



Meta-analysis of WNT4 and CDKN2B-AS1 gene polymorphisms in relation to endometriosis

Nilofar Shahgholi	P.h.d. Student, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. niloofarshahgholi9@gmail.com
Zahra Noormohammadi	Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (Corresponding author). z-nouri@srbiau.ac.ir
Ashraf Moieni	Professor, Department of Endocrinology and Female Infertility, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR; Breast Disease Research Center (BDRC), Tehran University of Medical Science; Department of Obstetrics and Gynecology, Arash Women's Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ashraf.moieni@gmail.com
Morteza Karimipoor	Professor, Department of Molecular Medicine, Biotechnology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran. mortezakarimi@yahoo.com

Abstract

Purpose: Endometriosis is a complex disease that can be hereditary and its occurrence is under many genetic and environmental factors. Genome-wide studies have proven that they can be successful in identifying variants that affect the occurrence of complex diseases. In the present study, the analysis and summation of genome-wide studies in relation to WNT4 and CDKN2B-AS1 gene variants, and their association with the occurrence of this disease, has been done.

Materials and methods: In the present meta-analysis, studies on polymorphisms associated with WNT4 and CDKN2B-AS1 genes in the GWAS database have been reviewed. The studies were related to populations with European and East Asian ancestors, and in order to investigate the variant with the highest level of association in the above gene loci with the occurrence of endometriosis, the fixed-effect statistical model was used.

Findings: Among the examined variants, loci rs3920498 (with significance $p < 1.1e-5$ and probability ratio equal to 1.19) and rs1537377 (with significance $p < 1.33e-10$ and probability ratio equal to 1.09) are more associated with endometriosis.

Conclusion: In the present study, it was found that rs3920498 (upstream of WNT4 gene) and rs1537377 (downstream of CDKN2B-AS1 gene) loci are most associated with endometriosis disease.

Keywords: endometriosis, meta-analysis, WNT4 gene, CDKN2B-AS1 gene, GWA studies, polymorphism, non-coding RNA.

Received: 2023/05/02 ; Revised: 2023/06/20 ; Accepted: 2023/07/10 ; Published online: 2023/09/20

Cite: Shahgholi, N., Noormohammadi, Z., Moieni, A. & Karimipoor, M. (2023). Meta-analysis of WNT4 and CDKN2B-AS1 gene polymorphisms in relation to endometriosis. *Applied Biology*, 13(3), p. 55-74.

Article type: Research Article

© the authors

Publisher: Qom Islamic Azad University





تحلیل متا آنالیز بر پلی مورفیسم‌های ژن‌های *WNT4* و *CDKN2B-AS1* در ارتباط با بیماری اندومتریوز

نیلوفر شاهقلی | دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم و فناوری‌های همگرا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
niloofarshahgholi9@gmail.com

زهره نورمحمدی | استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم و فناوری‌های همگرا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (نویسنده مسئول).
z-nouri@srbiau.ac.ir

اشرف معینی | استاد، گروه غدد درون‌ریز و نازایی زنان، مرکز تحقیقات زیست‌پزشکی تولیدی رویان، پژوهشگاه علوم و فناوری پزشکی کشور؛ مرکز تحقیقات بیماری‌های سینه، دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ گروه زنان و زایمان، بیمارستان زنان آرش، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
ashraf.moieni@gmail.com

مرتضی کریمی‌پور | استاد، گروه پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، پژوهشگاه پاستور ایران، تهران، ایران.
mortezakarimi@yahoo.com

چکیده

هدف: اندومتریوز بیماری پیچیده‌ای است که می‌تواند زمینه وراثتی داشته باشد و وقوع آن تحت بسیاری از عوامل ژنتیکی و محیطی است. مطالعات گستره ژنومی اثبات کرده‌اند که می‌توانند در شناسایی واریانت‌هایی که بر وقوع بیماری‌های پیچیده اثرگذار باشند، موفق عمل کنند. در مطالعه حاضر آنالیز و جمع‌بندی مطالعات گستره ژنومی در رابطه با واریانت‌های ژن *WNT4* و *CDKN2B-AS1*، و همراهی آنها با وقوع این بیماری انجام شده است.

مواد و روش‌ها: در متا آنالیز حاضر مطالعات درباره پلی مورفیسم‌های مرتبط با ژن‌های *WNT4* و *CDKN2B-AS1* موجود در پایگاه داده GWAS بررسی شده‌اند. مطالعات مربوط به جمعیت‌هایی با اجداد اروپایی و آسیای شرقی بوده، و به منظور بررسی واریانتی با بیشترین سطح همراهی در لوکوس‌های ژنی فوق با وقوع بیماری اندومتریوز، از مدل آماری fixed-effect استفاده شده است.

یافته‌ها: از میان واریانت‌های بررسی شده، لوکوس‌های rs3920498 (با معناداری $p < 1.1 \times 10^{-5}$) و نسبت احتمالی برابر با ۱٫۱۹) و rs1537377 (با معناداری $p < 1.33 \times 10^{-10}$) و نسبت احتمالی برابر با ۱٫۰۹) همراهی بیشتری با بیماری اندومتریوز دارند.

نتیجه‌گیری: در مطالعه حاضر، مشخص شد که لوکوس‌های rs3920498 (در بالادست ژن *WNT4*) و rs1537377 (در پایین دست ژن *CDKN2B-AS1*) بیشترین همراهی را با بیماری اندومتریوز دارند.

کلیدواژه‌ها: اندومتریوز، متا آنالیز، ژن *WNT4*، ژن *CDKN2B-AS1*، مطالعات GWA، پلی مورفیسم، RNA غیر کدکننده.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۱۲؛ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۳/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۹؛ تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۶/۲۹
استاد به این مقاله: شاهقلی، نیلوفر؛ نورمحمدی، زهره؛ معینی، اشرف؛ کریمی‌پور، مرتضی (۱۴۰۲). تحلیل متا آنالیز بر پلی مورفیسم‌های ژن‌های *WNT4* و *CDKN2B-AS1* در ارتباط با بیماری اندومتریوز. *بیولوژی کاربردی*، ۱۳(۳): ۵۵-۷۴.

نوع مقاله: پژوهشی

© نویسندگان

ناشر: دانشگاه قم



۱. مقدمه

اندومتريوز بیماری شایعی در میان زنان در سنین باروری است که معمولاً با دردهای شدید لگنی و ناباروری همراه می‌شود. فراوانی این بیماری در زنان در سنین باروری ۵ تا ۱۰ برآورد شده است. کاهش کیفیت زندگی زنان مبتلا و هزینه‌های گزاف درمانی از اثرات سوء این بیماری می‌باشد. گرچه مکانیسم بیماری‌زایی اندومتريوز تا حدود بسیاری نامشخص است، ولی به عنوان بیماری مولتی فاکتور که در آن هم عوامل ژنتیکی، هم محیطی و هم برهم‌کنش میان آنها مؤثر است، شناخته می‌شود (۱). مطالعات اخیر نشان‌دهنده آن است که مسیرهای مولکولی و پیام‌رسان، نقش مهمی در بیماری‌زایی اندومتريوز ایفا می‌کنند. رویدادهای مهمی که در طی بیماری‌زایی اندومتريوز رخ می‌دهد، شامل آپاپتوز، اتوفازی، فیبروزیس، رگ‌زایی و تکثیر است (۲).

