

TARTU ÜLIKOOL  
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND  
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT  
BIOTEHNOLOOGIA ÕPPETOOL

Anet Tammemäe

**Menstruaaltsükli pikkuse geneetika ning selle seos naiste tervisega**

Bakalaureusetöö (12 EAP)

Geenitehnoloogia eriala

Juhendajad PhD Triin Laisk

MSc Maarja Lepamets

## **INFOLEHT**

### **Menstruaaltsükli pikkuse geneetika ning selle seos naiste tervisega**

Menstruaaltsükli iseloomustavad naiste reproduktiivsüsteemi rütmilised muutused. Menstruaaltsükli jooksul toimuvaid muutusi reguleerivad suguhormoonide koostõjud. Tavapäraseks menstruaaltsükli pikkuseks loetakse 24-35 päeva, ent see varieerub suuresti olenevalt uuringust ja allikast. Ebatavaliselt lühike või pikk menstruaaltsükkel võib viidata probleemile, millega tuleb tegeleda, et naise reproduktiivsüsteem oleks terve ning toimiks korrapäraselt. On näidatud, et menstruaaltsükli pikkus on vähemalt osaliselt dikteeritud geneetiliste tegurite poolt ja üha rohkem geneetilisi variante seostatakse menstruaaltsükliga seotud patoloogiatega (viljatus, endometriosis, PCOS, jne). Normaalse menstruaaltsükli regulatsiooni selgitamine sillutab teed patoloogiateni viivate mehhanismide parema mõistmise ning parema ravi väljatöötamisele.

**Märksõnad:** menstruaaltsükli pikkus, menarhe, GWAS, kandidaatgeenid

**CERCS:** B790 Kliiniline geneetika

### **Genetics of menstrual cycle length and its relation to women's health**

The menstrual cycle comprises of the rhythmic changes of a woman's reproductive system. The changes throughout the menstrual cycle are governed by an interplay of sex hormones. A regular cycle is considered to last anywhere from 24-35 days, but this number varies greatly from study to study. An abnormally short or long menstrual cycle can indicate an underlying issue which needs to be addressed in order to have a healthy and well-functioning reproductive system. Menstrual cycle length has been shown to be at least partially dictated by genetic factors, and an increasing number of studies have unravelled the genetic determinants of menstrual cycle related pathologies (infertility, endometriosis, PCOS, etc.). Understanding the mechanisms governing the normal menstrual cycle will pave the way for a better understanding of the mechanisms leading to pathologies and for developing better treatments for these conditions.

**Keywords:** menstrual cycle length, menarche, GWAS, candidate genes

**CERCS:** B790 Clinical genetics

# SISUKORD

KASUTATUD LÜHENDID .....	4
SISSEJUHATUS .....	5
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE .....	6
1.1. Menarhe .....	6
1.2. Menstruaaltsükkel .....	7
1.2.1. Menstruaalfaas ja varane follikulaarfaas .....	9
1.2.2. Follikulaarne faas .....	10
1.2.3. Luteaalfaas .....	12
1.3. Menstruaaltsükli häired .....	13
1.3.1. Amenorröa, oligomenorröa ja polümenorröa .....	13
1.3.2. Viljakuse probleemid .....	14
1.3.3. Endometrioos .....	14
1.3.4. Polütsüstiliste munasarjade sündroom .....	15
1.4. Menstruaaltsükli pikkust mõjutavad faktorid .....	15
1.4.1. Vanus .....	15
1.4.2. Füüsiline koormus .....	16
1.4.3. Nikotiin, kofeiin ja alkohol .....	16
1.4.4. Stress .....	17
1.4.5. Kehamassiindeks .....	17
1.5. Menstruaaltsükli pikkuse geneetiline taust .....	18
1.6. Geneetiliste mõjurite uurimine .....	18
1.6.1. Kandidaatgeenide uuringud .....	18
1.6.2. Ülegenoomsed assotsiatsiooniuuringud .....	19
2. EKSPERIMENTAALOSA .....	22
2.1. Töö eesmärgid .....	22
2.2. Materjal ja meetodika .....	22
2.3. Tulemused .....	23
2.3.1. Kandidaatgeenide uuringutes leitud tsükli pikkust mõjutavad variandid/geenid .....	23
2.3.2. GWAS uuringutes leitud tsükli pikkust mõjutavad variandid/geenid .....	24
2.4. Arutelu .....	30
KOKKUVÕTE .....	33
SUMMARY .....	34
KIRJANDUSE LOETELU .....	35
LIHTLITSENTS .....	45

## KASUTATUD LÜHENDID

<i>ARL14EP</i>	<i>ADP ribosylation factor like GTPase 14 effector protein</i>
<i>DOCK5</i>	<i>dedicator of cytokinesis 5</i>
ESR1	östrogeeni retseptorgeen 1 ( <i>estrogen receptor 1</i> )
eQTL	ekspressiooni kvantitatiivsete tunnuste lookused ( <i>expression quantitative trait loci</i> )
FSH	folliikuleid stimuleeriv hormoon
<i>FSHB</i>	<i>follicle stimulating hormone subunit beta</i>
GnRH	gonadotropiini-vabastaja hormoon ( <i>gonadotropin-releasing hormone</i> )
GWAMA	ülegenoomsete seoseuuringute metaanalüüs ( <i>Genome-Wide Association Meta Analysis</i> )
GWAS	ülegenoomne seoseuuring ( <i>genome-wide association study</i> )
<i>IGF2</i>	<i>insulin like growth factor 2</i>
KMI	kehamassiindeks
LD	aheldatuse tasakaalutus ( <i>linkage disequilibrium</i> )
LH	luteiniseeriv hormoon
MAF	harvema alleeli sagedus ( <i>minor allele frequency</i> )
<i>NOTCH1</i>	<i>notch receptor 1</i>
<i>NR5A2</i>	<i>nuclear receptor subfamily 5 group a member 2</i>
OR	šansside suhe ( <i>odds ratio</i> )
<i>PGR</i>	<i>progesterone receptor</i>
RAF	riskialleeli sagedus ( <i>risk allele frequency</i> )
SNP	ühenukleotiidne polümorfism ( <i>single nucleotide polymorphism</i> )

## SISSEJUHATUS

Menstruaaltsükkel on naise elus märgilise tähendusega sündmus, mis tähistab reproduktiivse ea algust ja naise viljakat eluperioodi. Kuigi paljudele naistele on meelde jäänud, et klassikaline menstruaaltsükli pikkus on 28 päeva, siis tegelikult loetakse normaalseks menstruaaltsükliks ikkagi suurema amplituudiga perioodi. Kui naise menstruaaltsükkel on ebaregulaarne, normist (kui lugeda normaalseks pikkuseks 24-35-päevast tsükli) lühem või pikem, võib see viidata mõnele günekoloogilisele probleemile või haigusele. Menstruaaltsükli pikkust mõjutavad paljud erinevad elustiilifaktorid (näiteks stress, suitsetamine, alkoholi tarbimine) ning lisaks ka geneetilised faktorid, seega on tegu komplekstunnusega, kus oma roll on geneetisel eelsoodumusel, keskkonnateguritel ja elustiilil.

Käesolev bakalaureusetöö keskendub menstruaaltsükli pikkuse geneetilistele mõjuritele ning nende seostele teiste tunnustega. Töö annab ülevaate menarhest kui menstruaaltsükli ja reproduktiivse alguspunktist ning menstruaaltsükli faasidest. Lisaks toob autor välja menstruaaltsükli pikkust mõjutavaid elustiili- ja keskkonnamõjureid ning menstruaaltsükli pikkust mõjutavaid geneetilisi faktoreid. Genotüüp-fenotüüp seoste leidmisel on üheks parimaks meetodiks ülegenoomsed assotsiatsiooniuuringud, mille käigus hüpoteesivabalt hinnatakse erinevate tunnuste seoseid geneetiliste variantidega. Antud uurimistöö annab ülevaate ülegenoomsete assotsiatsiooniuuringute ning kandidaatgeeni uuringute olemusest ning praktilises osas toob välja süstemaatilise uuringu tulemusena välja tulnud menstruaaltsükli pikkusega seotud geneetilisi variante. Töö praktilises osas uuritakse ka GWAS kataloogi, PhenoScanneri ja FinnGen andmebaase, et nende abil selgitada, milliste teiste tunnuste ning diagnoosidega on seotud menstruaaltsükli pikkust mõjutavad geneetilised variandid.

# 1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

## 1.1. Menarhe

Naiste reproduktiivne iga algab esimese menstruatsiooni ehk menarhega, mis leiab aset tütarlapse varajases puberteedieas. Keskmine vanus, millal algab menarhe, sõltub geograafilisest regioonist, rassist, toitumisest ja paljudest muudest faktoritest. Siiski võib erinevate allikate põhjal öelda, et keskmiselt algab menarhe pärast 12. eluaastat, varajane menarhe algab enne 9., 10. või 11. eluaastat ning hiliseks menarhe algusajaks loetakse olenevalt teadlaste käsitlusest menstruaaltsüklite algust pärast 13., 14. või 15. eluaastat.

1971. aastal tulid Frisch ja Revelle välja kriitilise kehakaalu hüpoteesiga, mille kohaselt naised jõuavad reproduktiivsesse eluikka teatud kehakaalu (47 kg) saavutamisel. Kriitilise kaalu saavutanud naistel kiireneb ainevahetus, mis omakorda põhjustab munasarjade ja emaka küpsemist ja sellest tulenevalt ka menarhet (Frisch ja Revelle, 1971). Lisaks on menarhe alguseks vajalik piisav rasvamass (umbes 17% kehamassist), regulaarse menstruaaltsükli toimimiseks ja püsimiseks on vajalik rasvamassi hulk 22% (Baker, 1985; Frisch, 1987).

Menarhe ajastust mõjutavad lisaks rasvamassile ja kaalule ka pikkus, mis omakorda on mõjutatud toitumisest. Lisaks võib varajane menarhe olla neidudel, kes on üksiklapsed, keda ei toidetud emapiimaga, kes tegid noorukieas vähe trenni ning kes olid ülekaalulised (Morris jt., 2010).

Võib täheldada, et menarhe algab noortel naistel üha varem – Andersoni töögrupp uuris Põhja-Ameerikas kahe kümnendi vältel naiste menarhe alguse vanuseid ning nad leidsid, et 1970.-1990. aastate jooksul väldanud uuringu tulemuste põhjal algas menarhe 1990-ndatel 2-3 kuud varem (Anderson jt., 2003). Seda trendi kinnitab ka 1955.-2009. aastatel Hollandis tehtud uuring, kus toodi välja, et 1955. aastal oli tütarlaste keskmine vanus menarhe ajal 13,66, 1997. aastal oli keskmine vanus juba 13,15 ning 2009. aastaks oli keskmine vanus menarhe ajal langenud 13,05 aasta peale (Talma jt., 2013).

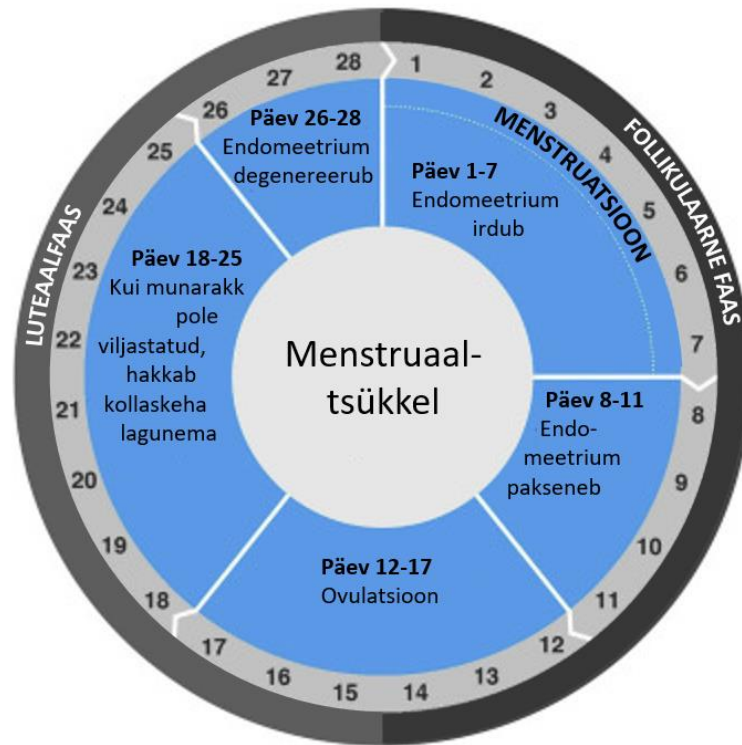
Lisaks on viimastel aastakümnetel mõjutanud varajast menarhet kehamassiindeksi tõus noorte seas – 1 kg/m<sup>2</sup> tõus nooruki kehakaalus suurendab tema varajase menarhe riski 6,5% võrra (Mumby jt., 2011). Lisaks suurenenud kehamassiindeksi väärtusele võivad menarhe algust mõjutada ka teised faktorid – näiteks leidis Muelleri uurimisgrupp (2015), et kofeiini sisaldavate ja kunstlikult magustatud jookide regulaarse tarbimise korral oli suurenenud varajase menarhe tõenäosus. Korrelatsiooni ei nähtud varajase menarhe ja kofeiini mitte sisaldavate ning suhkruga mitte magustatud jookide tarbimise vahel.

Kirjandusest tuleb selgelt välja, et menarhe algusajaga on seotud mitmed elustiilifaktorid ning menarhe algab noortel naistel üha varem. Menarhe algus tähistab naise suguküpseks saamist ning selle märgilise sündmusega saavad alguse igakuised menstruaaltsüklid, mis kestavad menopausini välja.

