



IKER  
GAZTE  
NAZIOARTEKO  
IKERKETA EUSKARAZ

## VI. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2025eko maiatzaren 28, 29 eta 30a  
Bilbo, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:  
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)



Aitortu-PartekatuBerdin 4.0

### OSASUN ZIENTZIAK

**RNA luze ez-kodetzaileen (lncRNA)  
funtzioa haurdunaldiaren galera  
errepikakorrean (RPL)**

*Ane Betolaza,  
Endika Varela-Martínez  
eta Begoña M. Jugo*

137-144 or.  
<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.vi.04.16>

#### ANTOLATZAILEA



#### BABESLEAK



EUSKO JAURLARITZA  
GOBIERNO VASCO



#### LAGUNTZAILEAK



## RNA luze ez-kodetzaileen (lncRNA) funtzioa haurdunaldiaren galera errepikakorrean (RPL)

Ane Betolaza, Endika Varela-Martínez, Bego M. Jugo

*Genetika, Antropologia Fisikoa eta Animalien Fisiologia Saila, Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU*

*abetolaza003@ikasle.ehu.eus, [begonamarina.jugo@ehu.eus](mailto:begonamarina.jugo@ehu.eus)*

### Laburpena

*RNA luze ez-kodetzaileek (lncRNA-ek) hainbat mekanismoren bidez geneen adierazpena erregulatzen gaitasuna dute eta gaixotasunen garapenean parte hartu dezakete. Ikerketa honek lncRNA molekulen rola aztertzen du emakumeen ugalketa-gaixotasunetan, bereziki haurdunaldi galera errepikakorrean gaixotasunean (Recurrent Pregnancy Loss, ingelesez). Horretarako, berrikusketa bibliografikoa egiteaz gain, datu-baseetako RNA sekuentziazio masiboaren (RNA seq) datuak bildu dira. lncRNA-k identifikatzeko asmoz, RPL pairatzen duten eta kontrol taldeen emakumeen laginen datuak 4 ehunetik lortu dira. Kalitate-kontrola eta adierazpen diferentzialaren analisiek RPL-rekin asoziatutako lncRNA gakoak nabarmendu dituzte. Gainera, azterketa funtzionalak erakutsi du lncRNA hauek haurdunaldiaren mantentzean funtsezkoak diren hantura eta erantzun immunearen bideetan parte hartzen dutela. Lanaren emaitzek lncRNA-k RPL patologiarekin detekzioarako eta tratamendurako tresna posibleak izan litezkeela adierazten dute.*

**Hitz-gakoak:** *lncRNA, RPL, RNAseq, berrikusketa bibliografikoa, adierazpen diferentziala, hantura eta erantzun immunea*

### Abstract

*This study explores the role of long non-coding RNAs (lncRNAs) in female reproductive diseases, with a focus on Recurrent Pregnancy Loss (RPL). Previously considered non-functional, recent findings reveal that lncRNAs regulate gene expression through various mechanisms. This research involved reviewing relevant literature and collecting high-throughput RNA sequencing (RNA seq) data of tissue samples from villus, decidual immune cells, endometrium, and decidua from women affected by RPL and a control group. Quality filters and differential expression analysis highlighted key lncRNAs associated with RPL. Furthermore, functional analysis indicated that these lncRNAs are involved in inflammation and immune response pathways, which are known to be crucial for pregnancy maintenance. These findings suggest that lncRNAs could be potential therapeutic targets for RPL or even used for early diagnosis.*

**Key words:** *lncRNA, RPL, RNAseq, literature review, differential expression, inflammation and immune response*

### 1. Sarrera eta motibazioa

Ikerketa zientifikoaren munduan, biologia molekularrak duen zabaltasuna aintzat hartuz azido erribonukleiko (RNA) molekula ez kodetzaileek (ncRNA) ez dute protagonismo handirik izan duela gutxi arte. Are gehiago, genomaren zaborra baino ez zirela onartzen zen (Ohno, 1972). Izan ere, biologiaren dogma zentralaren arabera, gene gehienak mRNA-ra transkribatzen dira, gero itzulpena eta proteinen ekoizpena gerta dadin. Halere, azken urteotan ikusi da erdiko bidean geratzen diren RNA molekula hauek ez direla gaitasunik gabeko trabak, baizik eta funtzionalak izan daitezkeela.

Gaur egun jakina da genomaren %2-ak baino gutxiagok proteinak kodetzeko ahalmena duela, hau da, genoma gehiena ez kodetzailea dela (Kopp eta Mendell, 2018). Gainera, “g-balioaren paradoxa”-ren