در وقوع بیماری اندومتريوز عوامل محیطی، ژنتیکی، فاکتورهای ایمنولوژیکی و تغییرات هورمونی (همانند وابستگی به استروژن و مقاومت به پروژسترون) دخیل هستند (۳). مورد قبول‌ترین تئوری مطرح شده در وقوع اندومتريوز، تئوری بازگشت خون قاعدگی سامپسون^۱ می‌باشد؛ که بر طبق آن قطعات بافت اندومتر از طریق لوله فالوپ مهاجرت کرده و به لگن می‌رسد و از آنجا که این قطعات قابلیت چسبندگی دارند، دوام آورده و در جایی خارج از رحم جایگذاری می‌شوند (۴). علت ژنتیکی وقوع و همچنین مسیر بیماری‌زایی در این بیماری همچنان نامشخص است. تعداد زیادی ژن منتخب در شروع و رویدادهای مهم در اندومتريوز همچون التهاب، تنظیم چرخه سلولی، فاکتورهای رشد، گیرنده‌های هورمونی و مولکول‌های چسبندگی نقش دارند (۳). نتایج مطالعات نشان می‌دهند که در بیماری اندومتريوز سطح استرادیول‌ها از حالت عادی بالاتر می‌رود، به طوری که غلظت استروژن در خون افزایش یافته و سنتز آن مهار نمی‌شود. دو گیرنده استروژن به ترتیب گیرنده‌های ER-a^۲ و ER-b^۳ که به ترتیب توسط ژن‌های *ESR1* و *ESR2* کد می‌شوند، هر دو این گیرنده‌ها به طور معمول با یکدیگر کار می‌کنند که در بیماری اندومتريوز بیان آنها نسبت به یکدیگر تغییر می‌کند. از پیامدهای افزایش بیان گیرنده ER-a، افزایش سنتز سیتوکاین‌های التهابی، پروستاگلاندین‌ها و ترویج رگ‌زایی است، که از جمله شاخصه‌های بیماری اندومتريوز هستند (۵). از طرف دیگر، در این بیماری مقاومت به هورمون پروژسترون وجود دارد که به طور خاص بر اثر افزایش عملکرد مسیر

1. Sampson's retrograde menstruation

2. Estrogen receptor alpha

3. Estrogen receptor beta

سلولی^۱ MAPK می‌باشد. افزایش عملکرد این مسیر باعث مهار کارکرد گیرنده پروژسترون از طریق تخریب وابسته به پروتئازوم می‌شود (۶). همچنین بیماری اندومتریوز به عنوان یک بیماری که با رگ‌زایی در ارتباط است، نیز شناخته می‌شود؛ چراکه بقای بافت اندومتری خارج از رحم وابسته به تشکیل رگ‌های خونی است (۷، ۸). بیان فاکتور رشد اندوتلیال عروقی^۲ در سلول‌های استرومای اندومتریوم نرمال دیده شده است و افزایش بیان آن در پاسخ به هورمون‌های استروژن و پروژسترون صورت می‌گیرد. در حالی که در مقایسه میان زنان مبتلا به اندومتریوز با زنان غیرمبتلا، افزایش سطح پروتئین VEGF هم در مایع صفاقی و هم در بافت اندومتریوم خارج رحمی مشاهده شده است. فاکتور القاء‌شونده تحت هیپوکسی^۳ در فعال‌سازی رونویسی ژن‌های کدکننده VEGF در شرایط تحت تنش اکسیژن نقش داشته که در نهایت منجر به رگ‌زایی خواهد شد. علاوه بر رگ‌زایی، HIF-1 در کمک به مهاجرت و تهاجم سلول‌های استروما اندومتریوم از طریق تأثیر بر افزایش عملکرد مسیر اتوفاژی نقش دارد (۸). مطالعات زیادی نشان داده‌اند که عملکرد نامناسب سلول‌های ایمنی چه در سطح مکانی و چه در سطح سیستماتیک از ویژگی‌های بیماری اندومتریوز محسوب می‌شود. تأکید بر نقش مسیرهای التهابی در وقوع اندومتریوز، حاصل تحقیق درباره عوامل ژنتیکی مرتبط با این بیماری است. روش مطالعه گستره ژنومی، این امکان را می‌دهد تا واریانت‌های مؤثر درون و یا در نزدیکی ژن‌هایی که در مسیرهای بیولوژیکی التهاب مزمن نقش دارند، شناسایی شوند. ازجمله این مسیرها، مسیر پیام‌رسان^۴ WNT است، که نقش مهمی در هموستازی بافت‌ها و اندام‌ها از طریق تنظیم تکثیر سلولی، تمایز و بازسازی بافتی دارد (۶). در صورت بروز آسیب به بافت‌ها یا اندام‌ها، واکنش‌های التهابی با پروسه‌های منجر به ترمیم و بازسازی بافت‌ها، همراه می‌شود، تا آسیب وارد شده را برطرف سازند. برخی از اعضای مسیر پیام‌رسان WNT به عنوان لیگاند‌های راه‌انداز التهاب محسوب می‌شوند که سطح بیان آنها تحت تأثیر پروسه‌های التهابی حاد می‌باشد. همچنین بیان بالای mRNA ژن^۵ WNT4 در ضایعات اندومتریوم زنان مبتلا به اندومتریوز در مقایسه با زنان سالم دیده شده است. ژن WNT4 در جایگاه کروموزومی 1p36.23-p35.1 قرار دارد. این ژن کدکننده پروتئینی است که نقش مهمی در فرآیندهای تولیدمثل ارگان‌سیم‌های مؤنث، تمایز سلول‌های

1. Mitogen-activated protein kinase

2. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

3. Hypoxia-inducible factor 1-alpha (HIF-1)

4. The wingless-type MMTV integration site (WNT)

5. The wingless-type MMTV integration site family member 4 (WNT4)

استرومای اندومتر و جایگزینی جنین در رحم دارد. عملکرد ژن *WNT4* سبب اهمیت آن در وقوع بیماری اندومتریوز شده است. از جمله شاخه‌های جدید حاصل از تئوری برگشت خون قاعدگی سامپسون مکانیسم تبدیل سلول مزوتلیالی اپیتلیالی به سلول مزانشیمی^۱ است که می‌تواند در روند بیماری‌زایی اندومتریوز نقش داشته باشد (۹). عدم حضور سد مزوتلیالی منجر به چسبیدن سلول‌های اندومتریالی به لایه صفاقی استرومایی شده و ضایعات اندومتری تشکیل خواهند شد (۱۰). در فرآیند EMT سلول‌ها ویژگی‌های اپیتلیالی خود را از دست داده و ویژگی‌های مشابه سلول‌های مزانشیمی را پیدا می‌کنند. بدین منظور مجموعه‌ای از تغییرات پیچیده در معماری و رفتار سلولی ایجاد می‌شود که همگی توسط سیگنال‌های سلولی مختلفی هدایت می‌شوند (۱۱). ارزیابی‌های آزمایشگاهی روی اهداف ژنی مختلف که بر روی سلول‌های استرومایی اندومتر انسانی انجام شده‌اند، حاکی از آن است که رونوشت‌های بلند غیرکدکننده^۲ در فرآیند EMT و در جریان بیماری‌زایی اندومتریوز نقش دارند. بدین‌گونه در جریان EMT، IncRNAها نقش خود را از طریق تنظیم سطح بیان RNAهای کدکننده ژن‌های دخیل در این فرآیند انجام می‌دهند (۱۲). از جمله این ژن‌ها *AKT3* می‌باشد که نقش مهم آن در فرآیندهای در ارتباط با زادآوری در بسیاری از مطالعات مورد بررسی قرار گرفته است. افزایش بیان *AKT* فسفوریله در طول بیماری‌زایی اندومتریوز دیده شده است. همچنین همراهی یکی از ایزوفرم‌های این ژن یعنی *AKT3*^۴ با EMT در طیف وسیعی از بیماری‌ها مشخص شده است (۱۳). از جمله IncRNAهایی که می‌تواند در تنظیم بیان ژن *AKT3* عمل کند، *CDKN2B-AS1*^۵ می‌باشد. مطالعات حاکی از آن است که بیان این IncRNA در ضایعات اندومتریوزی نسبت به بافت سالم افزایش پیدا کرده است. به طوری که افزایش بیان ژن *CDKN2B-AS1* منجر به افزایش بیان vimentin از مارکرهای مهم سلول‌های مزانشیمی و کاهش بیان *E-cadherin*^۶ از مارکرهای مهم اپیتلیالی شده است. عملکرد RNA بلند غیرکدکننده *CDKN2B-AS1* در یکی از فرآیندهای مهم منجر به اندومتریوز، مطالعه درباره IncRNA را حائز اهمیت کرده است (۱۴).