## **1.2. Menstruaaltsükkel**

Menstruaaltsükkel on koordineeritud sündmuste jada, mille vältel algatatakse ühe munaraku ovulatsioon ning valmistatakse emakat ette embrüo kinnitumiseks pärast munaraku viljastamist. Menstruaaltsüklit kontrollib gonadotropiini-vabastaja hormooni (GnRH) rütmiline sekretsioon, mida toodetakse hüpotaalamuses (Bergeron ja Ferenczy, 1988). Gonadotropiinid, mille hulka kuuluvad folliikuleid stimuleeriv hormoon ehk FSH ning luteiniseeriv hormoon ehk LH, kontrollivad munasarjas asuvate munarakke sisaldavate folliikulite küpsemist ning indutseerivad munasarjade poolt toodetavate steroidhormoonide (östrogeeni ning progesterooni) sekretsiooni (Jones, 2006). Lisaks hormonaalsetele muudatustele toimuvad struktuuralsed muudatused ka munasarjades ning emaka sisemises limaskestas ehk endomeetriumis, seega võib öelda, et menstruaaltsüklite vältel on naiste reproduktiivorganid pidevas muutuses.

Sõna „menstruatsioon“ ehk menses tuleneb kreeka keelsest sõnast *mensis*, mis tähendab kuud – keskmine menstruaaltsükli kestvus jääb ühe kuu raamesse. Menstruaaltsükli pikkust arvestatakse menstruatsiooni esimesest päevast kuni järgmise menstruatsiooni alguseni. Menstruaaltsükli pikkus varieerub, keskmine pikkus jääb vahemikku 25-30 päeva (Harlow jt., 2013).



**Joonis 1.** Ülevaade menstruaaltsüklist, ülevaade luteaalfaasi ja follikulaarse faasi sündmustest (Mckellar ja Sillence, 2020, kohandatud).

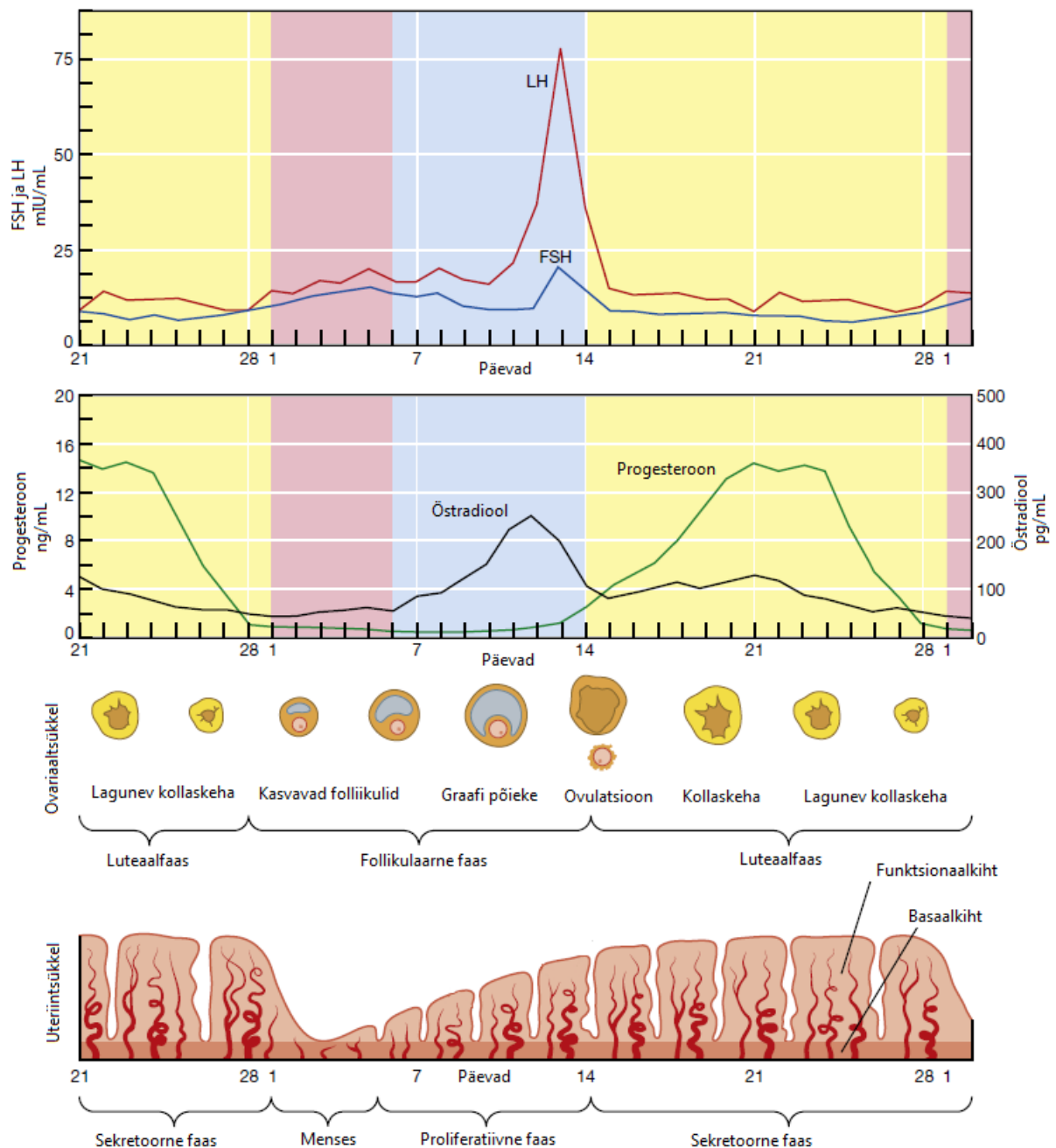
Menstruaaltsükli saab munasarjades toimuva põhjal jaotada kolme põhifaasi: follikulaarne faas, ovulatsioon ning luteaalfaas. Lähtudes tsüklilistest muutustest emakas on võimalik ka järgnev jaotus: menstruaatsioon, proliferatiivne faas ning sekretoorne faas. Mugavuse mõttes võib ka käsitleda kombineeritud menstruaaltsükli järgmisi osaliselt kattuvaid faase: menstruaalfaas, follikulaarne faas ning luteaalfaas. Ülevaatlilikult on menstruaaltsükli faasid ja sündmused välja toodud joonisel 1, täpsemalt on eri menstruaaltsükli faasides osalevate hormoonide tasemed välja toodud joonisel 2. Tsükli lugemist alustatakse menstruaatsiooni esimesest päevast. Menstruaatsioon võib kesta üks kuni seitse päeva, tavaliselt kestab 4-5 päeva. Follikulaarne faas algab menstruaaltsükli esimesel päeval ning selle jooksul jätkavad munasarjades olevad folliikulid kasvu ning eraldavad östradioli, mis stimuleerib emaka endomeetriumi paksenemist. See faas jätkub ovulatsioonini, mis toimub umbes 28-päevase tsükli 14. päeval. Seega ovulatsioon leiab aset tavaliselt 14 päeva enne järgmise menstruaatsiooni algust ehk menstruaatsioonitsükli esimest päeva. Luteaalfaas kestab ovulatsioonist menstruaatsiooni alguseni. Selle faasi jooksul eritab kollaskeha (kr. k. *corpus luteum*) östradioli ja progesterooni, mis toimivad hüpotaalamus-hüpopüüsi-munasarjade telje regulaatoritena ning mis valmistavad emakat ette embrüo implantatsiooniks. Kui viljastumist ei toimu, siis munarakk hävib ning progesterooni taseme langedes endomeetrium irdub ning järgneb

menstruatsioon. Kui munarakk viljastatakse, kinnitub eduka raseduse korral embrüo emaka limaskestast külge ning menstruaaltsükliid peatuvad ajutiselt. (Jones, 2006)

### **1.2.1. Menstruaalfaas ja varane follikulaarfaas**

Emaka endomeetriumi jaguneb funktsionaal- ehk pindmiseks kihiks (*stratum functionalis*) paksusega kuni 3,5 mm ja basaal- ehk süvakihiks (*stratum basalis*) paksusega umbes 1 mm. Funktsionaalkiht on hormoontundlik, allub tsüklilistele muutustele ning degenerereerub menstruatsiooni käigus ja viiakse organismist välja. See kiht hävib isheemia tõttu, sest veresooneid, mis varustavad kude hapniku ja toitainetega, ahenevad ja laienevad spastiliselt (Guyton ja Hall, 2006). Enamik naisi kaotavad 10-80 ml vedelikku menstruatsiooni käigus, keskmiselt kaotatakse 30 ml (Dasharathy jt., 2012). Kui kaotatakse rohkem kui 80 ml, siis peetakse seda rohke voolusega menstruatsiooniks ehk menorraagiaks (Marret jt., 2010). Menstruaalvedelik ei sisalda ainult verd, vaid ka emaka vedelikke ning endomeetriumi jääke, emakakaela lima ning tupe sekreeti. Endomeetriumi jäägid on tihked ning klombilaadsed, seetõttu aetakse need tihti segamini vereklompidega. Emakast tulenev veri algselt küll muutub klompideks, ent seejärel muutub tagasi vedelaks ning väljutatakse kehast menstruatsiooni vooluga (Burton jt., 2002).

Eelmise tsükli kollaskeha on tsükli esimeseks päevaks regresseerunud, ning seetõttu on vähenenud progesterooni ja östradioli kogus vereringes, mis omakorda põhjustab endomeetriumi funktsionaalkihi degradeerumist. Uue tsükli alguses võib munasarjas näha väikeseid tertsiaarseid folliikuleid, atreetilisi ehk hukkuvate munarakkudega folliikuleid ja tuhandeid väiksemaid folliikuleid. Kolmandaks tsüklipäevaks on tõusnud FSH tase ning osad väiksemad tertsiaarsed folliikulid kasvanud ligi 10 mm läbimõõduga folliikuliteks. Folliikulite kasvuga hakatakse folliikuleid ümbritsevates granuloosarakkudes tootma östradioli ning kolmandaks päevaks on östradioli kogus märgatavalt tõusnud. Progesterooni tase jääb menstruatsiooni vältel madalaks. (Jones, 2006; Raven jt., 2010)



**Joonis 2.** Keskmised hormoonide (FSH ja LH) tasemed veres ning muutused munasarjades ning emaka endomeetriumis 28-päevase menstruaaltsükli näitel (Jones, 2006, kohandatud).

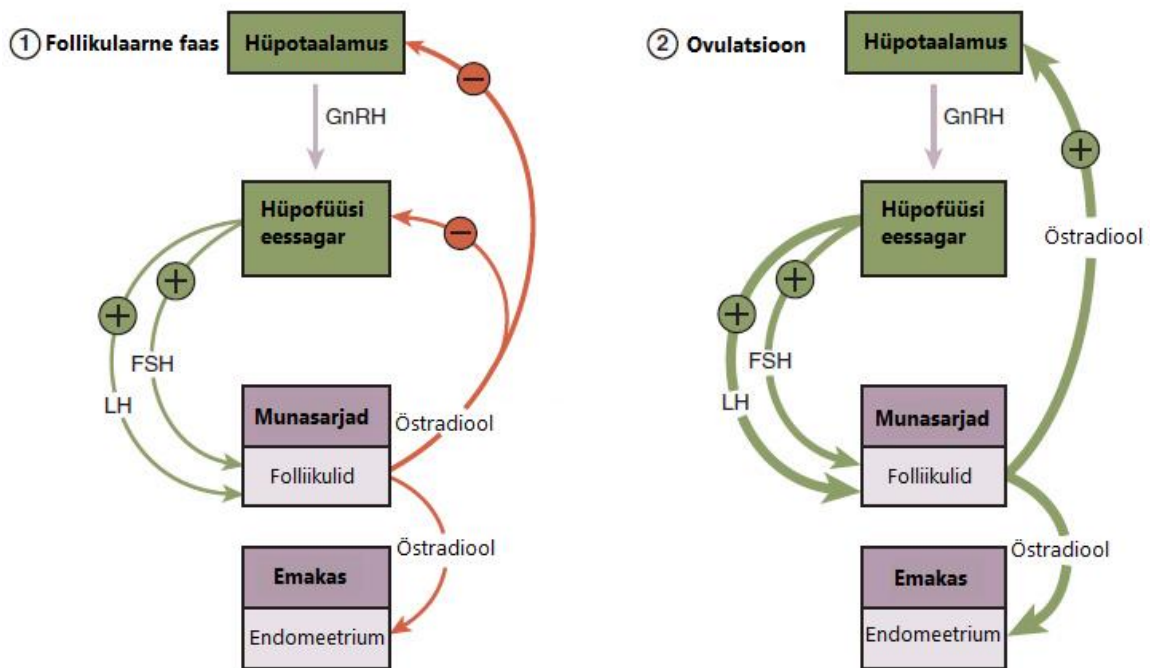
### 1.2.2. Follikulaarne faas

Follikulaarse faasi ajal toimub intensiivne folliikulite arenemine. Primordiaalsed folliikulid arenevad lootes perioodil, mil vähemalt pool rasedust on kantud, ning peagi pärast seda protsessi hakkavad folliikulid kasvama. Hilisemas looteas ning kogu lapsepõlve vältel arenevad teatud folliikulid primaarseteks, sekundaarseteks ning tertsaarseteks folliikuliteks (Williams ja Erickson, 2012). Tänapäevani pole jõutud kindlale järeldusele, mille alusel valitakse välja folliikulid, mis hakkavad arenema. Folliikulite kasvufaasid sõltuvad FSH hulgast ning piisava FSH koguseta kasvanud folliikulid peatavad arengu ning kärbuivad.