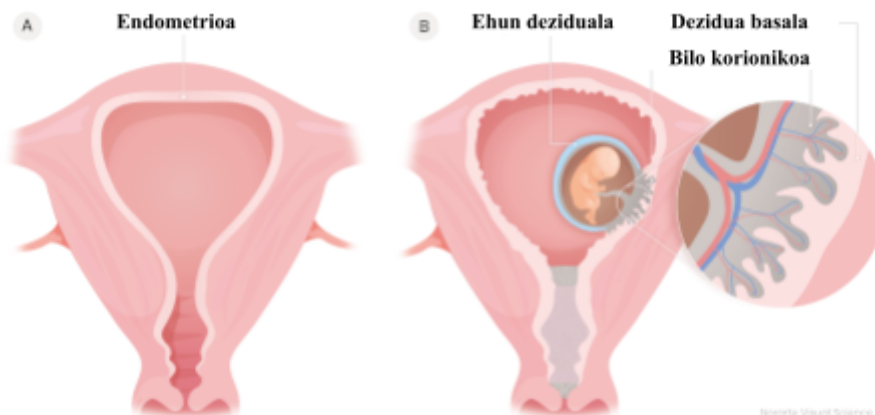
kontzeptua definitu da. Horren arabera, garapen-maila oso ezberdinak dituzten animaliek proteina-kodetzaile diren geneen antzeko kopurua dute. Adibidez, gizakiok  $\sim 30 \times 10^{12}$  zelula somatiko ditugu eta *Caenorhabditis elegans*-ek, Nematoda espezie batek, aldiz, 1.000 zelula somatiko ditu. Baina biok daukagu proteinak kodetzeko gene kopuru berdina, 20.000 inguru (Mattick *et al.*, 2023). Ezberdintasun hori geneen adierazpena erregulatzeko gai diren hainbat mekanismok azal dezakete, kodetutako geneen artean zeintzuk eta nola sintetizatuko diren mugatzeko gaitasuna dutenak. Horien artean, moztitsasketa alternatiboa dago, non genoma edo kode berdinetik gene ezberdinak transkribatzen diren, introi zein exoien moztitsaketa patroien aldakortasuna dela eta. Kasu honetan, ikerketa honen aztergaia, geneen sintesia erregulatzeko beste mekanismo bat da, konkretuki, ncRNA molekulak dira.

RNA ez kodetzaile erregulatzaileen artean, lncRNA-k 200 base pare (bp) edo gehiagoko RNA luze ez kodetzaileak dira eta aldaketa transkripzionalak zein post-transkripzionalak eragin ditzakete beste RNA batzuetara, DNA harizpietara edo proteinetara lotuz. Askotariko lncRNA motak daude eta horien identifikapena, sailkapena, izendapena eta karakterizazioa zaila izaten da. Horrez gain, lncRNA-k ehunaren edo egoera zelularren arabera, adierazpen espezifikoak izan ohi dute (Cabili *et al.*, 2011). Hortaz, haien detekzioa nabarmen alda daiteke lagin batetik bestera, haien analisi konplikatur. Gainera, funtzio ugariarekin lotzen direnez, lncRNA-k prozesu zelular ezberdinetan erregulatzaile gako direla ikusi da, hala nola, zelulen garapenean, zelulen desberdintzapenean eta zenbait gaixotasunen patogenesisian ere (Mattick *et al.*, 2023).

Literatura zientifikoa deskribatzen diren lncRNA molekularekin asoziatutako gaixotasunen artetik, badago bat ugaltze-osasun arloan erronka esanguratsua suposatzen duena, aborto errepikakorra edo Recurrent Pregnancy Loss (RPL), hain zuzen (Azidoost *et al.*, 2023). RPL gaixotasunak umeak izan nahi dituzten eta adinean dauden emakumeen %5 kaltetzen du (Chen *et al.*, 2021). Gaixotasuna pairatzen duten emakumeek ondoz ondoko 3 haurdunaldi edo gehiago espontaneoki galtzen dituzte fetuaren bideragarritasuna lortu baino lehen. Patologia faktore ezberdinen eraginagatik garatu daiteke: desoreka hormonalak, tolerantzia immunologiko baxua, ingurune baldintzak edota kausa genetiko eta epigenetikoak. Horiek horrela, RPL kasuen %50-ean etiologia ezezaguna izaten da (Wang *et al.*, 2019), hau da, ezin da gaixotasuna garatzeko arrazoiak zehaztu. Ezjakintasun hori dela eta, tratamendua edota hurrengo haurdunaldien arrakasta bermatzea konplexuagoa izaten da.

Haurdunaldiaren garapen osasuntsuan etapa gakoa plazentaren eraketa izango da. Aldi baterako organo horrek amak fetua mantenugaiz eta oxigenoz hornitu dezan balio du. Bere garapenean eta funtzioan hainbat egitura garrantzitsu agertzen dira. Hala nola, dezidua ehuna, bilo korionikoa edota endometrioia (1.irudia). Emakume baten umetokiaren ehun inguratzaileari endometrio deritzo. Ernalketa gertatzean endometrioia aldatzen da eta dezidua gisa ezagutuko da. Gainera, angiogenesisia ere ematen da (zainen berrantolakuntza), bilo korionikoa sortuz. Prozesu eta ehun horietan edozein akatsek eragin ditzake haurdunaldiko patologiak, RPL barne (Chen *et al.*, 2021).