مطالعات در ارتباط با گستره ژنومی^۷ بدون پیش‌فرض هستند و به جهت ارزیابی ارتباط

-
1. Mesothelial Epithelial to Mesenchymal Transition (EMT)
 2. Long non-coding RNA (lncRNA)
 3. AK strain transforming
 4. AKT serine-threonine kinase 3 (AKT3)
 5. Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2B Antisense RNA 1
 6. Epithelial Cadherin (E-cadherin)
 7. Genome-wide association studies (GWAS)

واریانت‌های ژنتیکی پراکنده در سراسر ژنوم، با بیماری یا صفتی خاص انجام می‌شوند. از سال ۲۰۰۰ میلادی به بعد، پیشرفت‌های به وجود آمده، مسیر مطالعات GWAS را هموار ساخت. از جمله این پیشرفت‌ها می‌توان به پروژه توالی‌یابی ژنوم انسان اشاره کرد که منجر به کشف واریانت‌های تک‌نوکلئوتیدی معمول (پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی^۱) شد، که در سراسر ژنوم پراکنده هستند (۱۵). با کشف SNPها امکان ارزیابی ارتباطات در گستره ژنومی فراهم شد (۱۶). پس از انجام اولین مطالعه در سال ۲۰۰۵ میلادی و از طریق مطالعات گستره ژنومی واریانت‌های موجود در توالی DNA که با بیماری‌ها و فنوتیپ‌های مختلف در ارتباط هستند، همراه با هزاران لوکوس خطرزا در بروز بیماری‌ها و صفات مختلف، شناسایی شدند. از آنجا که دلایل وقوع بیماری اندومتریوز نامشخص بوده، و با توجه به امکان وراثتی بودن آن، GWAS رویکردی در جهت فهم بهتر دلایل ژنتیکی این بیماری فراهم کرده است. در این مطالعات ژنوم کامل افراد مبتلا و غیرمبتلا به اندومتریوز مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرد تا واریانت‌های ژنتیکی مشترکی که ممکن است در ایجاد این بیماری مؤثر واقع شوند، شناسایی شوند (۱۵).

مطالعات گستره ژنومی نشان داده‌اند که میان بیماری اندومتریوز و نشانگرهای ژنتیکی که در نزدیکی و یا درون ژن *WNT4* قرار دارند، همبستگی وجود دارد. این ژن کدکننده یکی از لیگاندهای مسیر پیام‌رسان WNT است که به‌عنوان یکی از اعضای اصلی تکوین سیستم تولیدمثل زنانه می‌باشد. مطالعات جمعیتی GWAS حاکی از آن است که وقوع بیماری‌های شایع همچون اندومتریوز به علت تأثیر واریانت‌های ژنتیکی شایع رخ می‌دهند (۶). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۵ بر روی زنان برزیلی انجام شد، ارتباط میان چهار SNP ژن *WNT4* و بیماری اندومتریوز مشخص شد؛ از میان آنها دو SNP (*rs16826658* و *rs3820282*) احتمالاً در بروز بیماری اندومتریوز در زنان نابارور مبتلا نقش دارند. تفاوت‌های جمعیتی بر عوامل ژنتیکی و رویدادهای دخیل در بیماری‌زایی اندومتریوز مؤثر می‌باشند (۱۷). مطالعات در ارتباط با گستره ژنومی که بر روی زنان با اجداد آسیای شرقی (ژاپن) انجام شده، نشان داده‌اند که لوکوس *rs7521902(A/C)* و *rs16826658(G/T)* با بیماری اندومتریوز همراهی داشته‌اند. به‌علاوه، در همین مطالعه همراهی *rs10965235(C/A)* واقع در ناحیه اینترونی ژن *CDKN2B-AS1* با بیماری اندومتریوز نشان داده شد (۱۸). در مطالعه دیگری که در زنان با اجداد اروپایی و زنان با اجداد آسیای شرقی (ژاپن) انجام شده است، همراهی میان لوکوس *rs12037376(A/G)* و بیماری اندومتریوز مشخص شده است (۱۹). همچنین در همین مطالعه،

همراهی پلی مورفیسم rs1537377(C/T) که در پایین دست ژن *CDKN2B-AS1* قرار گرفته و rs10757272(C/T) که در ناحیه اینترونی این ژن واقع شده، با بیماری اندومتریوز نشان داده شده است. دیگر لوکوس همراه با اندومتریوز که در زنان با اجداد اروپایی مورد مطالعه قرار گرفته، rs2235529(A/G) می‌باشد. دیگر پلی مورفیسم مورد مطالعه در جمعیت اروپایی که همراهی معناداری با بیماری اندومتریوز داشته و در ناحیه اینترونی ژن *CDKN2B-AS1* قرار دارد rs7041895(A/C) می‌باشد (۲۰).

تاکنون مطالعات متعددی درباره پلی مورفیسم‌هایی که با خطر ابتلا به بیماری اندومتریوز همراه هستند، انجام شده است. هدف انجام متا آنالیز پیش‌رو، ارزیابی کیفیت نتایج مطالعات GWA پیشین در حوزه همراهی پلی مورفیسم‌های در ارتباط با ژن‌های *WNT4* و *CDKN2B-AS1* با خطر وقوع یا پیشرفت بیماری اندومتریوز است. نتایج مورد بررسی در متا آنالیز حاضر شامل نتایج مطالعات موردی هستند که درباره اقوام گوناگون و با هدف ارزیابی همراهی انواعی از پلی مورفیسم‌های مرتبط با ژن‌های نام برده با بیماری اندومتریوز انجام شده‌اند. از این رو سنجش نتایج حاصل از این مطالعات منجر به درک بهتر اساس ژنتیکی این بیماری خواهد شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. توصیف مطالعات گستره ژنومی و سایر مطالعات هم‌تاسازی شده در جمعیت‌های مختلف در انجام این متا آنالیز تمامی مطالعات در رابطه با گستره ژنومی و در ارتباط با بیماری اندومتریوز منتشر شده از سال ۲۰۱۲ تا ۲۰۲۱، موجود در پایگاه داده GWAS catalog^۱ بررسی شده است. در جدول شماره (۱)، اطلاعات مربوط به گستره ژنومی درباره واریانت‌ها در لوکوس 1p36 که دربرگیرنده ژن *WNT4* و لوکوس می‌باشد، و نیز جمعیت‌های مورد بررسی در این مطالعات آورده شده است.

۲-۲. متا آنالیز بر روی نتایج گستره ژنومی مطالعات

در متا آنالیز پیش‌رو همراهی SNP‌های قرار گرفته در لوکوس‌های دربرگیرنده ژن *WNT4* و *CDKN2B-AS1*، و بیماری اندومتریوز با سطح معناداری $P\text{-value} < 5 \times 10^{-5}$ در تمامی مطالعات گستره ژنومی در نظر گرفته شد. مدل مورد استفاده برای متا آنالیز، بر روی پلی مورفیسم انتخاب شده fixed-effect بود که محاسبات مربوط به آن توسط نسخه چهار نرم‌افزار CMA^۲ و ارزیابی نسبت

1. <https://www.ebi.ac.uk/gwas>

2. Comprehensive Meta-analysis

احتمالی^۱ (OR) و محدوده اطمینان^۲ (CI) انجام شده است. نمودار درختی جهت نمایش بزرگی تأثیرات هر یک از مطالعات مربوط به پلی مورفیسم‌های انتخاب شده، توسط نرم‌افزار R نسخه ۴/۲/۱ و با استفاده از پکیج‌های forest plot و dplyr رسم گردید.