Suguküpsuse saavutamisest alates annab FSH iga tsükli jooksul signaali tertsiaarsetele folliikulite, et nad küpsema hakkaks (Goodman ja Hodgen, 1983). FSH koguse tõus veres algatab folliikulite kiire kasvu ning paari päevaga (umbes tsükli 10.-12. päeval) on folliikulid saavutanud diameetriks 14-21 mm. 13. päevaks on tavaliselt arenenud üks suur 20-25 mm läbimõõduga dominantne folliikul ning ülejäänud arenema hakanud folliikulid degenerereeruvad. (Johnson, 2018; Jones, 2006).

Suuremaid folliikuleid ümbritsevad rakud eritavad östradioli, ning östradioli tõus algatab endomeetriumi rakkude kiire paljunemise ehk proliferatsiooni. Seetõttu nimetatakse follikulaarset faasi ka proliferatsioonifaasiks. Tänu östrogeeni mõjule hakkavad endomeetriumi näärmed suurenema. Emaka endomeetrium rikastub veresoontega ning vedelik akumuleerub rakkude vahele – tekib seisund, mida nimetatakse ödeemiks. Lisaks hakkab müomeetrium (silelihas) rütmiliselt kokku tõmbuma, ent füüsiliselt neid kokkutõmbeid tunda ei ole. Östradioli tase tõuseb terve follikulaarse faasi vältel ning saavutab maksimaalse kontsentratsiooni veres umbes 28-päevase tsükli 12. päeval. Umbes 24-48 tundi pärast östradioli taseme maksimumi tõuseb veres LH tase. LH taseme tõus initsieerib suurimas folliikulis meioosi jätkamist ning põhjustab selle folliikuli ovulatsiooni. LH kõrge tase kestab umbes 36 tundi ning ovulatsioon leiab aset umbes 9-12 tundi pärast LH maksimumtaseme saavutamist. Progesterooni ja FSH tasemed püsivad madaladena follikulaarses faasis enne ovulatsiooni algust. FSH tase tõuseb natukene enne LH taseme järsku tõusu ning progesterooni tase hakkab tõusma umbes ovulatsiooni ajal. (Jones, 2006; Reed ja Carr, 2018)

Follikulaarse faasi jooksul reguleerib hormoonide taset hüpotaalamus-ajuripats-munasarjad telje negatiivne ja positiivne tagasiside, nagu võib näha joonisel 3. Hüpotaalamus sekreteerib GnRH-d, mis reguleerib nii FSH kui ka LH sekretsiooni hüpofüüsi ehk ajuripatsi eessagarast. Follikulaarse faasi alguses, kui östradioli tase on madal, tõuseb FSH tase östradioli negatiivse tagasiside puudumise tõttu GnRH regulatsiooni üle. Hiljem tõuseb östradioli tase follikulaarse faasi keskel, hakkab mõjutama negatiivse tagasiside meetodil GnRH sekretsiooni ning FSH tase langeb (Muttukrishna jt., 2002). Inimese munasarja folliikulites toodetakse hormooni inhibiin, mis inhibeerib FSH (ent mitte LH) sekretsiooni, ning see valk võib esile kutsuda negatiivse tagasiside mehhanismi. Follikulaarse faasi viimastel päevadel on östradioli tasemed väga kõrged – seda eritatakse mitmest suurest folliikulist munasarjades ning nüüd reguleerivad nad positiivse tagasiside mehhanismi toimel GnRH sekretsiooni. See GnRH taseme tõus põhjustab LH taseme järsu tõusu 14. päeval. GnRH (ja FSH ning LH) pulseerumise amplituud suureneb 10 korda ning leiab aset iga 30 min tagant. (Jones, 2006; Reed ja Carr, 2018)



**Joonis 3.** Follikulaarse faasi ja ovulatsiooni (follikulaarse faasi lõpu) positiivse ja negatiivse tagasiside toimemehhanism. (Betts jt., 2013, kohandatud)

Seega östradiool võib reguleerida GnRH taset negatiivse ning positiivse tagasiside põhimõttel. GnRH neuronid hüpotaalamuses tajuvad veres ringlevat östrogeeni taset ning reguleerivad vastavalt suurendades või vähendades GnRH pulseerivat vabastamist (Pauerstein jt., 1978). Kuna GnRH neuronitel puuduvad östrogeeni retseptorid, siis mängivad vereringes östrogeeni taseme kontrollimisel olulist rolli kisspeptiinid – valkude perekond, mis võivad käituda signaalmolekulidena. Kisspeptiini neuronitel on östrogeeni retseptorid, need rakud asetsevad GnRH neuronite vahetus läheduses ning GnRH neuronitel on kisspeptiinide retseptorid GPR54. Kisspeptiinide taseme tõus aktiveerib GnRH ja LH taseme tõusu. Uuringutest on selgunud, et GPR54 kisspeptiini retseptori puudumisel tekib inimestel viljatus ning puberteet ei alga (Clarkson jt., 2008). Seega võib eeldada, et kisspeptiini neuronid monitoorivad östrogeeni taset vereringes ning saavad vastava informatsiooni GnRH neuronitesse.

Menstuaaltsükli pikkust mõjutab enim just follikulaarse faasi pikkus, mis jääb naistel valdavalt 12-18 päeva vahemikku (Jukic jt., 2007).

### 1.2.3. Luteaalfaas

Luteaalfaasis muutub emaka endomeetrium paksemaks ning eritab potentsiaalse viljastunud munaraku jaoks toitaineid, seetõttu nimetatakse seda faasi ka sekretoorseks faasiks. Selle faasi jooksul tõmbuvad emaka silelihased kokku aeglasema sagedusega kui follikulaarses faasis (Jones, 2006). Luteaalfaasis lõhkeb tertsiaarne folliikul ning follikulaarrakkudest (folliikulit ümbritsevatest rakkudest) areneb kollaskeha, mis toodab östradiooli ning progesterooni ning

nende kahe hormooni tase tõuseb luteaalfaasi keskel (Vande Wiele jt., 1970). Umbes 4 päeva enne menstruatsiooni algust hakkab kollaskeha lagunema ning selle poolt eritatava östradioli ja progesterooni tasemed hakkavad langema (Devoto jt., 2009). Ühtlasi hakkab emaka endomeetrium degenereeruma nende kahe hormooni taseme languse tõttu.

Östradiool ja progesteron kontrollivad negatiivse tagasiside mehhanismi toimel FSH ja LH sekretsiooni, seetõttu on luteaalfaasis FSH ja LH tasemed üsna madalad (Muttukrishna jt., 2002). Kõrge progesterooni suhe östrogeni vähendab eritatavat GnRH hulka, mis omakorda inhibeerib FSH eritamist ning folliikulite arenemist. Luteaalfaasi lõpus östradioli ja progesterooni taseme langusega lõpetatakse GnRH taseme inhibeerimine ning uus menstruaaltsükkel saab alata. (Reed ja Carr, 2018).

Normaalseks luteaalfaasi pikkuseks loetakse 11-17 päeva, kusjuures enamikel naistel kestab menstruaaltsükli luteaalfaas 12-14 päeva (Mesen ja Young, 2015).

### **1.3. Menstruaaltsükli häired**

Kui naise menstruaaltsükli pikkus erineb regulaarselt tavapärasest (umbes 24-35 päeva kestavast) menstruaaltsüklist, võib see olla potentsiaalseks murekohaks ja indikaatoriks, et organismi hormonaalne tasakaal võib olla paigast ära ning sellega tuleks tegeleda. Autor toob siinkohal ülevaate peamistest kirjanduses läbi käinud menstruaaltsükli häiretega seotud haigustest või muredest, mis võivad reproduktiivses eas naisi mõjutada.

#### **1.3.1. Amenorröa, oligomenorröa ja polümenorröa**

Reproduktiivses eas naisterahvastel võib esineda erinevaid menstruaaltsükli pikkuse ja regulaarsuse anomaaliaid, nendeks on näiteks amenorröa, oligomenorröa ning polümenorröa. Amenorröa ehk menstruatsiooni puudumine pikema aja vältel esineb tavapäraselt raseduse, imetamise ja menopausi ajal. Primaarse amenorröaga on tegemist juhul, kui naisterahva 16.-18. eluaasta lõpuks ei ole menstruatsioon alanud. Valdavalt põhjustavad primaarset amenorröad geneetilised tegurid – kromosomaalsed haigused, mille tõttu põevad naised primaarset munasarjapuudulikkust, näiteks Turneri sündroomi, ning seda põhjustavad ka anatoomilised anomaaliad, näiteks Mülleri juhade anomaaliad. Sekundaarne amenorröaga on tegemist juhul, kui menstruatsioon algab normaalses vanuses, ent katkeb kuueks või enamaks kuuks, näiteks raseduse puhul (Klein jt. 2013; Master-Hunter jt., 2006). Peamisteks patoloogilisteks sekundaarse amenorröa põhjusteks on polütsüstiliste munasarjade sündroom (*polycystic ovary syndrome* – PCOS) ning primaarne munasarjapuudulikkus (Reindollar jt., 1986). Tugev psühholoogiline stiimul, näiteks pikaajaline stress, võib samuti esile kutsuda sekundaarse amenorröa (Fries jt. 1973). Oligomenorröa on menstruaaltsükli häire, mille puhul on

menstruaaltsükkel pikem kui 35 päeva, seejuures on aastas ainult neli kuni üheksa menstruaaltsükli (Nikolaos jt., 2011). Polümenorröa puhul on menstruaaltsükkel ebatavaliselt lühike, jäädes lühemaks kui 21 päeva (Long, 1990).

### **1.3.2. Viljakuse probleemid**

Menstruaaltsükli pikkus ja verejooksu hulk võivad olla ka viljakuse näitajad, mis kajastavad emaka limaskestast (endomeetriumi) kasvu ja ovulatsiooni esinemist. Viljastumise eeltingimuseks on ovulatsioon, mille olemasolu võivad pärssida erinevad haigused nagu polütsüstiliste munasarjade sündroom, hüpotaalamusest tingitud amenorröa või varajane munasarjade puudulikkus (Thurston jt., 2019).

Lisaks saab reproduktiivtervist hinnata menstruaaltsükli kaudu - lühemad veritsused võivad viidata embrüo pesastumiseks ebasobivale endomeetriumi ja pikemad veritsused anovulatoorsele tsüklile (Harlow ja Ephross, 1995). Kahest uuringust, milles uuriti menstruaaltsükli kestuse seost viljastumisvõimega, selgus, et keskmise pikkusega veritsused (5 päeva võrreldes <5 või > 5 päevaga) eelnesid kõige viljakamatele tsüklile (Small jt., 2006) ja rasestunud naistel oli keskmisest pikem menstruaaltsükkel (Vitzthum jt., 2001).

Eraldi võib välja tuua veel menarhe, menstruaaltsükli pikkuse ja rasestumise seoseid – Zhang'i töörühma (2017) prospektiivses kohortuuringus leiti, et naistel, kes olid vanemad kui 14 menarhe ajal, oli raskem rasestuda võrrelduna naistega, kellel oli menarhe 13-14 aasta vanuselt. Uuringust tuli ka välja, et raskem oli rasestuda ka naistel, kelle menstruaaltsükli pikkus ületas 29 päeva (võrrelduna 27-29 päevase tsükliga). Siit võib järeldada, et menarhel ja menstruaaltsükli pikkusel on roll naise reproduktiivtervise kujundamisel.

### **1.3.3. Endometriosis**

Endometriosis on günekoloogiline haigus, mille puhul endomeetriumi-sarnane hormoontundlik kude esineb ja funktsioneerib kolletena väljaspool emakaõõnt samamoodi nagu tavaline endomeetrium (Kennedy jt., 2005). Peamisteks sümptomiteks on düsmenorröa ehk valulikud menstruaaltsükli perioodid, vaagnapiirkonna valu ja viljatuse (Zondervan jt., 2001). See mõjutab ligikaudu 10-15% reproduktiivses eas olevatest naistest ning kuni 50% viljatutest naistest (Fuentes jt., 2014). Endometriosisi väljakujunemisega on seotud suurel hulgal erinevaid geneetilisi ja keskkondlikke faktoreid. Sinna alla kuuluvad näiteks varajane menarhe, lühike menstruaaltsükkel, madal kehamassiindeks (Missmer jt., 2004). Wei jt. (2016) läbi viidud metaanalüüsi põhjal, kus uuriti 11 juht-kontrolluuringut, leiti, et kui menstruaaltsükkel kestab 27 või vähem päevi, siis endometriosisi risk on suurenenud ning kui 29 või rohkem päevi, siis risk on vähenenud. Kuna menstruaaltsükli käigus liigub emaka kokkutõmmete mõjul osa

menstruatsiooniverd koos endomeetriumi rakkudega (sh endomeetriumi tüvirakud) läbi munajuhade kõhuõõnde (nn retrograadne menstruatsioon), arvatakse, et lühema menstruaaltsükliga (ja seega sagedasemate menstruatsioonidega) naistel on just seetõttu suurem risk endometriooosi tekkeks.

