001) DFTk neurogarapen osagai garrantzitsua zuela iradoki zuten, herentziazko DFT zuen familia bat aztertu zutenean (51). Proba neuropsikologiko estandarizatuak burutzerakoan, eramaile presintomatikoek disfuntzio exekutibo frontal nabarmena zutela ikusi zuten, mutaziorik ez zuten ahaideekin alderatuta. Disfuntzio hau dementziaren hasiera baino hainbat hamarkada lehenago agertzeak subjektuen berezko gaitasun kognitiboak isla ditzake, neurogarapeneko osagai bat tartean dagoela iradokiz. Gainera, herentziazko DFTren hasierako klinikan asimetria nabaria ere agertu ohi da, eta hipotetizatu da endekatze prozesua neurogarapen okerraren ondoriozko garuneko eremu zaurgarrietatik abia daitekeela. Ideia hau indartzeko, Mesulam eta kideek (1992) DFTren hizkuntza azpimota duten familietan garapeneko hizkuntza nahasteen prebalentzia laukoitza identifikatu zuten, DFTren hizkuntza azpimotaren abiapuntua neurogarapenean egon litekeela iradokiz (52).

Hala ere, disfuntzio honek enbrioi aroko edota garapenaren hasierako gertaerak islatzen dituen, edo aldiz, bizitzaren bigarren hamarkadan hasten den endekapen-prozesu motel bat erakusten duen ez dago argi. Izan ere, kontrako argudioa proposatu duten lanak ere badaude. Finger eta kideek (2022) herentziazko DFTdun kohorte desberdin bat aztertu zutenean, mutazioaren eramaile presintomatikoek proba kognitibo batzuetan emaitza hobekak lortzen zituztela behatu zuten (53). Horrela, DFTren mutazio eragileek neurogaperako ondorio onuragarriak izan ditzaketela proposatu zuten.

DFTz gain, AG eta neurogarapenaren arteko loturak ere egin dira. AGrekin erlacionatutako proteina eta gene ugari neurogarapenaren hasierako urratsetan garrantzitsuak direla aurkitu da, zehazki, neuronen migrazioan eta axoien luzapenean (54,55). Badirudi gene hauen aldaerek AGren sintoma espezifikoak modulatzeko dituztela, agian hantura sistemaren kontrolaren bidez (55,56).

Hala eta guztiz ere, neurogarapenaren eta esku artean ditugun bi dementzien arteko lotura askoz gehiago ikertu beharra dago. Izan ere, neurogarapenaren eta neuroendekapenaren arteko erlazioa proposatu duten ikerketak gutxi dira, eta are gutxiago lotura honen xehetasunak argitu dituztenak. Gure lanean erabilitako DFT eta LGDren GWASen laginak oso txikiak dira, DFTren kasuan erlazio estatistikoki

esanguratsurik ez aurkitzea azaldu dezakeena, eta dementzien artean ohikoenetakoak izan arren, AGrekin alderatuta oso ebidentzia gutxi daukagu. Baina ezin da baztertu neurogarapenak, plazentak bitartekari gisa parte hartuz, epe luzera neuroendekapenezko gaixotasunetan nolabaiteko eragina izan dezakeenik.

## 5. ONDORIOAK

GWAS publikoek eta ausazkotze mendeldarraz baliatuta, gurea DFT eta LGDren arrisku genetikoaren zati bat plazentaren DNAm-aren bidez adierazten ote den aztertu duen lehen lana da. DFTean soilik emaitza iradokitzaileak lortu ditugun arren, LGDren kasuan, erlazio esanguratsua lortu dugu aurretik arrisku-gene ezaguna zen *SNCA* genearen alboan. Beraz, ezin dugu baztertu plazentako DNAm patroiek epe luzera DFT eta LGD garatzeko arriskuarengan eragina dutenik. Hala ere, neuroendekapenezko gaixotasun hauen eta neurogarapenaren arteko erlazioa oso gutxi ikertu da orain arte, eta aurkitutako ebidentzia hau ez da nahikoa kausazko erlazio bat ezartzeko. Ondorioz, lan honen emaitzak etorkizuneko ikerketen oinarri izan daitezke, erlazio honen xehetasunak argitzeko bidean.