۳. نتایج

پلی مورفیسم‌های ژن *WNT4* شامل rs12037376، rs2235529، rs10799737 و rs55938609، rs16826658، rs7521902 و rs3920498 آلل‌های خطرزای آنها به همراه فراوانی‌شان، جمعیت‌هایی که این پلی مورفیسم‌ها در آنجا مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، سطح معناداری همراهی هر یک از این پلی مورفیسم‌ها با بیماری اندومتريوز و مقادیر مربوط به نسبت احتمالی و محدوده اطمینان هر یک از این پلی مورفیسم‌ها با این بیماری در جدول (۱) آورده شده است. در مدل fixed-effect همراهی هر یک از پلی مورفیسم‌های خطرزا در ژن *WNT4* با جایگاه کروموزومی 1p36.12 و OR و CI گزارش شده، به ترتیب شامل موارد زیر است:

rs55938609: OR((CI)) = 1.33 (1.20 - 1.41); $p < 3e-9$

rs12037376: OR((CI)) = 1.31، rs10799737: OR((CI)) = 1.32 (1.18-1.47); $p < 1e-6$ ، (1.48); $p < 6e7$

rs7521902: OR((CI)) = (1.17-1.46); $p < 1e-6$ ، rs16826658: OR((CI)) = 1.2 (1.11-1.29); $p < 2e-6$

(rs3920498: OR((CI)) = 1.19 (1.11-1.28); $p < 1.1e-5$ و (1.19 (1.13-1.25); $p < 3e-11$

همچنین پلی مورفیسم‌های بررسی شده در لوکوس ژن *CDKN2B-AS1* در جایگاه کروموزومی

9p21، و OR و CI گزارش شده درباره هر کدام شامل موارد زیر می‌باشد:

(rs15373377: OR ((CI)) = 1.09 (1.06-1.12); $P < 1.33e-10$ ، (rs10757272: OR ((CI)) = 1.07 (1.04-

1.10); $P < 2.6e-7$ ، (rs7041895: OR ((CI)) = 1.26 (1.16-1.37); $P < 1.06e-7$)

و (rs10965235: OR((CI)) = 1.44 (1.30-1.59); $P < 5.57e-12$). مقادیر مربوط به نسبت احتمالی

و محدوده اطمینان، آلل‌های خطرزا به همراه فراوانی آنها، جمعیتی که هر یک از این SNPها در آنجا مورد مطالعه واقع شده‌اند، در جدول (۲) آورده شده است.

در شکل (۱) و (۲) نمودار درختی برای نمایش داده‌های حاصل از متا آنالیز نشان داده شده است.

هر یک از مطالعات که معرفی‌کننده پلی مورفیسمی در ارتباط با ژن‌های *WNT4* و *CDKN2B-AS1* که با بیماری اندومتريوز همراهی دارند، در این شکل‌ها آورده شده‌اند. نسبت احتمالی که احتمال

1. Odds Ratio (OR)

2. Confidence Interval (CI)

ارتباط پلی مورفیسم آورده شده در یک مطالعه با پلی مورفیسم در مطالعه‌ای دیگر را بیان می‌کند، بر روی محور X نمودار آورده شده است. خط عدم اثر، خط عمودی نمودار است که به عنوان خط مرجع جهت نشان دادن ارتباط یا اثر بین متغیرهای مورد بررسی می‌باشد. از آنجا که این خط مساوی با (۱) است، نشان‌دهنده آن است که میان نتایج مطالعات آورده شده هیچ‌گونه همراهی وجود ندارد. مربع‌های آبی رنگ نمودار نشان‌دهنده تعداد افراد مشارکت‌کننده در هر یک از مطالعات است و خط افقی عبورکننده از آنها محدوده اطمینان ۹۵٪ را نشان می‌دهند. در هر دو نمودار درختی، در قسمت جمع‌بندی (نشانگذاری سبز)، نتایج خط مرجع را قطع نکرده‌اند، که این نشان‌دهنده معناداری آماری نتایج بوده و سطح این معناداری معادل $p < 0.000$ است.

جدول ۱- مشخصات هفت لوکوس در مجاورت و یا درون ژن *WNT4* در بیماران اندومتروز در مناطق مختلف جهان (الل خطر، سطح معنی‌داری، ریسک خطر، ضریب اطمینان فراوانی الی نسبی و جمعیت)

WNT4.SNP	Risk.Allele	p.value	OR..95..CI.	RAF	Population
rs2235529	A	3.0e-09	1.3[1.19-1.41]	0.153	European
rs55938609	G	6.0e-07	1.33[1.20-1.48]	0.84	European
rs10799737	NA	1.0e-06	1.32[1.18-1.47]	NR	East Asian
rs12037376	NA	1.0e-06	1.31[1.17-1.46]	NR	East Asian
rs16826658	G	2.0e-06	1.2[1.11-1.29]	0.523	East Asian
rs7521902	A	3.0e-11	1.19[1.13-1.25]	0.238	European, East Asian
rs3920498	G	1.1e-05	1.19[1.11-1.28]	0.8	European

OR = odds ratio, CI = confidence interval, RAF = risk allele frequency

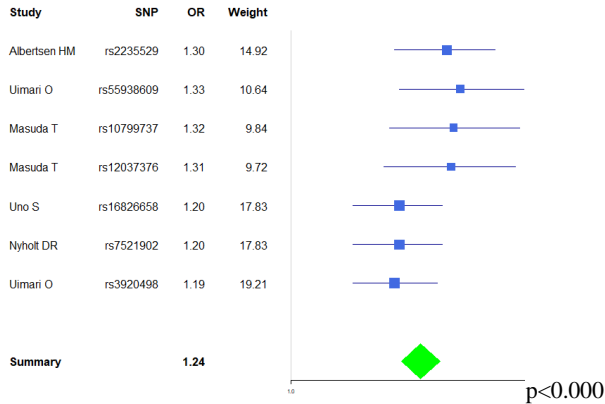
جدول (۱) خلاصه‌ای از مشخصات هفت لوکوس در مجاورت و یا درون ژن *WNT4* که به طور معناداری با وقوع بیماری اندومتروز همراهی داشته‌اند و جمعیت‌هایی که این لوکوس‌ها در آنها بررسی شده‌اند را نشان می‌دهد.

جدول ۲- مشخصات چهار لوکوس در مجاورت و یا درون ژن *CDKN2B-AS1* در بیماران اندومتروز در مناطق مختلف جهان (الل خطر، سطح معنی‌داری، ریسک خطر، ضریب اطمینان، فراوانی الی نسبی و جمعیت)

CDKN2B.AS1.SNP	Risk.Allele	p.value	OR..95..CI.	RAF	Population
rs1537377	C	1.33e-10	1.09[1.06-1.12]	0.400	European, East Asian
rs10757272	C	2.70e-07	1.07[1.04-1.10]	0.521	European, East Asian
rs7041895	A	1.06e-07	1.26[1.16-1.37]	0.430	European
rs10965235	C	5.57e-12	1.44[1.30-1.59]	0.854	East Asian

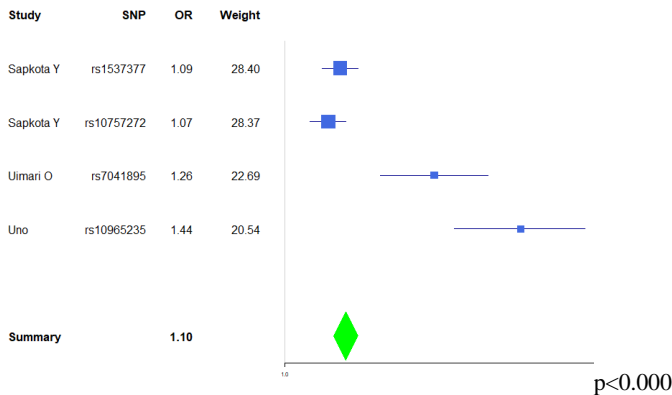
OR = odds ratio, CI = confidence interval, RAF = risk allele frequency

جدول (۲) خلاصه‌ای از مشخصات چهار لوکوس در مجاورت و یا درون ژن *CDKN2B-ASI* که به طور معناداری با وقوع بیماری اندومتریوز همراهی داشته و جمعیت‌هایی که این لوکوس‌ها در آنها بررسی شده‌اند را نشان می‌دهد.