#### **1.3.4. Polütsüstiliste munasarjade sündroom**

Ebaregulaarset menstruaaltsükli võib põhjustada ka polütsüstiliste munasarjade sündroom, mis on sagedasem endokriinne haigus reproduktiivses eas naistel. Haigus põhjustab tsüstide arengut munasarjades ning seetõttu tekitab häireid folliikulite küpsemises ja seega ka menstruaaltsükli pikkuses – PCOS diagnoosiga naistel on sageli pikad ja ebakorrapärased menstruaaltsüklid ning üheks haiguse diagnoosikriteeriumiks on oligomenorröa. Hüperandrogenism ehk kõrge meessuguhormoonide tase, oligo/anovulatsioon ja metaboolsed häired on kõik PCOS sümptomiteks (Norman jt., 2007). Haigus on ravimatu, ent allub kontrollile – naistel, kellel on diagnoositud PCOS, soovitatakse tarbida madala glükeemilise indeksiga toite (vähendada lihtsüsivesikute hulka ning tarbida kiudainerikkaid toite). Kuna üheks riskifaktoriks PCOS tekkel on ülekaalulisus, soovitatakse selle haiguse diagnoosiga naistel langetada kehakaalu tagamaks täisväärtuslikum elu ning normaalilähedasem ning regulaarsem menstruaaltsükli pikkus (Teede jt., 2010; Moran jt., 2013). Lisaks määratakse vajadusel PCOS diagnoosiga naistele suukaudsete hormonaalsete rasestumisvastaste vahenditega ravi, et tagada korrapärane menstruaaltsükli pikkus, vähendada akne sümptomeid ja vähendada hirsutismi ehk liigset karvakasvu (Legro jt., 2013). Elting jt. (2000) leidsid 205 üle 30 aasta vanuse naise peal tehtud uuringus, et polütsüstiliste munasarjadega naistel muutusid menstruaaltsüklid lühemaks vanusega. Nimelt leidsid nad, et PCOS diagnoosiga naiste menstruaaltsükli pikkused muutusid vanusega stabiilsemaks ja normile lähemaks, sest nende folliikulite arv vähenes munasarjade vananemise tõttu.

### **1.4. Menstruaaltsükli pikkust mõjutavad faktorid**

Menstruaaltsükli pikkust võivad mõjutada erinevad elustiilifaktorid, demograafilised tegurid ning põetavad haigused. Autor toob alljärgnevalt välja teatud riskifaktorid, mis võivad pikendada või lühendada menstruaaltsükli pikkust.

#### **1.4.1. Vanus**

Vanusel on tsükli pikkusele negatiivne mõju, seda follikulaarse faasi lühenemise tõttu vanuse kasvades (Harlow ja Ephross, 1995; Dennerstein jt., 1997). Keskmiselt lüheneb follikulaarse faasi pikkus 3-7 päeva võrra naise eluea jooksul ning anovulatsioon – ovulatsiooni puudumine

mõnes tsükli - mõjutab kuni 7% normaalse menstruaaltsükliga naise vanuses 25-39, ning ka 34% üle 50-aastaseid naise (Harlow jt., 2013). Siinkohal tuleb mainida, et juhuslikud anovulatoorsed tsüklid on täiesti normaalsed ega pruugi viidata patoloogiale – näiteks võivad tsüklid olla anovulatoorsed noorukieas paari aasta jooksul pärast menarhet (Carlson ja Shaw, 2019) ja enne menopausi (Damle jt., 2013). 30. eluaastate lõpus võivad naiste menstruaaltsüklid lüheneda paralleelselt FSH taseme kerge tõusu ning inhibiinide taseme vähenemisega (Sherman ja Korenman, 1975). Taanis 3 743 naise peal tehtud uuringust selgus, et kui 15-19-aastaste naiste keskmine menstruaaltsükli pikkus jäi vahemikku 23-35 päeva, siis 40-44-aastaste naise puhul on tsükli pikkus langenud vahemikku 23-30 päeva (Münster jt., 1992).

#### **1.4.2. Füüsiline koormus**

Juba 1980. aastatel tehtud uuringutes leiti tugevat korrelatsiooni intensiivse treeningu ja menstruaaltsükli häirete vahel. Näiteks töid Cumming ja Rebar (1985) oma uuringutes välja, et regulaarselt aeroobset trenni tegevatel naistel oli oligomenorröa esinemise tõenäosus 20% , kuid istuva eluviisiga naistel vaid 5%. Lisaks sellele leidsid Marcus jt. (1985), et võistlussportlastel, kes jooksid nädalas enam kui 80 miili (ligi 130 km) oli pea 50% suurem tõenäosus amenorröa tekkeks võrrelduna üldise amenorröa esinemissagedusega tavapopulatsioonis (3-5%). Liu jt. (2004) leidsid, et füüsilisel koormusel on menstruaaltsükli pikendav mõju: naisterahvad, kes tegid nädalas vähemalt 4 tundi trenni, täheldasid pikemat menstruaaltsükli. Selle taga võis olla FSH pulsatsiooni summutamine luteaalse-follikulaarse faasi ülemineku ajal, mille tõttu hilineb järgmiste folliikulite kohordi küpsemine (De Souza jt., 1997). Pikemat tsükli seostatakse ühtlasi ovulatsiooni hilinemise ning pikenenud follikulaarse faasiga (Vollman, 1977).

#### **1.4.3. Nikotiin, kofeiin ja alkohol**

Suitsetamine vähendab märgatavalt naiste menstruaaltsükli follikulaarse faasi pikkust, eriti üle 35-aastaste naiste seas (Liu jt, 2004). Bae jt. (2018) uurimuses tuli välja, et suitsetamine suurendab ebaregulaarsete tsüklite esinemissagedust ning varakult suitsetamisega alustamine (<19-aastaselt) aitab suurema tõenäosusega kaasa varajasele menopausile. Kline'i uuringugrupp (2016) leidis 447 naisega läbi viidud uuringus, et suitsetajate FSH mediaantase on 15% kõrgem võrrelduna mittesuitsetajate FSH tasemega.

Lisaks nikotiinile on leitud seoseid kofeiini tarbimise hulga ja menstruaaltsükli pikkuse vahel. Kofeiin on üks enam tarvitatavaid farmakoloogiliselt aktiivseid aineid, mida leidub mustas tees, kohvis, šokolaadis ning muudes toodetes. Fenster jt. (1999a) leidsid, et premenopausaalsetel naistel, kes tarvitasid päevas rohkem kui 300 mg kofeiini, oli pika menstruaaltsükli ( $\geq 36$  päeva)

tõenäosus vähenenud kolmandiku võrra võrrelduna naistega, kes ei tarvitanud kofeiini. Suures koguses kofeiini tarvitavatel naistel oli kaks korda suurem tõenäosus kogeda lühikest menstruaaltsükli võrrelduna naistega, kes kofeiini ei tarvitanud.

On vastakaid arvamusi selle kohta, kas alkoholi tarvitamine mõjutab menstruaaltsükli pikkust või mitte. Rottide ja ahvide peal tehtud uuringutes on tõestatud alkoholi mõju östradiooli ja progesterooni tasemele, amenorröa tekkimisele ja menstruaaltsükli pikenemisele (Dees jt., 2000, Emanuele jt., 2001). Põhja-Ameerikas tehtud uuringu tulemusena selgus, et mõõdukas alkoholi tarvitamine ei mõjuta menstruaaltsükli pikkust (Schliep jt., 2015). Samas leidsid Liu jt (2004), et naistel, kes tarvitasid alkoholi, oli keskmisest 1,26 päeva lühem menstruaaltsükkel kui naistel, kes alkoholi ei tarvitanud.

#### **1.4.4. Stress**

Lisaks on uuritud stressi ning menstruaaltsükli pikkuse vahelist seost. Naised, kes hindavad oma stressitaset kõrgeks, kogevad suurema tõenäosusega ebaregulaarseid menstruaaltsükleid ehk tsükleid, mille pikkus kõigub rohkem kui 7-9 päeva (Bae jt., 2018; Delara, 2015; Munro 2017). Uuring, mis viidi läbi 696 20-40-aastase naise peal, tõestas kroonilise stressi ja menstruaaltsükli ebaregulaarsuse seost (Nagma jt., 2015). Kõrge stressitase võib põhjustada nii menstruaaltsükli pikenemist (Hatch jt., 1999) kui ka lühenemist (Fenster jt., 1999b). Lisaks võib stress põhjustada suurema tõenäosusega anovulatoorseid tsükleid (Hatch jt., 1999).

#### **1.4.5. Kehamassiindeks**

Kehamassiindeks (KMI) väljendab inimese pikkuse ja kaalu suhet hindamaks alakaalulisust, ülekaalulisust ja rasvumist täiskasvanutel. KMI arvutamiseks tuleb jagada kehakaal kilogrammides pikkuse ruuduga meetrites. Alakaalulisuse puhul on  $KMI < 18,5$ , ülekaalulise puhul  $KMI \geq 25$  ning rasvumisel  $KMI \geq 30$ . Normaalkaaluks loetakse vahemikku 18,5-24,99 kg/m<sup>2</sup> (WHO, 1995). Bae jt. (2018) leidsid, et ülekaalulistel naistel ( $KMI \geq 25$ ) on suurem tõenäosus ebaregulaarseks menstruaaltsükliks. Ka Harlow ja Matanoski (1991) tõestasid tudengite peal tehtud uuringus, et ülekaalulisus võib põhjustada pikenenud menstruaaltsükli. Kehamassiindeksi ning menstruaaltsükli regulaarsuse vahelist seost on uuritud ka hilisematel aastatel – 2000. aastal 14 779 19-23-aastaste naiste peal läbiviidud uuringust selgub, et naistel, kelle KMI oli vastavalt  $< 17$ ,  $17-18,5$ ,  $18,5-20$ ,  $25-30$  ja  $> 30$ , oli 1,6, 1,2, 1,2, 1,1 ja 1,4 korda suurem tõenäosus kogeda menstruaaltsükli ebaregulaarsusi võrreldes naistega, kelle KMI jääb vahemikku 20-25 (Mishra jt., 2000). Lisaks toob 2009. aastal Taiwanis 18-25-aastaste naiste peal tehtud uuring välja, et naistel, kelle  $KMI > 27$ , oli 18,48 korda suurem risk ebaregulaarseks menstruaaltsükliks võrrelduna normaalkaalus olevate indiviididega (Chang jt., 2009). Naistel,

kelle menstruaaltsükli erinesid kuude lõikes rohkem kui 15 päeva võrra ning kelle KMI>30, oli 2,61 korda suurem risk kogeda ebaregulaarset menstruaaltsükli võrreldes naistega, kelle KMI jäi vahemikku 25-29,9 (Wei jt., 2009). Neid leide kinnitas 2012. aastal Soomes 15-16-aastaste tütarlaste peal läbi viidud uuring, kus leidis kinnitust seos menstruaaltsükli pikkuse häirete, hüperandrogenismi (kõrge meessuguhormoonide tase organismis), kõrge KMI ning vöö- ja puusaümbermõõdu suhte vahel – mida kõrgem on naisterahva KMI, seda suurema tõenäosusega esineb tal menstruaaltsükli häireid (Pinola jt., 2012).

## **1.5. Menstruaaltsükli pikkuse geneetiline taust**

Menstruaaltsükli pikkuse määramisel võib olla oluline roll ka geneetilistel faktoritel. Kaksikute peal tehtud uuring (Grotzinger jt., 2018) leidis, et geneetilised faktorid mõjutasid statistiliselt olulisel määral naiste testosterooni taset menstruaaltsükli follikulaarses faasis. Farland jt. (2017) omakorda näitasid, et kõrgem testosterooni tase on seotud lühema (<26 päeva) ja ebaregulaarse menstruaaltsükliga. Samuti mõjutab geneetika tugevalt näiteks menarhe ja menopausi algusaega (Peccei, 2000). Ehk võib järeldada, et kuigi teame palju keskkonnaspetsiifilistest mõjudest menstruaaltsükli pikkusele, siis tsükli pikkuse määramisel võib olla ka geneetiline komponent, kuigi vastavaid suuremahulisi uuringuid menstruaaltsükli pikkuse päritavuse hindamiseks ei ole tehtud.

## **1.6. Geneetiliste mõjurite uurimine**

Menstruaaltsükli pikkus on oma olemuselt kompleksstunne ehk tunnuse kujundamisel on suure tõenäosusega oma roll nii geneetisel eelsoodumusel, keskkonnafaktoritel kui elustiilil, seega võib eeldada, et geneetiline komponent moodustub mitmetest väikese mõjuga geenivariantidest. Üha enam on tänapäeval hakatud uurima kompleks- ehk multifaktoriaalseid haiguseid ja tunnuseid mõjutavaid geenivariante. Leidmaks seoseid haiguste fenotüüpide ja geneetiliste variantide vahel on laialdaselt kasutuses kandidaatgeenide uuringud ning ülegenoomsed seoseuuringud (*genome-wide association study* – GWAS). Autor annab siinkohal ülevaate mõlemast uuringuvormist ning toob välja uuringute kitsaskohad.

### **1.6.1. Kandidaatgeenide uuringud**

Komplekssete haiguste analüüsimiseks on laialdaselt kasutuses olnud kandidaatgeenide seoseuuringud. Uurimine algab oletatava kandidaatgeeni valimisega, lähtudes selle olulisusest uuritava haiguse või tunnuse väljakujunemise mehhanismis. Sellele järgneb polümorfismide hindamine ja valimine ning lõpuks kontrollitakse geenivariandi seost haiguse või tunnusega,

võrreldes selle alleelide esinemissagedusi juhuslikel katsealustel, kellel on haigus, ja valitud kontrollisikutel, kellel uuritavat haigust ei esine. (Patnala jt., 2013; Peters jt., 2010)

Kandidaatgeenide uuringuid on kritiseeritud tulemuste vähese replitseeritavuse osas ja piiratud võime tõttu kaasata kõiki võimalikke põhjuslikke geene (Tabor jt., 2002). Peamine puudus on see, et kandidaatgeenide uuringud nõuavad teavet, mis pärineb olemasolevatest tuntud füsioloogilistest, biokeemilistest või funktsionaalsetest teadmistest (näiteks hormonaalsest regulatsioonist või biokeemilise ainevahetuse rajast), mis on üldjuhul piiratud või ei ole teinekord üldse saadaval (Zhu ja Zhao, 2007). See tähendab, et kandidaatgeenide uuringute miinuseks võib tuua, et uuringud ei leia uusi geenikombinatsioone, vaid heal juhul kinnitavad või lükkavad ümber olemasolevaid teadmisi. Lisaks võib ohukohana välja tuua tõsiasja, et paljude kandidaatgeenide uurimise lähenemisviis põhjustab valepositiivsete tulemuste suurt hulka. Võrrelduna GWAS analüüsiga on kandidaatgeenide uuringute valim harilikult väiksem ning seetõttu peab kandidaatgeenide uuringute tulemustesse suhtuma suurema ettevaatlikkusega (Tabor jt., 2002). Arvestades kõiki neid puuduseid, siis tänapäeval kandidaatgeenide uuringuid valdavalt enam ei kasutata (välja arvatud replikatsiooniuringuteks).