**1.irudia: Giza plazentaren irudikapena, haurdunaldian garrantzia duten atalak eta ehunak adieraziz, hala nola, dezidua ehuna, bilo korionikoa eta endometrioia.**



## 2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Jakina da nolabaiteko lotura dagoela haurdunaldiaren galera eragiten duen gaixotasun honen eta plazentaren eraketa prozesuaren artean. Horrenbestez, garapen horren funtzionamendu egokia oztopa dezaketen faktoreak ikertzea garrantzitsua da, prozesuaren nondik-norakoak ulertzeko eta diagnostiko zein tratamendu estrategiak garatu ahal izateko.

Horrela, azken boladan ikertzaileek jabetu dira badaudela lncRNA batzuk arlo honetan eragina izan dezaketenak, hau da, haurdunaldiaren bidezidor gakoan erregulazioan inplikaturik egon daitezkenak. Esaterako, lncRNA batzuk RPL-a duten emakumeetan gainadierazi edo azpiadierazi daitezke eta ondorioz, erregulatzen dituzten bidezidor garrantzitsuak eraldaturik egongo dira. Bidezidor horiek betetzen duten funtzioa murriztu edo areagotuko denez, patologiaren garapena eragin daiteke. Adibidez, MALAT1 lncRNA molekularen ohiz kanpoko adierazpenak eragina dauka p53 tumore-proteinaren bidezidor zein funtzioan. Konkretuki, MALAT1 eta p53 molekulen ohiz kanpoko adierazpen-mailek RPL gaixotasunaren garapena eragin dezaketela ondorioztatu da, zelulen proliferazio, migrazio eta inbasio gaitasunak murriztuz (Wang *et al.*, 2019). Gainera, RPL gaixoetan NEAT1 lncRNA molekula gainadierazita agertzen da, miR-373 molekularekin elkartu daiteke eta kinaasa konkretu baten gainadierazpena eragin. Ondorioz, trofoblastoen proliferazioa murrizten da eta apoptosia areagotu daiteke, RPL garatzeko aukerak handituz (Azidoost *et al.*, 2023).

Horiek horrela, ikerketa lan honen bitartez bi helburu nagusi lortu nahi dira. Hasteko, orain arte datu-baseetan RPL-aren testuinguruan lncRNA molekulak duten agerpenaren berrikusketa sistematikoa egitea. Bestalde, RNA sekuentziazioaren datuak, datu-baseetatik ere lortutakoak, bioinformatikoki aztertzea. Hots, datuetan adierazten diren lncRNA transkriptoen karakterizazioa, kuantifikazioa, filtraketa eta azterketa funtzionala egingo dira, RPL duten emakumeen eta kontrolen artean desberdintasuna dagoen ikusteko.

## 3. Ikerketaren muina

### 3.1 Berrikusketa bibliografikoa

Hasteko, berrikusketa bibliografiko bat egin da lncRNA eta RPL-aren arteko erlazioa aztertzen duten artikuluen guztien bilaketa eginik PubMed datu-basearen bitartez. Bilaketa ahalik eta esangurutsuen izateko hurrengo hitz gakoak aukeratu dira: lncRNA, *Recurrent Miscarriage*, *Recurrent Spontaneous Abortion*, *Recurrent Pregnancy Loss* eta *Idiopathic Pregnancy Loss*. Lortutako artikuluen emaitzen interpretaziorako soilik erabili beharrean, lncRNA karakterizazioa egiteko ere kontuan hartu izan dira.

Izan ere, analisi bioinformatikorako erabilitako laginak bi ezaugarri garrantzitsu betetzen dituzten proiektuetatik lortu dira. Alde batetik, metodologian RNA sekuentziazioa erabili dituzten proiektuak dira eta aldi berean, datuak partekatzeko eskuragarri dituztenak. Horrela, RPL duten emakume zein emakume osasuntsuen RNA sekuentzia totalen bilduma lortu da, datuen eskuragarritasun publikoari esker.

**1.taula: LncRNA molekulak karakterizatzeko erabili diren laginen jatorria eta deskribapena biltzen ditu.**

| Proiektu ID | Lagin kopurua | Kontrol | RPL | Ehuna                      | Erreferentzia                 |
|-------------|---------------|---------|-----|----------------------------|-------------------------------|
| PRJNA760763 | 10            | 5       | 5   | Bilo korionikoa            | Wang <i>et al.</i> , 2022     |
| PRJNA813430 | 6             | 3       | 3   | Deziduaren zelula immuneak | Li L. <i>et al.</i> , 2022    |
| PRJNA314429 | 9             | 3       | 6   | Endometrioia               | Huang J. <i>et al.</i> , 2017 |
| PRJNA819201 | 6             | 3       | 3   | Dezidua ehuna              | Liu X. <i>et al.</i> , 2022   |

### 3.2 Laginetan agertzen diren lncRNA detekzioa eta karakterizazioa

Proiektu horien informazioa datu-baseetatik deskargatu da eta behin RNA sekuentziak izanda, urratsez urrats haien tratamendua bideratu da. Lehenengo urratsa sekuentzien kalitatearen azterketa izan da eta horretarako FastQC eta MultiQC programak baliatu dira. Horrez gain, sekuentzia gordinen *trimming* edo ebakinak egin dira Trimmomatic erabilita. Hau da, kalitate baxuko sekuentziak, egokitzaileak eta bestelako metodo esperimentalekiko espezifikoak diren sekuentziak kendu dira. Behin sekuentziak kalitatearen arabera filtratuta, laginen irakurketak Ensembl datu-basetik lortzen den erreferentziazko giza genomarekin lerokatu eta mihiztatu dira STAR programa baliatuz.