شکل ۱- نمودار درختی هفت لوکوس SNP در جایگاه کروموزومی 1p36 و در مجاورت ژن *WNT4*

شکل (۱) نمودار درختی هفت لوکوس SNP در جایگاه کروموزومی 1p36 و در مجاورت ژن *WNT4*، که در مطالعات بر روی اشخاص مبتلا و غیرمبتلا به بیماری اندومتریوز، با وقوع این بیماری همراهی معناداری داشته‌اند را نشان می‌دهد.



شکل ۲- نمودار درختی چهار لوکوس SNP در جایگاه کروموزومی 9p21 و در مجاورت ژن *CDKN2B-ASI*

شکل (۲) نمودار درختی چهار لوکوس SNP در جایگاه کروموزومی 9p21 و در مجاورت ژن *CDKN2B-ASI*، که در مطالعات بر روی اشخاص مبتلا و غیرمبتلا به بیماری اندومتریوز، با وقوع

این بیماری همراهی معنادار داشته‌اند را نشان می‌دهد.

۴. بحث

اندومتريوز بیماری‌ای است که میلیون‌ها زن در جهان از عوارض آن همچون درد لگنی و ناباروری رنج می‌برند، ولی همچنان دلایل وقوع آن تا حدود زیادی نامشخص است (۱۹). علت‌یابی بیماری اندومتريوز از آنجایی پیچیده است که در وقوع آن هم فاکتورهای ژنتیکی متعدد و هم عوامل محیطی خطرزا دخیل می‌باشند. براساس مطالعاتی که بر روی دوقلوها انجام شده است، وراثت‌پذیری این بیماری ۰/۴۷ تا ۰/۵۱ تخمین زده شده که پیش‌بینی‌کننده آن است که فاکتورهای ژنتیکی ۵۰ درصد بر وقوع این بیماری مؤثر خواهند بود. مطالعات مربوط به بررسی گستره ژنومی همراهی واریانت‌های ژنتیکی معمول در رده سلول‌های جنسی و وقوع بیماری اندومتريوز نشان‌دهنده تأثیر بسیاری از واریانت‌های ژنتیکی بر رخ دادن این بیماری است (۲۱).

رویکردهای آماری توانسته‌اند از طریق ادغام داده‌های آماری حاصل از مطالعات بر روی گستره ژنومی و بیان کمی مکان‌های ژنی^۱، رابطه علت و معلولی قابل قبولی میان واریانت‌های ژنتیکی، بیان ژن‌ها و احتمال ابتلا به بیماری اندومتريوز را نشان دهند. چنین رویکردهایی منجر به شناسایی واریانت‌هایی شده که در تنظیم بیان ژن‌های دخیل در چسبندگی سلول‌ها و تکثیر آنها نقش دارند (۲۱). همچنین مطالعات عملکردی بیانگر برهم‌کنش میان واریانت‌ها در ناحیه کروموزومی 1p36.12 و ژن‌های نزدیک به آنها می‌باشد. به طوری که واریانت‌های خطرزا بر افزایش احتمال ابتلا به بیماری اندومتريوز با پروموتور ژن‌هایی مانند *LINC00339*، *CDC42* و *WNT4* برهم‌کنش داده و به طور مثال آلل خطرزا باعث افزایش بیان ژن *CDC42* در سلول‌های خونی شده است (۲۲). در مطالعاتی که توسط ^۲BBJ و ^۳IEC بر روی گستره ژنومی انجام شده، چندین SNP در ارتباط با بیماری اندومتريوز شناسایی شده است که در میان آنها پلی مورفیسم‌های rs10965235 و rs16826658 جزو لوکوس‌های مهم شناسایی شده می‌باشند. پلی مورفیسم rs16826658 در جایگاه کروموزومی 1p36 واقع شده و طبق گزارش حاصل از پروژه انجام شده توسط BBJ همراهی معناداری با بیماری اندومتريوز دارد. دیگر پلی مورفیسم خطرزا، rs10965235 می‌باشد که در اینترون ۶ ژن *CDKN2B-AS1* واقع شده و طبق داده‌های BBJ، همراهی معناداری با وقوع بیماری اندومتريوز در جمعیت آسیای شرقی

1. Expression quantitative trait loci (eQTLs)

2. BioBank Japan (BBJ)

3. International Endogene Consortium (IEC)

داشته است (۲۳).

پروتئین کد شده توسط ژن *WNT4* به عنوان اولین مولکول راه انداز مسیری است که در نهایت و از طریق ترشح فاکتورهای رشد منجر به تعیین جنسیت می شود. اختلال در عملکرد *WNT4* تکامل سه ارگان اصلی کلیه، غدد آدرنال و گنادها که هر سه از برآمدگی پریمودیوم اوروژنیتال مشتق شده اند را تحت تأثیر قرار می دهد. همین موضوع نشانگر اهمیت نقش اساسی *WNT4* در مراحل اولیه تکامل جنینی است. بسیاری از مطالعات نقشه برداری ژنی همراهی میان بیماری اندومتريوز و نشانگرهای واقع در نزدیکی ژن *WNT4* را نشان داده اند (۱۷). همچنین ژن *CDKN2B-AS1* با طول ۱۲۶٫۳ کیلوباز در ناحیه ژنومی گسترده شده که شامل ۱۹ آگزون می باشد و در قسمت انتهایی ۵' با ژن *CDKN2B*^۱ (که به عنوان ژن *P15* نیز شناخته می شود) همپوشانی دارد. بیان *CDKN2B-AS1* در سلول های رحمی مشاهده شده است و مطالعات قبلی نشان داده اند که *LncRNA* می تواند به عنوان کنترل کننده بیان ژن های *CDKN2B*^۲، *CDKN2A*^۳ و *ARF*^۳ عمل کند. *CDKN2A* یا *P16* یکی از مهارکننده های کینازهای وابسته به چرخه سلولی است که به عنوان تنظیم کننده منفی چرخه سلولی عمل می کند. *ARF* یا *P14* نیز از دیگر ژن های سرکوبگر توموری است که با لوکوس کدکننده ژن *CDKN2A* در عدم تعادل پیوستگی^۴ است. *CDKN2B-AS1* از روی رشته آنتی سنس سه ژن مهم سرکوبگر توموری نام برده رونویسی می شود و در کنترل بیان هر یک از آنها نقش دارد (۱۸).