### **1.6.2. Ülegenoomsed assotsiatsiooniuringud**

Ülegenoomne assotsiatsiooniuring on tänapäeval kasutatav genoomiülene hüpoteesivaba uuring, mis püüab leida seoseid ühenukleotiidsete polümorfismide (*single nucleotide polymorphism* – SNP) ning haiguste/tunnuste vahel. Erinevalt ühe geeni poolt põhjustatud haigustest on kompleksfenotüübid mõjutatud keskkonnategurite ja paljude geenide koosmõjust, mis eraldi uurituna omavad fenotüübi kujunemisele väikest mõju (Hardy ja Singleton, 2009; Manolio, 2010). Valdavalt kasutatakse geneetiliste markeritena SNP-e, sest nad on lihtsamini määratavad ning sagedasemad võrrelduna teiste polümorfismide variantidega (Pearson ja Manolio, 2008). GWAS sai võimalikuks tehnoloogiliste arengute tõttu, mis võimaldasid genotüpiseerida suurel hulgal SNP-e ja määrata ahelduse tasakaalutuse (*linkage disequilibrium* – LD) mustreid erinevates populatsioonides (International HapMap Consortium jt., 2007). LD on erinevates lookustes paiknevate alleelide mittejuhuslik assotsiatsioon, mis põhineb evolutsioonilistel protsessidel. Valdavalt on füüsiliselt üksteisele lähemal paiknevad lookused suuremas LD-s kui üksteisest kaugemal paiknevad lookused (Daly jt., 2001).

GWAS-i enamlevinud vorm baseerub kahe uuritava grupi geneetiliste variantide alleelisageduste võrdlemisel, kus ühte gruppi kuuluvad terved kontrollindiviidid ning teise gruppi kuuluvad haigusega indiviidid. GWAS-i on võimalik rakendada ka pidevate tunnustena rakenduvate fenotüüpide uurimisel, nagu näiteks pikkus, kehakaal, ning menstruaaltsükli

pikkus. Klassikaline GWAS koosneb neljast etapist: (1) valimi määramisel luuakse huvipakkuva haigusega ja tervete kontrollindiviidide grupp (pidevate tunnuste puhul ainult juhtgrupid), (2) viiakse läbi genotüpiseerimine ja kvaliteedikontroll, (3) tehakse statistiline test uurimaks assotsiatsioone uuritava haiguse ja markeri vahel ning (4) replitseeritakse leitud assotsiatsioonid sõltumatus kohordis. (Bush ja Moore, 2012; Pearson ja Manolio, 2008)

Uuringu läbiviimisel tuleb jälgida, et uuringu statistiline võimsus võiks olla vähemalt 80%, mis näitab tõenäosust, et avastatakse tõene assotsiatsioon markeri ja haiguse/tunnuse vahel. Leidmaks 80% statistilise tõenäosusega assotsiatsioone haiguse ja markeri vahel, eeldusel, et harvema alleeli sagedus (*minor allele frequency* – MAF) <10% ning šansside suhe on <1,3, oleks vaja valimit, kuhu kuulub vähemalt 10 000 juhtu ning 10 000 kontrollindiviidi (Wang jt., 2005).

Assotsiatsioonide tugevuse hindamisel kasutatakse šansside suhet (*odds ratio* – OR), mis näitab, mitu korda erineb huvipakkuva geneetilise variandi esinemise šanss uuritava fenotüübiga grupis võrrelduna kontrollgrupiga – kui OR=1, siis efekti haigusele/tunnusele ei ole (Bland ja Altman, 2000). Kui alleelisagedus juhtgrupis on oluliselt kõrgem kui kontrollgrupis, siis on OR>1 ning kui kontrollgrupis on alleelisagedus kõrgem, siis OR<1. Ülegenoomsete assotsiatsiooniuuringute eesmärgiks on leida OR suhteid, mis erinevad oluliselt 1-st näitamaks, et SNP on seotud uuritava haigusega (Clarke jt., 2011).

GWAS-i läbiviimisel tuleb tähelepanu pöörata kahele põhilisele aspektile: populatsiooni stratifikatsiooni, mis võib tekitada vale-positiivseid tulemusi ja väikese valimi kasutamine, mille tõttu võib jääda uuringu võimsus liiga väikeseks ning tähtsad seosed märkamata (Hardy ja Singleton, 2009).

Lahendamaks väikesest valimist tulenevat probleemi on hakatud rohkem läbi viima ülegenoomsete seoseuuringute metaanalüüse (Genome-Wide Association Meta Analysis – GWAMA), kus on kombineeritud väiksemate GWAS-ide tulemused ning seeläbi saadud tulemuseks suurema statistilise võimsusega analüüs (Winkler jt., 2014).

Populatsiooni stratifikatsioon on alleelisageduste süstemaatiline erinevus kontrollindiviidide ja juhtindiviidide vahel mingil mittebioloogilisel põhjusel, mille ärahoidmiseks viiakse valimi seas läbi nende tunnuste kohandamine, mis võivad avaldada mõju fenotüübile (Freedman jt., 2004). Populatsiooni kohandamise juures on oluline jälgida, et ei toimuks ülekohandamist, mis võib viia alla uuringu statistilist jõudsust (Freedman jt., 2004). Lisaks on oluline, et juhtude määramisel ei esines vigu nende klassifitseerimisel, mille tõttu võib uuringu võimsus väheneda ning tekib olukord, kus uuringust ei selgu tõeseid assotsiatsioone – siit tulenevalt on tähtis, et

uuringutes kasutatavad juhud oleksid diagnoositud kasutades ühte ja sama diagnoosikriteeriumit (Pearson ja Manolio, 2008).

Assotsiatsiooniuuringute piiranguks on tõsiasi, et kuigi analüüsi tulemusena suudetakse identifitseerida SNP ja genoomne asukoht, siis uuring ise ei võimalda saada infot potentsiaalses assotsiatsioonis oleva geenide ja nende funktsioonide kohta. Lisaks on paljud GWAS analüüsi tulemusel leitud variandid genoomi mitte-kodeerivas osas ning seega ei mõjuta geeni kodeerivat regiooni. Seetõttu on kasutusel erinevaid taktikaid võimalike kandidaatgeenide leidmiseks – GWAS-i tulemustest lähtuvalt uuritakse statistiliselt olulisena välja tulnud ( $p$ -väärtus  $<5 \times 10^{-8}$ ) SNP-i lähimat geeni ja selle regiooni; uuritakse huvipakkuva SNP-i mõju geeniekspressioonile või uuritakse huvipakkuva SNP-i teadaolevat bioloogilist funktsiooni. Näiteks on kandidaatgeenide paremaks leidmiseks arendatud FUMA platvorm, mis funktsionaalselt annoteerib GWAS-i leiud ning tõstab esile kõige tõenäolisemad fenotüübi või uuritava tunnuse põhjuslikud SNP-id ja geenid kasutades mitmete andmepankade ja tööriistade teavet. Geenide prioritiseerimine põhineb positsioonilise kaardistamise, ekspressiooni kvantitatiivsete tunnuste lookuste (*expression quantitative trait loci* - eQTL) kaardistamise ja kromatiini interaktsiooni kaardistamise kombinatsioonil. (Pearson ja Manolio, 2008; Schaid jt., 2018; Watanabe jt., 2017)

## 2. EKSPERIMENTAALOSA

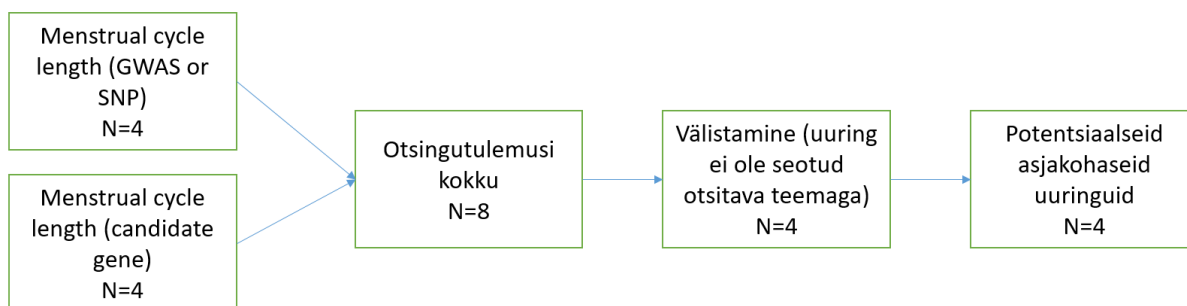
### 2.1. Töö eesmärgid

Töö üldine eesmärk on anda ülevaade menstruaaltsükli pikkuse geneetilisest taustast. Töö spetsiifilisemad eesmärgid on:

- Anda ülevaade menstruaaltsükli pikkuse teadaolevatest geneetilisest mõjuritest;
- Anda ülevaade menstruaaltsükli pikkusega seotud geneetiliste variantide seostest teiste tunnuste ning haigustega;

### 2.2. Materjal ja meetoodika

Antud uurimistöös kasutati otsingumootoritena PubMedi. Otsingumootoris kasutatud märksõnad olid „menstrual cycle length“, mida kombineeriti sõnadega „GWAS“, „candidate gene“, „SNP“. Otsingud andsid kokku 8 tulemust, millest sorteeriti välja potentsiaalselt sobivad 4 uuringut ning ülejäänud jäeti kõrvale seoses uuringuteema ja otsingutulemuse teema lahknemisega (Joonis 4). Nelja uuringu põhjal koostati nimekiri menstruaaltsükli pikkusega seotud geneetilisest variantidest, mida kasutati töö teises osas andmebaasidest päringute tegemisel.



**Joonis 4.** PubMedi tulemuste filtreerimine.

Et hinnata tsükli pikkusega seotud geneetiliste variantide seost teiste tunnuste/haigustega, kasutati FinnGen (<https://r5.finngen.fi/>), GWAS kataloogi (Buniello jt., 2019; <https://www.ebi.ac.uk/gwas/>) kui ka PhenoScanner andmebaasi (Kamat jt., 2019; Staley jt., 2016; <http://www.phenoscanter.medschl.cam.ac.uk/>). FinnGeni andmebaas koondab Soome biopanga leide ning hõlmab 218 792 indiviidi tulemusi (kevad 2020 seisuga), andes võimaluse uurida 2803 erinevat fenotüübi geneetilisi assotsiatsioone. PhenoScanner ja GWAS kataloogid hõlmavad avalikult kättesaadavate GWAS uuringute tulemusi aitamaks leida seoseid haiguste fenotüüpide ja geneetiliste variantide vahel. PhenoScanner kataloogist on kättesaadav 65 miljardit assotsiatsiooni ja üle 150 miljoni unikaalse geneetilise variandi. PhenoScanneri abil

otsiti lisaks kirjanduses välja toodud geneetilistele variantidele ka nende variantidega aheldunud SNP-e (LD alusel). Andmebaasidest võeti välja tunnused, mille usaldusväärsusnivoo oli väiksem kui  $1,0 \times 10^{-5}$ .

## 2.3. Tulemused

Süsteemse otsingu tulemusena PubMed keskkonnas leiti mitmeid kandidaatgeenide uuringute ning GWAS uuringutega seotud uuringuid, mille tulemustest toob autor järgnevalt ülevaate.

### 2.3.1. Kandidaatgeenide uuringutes leitud tsükli pikkust mõjutavad variandid/geenid

Taylor jt. (2010) läbiviidud kandidaatgeeni uuringus analüüsiti progesterooni retseptori polümorfismi, menarhe ja menstruaaltsükli pikkuse seoseid. Uuringus genotüpiseeriti 444 naise *PGR* (*progesterone receptor gene*) geenis paiknev funktsionaalne variant rs1042838, ning 264 naisel genotüpiseeriti lisaks 29 SNP-i geeni regioonis. Selgus, et geneetilised variatsioonid *PGR*-is mõjutavad menarhe vanust ( $P=0,03$  mitte Hispaania päritolu Euroopa naiste seas). Naistel, kel oli kaks rs1042838 koopiat, oli menarhe 1 aasta hiljem kui naistel, kel oli ainult üks rs1042838 variant või kellel seda polnud. Menstruaaltsükli pikkuse uurimuses leiti, et rs1042838 kolme eri genotüübi vahel (GG, TG, TT) polnud suuri erinevusi märgata – keskmine tsükli pikkus oli vastavalt  $28,9 \pm 0,2$ ,  $29,1 \pm 0,3$  ning  $30,2 \pm 0,9$  päeva. Ent leiti, et iga lisanduv T-alleel vähendas lühikese (17-24 päeva) menstruaaltsükli riski – protsentuaalselt oli 13,4% GG genotüübiga, 7,6% TG genotüübiga ning 1,6% TT genotüübiga naistest lühike menstruaaltsükkel. Seega võib selle uuringu põhjal järeldada, et SNP-id *PGR*-is võivad mõjutada lisaks menarhe toimumise vanusele ka lühikese menstruaaltsükli pikkuse tõenäosust.