## 6. BIBLIOGRAFIA

1. Emmady PD, Schoo C, Tadi P. Major Neurocognitive Disorder (Dementia). In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [kontsulta, 2023/03/18]. Erabilgarri: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557444/>
2. Dementia [Internet]. [kontsulta, 2023/03/18]. Erabilgarri: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
3. Arvanitakis Z, Shah RC, Bennett DA. Diagnosis and Management of Dementia: A Review. *JAMA*. 2019;322(16):1589–99.
4. Schachter AS, Davis KL. Alzheimer's disease. *Dialogues Clin Neurosci*. 2000;2(2):91–100.

5. Ikram MA, Bersano A, Manso-Calderón R, Jia JP, Schmidt H, Middleton L, et al. Genetics of vascular dementia – review from the ICVD working group. *BMC Med.* 2017;15(1):48.
6. Ferrari R, Hernandez DG, Nalls MA, Rohrer JD, Ramasamy A, Kwok JBJ, et al. Frontotemporal dementia and its subtypes: a genome-wide association study. *Lancet Neurol.* 2014;13(7):686–99.
7. Young JJ, Lavakumar M, Tampi D, Balachandran S, Tampi RR. Frontotemporal dementia: latest evidence and clinical implications. *Ther Adv Psychopharmacol.* 2018;8(1):33–48.
8. Kurz A, Kurz C, Ellis K, Lautenschlager NT. What is frontotemporal dementia? *Maturitas.* 2014;79(2):216–9.
9. Sieben A, Van Langenhove T, Engelborghs S, Martin JJ, Boon P, Cras P, et al. The genetics and neuropathology of frontotemporal lobar degeneration. *Acta Neuropathol (Berl).* 2012;124(3):353–72.
10. Greaves CV, Rohrer JD. An update on genetic frontotemporal dementia. *J Neurol.* 2019;266(8):2075–86.
11. McKeith I. Dementia with Lewy bodies. *Dialogues Clin Neurosci.* 2004;6(3):333–41.
12. Kane JPM, Surendranathan A, Bentley A, Barker SAH, Taylor JP, Thomas AJ, et al. Clinical prevalence of Lewy body dementia. *Alzheimers Res Ther.* 2018;10:19.
13. Walker Z, Possin KL, Boeve BF, Aarsland D. Lewy body dementias. *Lancet Lond Engl.* 2015;386(10004):1683–97.
14. Sanford AM. Lewy Body Dementia. *Clin Geriatr Med.* 2018;34(4):603–15.
15. Chia R, Sabir MS, Bandres-Ciga S, Saez-Atienzar S, Reynolds RH, Gustavsson E, et al. Genome sequencing analysis identifies new loci associated with Lewy body dementia and provides insights into its genetic architecture. *Nat Genet.* 2021;53(3):294–303.

16. McKeith IG, Boeve BF, Dickson DW, Halliday G, Taylor JP, Weintraub D, et al. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies. *Neurology*. 2017;89(1):88–100.
17. Frayling T. Genome-wide association studies: the good, the bad and the ugly. *Clin Med*. 2014;14(4):428–31.
18. Garitazelaia A. Endometriosis eta ezaugarri antropometriko eta menstrualak: erlazio genetiko kausalen bila: bi lagineko ausazkotze mendeldar analisisa. 2021 [kontsulta, 2023/03/29]; Erabilgarri: <http://addi.ehu.es/handle/10810/54591>
19. Brady OA, Zheng Y, Murphy K, Huang M, Hu F. The frontotemporal lobar degeneration risk factor, TMEM106B, regulates lysosomal morphology and function. *Hum Mol Genet*. 2013;22(4):685–95.
20. Robinson WP, Price EM. The Human Placental Methylome. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015;5(5):a023044.
21. Smith AK, Kilaru V, Kocak M, Almli LM, Mercer KB, Ressler KJ, et al. Methylation quantitative trait loci (meQTLs) are consistently detected across ancestry, developmental stage, and tissue type. *BMC Genomics*. 2014;15:145.
22. Hoffmann A, Ziller M, Spengler D. The Future is The Past: Methylation QTLs in Schizophrenia. *Genes*. 2016;7(12):104.
23. Cilleros-Portet A, Lesseur C, Marí S, Cosin-Tomas M, Lozano M, Irizar A, et al. Potentially causal associations between placental DNA methylation and schizophrenia and other neuropsychiatric disorders | medRxiv [Internet]. [kontsulta, 2023/04/02]. Erabilgarri: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2023.03.07.23286905v1>
24. Zheng J, Baird D, Borges MC, Bowden J, Hemani G, Haycock P, et al. Recent Developments in Mendelian Randomization Studies. *Curr Epidemiol Rep*. 2017;4(4):330–45.
25. Davey Smith G, Hemani G. Mendelian randomization: genetic anchors for causal inference in epidemiological studies. *Hum Mol Genet*. 2014;23(R1):R89-98.