در مطالعه متا آنالیز پیش رو مطالعاتی بررسی شدند که به همراهی پلی مورفسم های در ارتباط با ژن های *WNT4* و *CDKN2B-AS* و همراهی شان با بیماری اندومتريوز پرداخته بودند. تمامی مطالعات از پایگاه داده GWAS انتخاب شده اند. از جمله شاخص های مد نظر این پایگاه داده، گزارش پلی مورفسم هایی است که همراهی آنها با صفت مورد نظر با معناداری $p \text{ value} < 10^{-5}$ می باشد. افراد مورد نظر در این مطالعه اجداد ژاپنی و اروپایی داشته اند. بدین ترتیب Albertson و همکاران (۲۰۱۲)، به منظور شناسایی فاکتورهای ژنتیکی مؤثر بر وقوع بیماری اندومتريوز، مطالعه ای در ارتباط با گستره ژنومی بر داده های حاصل از مطالعه ای بالینی در جمعیت اروپایی انجام دادند. در این مطالعه که تعداد افراد مورد بررسی شامل ۲۰۱۹ بیمار که ابتلایشان به بیماری اندومتريوز از طریق جراحی مورد تأیید قرار گرفته و ۱۴۴۷۱ فرد سالم بود، همراهی معنادار پلی مورفسم ژن *WNT4* در

-
1. Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A (CDKN2A)
 2. Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2B (CDKN2B or P15)
 3. Alternative Reading Frame (ARF)
 4. Linkage Disequilibrium (LD)

لوکوس 1p36.12 (rs2235529) و بیماری اندومتريوز شناسایی شده است (۲۰). پلی مورفیسم‌های rs1537377 و rs10757272 واقع بر جایگاه کروموزومی 9p21.3 در متا آنالیزی که توسط Sapkota و همکاران روی ۱۱ مجموعه داده حاصل از مطالعات گستره ژنومی ۱۷۰۴۵ نفر بیمار مبتلا به اندومتريوز و ۱۹۱۵۹۶ نفر فرد سالم انجام شده، گزارش شده است (۱۹). در متا آنالیزی دیگری که توسط Uimari و همکاران (۲۰۱۶) بر روی داده‌های حاصل از مطالعات گستره ژنومی که توسط کنسرسیون بین‌المللی اندوزن انجام شد، ۳۱۹۴ فرد بیمار که ابتلایشان به اندومتريوز از طریق جراحی تأیید شده است و ۷۰۶۰ فرد غیرمبتلا به این بیماری بررسی شدند. داده‌های مورد بررسی، حاصل مطالعه بر روی افراد استرالیایی و بریتانیایی بودند. در این مطالعه یکی از مسیرهایی که با بیماری اندومتريوز همراهی داشته، مسیر پیام‌رسان wnt بود، که پلی مورفیسم rs55938609 در بالادست ژن *WNT4* از جمله ژن‌های مهم دخیل در این مسیر و همراهی آن با بیماری اندومتريوز مشخص شده است. دیگر پلی مورفیسم بررسی شده در این مطالعه rs7041895 می‌باشد که جایگاه آن در نزدیکی ژن کدکننده *CDKN2B-AS1* است و همراهی آلل A آن با وقوع بیماری اندومتريوز در جمعیت اروپایی بررسی شده، مشخص شده است. همچنین در همین مطالعه همراهی پلی مورفیسم rs3920498 واقع در نزدیکی ژن *CDKN2B-AS1* با افزایش خطر ابتلا به بیماری اندومتريوز گزارش شده است (۲۴).

در مطالعه‌ای نیز گستره ژنومی توسط Masuda و همکاران (۲۰۱۹) بر روی داده‌های بانک پروژه‌های ژاپن مربوط به پنج دسته از بیماری‌های زنان، شامل ۶۴۵ زن مبتلا به بیماری اندومتريوز و ۳۹۵۵۶ زن غیرمبتلا به این پنج دسته بیماری بررسی شد. در این مطالعه همراهی معنادار دو پلی مورفیسم ژن *WNT4* (rs10799737 و rs12037376) مورد شناسایی قرار گرفتند، این در حالی است که آلل خطرزای این دو پلی مورفیسم در این مطالعه گزارش نشده است (۲۵).

در مطالعه‌ای که توسط Uno و همکاران (۲۰۱۰) بر روی جمعیت ژاپن و ۴۶۰۹۴۵ لوکوس SNP انجام شد، ۱۴۲۳ بیمار مبتلا به اندومتريوز و ۱۳۱۸ فرد سالم مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه همراهی معنادار لوکوس rs16826658 در همسایگی ژن *WNT4* و rs10965235 واقع بر اینترون ۶ ژن *CDKN2B-AS1*، با بیماری اندومتريوز گزارش شده است (۱۸).

مطالعه متا آنالیز دیگری توسط Nyholt و همکاران (۲۰۱۲) بر روی ۴۶۰۴ فرد مبتلا به اندومتريوز و ۹۳۹۳ فرد غیرمبتلا به این بیماری که اجداد اروپایی و ژاپنی داشتند، انجام شد. در این مطالعه همراهی rs7521902 در لوکوس 1p36.12 و در نزدیکی ژن *WNT4* با بیماری اندومتريوز تأیید شده است (۲۶).

ژن *WNT* به عنوان ژنی که اختلال در عملکرد آن با افزایش احتمال ابتلا به بیماری اندومتریوز و سرطان تخمدان در ارتباط می‌باشد، مطرح است. پروتئین حاصل از این ژن نقش مهمی در روند طبیعی سنتز فولیکول‌ها، هورمون‌های لوتئینی و استروئیدی دارد (۳، ۲۷). مطالعات حاصل از آنالیزهای ژنوم در جمعیت‌های مختلف، همراهی پلی مورفیسم‌های ژن *WNT4* و بیماری اندومتریوز را نشان داده‌اند. در میان این مطالعات پلی مورفیسم‌هایی که با بیشترین معناداری با بیماری اندومتریوز همراه بوده‌اند، در جدول شماره (۱) آورده شده‌اند.

در مطالعه Nyholt و همکاران بر روی جمعیت اروپایی و آسیای شرقی نشان داده شد که، آلل A در لوکوس rs7521902 با بیشترین سطح معناداری، احتمال خطر ابتلا به بیماری اندومتریوز را افزایش می‌دهد.

نتایج حاصل از ارزیابی تمامی شش مطالعه مورد بررسی در متا آنالیز پیش‌رو از لحاظ آماری معنادار می‌باشند. از هفت لوکوس بررسی شده، نتیجه حاصل از مطالعه Uimari و همکاران درباره همراهی rs3920498 (واقع در بالادست ژن *WNT4*) با بیماری اندومتریوز از نظر تعداد بیشتر شرکت‌کنندگان، بیشترین دقت را داشته است. همچنین نتیجه حاصل از ارزیابی این مطالعه در متا آنالیز پیش‌رو، بیشترین درجه قطعیت را نسبت به دیگر مطالعات داشته است. نتیجه حاصل از بررسی پلی مورفیسم‌های در ارتباط با *CDKN2B-ASI* که بیشترین همراهی را با بیماری اندومتریوز دارند، نشان داد که بر طبق مطالعه‌ای که Uno و همکاران بر روی جمعیت زنان آسیای شرقی انجام دادند، آلل C پلی مورفیسم rs10965235 با بیشترین سطح معناداری، با خطر ابتلا به بیماری اندومتریوز در ارتباط است. از سوی دیگر، نتیجه حاصل از متا آنالیز پیش‌رو نشان می‌دهد آلل C پلی مورفیسم rs1537377 (واقع در پایین‌دست ژن *CDKN2B-ASI*) که در مطالعه Sapkota و همکاران بر روی جمعیت زنان اروپایی و آسیای شرقی بررسی شده، با دقت بیشتر و درجه قطعیت بالاتری با خطر ابتلا به بیماری اندومتریوز همراه است.