Kirjanduse ülevaatest saab välja tuua ka Sowersi jt. (2006) läbiviidud kandidaatgeeni uuringu, mille käigus uuriti 485 naise ühe menstruaaltsükli vältel kord päevas kogutud uriinianalüüse. Sowersi grupp soovis uurida munasarjade vananemisega seotud geneetikat kasutades anovulatoorsete menstruaaltsükelite tõenäosust, menstruaaltsükli pikkuse varieeruvust ning hormoonide kontsentratsioonide erinevust tsükli vältel munasarjade vanuse hindamise markeritena. Uuringu tulemusena selgus, et östrogeeni retseptorit kodeeriva *ESR1* (*estrogen receptor gene 1*) geeni polümorfism rs3798577 oli seotud normist lühema või pikema menstruaaltsükli esinemisega (uuringus loeti normaalseks menstruaaltsükli pikkuseks 24-31 päeva). Täpsemalt tuli välja, et naistel, kel esines polümorfismi CT (OR=0,61; 95% CI=0,39-0,95) või CC (OR=0,72; 95% CI=0,43-1,21) genotüüp oli väiksema tõenäosusega normist lühem või pikem tsükkel võrrelduna naistega, kel oli rs3798577 TT genotüüp.

### 2.3.2. GWAS uuringutes leitud tsükli pikkust mõjutavad variandid/geenid

Kirjanduse läbitöötamisel selgub, et on uuritud FSH taseme ning menstruaaltsükli pikkuse geneetilisi seoseid. Ruth jt. (2016) poolt läbi viidud 9 531 indiviidi peal tehtud ülegenoomsest assotsiatsiuuringust selgus, et *FSHB* – geen, mis kodeerib FSH  $\beta$ -subühikut – promotori T-alleeli polümorfism (rs10835638) pikendab naiste menstruaaltsükli pikkust ligikaudu 1 päeva võrra [ $\beta=0,16$  (c. 1 päev); 95% CI=0,12–0,20;  $P = 6 \times 10^{-16}$ ], on seotud hilisema menopausi algusajaga, vähenenud endometrioosi riskiga ning suurenenud tõenäosusega, et naine pole kunagi lapsi saanud/sünnitanud. rs10835638 SNP-i T-alleeli seostatakse madalama FSH tasemega ning assotsiatsiooniuuringud on näidanud *FSHB* lookuse seost PCOS-i ja LH tasemega (Dapas jt., 2020; Hayes jt., 2015, Ruth jt., 2016).

Laisk jt. (2018) GWAS metanalüüs, mis koondas Eesti ja Suurbritannia biopanga andmeid, kinnitas tugevaimat korrelatsiooni *FSHB* promotori (rs10835638) ja pikema menstruaaltsükli vahel, ent uuringus tuli lisaks välja 4 lookust, mille seost menstruaaltsükli pikkusega ei ole varasemalt täheldatud. Tugevaim seos on *NR5A2* geenist 105 kb ülesvoolu asuva lookusega, [rs6670899,  $P_{meta} = 6,6 \times 10^{-13}$ ,  $\beta_{UKBB} = -0,06$  (s.e. = 0,01)], mis kodeerib DNA-d siduvat tsinksõrmede motiivi transkriptsioonifaktorit, mis on seotud steroidogeneesi reguleerimisega granuloosrakkude diferentseerumise ajal (Saxena jt., 2007). Sama regiooni on seostatud varasemalt hilisema menarhega (Perry jt., 2014) ning meestel vanusega, mil neil on häälemurre. Laisk jt. (2018) töid välja ka teise SNP-i [rs13261573,  $P_{meta} = 1,2 \times 10^{-10}$ ,  $\beta_{UKBB} = -0,07$  (s.e. = 0,01)], mis asub *DOCK5* geeni teises intronis, ent on tugevas LD-s ( $r^2 = 0,90$ ) rs6185 SNP-ga ( $P_{meta} = 2,0 \times 10^{-10}$ ), mis on missenssvariantiks gonadotropiini vabastava hormooni 1 geenis (*GNRHI*). *GNRHI* kodeerib gonadotropiini vabastava hormooni perekonna peptiidi prekursorit, mis reguleerib hüpofüüsi eessagarast FSH ja LH vabanemist (Barbieri, 2014; Reed ja Carr, 2018). Viimaks leidsid Laisk jt. (2018) kaks uut signaali kromosoomis 11: esimene [rs471811,  $P_{meta} = 3,0 \times 10^{-8}$ ,  $\beta_{UKBB} = -0,03$  (s.e. = 0,01)] asub progesterooni retseptori geenist (*PGR*) 42 kb ülesvoolu ning *PGR* antisense RNA-st (*PGR-ASI*) 14 kb allavoolu; teine uudne signaal [rs11042596,  $P_{meta} = 4,5 \times 10^{-8}$ ,  $\beta_{UKBB} = 0,04$  (s.e. = 0,01)] asub *INS-IGF2* ja *IGF2* geenidest 31 kb allavoolu.

Võrrelduna kandidaatgeenide uuringutega on GWAS uuringutest leitud variandid usaldusväärsemad (lähtudes varasemalt välja toodud uuringute kitsaskohtade hindamisest) ning autor kasutab GWAS tulemusi edasistes analüüsides, kus uurib geenivariantide seost teiste fenotüüpidega.

Autor pani kokku ülevaatliku tabeli GWAS analüüsides välja toodud geneetiliste variantidega ning nendega seotud fenotüüpidega, mille juures geneetiliste variantidega seotud fenotüübid on

välja otsitud FinnGeni ja GWAS kataloogidest ja PhenoScanner andmebaasist. PhenoScanneri andmebaasist on välja toodud ka fenotüübid, millega seotud geneetilised variandid olid otsitava variandiga tugevas LD-s EUR andmestikus. Tabelis võib täheldada andmebaaside-üleseid kattuvusi, sest GWAS kataloogi ja PhenoScanner andmebaasi sisenditeks on kõik avalikud ning usaldusväärseteks hinnatud GWAS analüüsid, erinevalt FinnGenist, kus on analüüside sisendiks ainult Soome biobankade andmed.

Tabeli sisenditeks on Laisk jt. (2018) ning Ruth jt. (2016) GWAS analüüside tulemusena leitud menstruaaltsükli pikkust mõjutavad SNP-id. Kõige enam menstruaaltsükli pikkust mõjutavaid polümorfisme on leitud *FSHB* geenis (rs10835638, rs11031006 ning rs564036233) või selle läheduses ning need on seotud lisaks menstruaaltsükli pikkuse mõjutamisele ka günekoloogiliste patoloogiate radade mõjutamisega (endometriosis, PCOS, tsüstid ja põletikulised ning mitte-põletikulised haigused). Teisena näitab tugevat assotsiatsiooni tsükli pikkuse geneetikaga *NR5A2* geenis olev rs6670899 SNP, mille mõju on täheldatud ka naiste reproduktiivorganite patoloogiate ning meestel häälemurde aset leidmise vanusega.

Ülegenoomse assotsiatsiooniuringute statistilise olulisusnivoo ületasid ka *NOTCH1*, *IGF2* ning *GNRHI* geenide läheduses asuvad SNP-id (vastavalt rs3124592, rs11042596, rs13261573) mis mängivad rolli lisaks menstruaaltsükli pikkuse regulatsioonile ka teiste patoloogiate (näiteks tüüp II diabeedi, ärritunud soole sündroomi) avaldumises ning fenotüüpide reguleerimises (näiteks sünnikaal, kannaluu mineraalne tihedus ning pikkus), vihjates nende SNP-ide rollile üleüldisemas erinevate kudede ja rakkude arengus ning diferentseerumises.

Laisk jt. (2018) uuringust välja tulnud uus potentsiaalne signaal *PGR* geenis (rs471811) ei tagastanud GWAS kataloogis, FinnGeni ega PhenoScanner kataloogis ühtegi seotud fenotüüpi peale selle sama uuringu leitud seose menstruaaltsükli pikkusega.

**Tabel 1.** Menstruaaltsükli pikkusega statistiliselt oluliselt ( $p < 10^{-8}$ ) seotud geenivariandid ning nende variantidega seotud statistiliselt olulised ( $p < 10^{-5}$ ) fenotüübid.

Geen/lähim geen	SNP id	Asukoht	RAF (riskalleel)	P- väärtaus	Viide	Seotud fenotüübid		
						GWAS kataloog	FinnGen andmebaas	PhenoScanner andmebaas
<i>DOCK5/GNRHI</i>	rs13261573	8:25391099	0,75 (A)	$1 \times 10^{-10}$	Laisk jt. (2018)	Menstruaaltsükli pikkus Testosterooni tase Kannaluu mineraalne tihedus	-	Menstruaaltsükli pikkus Kannaluu mineraalne tihedus
<i>FSHB</i>	rs10835638	11:30230805	0,16 (T)	$5 \times 10^{-12}$	Ruth jt. (2016)	PCOS	Endometriosis Liigne, sagedane ja ebaregulaarne menstruatsioon Mittepõletikulised emaka, v.a emakakaela, haigused Munasarja endometriosis Munasarja tsüst Naiste suguelundite mittepõletikulised häired Emaka leiomyoom	Menstruaaltsükli pikkus Kahepoolne salpingo- ooforektoomia (munasarjade ja munajuhade eemaldamine) Pikkus Liigne, sagedane ja ebaregulaarne menstruatsioon Menopausi algusaeg Endometriosis Pikkus istudes

							Emaka endometriosis Emaka leiomyoom (v.a vähk) Suguelundite haigused	
<b>FSHB</b>	rs11031006	11:30204981	0,86 (A)	$4 \times 10^{-36}$	Laisk jt. (2018)	Menstruaaltsükli pikkus Menorraagia LH tase (PCOS) Emaka fibroidid PCOS Menopausi algusaeg Menarhe algusaeg Spontaansed disügoosid kaksikud Tugev menstruaalverejooks	Endometriosis Liigne, sagedane ja ebaregulaarne menstruatsioon Mittepõletikulised emaka, v.a emakakaela, haigused Naiste suguelundite mittepõletikulised häired Munasarja endometriosis Munasarja tsüst Vaagna kõhukelme endometriosis Emaka endometriosis Muu ebanormaalne vaginaalne ja emaka	Menstruaaltsükli pikkus Kahepoolne salpingo- ooforektoomia (munasarjade ja munajuhade eemaldamine) LH tase (PCOS) Menopausi algusaeg Spontaansed disügoosid kaksikud PCOS Liigne, sagedane ja ebaregulaarne menstruatsioon

								veritsemine Emaka leiomüoom Suguelundite haigused Emaka leiomüoom (v.a vähk) Rektovaginaalse vaheseina ja tupe endometriosis	
<b><i>FSHB/ARL14EP</i></b>	rs564036233	11:30297462	NR (GA)	$1 \times 10^{-16}$	Ruth jt. (2016)	Menstruaaltsükli pikkus Testosterooni tase	-	-	
<b><i>IGF2/INS-IGF2</i></b>	rs11042596	11:2097630	0,34 (G)	$5 \times 10^{-8}$	Laisk jt. (2018)	Retikulotsüütide arv II tüüpi diabeet Menstruaaltsükli pikkus	-	Sünnikaal Pikkus istudes Menstruaaltsükli pikkus	
<b><i>NOTCH1</i></b>	rs3124592	9:136498710	0,45 (G)	$2 \times 10^{-8}$	Ruth jt. (2016)	Menstruaaltsükli pikkus Erütrotsüütide suurusjaotuvus	-	Pikkus Menstruaaltsükli pikkus Granulotsüütide suhtarv valgeverelibledes Pikkus istudes Ärritunud soole sündroom	

<b><i>NR5A2</i></b>	rs6670899	1:199922310	0,57 (A)	$7 \times 10^{-13}$	Laisk jt. (2018)	Menstruaaltsükli pikkus	Naise vaagna- ja emaka põletikulised haigused	Menstruaaltsükli pikkus Menarhe algusaeg Häälemurde iga
<b><i>PGR/PGR-AS1</i></b>	rs471811	11:101173472	0,31 (C)	$3 \times 10^{-8}$	Laisk jt. (2018)	Menstruaaltsükli pikkus	-	-

## 2.4. Arutelu

Uuringu raames läbiviidud otsingu tulemustest selgub, et valdav osa menstruaaltsükli pikkusega seotud geneetilistest mõjuritest on seotud hormonaalse regulatsiooni radadega, sealhulgas FSH-d kodeeriv *FSHB* geen, mis on seotud follikulogeneesi ning spermatogeneesiga (Maroulis jt., 1977; Matthews jt., 1993) ja *PGR* geen (ekspressseeritud valdavalt endomeetriumis ning munasarjades (Fagerberg jt., 2014)), mille kodeeritav valk vahendab progesterooni füsioloogilist toimet ning mis on vajalik emaka ning rindade arenguga seotud rakkude proliferatsiooniks ja diferentseerumiseks (Diep jt., 2016). Edasisel analüüsil, kus autor hindas tsükli pikkusega seotud geneetiliste variantide seoseid teiste tunnustega, selgus, et mitmed variandid on seotud ka teiste günekoloogiliste probleemidega. Näiteks on *NR5A2* geeni SNP-id seotud vaagnapõhjaelundite (sealhulgas emaka) põletikuliste haigustega, menarhe algusaja ning häälemurde eaga. *NR5A2* mängib olulist rolli granuloosarakkude diferentseerumise ja follikulogeneesi protsessis ning seda ekspresseeritakse paljudes kudedes, eriti munasarjades (Li jt., 2016; Meinsohn jt., 2017; Saxena jt., 2007) ehk võib järeldada, et *NR5A2* geen ning selle ekspressiooni mõjutavad polümorfismid on potentsiaalselt olulised nii reproduktiivorganite ja -kudede normaalse talitluse seisukohalt kui erinevate patoloogiate kujunemises.