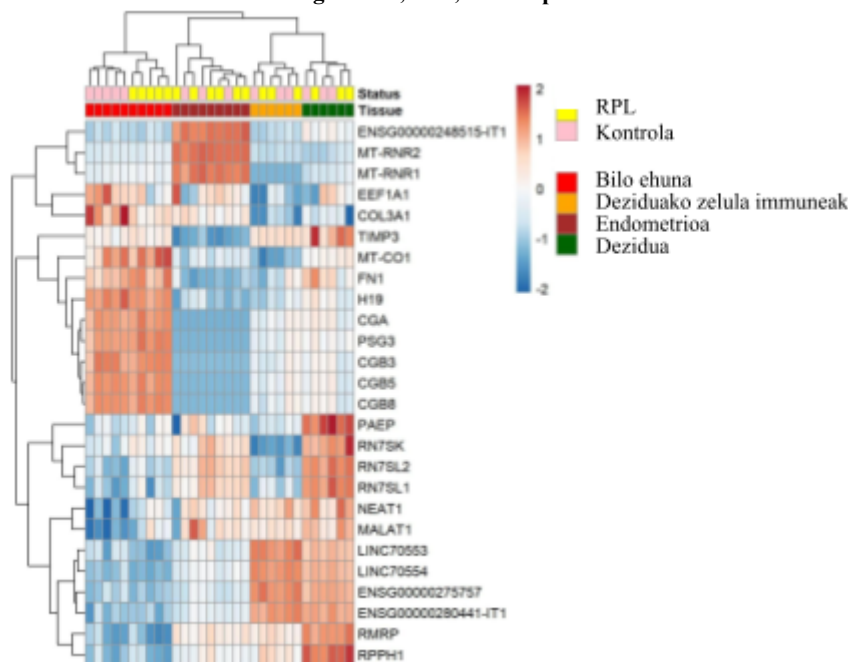
Horrela, lerroketaren arabera lncRNA transkriptoak izateko aukera dutenak aukeratu dira Gffcompare bidez. Gainera, 2000 nukleotido baino transkripto motzagoak baztertu dira, hau da, luzeraren arabera lncRNA izateko aukera gehien duten transkriptoak hautatu dira. Hurrengo urratsa transkripto horien artetik, ez kodetzaileak direnak aukeratzea da. Transkriptoen proteinak kodetzeko ahalmena aztertzeko balio duten hainbat programa bionformatiko daude eta analisi honetan horietako hiruren intersektzioa hartu da kontuan (CPAT, CPC2 eta HMMER). Hau da, hiru programetan ez kodetzaile bezala sailkatzen diren transkriptoak soilik erabili dira, konkretuki, ncRNA bezala sailkatuta dauden 7878 transkripto.

Baina 7878 horiek berriz ere filtratu dira. Izan ere, transkripto batzuk gene berdinen isoformak baino ez dira, hau da, jatorri edo gene berdinen moztitsasketa alternatiboen produktu ezberdinak. Beraz, isoformak gene mailan zenbatzerakoan bakarra bezala zenbatzen dira eta ondorioz, 5937 lncRNA gene detektatu dira. Horiek, beste filtro bat pasatu dute adierazpen gutxiko geneak kontuan ez hartzeko, gure laginetan gutxiegi agertzen direnak baztertzeko, alegia. Hortaz, kontaketa egiten dira eta CPM (counts per million) minimo baten filtroaren ostean, lncRNA kodetu ditzaketen 3655 gene detektatu dira.