این یافته‌ها می‌توانند در درک بهتر اهمیت تغییرات نقطه‌ای در ژنوم افراد جمعیت‌های مختلف و تأثیر آن بر وقوع بیماری اندومتریوز، کمک‌کننده باشند. با این وجود در جهت تأیید اطلاعات به دست آمده، نیاز به انجام مطالعات مشاهده‌ای بیشتر، بر روی افراد بیمار و غیربیمار در جمعیت‌های دیگر نیز می‌باشد. همچنین مشخص کردن نقش دقیق هر یک از واریانت‌ها بر بیان و یا عملکرد ژن‌های *WNT4* و *CDKN2B-ASI* در ایجاد بیماری اندومتریوز، از دیگر مواردی است که نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. پلی مورفیسم‌های یافت شده در طی مطالعات بر روی گستره ژنومی، معمولاً در نواحی

بین ژنی قرار گرفته‌اند و به این ترتیب می‌توانند بر فرآیندهای تنظیمی ژن‌های همسایه‌شان اثرگذار باشند (۱۲). نقش تنظیمی که پلی مورفیسم‌ها می‌توانند در روند بیماری‌زایی اندومتریوز بازی کنند، در چندین مطالعه در ارتباط با رونوشت‌های کوچک غیرکدکننده^۱ مطرح شده است؛ به طوری که اختلال ژنتیکی در ناحیه اتصال miRNA به رونوشت کدکننده^۲ هدف‌شان می‌تواند باعث نقص توارثی در ترجمه پروتئین حاصل از آن mRNA شود. پلی مورفیسم‌ها یا جهش‌های نقطه‌ای در نواحی اتصال miRNA‌ها می‌تواند اثر بالقوه‌ای در زنان مبتلا به بیماری اندومتریوز داشته باشد و منجر به پیشرفت روند این بیماری شود. تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که SNP‌ها می‌توانند از طریق اعمال تغییرات بر نواحی غیرقابل ترجمه mRNA، دسترسی miRNA‌ها به نواحی هدفشان در نواحی غیرکدکننده^۳ mRNA هدف را مختل کنند (۲۸، ۲۹). در مطالعه‌ای که توسط Zhao و همکاران (۲۰۱۰) انجام گرفت، ارتباط میان پلی مورفیسم rs14647 در ناحیه 3' UTR ژن WHSC1 و miRNA-99b در جهت افزایش احتمال ابتلا به بیماری اندومتریوز شناسایی شد (۲۸). با بررسی پایگاه داده ensembl genome browser^۴ و بررسی جایگاه‌های تنظیمی ژن WNT4، ناحیه 3' UTR این ژن به عنوان هدف اتصال دو RNA کوچک غیرکدکننده miR-339 و miR-520a که توسط پایگاه داده tarbase^۵ شناسایی شده‌اند، قرار می‌گیرد. در مطالعه‌ای که توسط Herndon و همکارانش در سال ۲۰۱۶ بر روی بیماران مبتلا به آدنومیوز که در آن غدد اندومتریال و بافت استروما در ماهیچه رحم یافت می‌شوند، انجام شد. در این مطالعه نشان داده شد که miR-339 در بافت بیماران مبتلا به آدنومیوز نسبت به بافت سالم با افزایش عملکرد روبرو بوده است (۳۰).

از سوی دیگر مطالعه‌ای توسط Tsai و همکاران (۲۰۱۳) بر روی ارتباط میان پلی مورفیسم ژن *MMP2*^۶ و miR-520g و miR-520h از واریانت‌های miR-520 انجام شد. شواهد بسیاری حاکی از آن است که ژن *MMP2* با توجه به نقشی که در تخریب اجزای ماتریکس خارج سلولی دارد، در پیشرفت بیماری اندومتریوز نقش به‌سزایی دارد. نتایج این مطالعه نشان‌دهنده آن است که تغییر آلل

1. Non-coding microRNA (miR)

2. Messenger RNA (mRNA)

3. Untranslated region (UTR)

4. Wolf-Hirschhorn syndrome candidate gene1

5. <https://www.ensembl.org>

6. <http://diana.imis.athena-innovation.gr/DianaTools/index.php?r=tarbase/index>

7. Metalloproteinase 2

پلی مورفیسم rs7201 از A به C می‌تواند اثر خاموش‌کنندگی miR-520 بر بیان ژن *MMP2* را کاهش دهد و بدین‌گونه باعث افزایش بیان این ژن و تشدید احتمال خطر ابتلا به بیماری اندومتريوز شود (۳۱). از آنجا که miRNAها می‌توانند به عنوان بیومارکرهای تشخیصی بیماری‌ها کاربرد فراوانی داشته باشند، شناسایی ارتباط میان آنها و پلی‌مورفیسم‌ها می‌تواند منجر به پیشرفت شاخه‌ای از پزشکی فردمحور با نام فارماکوژنومیکس miRNAها شود که در آن miRNAها به عنوان اهداف دارویی قرار می‌گیرند (۳۲). شناسایی این روابط در بیماری اندومتريوز بسیار حائز اهمیت است. از آنجا که اختلال در بیان ژن *WNT4* در وقوع بیماری اندومتريوز تأثیرگذار است، مطالعه بر روی ارتباط میان تغییر آلی پلی‌مورفیسم‌های موجود در نواحی تنظیم miR-520a و miR-339 می‌تواند در شناسایی اهداف درمانی جدید این بیماری کمک‌کننده باشد.

عملکرد *CDKN2B-AS1*، به عنوان تنظیم‌کننده بیان سه ژن مهم سرکوب‌گر توموری شناخته شده است. از جمله این ژن‌ها *CDKN2A* بوده که غیرفعال شدن آن با اختلال در تنظیم رشد سلولی در بافت اندومتريوزی همراه بوده است. به طوری که یکی از عوامل مؤثر بر سرکوب عملکرد *CDKN2A*، رونوشت بلند غیرکدکننده *CDKN2B-AS1* می‌باشد که عملکرد آن می‌تواند نقش بسزایی در پیشبرد بیماری‌زایی بیماری اندومتريوز داشته باشد (۳۳). دیگر عملکرد مهم این *lncRNA* در رابطه با افزایش بیان پروتئین کدشونده توسط ژن *AKT3* است. از جمله عواملی که در سلول‌های نرمال اندومتر کنترل‌کننده سطح بیان رونوشت *AKT3* می‌باشد، miR-424-5p است که می‌تواند ناحیه 3' UTR این رونوشت را هدف قرار دهد. همچنین در مطالعه‌ای که توسط Wang و همکاران (۲۰۲۱) انجام شد، ناحیه 3' UTR رونوشت *CDKN2B-AS1* نیز به عنوان محل اتصال miR-424-5p شناسایی شد. در این مطالعه نشان داده شده که *CDKN2B-AS1* می‌تواند با به دام انداختن miR-424-5p از عملکرد تنظیمی آن در کنترل بیان *AKT3* جلوگیری کند (۱۴، ۳۳). بدین طریق *AKT3* دچار افزایش بیان شده و این افزایش بیان در جهت کمک به پیشبرد پروسه EMT و پیشرفت اندومتريوز عمل می‌کند. بررسی پلی‌مورفیسم‌های موجود در جایگاه 3' UTR این ژن و اثر تغییرات آلی آنها بر عملکرد miR-424-5p پیشنهاد می‌شود.

۵. نتیجه‌گیری

مطالعه متا آنالیز پیش‌رو به منظور بررسی پلی‌مورفیسم‌هایی در نزدیکی و یا میانه ژن‌های *WNT4* و *CDKN2B-AS1* که بیشترین همراهی با وقوع بیماری اندومتريوز را دارند، انجام شده است. پلی‌مورفیسم‌های شناسایی شده در مطالعات GWA مورد بررسی در این متا آنالیز، ارتباط معناداری با

بروز اندومتريوز در جمعیت‌هایی با اجداد آسیای شرقی و اروپایی نشان دادند. در این متا آنالیز مشخص شد که از میان واریانت‌های مورد مطالعه، لوکوس‌های rs3920498 و rs1537377 به طور معنادار با بیماری اندومتريوز به ترتیب در جمعیت‌های اروپایی در مورد واریانت اول و همچنین جمعیت‌های اروپایی و آسیای شرقی، در مورد واریانت دوم همراهی داشته است. جهت تأیید ارتباطات یافت شده میان یافته‌های متا آنالیز پیش‌رو، به علت امکان سوگیری در مطالعات بررسی شده درباره فراوانی آلل‌های هر یک از این پلی مورفیسم‌ها، نیاز به مطالعات مشاهده‌ای بیشتر در جمعیت‌های گوناگون است. همچنین بررسی دقیق‌تر نقش واریانت‌های شناسایی شده در لوکوس ژن‌های *WNT4* و *CDKN2B-AS1* بر تغییر عملکرد و میزان بیان آنها پیشنهاد می‌شود، تا بدین طریق درک بهتری از دلایل ژنتیکی وقوع بیماری اندومتريوز بدست آید.