26. Cilleros Portet A. A mendelian randomization search for functionally relevant celiac disease susceptibility variants in stimulated monocytes. 2020 [konsulta, 2023/04/01]; Erabilgarri: <http://dspace.uvic.cat/xmlui/handle/10854/6411>
27. Zhu Z, Zhang F, Hu H, Bakshi A, Robinson MR, Powell JE, et al. Integration of summary data from GWAS and eQTL studies predicts complex trait gene targets. *Nat Genet.* 2016;48(5):481–7.
28. Sidhaye J, Knoblich JA. Brain organoids: an ensemble of bioassays to investigate human neurodevelopment and disease. *Cell Death Differ.* 2021;28(1):52–67.
29. Silbereis JC, Pochareddy S, Zhu Y, Li M, Sestan N. The Cellular and Molecular Landscapes of the Developing Human Central Nervous System. *Neuron.* 2016;89(2):248–68.
30. O'Donnell K, O'Connor TG, Glover V. Prenatal stress and neurodevelopment of the child: focus on the HPA axis and role of the placenta. *Dev Neurosci.* 2009;31(4):285–92.
31. Novakovic B, Saffery R. The ever growing complexity of placental epigenetics - role in adverse pregnancy outcomes and fetal programming. *Placenta.* 2012;33(12):959–70.
32. Hogg K, Price EM, Hanna CW, Robinson WP. Prenatal and perinatal environmental influences on the human fetal and placental epigenome. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;92(6):716–26.
33. Konwar C, Del Gobbo G, Yuan V, Robinson WP. Considerations when processing and interpreting genomics data of the placenta. *Placenta.* 2019;84:57–62.
34. Jansen IE, Savage JE, Watanabe K, Bryois J, Williams DM, Steinberg S, et al. Genome-wide meta-analysis identifies new loci and functional pathways influencing Alzheimer's disease risk. *Nat Genet.* 2019;51(3):404–13.
35. Ciani M, Benussi L, Bonvicini C, Ghidoni R. Genome Wide Association Study and Next Generation Sequencing: A Glimmer of Light Toward New Possible Horizons in Frontotemporal Dementia Research. *Front Neurosci.* 2019;13:506.