### 3.3 lncRNA adierazpen diferentziala

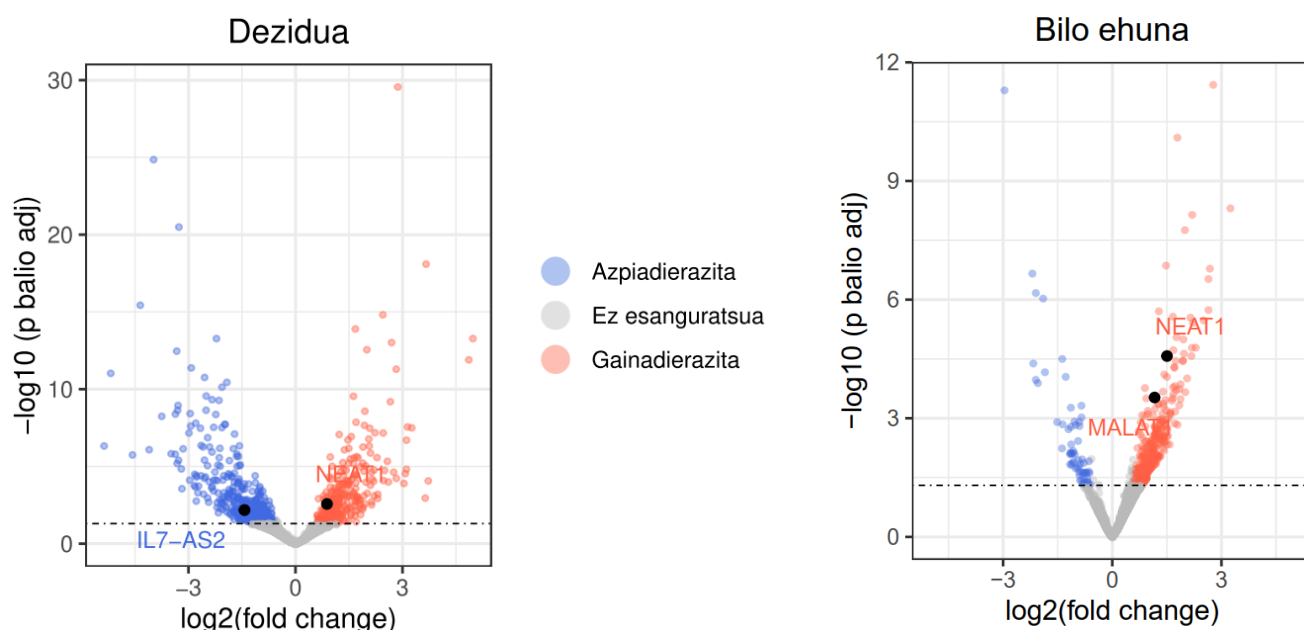
Laginetan agertzen diren lncRNA-k detektatu ostean, lortutako datuen aldakortasuna aztertu da, ehun bakoitzean adierazpen altueneko lncRNA geneekin eraiki diren adierazpen profilen antzekotasunaren arabera banatuz (2.irudia). Espero zitekeenez ehunaren araberako banaketa ikusten da, eta erlazionatuta dauden ehunak, hau da, dezidua ehuna eta bere zelula immuneak, hurbilen agertzen dira. Bestalde, argi banatzen diren lau gene-adierazpen patroien barnean, kontrol eta RPL baldintzek geneen agerpen-profiletan eragina duten ere aztertu daiteke, banaketa gertatzen den aztertuz.

2.irudia: Laginetan adierazpen altueneko lncRNA geneen adierazpen profilak ehun bakoitzeko erakusten dituen grafikoa, hots, heatmap-a



Baldintzak izan dezaketen eragina sakonki aztertzeko, lncRNA molekulen adierazpen diferentzialaren analisia egin da. Horretarako, Deseq2 programa erabili da eta bakarrik aukeratu dira doituak probabilitatea, hots,  $p_{adj} < 0.05$  dutenak. Horien artean, kontrolen eta RPL laginen konparaketa egitean azpiadierazita edo gainadierazita zeudenak balore minimo (*threshold*) baten arabera zehaztu dira. Era honetan, ehun bakoitzean RPL kasuetan diferentzialki adierazita, hau da, kontrolarekin konparatuz gaixotasunean gehiegi edo gutxiegi agertzen diren lncRNA-k detektatu dira. Bi ehunetan ez da emaitza esanguratsurik lortu endometrioan ez baitira diferentzialki adierazitako lncRNA molekulik detektatu eta dezidua ehuneko zelula immuneetan bakarrik 2 agertu baitira. Beraz, interesa dutenak adierazpen diferentzial gehien dituzten biloa eta dezidua dira, 431 eta 816 lncRNA dituztelarik, hurrenez hurren. Biloa gainadierazitako 368 lncRNA-k gailentzen dira, 63 azpiadierazita baitaude. Deziduan, aldiz, azpiadierazitakoak gainadierazitakoak baino gehiago dira (482>334), nahiz eta kasu honetan zenbakiak parekatuago egon (3.irudia).

**3.irudia:** Dezidua eta bilo ehunetan diferentzialki adierazitako lncRNAk irudikatzeko grafikoak, hau da, *Volcano Plot*-ak.



Adierazpen diferentzialaren analisisian detektatutako lncRNA molekula kopuruaz gain, zeintzuk diren eta aurretik RPL-rekin erlazionatu ote diren jakitea interesgarria da ere. Horiek horrela, literaturan dauden artikulua kontuan hartuz, bilo eta dezidua ehuneko lncRNA-k haurdunaldiaren galerarekin lotzen saiatu gara. Espero zitekeenez, jadanik deskribatutako lncRNA-k agertu dira, hala nola, MALAT1 eta NEAT1.