References

1. Rahmioglu N, Nyholt DR, Morris AP, Missmer SA, Montgomery GW & Zondervan KT. Genetic variants underlying risk of endometriosis: insights from meta-analysis of eight genome-wide association and replication datasets. *Human reproduction update*. 2014; 20(5): 702-16.
2. Abramiuk M, Grywalska E, Małkowska P, Sierawska O, Hryniewicz R & Niedzwiedzka-Rystwej P. The role of the immune system in the development of endometriosis. *Cells*. 2022; 11(13): 2028.
3. Yuan Y, Li Y, Zhao W, Hu Y, Zhou C, Long T & Long L. WNT4 promotes macrophage polarization via granulosa cell M-CSF and reduces granulosa cell apoptosis in endometriosis. *Cytokine*. 2023; 172: 156400.
4. Matalliotakis M, Zervou MI, Matalliotaki C, Rahmioglu N, Koumantakis G, Kalogiannidis I & et al. The role of gene polymorphisms in endometriosis. *Molecular Medicine Reports*. 2017; 16(5): 5881-6.
5. Lamceva J, Uljanovs R & Strumfa I. The main theories on the pathogenesis of endometriosis. *International journal of molecular sciences*. 2023; 24(5): 4254.
6. Giacomini E, Minetto S, Li Piani L, Pagliardini L, Somigliana E & Viganò P. Genetics and inflammation in endometriosis: Improving knowledge for development of new pharmacological strategies. *International journal of molecular sciences*. 2021; 22(16): 9033.
7. Malutan A, Drugan T, Georgescu C, Ciortea R, Bucuri C, Bobric A & et al. Vascular endothelial growth factor serum levels in women with advanced endometriosis. *Acta Endocrinologica (Bucharest)*. 2016; 12(1): 7.
8. Chung MS & Han SJ. Endometriosis-associated angiogenesis and anti-angiogenic therapy for endometriosis. *Frontiers in Global Women's Health*. 2022; 3: 856316.
9. Wu Z, Yuan M, Li Y, Fu F, Ma W, Li H & et al. Analysis of WNT4 polymorphism in Chinese Han women with endometriosis. *Reproductive BioMedicine Online*. 2015; 30(4): 415-20.
10. Proestling K, Birner P, Gamperl S, Nirtl N, Marton E, Yerlikaya G & et al. Enhanced epithelial to mesenchymal transition (EMT) and upregulated MYC in ectopic lesions contribute independently to endometriosis. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2015; 13: 1-11.
11. Yang Y-M & Yang W-X. Epithelial-to-mesenchymal transition in the development of endometriosis. *Oncotarget*. 2017; 8(25): 41679.
12. Hudson QJ, Proestling K, Perricos A, Kuessel L, Husslein H, Wenzl R & Yotova I. The role of long non-coding RNAs in endometriosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22(21): 11425.
13. Yuan H, Lin Z, Liu Y, Jiang Y, Liu K, Tu M & et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma induced M2-polarized tumor-associated macrophages facilitate tumor growth and invasiveness. *Cancer cell international*. 2020; 20(1): 1-14.
14. Wang S, Yi M, Zhang X, Zhang T, Jiang L, Cao L & et al. Effects of CDKN2B-AS1 on

- cellular proliferation, invasion and AKT3 expression are attenuated by miR-424-5p in a model of ovarian endometriosis. *Reproductive biomedicine online*. 2021; 42(6): 1057-66.
15. Zondervan K, Rahmioglu N, Morris A, Nyholt D, Montgomery G, Becker C & Missmer S. Beyond endometriosis GWAS: from genomics to phenomics to the patient Europe PMC Funders Group. *Semin Reprod Med*. 2016; 34: 242-54.
 16. Lander ES. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001; 409(6822): 860-921.
 17. Mafrà F, Catto M, Bianco B, Barbosa CP & Christofolini D. Association of WNT4 polymorphisms with endometriosis in infertile patients. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2015; 32: 1359-64.
 18. Uno S, Zembutsu H, Hirasawa A, Takahashi A, Kubo M, Akahane T & et al. A genome-wide association study identifies genetic variants in the CDKN2BAS locus associated with endometriosis in Japanese. *Nature genetics*. 2010; 42(8): 707-10.
 19. 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. *Nature communications*. 2017; 8(1): 15539.
 20. Albertsen HM, Chettier R, Farrington P & Ward K. Genome-wide association study link novel loci to endometriosis. *PLoS one*. 2013; 8(3): e58257.
 21. Cousins FL, McKinnon BD, Mortlock S, Fitzgerald HC, Zhang C, Montgomery GW & Gargett CE. New concepts on the etiology of endometriosis. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2023; 49(4): 1090-105.
 22. Powell JE, Fung JN, Shakhbazov K, Sapkota Y, Cloonan N, Hemani G & et al. Endometriosis risk alleles at 1p36. 12 act through inverse regulation of CDC42 and LINC00339. *Human molecular genetics*. 2016; 25(22): 5046-58.
 23. Lee GH, Choi YM, Hong MA, Yoon SH, Kim JJ, Hwang K & Chae SJ. Association of CDKN2B-AS and WNT4 genetic polymorphisms in Korean patients with endometriosis. *Fertility and Sterility*. 2014; 102(5): 1393-7.
 24. 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. *Human Reproduction*. 2017; 32(4): 780-93.
 25. Masuda T, Low S-K, Akiyama M, Hirata M & Ueda Y, Matsuda K & et al. GWAS of five gynecologic diseases and cross-trait analysis in Japanese. *European Journal of Human Genetics*. 2020; 28(1): 95-107.
 26. Nyholt DR, Low S-K, Anderson CA, Painter JN, Uno S, Morris AP & et al. Genome-wide association meta-analysis identifies new endometriosis risk loci. *Nature genetics*. 2012; 44(12): 1355-9.
 27. Luong HT, Painter JN, Shakhbazov K, Chapman B, Henders AK, Powell JE & et al. Fine mapping of variants associated with endometriosis in the WNT4 region on chromosome 1p36. *International Journal of Molecular Epidemiology and Genetics*. 2013; 4(4): 193.
 28. Zhao ZZ, Croft L, Nyholt DR, Chapman B, Treloar SA, Hull ML & Montgomery GW. Evaluation of polymorphisms in predicted target sites for micro RNAs differentially

- expressed in endometriosis. *MHR: Basic science of reproductive medicine*. 2010; 17(2): 92-103.
29. Halvorsen M, Martin JS, Broadaway S & Laederach A. Disease-associated mutations that alter the RNA structural ensemble. *PLoS genetics*. 2010; 6(8): e1001074.
30. Herndon CN, Aghajanova L, Balayan S, Erikson D, Barragan F, Goldfien G & et al. Global transcriptome abnormalities of the eutopic endometrium from women with adenomyosis. *Reproductive Sciences*. 2016; 23(10): 1289-303.
31. Tsai E-M, Wang Y-S, Lin C-S, Lin W-Y, Hsi E, Wu M-T & Juo S-HH. A microRNA-520 mirSNP at the MMP2 gene influences susceptibility to endometriosis in Chinese women. *Journal of human genetics*. 2013; 58(4): 202-9.
32. Hawkins SM, Creighton CJ, Han DY, Zariff A, Anderson ML, Gunaratne PH & Matzuk MM. Functional microRNA involved in endometriosis. *Molecular endocrinology*. 2011; 25(5): 821-32.
33. Goumenou A, Arvanitis D, Matalliotakis I, Koumantakis E & Spandidos D. Loss of heterozygosity in adenomyosis on hMSH2, hMLH1, p16Ink4 and GALT loci. *International journal of molecular medicine*. 2000; 6(6): 667-738.