36. Mishra A, Ferrari R, Heutink P, Hardy J, Pijnenburg Y, Posthuma D, et al. Gene-based association studies report genetic links for clinical subtypes of frontotemporal dementia. *Brain J Neurol.* 2017;140(5):1437–46.
37. RStudio Team (2022). RStudio: Integrated Development Environment for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
38. Fernando F, Keijser R, Henneman P, van der Kevie-Kersemaekers AMF, Mannens MM, van der Post JA, et al. The idiopathic preterm delivery methylation profile in umbilical cord blood DNA. *BMC Genomics.* 2015;16:736.
39. Gupta P, Soyombo AA, Shelton JM, Wilkofsky IG, Wisniewski KE, Richardson JA, et al. Disruption of PPT2 in mice causes an unusual lysosomal storage disorder with neurovisceral features. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(21):12325–30.
40. Vangeel EB, Pishva E, Hompes T, van den Hove D, Lambrechts D, Allegaert K, et al. Newborn genome-wide DNA methylation in association with pregnancy anxiety reveals a potential role for GABBR1. *Clin Epigenetics.* 2017;9:107.
41. Lunnon K, Smith R, Hannon E, De Jager PL, Srivastava G, Volta M, et al. Methyloomic profiling implicates cortical deregulation of ANK1 in Alzheimer’s disease. *Nat Neurosci.* 2014;17(9):1164–70.
42. Meijer M, Klein M, Hannon E, van der Meer D, Hartman C, Oosterlaan J, et al. Genome-Wide DNA Methylation Patterns in Persistent Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and in Association With Impulsive and Callous Traits. *Front Genet.* 2020;11:16.
43. SYNE3 Gene - GeneCards | SYNE3 Protein | SYNE3 Antibody [Internet]. [kantsulta, 2023/04/09]. Erabilgarri: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SYNE3>
44. Morato Torres CA, Wassouf Z, Zafar F, Sastre D, Outeiro TF, Schüle B. The Role of Alpha-Synuclein and Other Parkinson’s Genes in Neurodevelopmental and Neurodegenerative Disorders. *Int J Mol Sci.* 2020;21(16):5724.

45. Bras J, Guerreiro R, Darwent L, Parkkinen L, Ansorge O, Escott-Price V, et al. Genetic analysis implicates APOE, SNCA and suggests lysosomal dysfunction in the etiology of dementia with Lewy bodies. *Hum Mol Genet.* 2014;23(23):6139–46.
46. Wider C, Ross OA, Nishioka K, Heckman MG, Vilariño-Güell C, Jasinska-Myga B, et al. An evaluation of the impact of MAPT, SNCA and APOE on the burden of Alzheimer and Lewy body pathology. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2012;83(4):424–9.
47. Yi X, Liu H, Ou Y, Liu M, Zhu L, Chen H, et al. Dominant inflammatory profile of the placenta in a preterm labor mouse model. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 2020;33(11):1927–33.
48. Alexandre-Gouabau MCF, Bailly E, Moyon TL, Grit IC, Coupé B, Le Drean G, et al. Postnatal growth velocity modulates alterations of proteins involved in metabolism and neuronal plasticity in neonatal hypothalamus in rats born with intrauterine growth restriction. *J Nutr Biochem.* 2012;23(2):140–52.
49. Bateman A, Bennett HPJ. The granulin gene family: from cancer to dementia. *BioEssays News Rev Mol Cell Dev Biol.* 2009;31(11):1245–54.
50. Hu F, Padukkavidana T, Vægter CB, Brady OA, Zheng Y, Mackenzie IR, et al. Sortilin-mediated endocytosis determines levels of the frontotemporal dementia protein, progranulin. *Neuron.* 2010;68(4):654–67.
51. Geschwind DH, Robidoux J, Alarcón M, Miller BL, Wilhelmsen KC, Cummings JL, et al. Dementia and neurodevelopmental predisposition: cognitive dysfunction in presymptomatic subjects precedes dementia by decades in frontotemporal dementia. *Ann Neurol.* 2001;50(6):741–6.
52. Mesulam MM, Weintraub S. Spectrum of primary progressive aphasia. *Baillieres Clin Neurol.* 1992;1(3):583–609.
53. Finger E, Malik R, Bocchetta M, Coleman K, Graff C, Borroni B, et al. Neurodevelopmental effects of genetic frontotemporal dementia in young adult mutation carriers. *Brain J Neurol.* 2022;awac446.

54. Bothwell M, Giniger E. Alzheimer's disease: neurodevelopment converges with neurodegeneration. *Cell*. 2000;102(3):271–3.
55. Porcelli S, Crisafulli C, Donato L, Calabrò M, Politis A, Liappas I, et al. Role of neurodevelopment involved genes in psychiatric comorbidities and modulation of inflammatory processes in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci*. 2016;370:162–6.
56. Lehrer S, Rheinstein PH. Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease May Result from Reactivation of Embryologic Pathways Silenced at Birth. *Discov Med*. 2021;31(163):89–94.