Edozein modutan ere, berriki deskribatzen den deziduako IL7-AS2 lncRNA dago. Jakina da haurdunaldiaren galera goiztiarra eragin dezakeen faktore bat amaren fetu semialogenikoarekiko errefus immunologikoa dela eta kontua da, interleuzina-7 proteinaren gainadierazpen egoeretan, erantzun immune hori areagotu daitekeela. Izan ere, IL7 geneak kodetzen duen proteinak T linfozitoen aktibazioa zein proliferazioa eta hantura lokala eragiten duela eztabaidatu da. RPL kasuko dezidua ehunetan IL7 genea gainadierazita agertu da (Vilsmaier *et al.*, 2021) eta ikerketa honetan IL7 genearen kontrako harizpian kokatutako lncRNA azpierregrulatuta agertu da. Izan liteke genearen adierazpena kontrolatuta egotea eta lncRNA azpiadierazita dagoenean, erregulatuta ez dagoenez, IL7-ren adierazpena emendatzea. Mota honetako erregulazioa beste lncRNA batzuetan aurretik deskribatu da (Kopp eta Mendell, 2018), baina kasu honetan, daukagun datuekin, ezin da ziurtatu ematen denik. Etorkizunean entsegu esperimentalen bitartez, IL7 erregulazioan detektatutako lncRNA-ren eragina ikertzea lagungarria izango litzateke. Erlazioa konfirmatzekotan, IL7-AS2 itu terapeutiko gisa erabili ahalko litzateke.

### 3.4 LncRNA koadierazpena eta analisi funtzionala

Azkenik, R programaren WGCNA paketea erabili da adierazpen bateratuaren edo ko-adierazpenaren analisia bideratzeko. Honekin, lncRNA bakoitza zein generekin ko-adierazita egon daitekeen lortzen da eta izan dezakeen funtzioa aurreratu saiatzeko balio du. Hau da, proteina kodetzaile diren gene eta lncRNA molekulen adierazpen koordinatua ikertzen da, asoziazio-atribuzioaren bidez ikergai ditugun molekulen funtzio potentzialak iragartzeko asmoz. WGCNA tresna bioinformatikoak, zenbait metodo estatistikoen bidez, matrize ugari sortzen ditu, ezberdintasun matrizea kasu. Matrize hori izanda, *clustering* edo taldekatze hierarkikoa egiten da moduluak definitzeko, hau da, koadierazitako geneen *cluster* edo taldeak sortzeko. Antzeko adierazpen profilak dituzten geneen taldeak multzokatzen dira modulu horietan. Koadierazpen analisien emaitzak eta adierazpen diferentzialarenak integratzean, dezidua zein bilo ehunetan detektatutako diferentzialki adierazitako lncRNA gene gehiago dituzten moduluak edo gene taldeak identifikatu dira, ikerketarako interesgarrienak baitira. Gero, modulu horietako geneen aberaste-analisiak burutu dira, gprofiler2 R paketea erabiliz eta hauek Gene Ontology (GO) datu-baseko terminoekin adierazi dira. Hala, moduluetan aldatuen edota aberastuen dauden eta, ondorioz, gaixotasunaren garapenean eragina izan dezaketen bide biologikoak agerian uzten dira.

Alde batetik, dezidua ehunean diferentzialki adierazitako lncRNA molekula gehien dituen modulua aztertzean, “leukozitoen proliferazioa”, “erantzun immunearen seinaleztapen bidezidor erregulatzailea”, “angiogenesiaren erregulazioa” eta “zitokinen ekoizpenaren erregulazio positiboa” bezalako bide biologikoen GO terminoak aberastuak agertzen dira.

Bestetik, bilo ehuneko lncRNA gehienak jasotzen dituen modulua aztertzean “leukozitoen bitartezko immunitatea”, “T zelulen aktibazioaren erregulazioa”, “angiogenesiaren erregulazioa” eta “linfozitoen bitartezko immunitatea” bezalako terminoak ikusten dira. Aitzitik, kasu honetan, bi modulu nagusietan partekatzen diren bidezidorrez gain, oso espezifikoak diren 1. eta 2. klaseko MHC konplexuak erabiltzen dituzten bidezidorrak ere aberasturik agertzen dira. Hala nola, “antigenoen prozesamendua eta antígeno peptidikoaren aurkezpena 2. klaseko MHC-aren bidez” edo “antigenoen prozesamendua eta peptido exogenoen aurkezpena 1. klaseko MHC-aren bidez”.

Lortutako emaitza horiek literatura zientifikoarekin kontrastatu dira, detektatutako lncRNA horien funtzioaren ikuspuntu globala eta RPL gaixotasunean izan dezaketen papera aurreikusten saiatzeko (Azidoost *et al.*, 2023). Kasu honetan, lncRNA horien funtzioak koadierazita agertzen diren geneek duten funtzioen inferentziaz lortu dira. Horrela, literaturan gehien komentatzen diren immunitate eta hanturazko bidezidorrekin erlazionatzen diren GO terminoak lortu dira. Adibide konkreituak daude, zehazki, emaitzetan agertutako zitokinen sintesiaren erregulazio positiboa, literaturan hainbatetan agertzen dena eta horrekin lotzen den T zelulen aktibazioaren erregulazioa. T zelulak leukozitoak dira eta erantzun immunerako zitokinen sintesiaren areagotzea indultzatzen dute. Hanturazko erantzun immuneak ama eta fetuaren arteko oreka eraldatu dezake eta RPL garatzeko faktore bihurtu.