Eraldi tasuks välja tuua *FSHB* lookuse keskset rolli naise reproduktiivtervise määramisel. Kirjanduse ülevaatest tuli välja mitmeid *FSHB* geeni ühenukleotiidseid polümorfisme, mis mõjutavad lisaks menstruaaltsükli pikkuse väljakujunemisele ka reproduktiivorganite patoloogiaid – *FSHB* geneetilised variandid on seotud endometrioosi, PCOS-i ja naise reproduktiivorganitega seotud patogeensete seisundite välja kujunemisega (Gallagher jt., 2019; Hayes jt., 2015). Need leiud on heaks näiteks olukorrast, kus geneetilised leiud peegeldavad väga hästi seda, mida me teame bioloogilistest protsessidest – FSH on follikulogeneesi protsessi tsentraalsel kohal ning muutused *FSHB* geenis või selle ekspressioonis ja seega ka hormooni tasemetes peaksid mõjutama ka menstruaaltsükli ja follikulogeneesi radu. Siiski on vaja edasisi uuringuid selle kohta, kas need geneetilised variandid mõjutavad patoloogiate riski eraldiseisvalt või tegelikult ikkagi läbi menstruaaltsükli pikkuse.

Huvitavatest assotsiatsioonidest võib välja tuua *IGF2* ning *DOCK5/GNRHI* geenid, mille uuritud SNP-id on lisaks menstruaaltsükli pikkusele seotud ka vastavalt II tüüpi diabeedi ning kannaluu mineraalse tihedusega seotud. Kirjandusest leitud info kinnitab GWASi tulemusi, sest *GNRHI* kodeerib valku, mis stimuleerib hüpofüüsi eessagarat FSH-d ja LH-d juurde tootma ning seeläbi on seotud menstruaaltsükli pikkuse mõjutamisega (Wang jt., 2008). Varasemalt on välja toodud reproduktiivhormoonide rolli imetajate luustiku arengus, kusjuures varajane menopaus, hüpotaalamuse amenorröa ning primaarne munasarjade puudulikkus vähendavad

luude mineraalset tihedust (Mills jt., 2021) – ehk siit võib järeldada, et *GNRHI* ekspressioon mõjutab lisaks steroidhormoonide sünteesile ka üleüldist kehalist arengut.

*IGF2* poolt kodeeritud valk soodustab granuloosarakkude prolifereerumist menstruaaltsükli follikulaarses faasis koos FSH-ga ning pärast ovulatsiooni soodustab *IGF2* menstruaaltsükli luteaalfaasis koos LH-ga progesterooni sekretsiooni (Neidhart, 2016). *IGF2* ekspresseeritakse peamiselt platsentas ehk see mängib olulist rolli rakkude prolifereerumisel ja loote arengus (Chao ja D'Amore, 2008) ning nagu ka fenotüüpide nimistust võib järeldada, mängib see rolli ka teiste kudede ning fenotüüpide arengus. Lisaks, kuna *IGF2* ja insuliini geenid asuvad samas geeniregioonis, siis on *IGF2* seotud ka II tüüpi diabeedi patogeneesiga (Casellas jt., 2015).

Lisaks on huvitav täheldada *NOTCH1* polümorfismi seotust menstruaaltsükli pikkuse mõjutamisega, sest ekspresseeritav valk Notch1 käitub primaatide emaka stroomarakkude regulaatorina ning on blastotsüstide implanteerumise protsessi ja rasestumise algstaadiumis toimuva emaka limaskesta paksenemise juures olulise rolliga (Afshar jt., 2012). Lisaks on täheldatud, et Notch1 tase on seletamatu viljatuse käes kannatavate naiste endomeetriumis vähenenud (Van Dinderen jt., 2014) ehk võib arvata, et *NOTCH1* geeniekspressiooni mõjutavad polümorfismid võiksid mõjutada endomeetriumi bioloogiat ning seeläbi ka menstruaaltsükli pikkust.

Uuringu tulemuste puudustest peab välja tooma tõsiasja, et mõlemad tabelis välja toodud uuringugruppide GWAS analüüsid on tehtud Euroopa päritolu naiste andmete põhjal ehk on raske öelda, kas uuringute leiud on ülekantavad mitte Euroopa päritolu populatsioonidele. Potentsiaalselt oleks vaja teha täiendavaid uuringuid suurema ja mitmekesisema valimiga kinnitamaks või lükkamaks ümber praeguste uuringute leide. Teisena tuleb välja tuua, et Suurbritannia biopanga andmed, mida on kasutanud mõlemad väljatoodud GWAS uuringud, põhinevad mitte vaadeldud vaid ise kirja pandud andmetel, mis tähendab, et seal võib tegelikkusest ebakõlasid tekkida. Lisaks on Suurbritannia biopanga andmed >40-aastaste ehk potentsiaalselt perimenopausaalsete naiste pealt kogutud ning neil palutud hinnata oma tolle hetke menstruaaltsükli pikkust, mis võib olla nende aastakümnete ülesest keskmisest perioodist lühem või ebaregulaarne (Mihm jt., 2011). Laisk jt. (2018) uuringus võeti arvesse ka Eesti Biopanga (EGCUT) andmeid, kus >35-aastastel naistel paluti hinnata oma menstruaaltsükli pikkust ajal, mil nad olid 25-35-aastased ehk siit võivad kahe kohordi võrdluses ja geneetiliste variantide mõjude suuruse võrdluses erinevusi – siiski saab tõdeda, et artiklis raporteeritud variantide puhul olid efektisuurused võrreldavad, seega vähemalt nende variantide puhul võib eeldada, et mõju on kahes populatsioonis sarnane. Viimasena võib välja tuua, et kuna menstruaaltsükli pikkust mõjutavad ka hormonaalsed rasestumisvastased vahendid - kõige

populaarsemad suukaudsed hormonaalsed rasestumisvastased pillid reguleerivad naiste menstruaaltsükli 28-päeva pikkuseks, sest pillides leiduvad östrogeen ja progestiin inhibeerivad organismi hormoonide tootmist ja takistavad munaraku vabastamist munasarjast (Hillard, 2014) -, siis osad naised võisid oma menstruaaltsükli pikkuse hindamisel jätta nende vahendite mõju arvesse võtmata.

Võib öelda, et praeguse seisuga GWAS analüüsidest leitud SNP-id on vaid väike osa seletamaks menstruaaltsükli pikkuse päritavust - Laisk jt. (2018) uuringus oli SNP-ide päritavuse hinnang menstruaaltsükli pikkusele 5,4% (s.e.=1,1) - ning oleks vaja läbi viia mahukamaid analüüse avastamiseks rohkemaid kandidaatgeene ja -lookuseid. Lisaks saaks edasi uurida menstruaaltsükli pikkust reguleerivate geneetiliste variantide rolli erinevatel eluetappidel, näiteks varajases puberteedieas ning üleminekueas, ning ka konkreetsemalt erinevate patoloogiate korral. Samuti oleks vaja täpsemalt hinnata nende variantide regulatoorset rolli (näiteks mõju geeniekspressioonile) naise reproduktiivkudedes, et paremini mõista, kuidas need geneetilised variandid oma bioloogilist mõju avaldavad.

Kokkuvõttes on tuvastatud mitmeid ühenukleotiidsid polümorfisme *FSHB*, *DOCK/GNRH1*, *IGF2*, *PGR*, *NR5A2* ja *NOTCH1* geenides või nende läheduses, mis on seotud menstruaaltsükli pikkusega. Tsükli pikkust mõjutavad geenid on valdavalt seotud embrüogeneesi, follikulogeneesi ning reproduktiivorganite ja hormoonide regulatsiooni radadega ning edasised uuringud võiksid tuvastada veelgi potentsiaalseid geneetiliste variantide kandidaate seletamaks menstruaaltsükli pikkuse varieeruvuse geneetilist tausta ning leidmaks rohkem kandidaatgeene ning -variante, mis on seotud menstruaaltsükli patoloogiatega.

## KOKKUVÕTE

Käesolev töö osa andis ülevaate menstruaaltsükli olemusest, menstruaaltsükli faaside ning faaside käiku mõjutavate hormoonide koosmõjust. Lisaks anti ülevaade menstruaaltsükli mõjutavatest keskkonna- ja elustiilifaktoritest ning patoloogiatest, mille sümptomiks võivad olla menstruaaltsükli pikkuse eripärad. Elustiilifaktoritest, mis mõjutavad menstruaaltsükli pikkust, võib välja tuua kõrge stressitaseme, suitsetamise, alkoholi tarbimise ning lisaks mõjutab tsükli pikkust kõrge kehamassiindeks ning vanus. Menstruaaltsükli pikkuse eripärad on sümptomiks potentsiaalsele viljatusele, polütsüstiliste munasarjade sündroomile, endometriosisile ning amenorröale. Teades menstruaaltsükli pikkust mõjutavaid faktoreid saame kasutada neid teadmisi patoloogiate paremaks mõistmiseks, nende ennetamisel ja ravimisel.

Antud töö eesmärk oli anda ülevaade menstruaaltsükli pikkuse pärilikest põhjustest, mille välja selgitamiseks viis autor läbi töö eksperimentaalses osas süsteemse PubMedi otsingu. Artiklite süsteemsest läbitöötamisest ja kirjanduse ülevaatest tulenevalt saab järeldada, et menstruaaltsükli pikkust mõjutavad lisaks keskkonna ja elustiilifaktoritele ka geneetilised faktorid.

Kandidaatgeenide uuringust tuli välja, et menarhe alguse vanust mõjutavad geneetilised variandid mõjutavad ka menstruaaltsükli pikkust – nimelt *PGR* geeni rs1042838 polümorfism ning *ESR1* geeni rs3798577 polümorfism on seotud menstruaaltsükli pikkuse mõjutamisega.

Autori välja toodud GWAS analüüsid toetasid teineteise tulemusi kinnitades, et *FSHB* polümorfismid mõjutavad menstruaaltsükli pikkust – lisaks menstruaaltsükli faasile on leitud polümorfismid tähtsal kohal ka patoloogiate väljakujunemises, olles seotud endometriosisi, emaka ning munasarjadega seotud patoloogiatega ning tsüstide välja kujunemise geneetiliste põhjustega. Lisaks töid uuringud välja uusi signaale *PGR*, *DOCK5*, *NR5A2* ning *INS-IGF2* geenides või nende läheduses, mis omakorda on seotud hormoonide regulatsiooni radadega.

Kirjandusest leitud menstruaaltsükli pikkuse regulatsiooniga seotud polümorfismid on vaid väike osa tegelikkuses potentsiaalselt mõjutavatest geneetilistest faktoritest ning käesoleva töö autor leiab, et oleks vaja teha täiendavaid uuringuid leidmaks rohkemaid tsükli pikkuse päritavusega seotud geneetilisi variante ning hinnata nende mõju naiste reproduktiivkudedes.

## Genetics of menstrual cycle length and its relation to women's health

Anet Tammemäe

### Summary

Menstrual cycle affects every woman, and it marks the fertile period, which starts with menarche and ends with menopause. The menstrual cycle can be divided into follicular and luteal phase, whereas the two phases are tied together by ovulation. Knowing the hormonal regulators of menstrual cycle, the different phases of the cycle and potential abnormalities result in being better in tune with ones body and being able to detect possible problems with the reproductive system.

Based on the literature found during the research process of this thesis, menstrual cycle length is affected by several factors. From environmental point of view, menstrual cycle length is affected by a person's age, the amount of exercise, smoking, caffeine consumption, stress and BMI. Abnormalities in menstrual cycle length may hint toward infertility or trouble conceiving, endometriosis, PCOS and amenorrhea.

A systematic analysis based on researching articles on PubMed resulted in very limited amount of relevant articles, of which two candidate gene studies showed genetic components affecting menstrual cycle length. The candidate gene studies revealed that genetic variants that affect the onset of menarche also affect the length of the menstrual cycle - namely the polymorphism of the *PGR* gene rs1042838 and the polymorphism of the *ESR1* gene rs3798577 are involved in influencing the length of the menstrual cycle.

The two analysed GWAS studies gave stronger results confirming each other's findings that *FSHB* gene is associated with menstrual cycle length regulation and folliculogenesis (among endometriosis and other traits tied to reproductive organs and pathologies). In addition to the *FSHB* loci GWAS analyses revealed new signals in or near *PGR*, *DOCK5*, *NR5A2* and *INS-IGF2* genes which are involved in hormone regulation pathways.

The genetic variants that affect menstrual cycle length which were discovered during the systemic analysis only pose a small part of potential genetic causes for cycle length and further research is needed to find more genetic variants associated with cycle length heritability.