Horrez gain, bi moduluetan angiogenesiaren bide biologikoa agertzen da. Haurdunaldian arazorik ez egoteko baskularizazioaren birmoldaketa hau egokia izatea ezinbestekoa dela jakina da eta aurretik, beste ikerketa batzuetan RPL gaixotasunaren analisisetan eraldatua agertu da ere (Zeng H. *et al.*, 2020).

Bukatzeko, terminoen azterketarekin jarraituz, agertu diren MHC konplexu proteikoen bideak aipatzea ezinbestekoa da. Histobateragarritasun konplexu nagusia (MHC) giza genomaren 6. kromosoman kokatzen den eskualde genetiko bat da, giza antígeno leukozitarioen (HLA) proteinak kodetzeko ardura duena. Proteina hauen eta RPL gaixotasunaren arteko erlazioa aurretik askotan eztabaidatu da (Barbaro *et al.*, 2023), fetua gorputz arrotza balitz bezala, amak haren aurka duen erantzun immunearen elementu nagusietako bat HLA-G antígenoak direla jakina baita. Baina badaude RPL eta beste HLA antígeno ia guztien arteko erlazio deskribatuak, horien artean, HLA-G, HLA-DR eta HLA-DQ (Cuadrado-Torroglosa *et al.*, 2024). Gure emaitzetan ere MHC konplexuaren bidea aberastua agertu da eta horrek berresten du haurdunaldiaren lorpenean eta mantenuan histokonpatibilitate konplexu nagusiaren eragina.



## 4. Ondorioak

Ikerketa honetan detektatu diren diferentzialki adierazitako lncRNA molekula gehienak deziduan agertu dira. Horrez gain, nahiz eta ehunaren arabera adierazpen-mailak aldakorrek izan, ehunen arabeko analisiak dezidua eta bere zelula immuneko ehunak elkarlotuta daudela adierazi du. Detektatutako molekulen identifikazioaren haritik, aurretik RPL gaixotasunarekin erlazionatutako lncRNA-ak identifikatzea zaila izan da nomenklatura-aldaketan ondorioz, baina bibliografian aipatutako ezagunenak agertu dira eta are gehiago, IL7-AS2 hautagai interesgarri gisa nabarmendu da.

Koadierazpen- eta aberaste-analisek lncRNA molekulek immunitatearekin eta hanturarekin lotutako bide biologiko nagusiak erregula ditzaketela erakutsi dute. RPL eta immunitatearen arteko harremana aurretik ere deskribatu izan da, baina amaren eta fetuaren arteko interfazeko immunologia oso konplexua denez, ezin da erantzun immunea RPL garatzeko faktore bakartzat hartu. Hortaz, laburbilduz, lncRNA molekulek funtzio erregulatzaile garrantzitsua izan dezakete, baina ikerketa gehiago behar da haien eginkizuna osotasunean ulertzeko.

## 5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Etorkizunera begira, ikerketa-lan desberdinen arteko konparagarritasuna handitzeko, RNA erauzketa, liburutegi prestaketa eta RNA sekuentziazio masiboa egiteko metodo estandarizatu bat finkatu beharko litzateke. Bioinformatikari dagokiola, funtsezkoa da datu base eguneratu eta fidagarri baten garapena lortzea, lncRNA molekulen azterketa errazteko, geroz eta baliagarriagoak baitira ikerketa mota hauen emaitzak.

Beste ildo batetik, lan honen emaitzak ikusita komenigarria izango litzateke deziduan zentratzea eta entsegu esperimentalen bitartez, diferentzialki adierazitako lncRNA molekulek betetzen duten paperaren egiaztapena burutzea. Izan ere, terapia zein diagnostikorako tresna edo itu eraginkorrak ager litezke. Horiek horrela, azpimarratzekoa da ezohiko ikerketa berritzaile honek aplikazio kliniko potentzialak aurkitzeko aukera ematen duela eta etorkizunerako ikerketa-lerro berriak zabaltzen dituela.

## 6. Erreferentziak

- Azizidoost, S. , Abouali Gale Dari, M. , Ghaedrahmati, F. , Razani, Z. , Keivan, M. , Mohammad Jafari, R. , Najafian, M. and Farzaneh, M. (2023). Functional Roles of lncRNAs in Recurrent Pregnancy Loss: A Review Study. *International Journal of Fertility and Sterility*, 17(4), 218-225. <https://doi.org/10.22074/ijfs.2022.559132.1339>
- Barbaro, G., Inversetti, A., Cristodoro, M., Ticconi, C., Scambia, G., & Di Simone, N. (2023). HLA-G and Recurrent Pregnancy Loss. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2557. <https://doi.org/10.3390/ijms24032557>
- Cabili, M. N., Trapnell, C., Goff, L., Koziol, M., Tazon-Vega, B., Regev, A., & Rinn, J. L. (2011). Integrative annotation of human large intergenic noncoding RNAs reveals global properties and specific subclasses. *Genes & Development*, 25(18), 1915-1927. <https://doi.org/10.1101/gad.17446611>
- Chen, X., Guo, D. Y., Yin, T. L., & Yang, J. (2021). Non-Coding RNAs Regulate Placental Trophoblast Function and Participate in Recurrent Abortion. *Frontiers in pharmacology*, 12, 646521. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.646521>
- Cuadrado-Torroglosa, I., García-Velasco, J. A., & Alecsandru, D. (2024). Maternal–Fetal Compatibility in Recurrent Pregnancy Loss. *Journal Of Clinical Medicine*, 13(8), 2379. <https://doi.org/10.3390/jcm13082379>
- Huang, J., Qin, H., Yang, Y., Chen, X., Zhang, J., Laird, S., Wang, C. C., Chan, T. F., & Li, T. C. (2017). A comparison of transcriptomic profiles in endometrium during window of implantation between women with unexplained recurrent implantation failure and recurrent miscarriage. *Reproduction*, 153(6), 749-758. <https://doi.org/10.1530/REP-16-0574>



- Kopp, F., & Mendell, J. T. (2018). Functional Classification and Experimental Dissection of Long Noncoding RNAs. *Cell*, 172(3), 393–407. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.01.011>
- Li, L., Liu, Y., Feng, T., Zhou, W., Wang, Y., & Li, H. (2022). The AHNK induces increased IL-6 production in CD4+ T cells and serves as a potential diagnostic biomarker for recurrent pregnancy loss. *Clinical And Experimental Immunology*, 209(3), 291-304. <https://doi.org/10.1093/cei/uxac067>
- Liu, X., Wu, J., Nie, H., Zhu, X., Song, G., Han, L., & Qin, W. (2022). Comprehensive Analysis of circRNAs, miRNAs, and mRNAs Expression Profiles and ceRNA Networks in Decidua of Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion. *Frontiers In Genetics*, 13. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.858641>
- Mattick, J. S., Amaral, P. P., Carninci, P., Carpenter, S., Chang, H. Y., Chen, L. L., Chen, R., Dean, C., Dinger, M. E., Fitzgerald, K. A., Gingeras, T. R., Guttman, M., Hirose, T., Huarte, M., Johnson, R., Kanduri, C., Kapranov, P., Lawrence, J. B., Lee, J. T., Mendell, J. T., ... Wu, M. (2023). Long non-coding RNAs: definitions, functions, challenges and recommendations. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 24(6), 430–447. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00566-8>
- Ohno S. (1972). So much "junk" DNA in our genome. *Brookhaven symposia in biology*, 23, 366–370.
- Sheng, F., Sun, N., Ji, Y., Ma, Y., Ding, H., Zhang, Q., Yang, F., & Li, W. (2019). Aberrant expression of imprinted lncRNA MEG8 causes trophoblast dysfunction and abortion. *Journal Of Cellular Biochemistry*, 120(10), 17378-17390. <https://doi.org/10.1002/jcb.29002>
- Vilsmaier, T., Amann, N., Löb, S., Schmoedel, E., Kuhn, C., Zehni, A. Z., Meister, S., Beyer, S., Kolben, T. M., Becker, J., Mumm, J., Mahner, S., Jeschke, U., & Kolben, T. (2021). The decidual expression of Interleukin-7 is upregulated in early pregnancy loss. *American Journal Of Reproductive Immunology*, 86(3). <https://doi.org/10.1111/aji.13437>
- Wang, Y., Liu, H. Z., Liu, Y., Wang, H. J., Pang, W. W., & Zhang, J. J. (2019). Disordered p53-MALAT1 pathway is associated with recurrent miscarriage. *The Kaohsiung journal of medical sciences*, 35(2), 87–94. <https://doi.org/10.1002/kjm2.12013>
- Wang, Y., Cheng, Q., Xia, Z., Zhou, R., Li, Y., Meng, L., Xu, Q., Tan, J., & Xu, Z. (2022). Whole-transcriptome sequencing identifies key mRNAs, miRNAs, lncRNAs, and circRNAs associated with unexplained recurrent pregnancy loss. *Cell & Tissue Research/Cell And Tissue Research*, 389(1), 129-143. <https://doi.org/10.1007/s00441-022-03632-x>
- Zeng, H., He, D., Xie, H., Zhao, Y., Peng, Z., Deng, H., Hu, J., Jiang, B., & Liu, N. (2020). H19 regulates angiogenic capacity of extravillous trophoblasts by H19/miR-106a-5p/VEGFA axis. *Archives Of Gynecology And Obstetrics*, 301(3), 671-679. <https://doi.org/10.1007/s00404-020-05469-7>

## 7. Eskerrak eta oharrak

Lan hau aurrera eramateko A. Betolazak Eusko Jaurlaritzako Ikasiker 2023ko kolaborazio bekaren dirulaguntza jaso du. Horrez gain, E. Varela-Martinez-ek Eusko Jaurlaritzako POS\_2023\_1\_0048 dirulaguntza ere izan du. Bestalde, ikerketa hau Eusko Jaurlaritzak “Giza osasuna eta biologia ebolutiboa” ikerketa-taldeari emandako (IT1693-22) dirulaguntzarekin garatu da.