## KIRJANDUSE LOETELU

- Anderson, S. E., Dallal, G. E., & Must, A. (2003). Relative weight and race influence average age at menarche: results from two nationally representative surveys of US girls studied 25 years apart. *Pediatrics*, 111(4 Pt 1), 844–850. <https://doi.org/10.1542/peds.111.4.844>
- Afshar, Y., Miele, L., & Fazleabas, A. T. (2012). Notch1 is regulated by chorionic gonadotropin and progesterone in endometrial stromal cells and modulates decidualization in primates. *Endocrinology*, 153(6), 2884–2896. <https://doi.org/10.1210/en.2011-2122>
- Bae, J., Park, S., & Kwon, J. W. (2018). Factors associated with menstrual cycle irregularity and menopause. *BMC women's health*, 18(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s12905-018-0528-x>
- Baker, E. R. (1985). Body weight and the initiation of puberty. *Clinical obstetrics and gynecology*, 28(3), 573–579. <https://doi.org/10.1097/00003081-198528030-00013>
- Barbieri R. L. (2014). The endocrinology of the menstrual cycle. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1154, 145–169. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0659-8\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0659-8_7)
- Bergeron, C., Ferenczy, A., Toft, D. O., Schneider, W., & Shyamala, G. (1988). Immunocytochemical study of progesterone receptors in the human endometrium during the menstrual cycle. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 59(6), 862–869.
- Betts, J.G., Young, K.A., Wise, J.A., ... Desaix, P. (2013) *Anatomy and Physiology*. OpenStax. Kasutatud 01.08.2021. <https://openstax.org/books/anatomy-and-physiology/pages/27-2-anatomy-and-physiology-of-the-female-reproductive-system>
- Buniello, A., MacArthur, J., A., L., Cerezo, M., ... Parkinson, H. (2019). The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics 2019. *Nucleic Acids Research*, 2019, Vol. 47 (Database issue): D1005-D1012.
- Burton, G. J., Watson, A. L., Hempstock, J., Skepper, J. N., & Jauniaux, E. (2002). Uterine glands provide histiotrophic nutrition for the human fetus during the first trimester of pregnancy. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 87(6), 2954–2959. <https://doi.org/10.1210/jcem.87.6.8563>
- Bush, W. S., & Moore, J. H. (2012). Chapter 11: Genome-wide association studies. *PLoS computational biology*, 8(12), e1002822. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002822>
- Carlson, L. J., & Shaw, N. D. (2019). Development of Ovulatory Menstrual Cycles in Adolescent Girls. *Journal of pediatric and adolescent gynecology*, 32(3), 249–253. <https://doi.org/10.1016/j.jpag.2019.02.119>
- Casellas, A., Mallol, C., Salavert, ... Bosch, F. (2015). Insulin-like Growth Factor 2 Overexpression Induces  $\beta$ -Cell Dysfunction and Increases Beta-cell Susceptibility to Damage. *The Journal of biological chemistry*, 290(27), 16772–16785. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.642041>
- Chao, W., & D'Amore, P. A. (2008). IGF2: epigenetic regulation and role in development and disease. *Cytokine & growth factor reviews*, 19(2), 111–120. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2008.01.005>
- Clarke, G. M., Anderson, C. A., Pettersson, F. H., Cardon, L. R., Morris, A. P., & Zondervan, K. T. (2011). Basic statistical analysis in genetic case-control studies. *Nature protocols*, 6(2), 121–133. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.182>
- Clarkson, J., d'Anglemont de Tassigny, X., Moreno, A. S., Colledge, W. H., & Herbison, A. E. (2008). Kisspeptin-GPR54 signaling is essential for preovulatory gonadotropin-releasing

hormone neuron activation and the luteinizing hormone surge. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 28(35), 8691–8697. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1775-08.2008>

Daly, M. J., Rioux, J. D., Schaffner, S. F., Hudson, T. J., & Lander, E. S. (2001). High-resolution haplotype structure in the human genome. *Nature genetics*, 29(2), 229–232. <https://doi.org/10.1038/ng1001-229>

Damle, R. P., Dravid, N. V., Suryawanshi, K. H., Gadre, A. S., Bagale, P. S., & Ahire, N. (2013). Clinicopathological Spectrum of Endometrial Changes in Peri-menopausal and Post-menopausal Abnormal Uterine Bleeding: A 2 Years Study. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 7(12), 2774–2776. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/6291.3755>

Dapas, M., Lin, F., Nadkarni, G. N., Sisk, R., Legro, R. S., Urbanek, M., Hayes, M. G., & Dunaif, A. (2020). Distinct subtypes of polycystic ovary syndrome with novel genetic associations: An unsupervised, phenotypic clustering analysis. *PLoS medicine*, 17(6), e1003132. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003132>

Dasharathy, S. S., Mumford, S. L., Pollack, A. Z., Perkins, N. J., Mattison, D. R., Wactawski-Wende, J., & Schisterman, E. F. (2012). Menstrual bleeding patterns among regularly menstruating women. *American journal of epidemiology*, 175(6), 536–545. <https://doi.org/10.1093/aje/kwr356>

De Souza, M. J., Miller, B. E., Sequenzia, L. C., Luciano, A. A., Ulreich, S., Stier, S., Prestwood, K., & Lasley, B. L. (1997). Bone health is not affected by luteal phase abnormalities and decreased ovarian progesterone production in female runners. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 82(9), 2867–2876. <https://doi.org/10.1210/jcem.82.9.4201>

Dees, W. L., Dissen, G. A., Hiney, J. K., Lara, F., & Ojeda, S. R. (2000). Alcohol ingestion inhibits the increased secretion of puberty-related hormones in the developing female rhesus monkey. *Endocrinology*, 141(4), 1325–1331. <https://doi.org/10.1210/endo.141.4.7413>

Delara, M., & Woodgate, R. L. (2015). Psychological Distress and its Correlates among University Students: A Cross-Sectional Study. *Journal of pediatric and adolescent gynecology*, 28(4), 240–244. <https://doi.org/10.1016/j.jpag.2014.08.012>

Dennerstein, L., Gotts, G., & Brown, J. B. (1997). Effects of age and non-hormonal contraception on menstrual cycle characteristics. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 11(2), 127–133. <https://doi.org/10.3109/09513599709152523>.

Devoto, L., Fuentes, A., Kohen, P., Céspedes, P., Palomino, A., Pommer, R., Muñoz, A., & Strauss, J. F., 3rd (2009). The human corpus luteum: life cycle and function in natural cycles. *Fertility and sterility*, 92(3), 1067–1079. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.07.1745>

Diep, C. H., Ahrendt, H., & Lange, C. A. (2016). Progesterone induces progesterone receptor gene (PGR) expression via rapid activation of protein kinase pathways required for cooperative estrogen receptor alpha (ER) and progesterone receptor (PR) genomic action at ER/PR target genes. *Steroids*, 114, 48–58. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.09.004>

Elting, M. W., Korsen, T. J., Rekers-Mombarg, L. T., & Schoemaker, J. (2000). Women with polycystic ovary syndrome gain regular menstrual cycles when ageing. *Human reproduction (Oxford, England)*, 15(1), 24–28. <https://doi.org/10.1093/humrep/15.1.24>

Emanuele, N. V., LaPaglia, N., Steiner, J., Kirsteins, L., & Emanuele, M. A. (2001). Effect of chronic ethanol exposure on female rat reproductive cyclicality and hormone secretion. *Alcoholism, clinical and experimental research*, 25(7), 1025–1029.

- Fagerberg, L., Hallström, B. M., Oksvold, P., ... Uhlén, M. (2014). Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Molecular & cellular proteomics* : MCP, 13(2), 397–406. <https://doi.org/10.1074/mcp.M113.035600>
- Fenster, L., Quale, C., Waller, K., Windham, G. C., Elkin, E. P., Benowitz, N., & Swan, S. H. (1999a). Caffeine consumption and menstrual function. *American journal of epidemiology*, 149(6), 550–557. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a009851>
- Fenster, L., Waller, K., Chen, J., Hubbard, A. E., Windham, G. C., Elkin, E., & Swan, S. (1999b). Psychological stress in the workplace and menstrual function. *American journal of epidemiology*, 149(2), 127–134. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a009777>
- Fries, H., & Nillius, S. J. (1973). Dieting, anorexia nervosa and amenorrhoea after oral contraceptive treatment. *Acta psychiatrica Scandinavica*, 49(6), 669–679. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.1973.tb04456.x>
- Frisch, R. E. (1987). Body fat, menarche, fitness and fertility. *Human reproduction* (Oxford, England), 2(6), 521–533. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a136582>
- Frisch, R. E., & Revelle, R. (1971). Height and weight at menarche and a hypothesis of menarche. *Archives of disease in childhood*, 46(249), 695–701. <https://doi.org/10.1136/adc.46.249.695>
- Fuentes, A., Escalona, J., Céspedes, P., Espinoza, A., & Johnson, M. C. (2014). Prevalencia de la endometriosis en mujeres sometidas a esterilización quirúrgica laparoscópica en un hospital de Santiago de Chile [Prevalence of endometriosis in 287 women undergoing surgical sterilization in Santiago Chile]. *Revista medica de Chile*, 142(1), 16–19. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872014000100003>
- Gallagher, C. S., Mäkinen, N., Harris, ... Morton, C. C. (2019). Genome-wide association and epidemiological analyses reveal common genetic origins between uterine leiomyomata and endometriosis. *Nature communications*, 10(1), 4857. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12536-4>
- Goodman, A. L., & Hodgen, G. D. (1983). The ovarian triad of the primate menstrual cycle. *Recent progress in hormone research*, 39, 1–73. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-571139-5.50005-7>
- Guyton, A.C. & Hall, J.E. (2006). Chapter 81 Female Physiology Before Pregnancy and Female Hormones. *Textbook of Medical Physiology* (11th ed.). Elsevier Saunders. pp. 1018ff. ISBN 9780721602400.
- Hardy, J., & Singleton, A. (2009). Genomewide association studies and human disease. *The New England journal of medicine*, 360(17), 1759–1768. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0808700>
- Harlow, S. D., & Ephross, S. A. (1995). Epidemiology of menstruation and its relevance to women's health. *Epidemiologic reviews*, 17(2), 265–286. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a036193>
- Harlow, S. D., & Matanoski, G. M. (1991). The association between weight, physical activity, and stress and variation in the length of the menstrual cycle. *American journal of epidemiology*, 133(1), 38–49. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a115800>
- Harlow, S.A.D. & Windham, G. & Paramsothy, P. (2013). Menstruation and Menstrual Disorders: The Epidemiology of Menstruation and Menstrual Dysfunction. *Women and Health*. 163-177. 10.1016/B978-0-12-384978-6.00012-1.

- Hatch, M. C., Figa-Talamanca, I., & Salerno, S. (1999). Work stress and menstrual patterns among American and Italian nurses. *Scandinavian journal of work, environment & health*, 25(2), 144–150. <https://doi.org/10.5271/sjweh.417>
- Hayes, M. G., Urbanek, M., Ehrmann, ... Dunaif, A. (2015). Genome-wide association of polycystic ovary syndrome implicates alterations in gonadotropin secretion in European ancestry populations. *Nature communications*, 6, 7502. <https://doi.org/10.1038/ncomms8502>
- Hillard P. A. (2014). Menstrual suppression: current perspectives. *International journal of women's health*, 6, 631–637. <https://doi.org/10.2147/IJWH.S46680>
- International HapMap Consortium, Frazer, K. A., Ballinger, D. G., Cox, D. R., ... Stewart, J. (2007). A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature*, 449(7164), 851–861. <https://doi.org/10.1038/nature06258>
- Johnson, M. H. (2018). *Essential reproduction*. John Wiley & Sons.
- Jones, R. E. (2006). Chapter Three - The Menstrual Cycle. *Human Reproductive Biology (Third Edition)*, p. 75-84. San Diego: Academic Press.
- Jukic, A. M., Weinberg, C. R., Baird, D. D., & Wilcox, A. J. (2007). Lifestyle and reproductive factors associated with follicular phase length. *Journal of women's health (2002)*, 16(9), 1340–1347. <https://doi.org/10.1089/jwh.2007.0354>
- Kamat, M. A., Blackshaw, J. A., Young, R., Surendran, P., Burgess, S., Danesh, J., Butterworth, A. S., & Staley, J. R. (2019). PhenoScanner V2: an expanded tool for searching human genotype-phenotype associations. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 35(22), 4851–4853. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz469>
- Kennedy, S., Bergqvist, A., Chapron, C., D'Hooghe, T., Dunselman, G., Greb, R., Hummelshoj, L., Prentice, A., Saridogan, E., & ESHRE Special Interest Group for Endometriosis and Endometrium Guideline Development Group (2005). ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Human reproduction (Oxford, England)*, 20(10), 2698–2704. <https://doi.org/10.1093/humrep/dei135>
- Klein, D. A., & Poth, M. A. (2013). Amenorrhea: an approach to diagnosis and management. *American family physician*, 87(11), 781–788.
- Kline, J., Tang, A., & Levin, B. (2016). Smoking, alcohol and caffeine in relation to two hormonal indicators of ovarian age during the reproductive years. *Maturitas*, 92, 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2016.07.010>
- Laisk, T., Kukuškina, V., Palmer, ... Lindgren, C. M. (2018). Large-scale meta-analysis highlights the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the genetic regulation of menstrual cycle length. *Human molecular genetics*, 27(24), 4323–4332. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy317>
- Legro, R. S., Arslanian, S. A., Ehrmann, D. A., Hoeger, K. M., Murad, M. H., Pasquali, R., Welt, C. K., & Endocrine Society (2013). Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 98(12), 4565–4592. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-2350>
- Li, Y. X., Zhang, J., Qian, Y., Meng, C. H., Wang, H. L., Tao, X. J., et al. (2015). Molecular characterization, expression, polymorphism of NR5A2 and its relationship with litter size in Hu sheep. *Genet. Mol. Res.* 14 (4), 12765–12775. doi: 10.4238/2015.October.19.20
- Liu, Y., Gold, E. B., Lasley, B. L., & Johnson, W. O. (2004). Factors affecting menstrual cycle characteristics. *American journal of epidemiology*, 160(2), 131–140. <https://doi.org/10.1093/aje/kwh188>
- Long, W. N. (1990). Abnormal Vaginal Bleeding. In H. K. Walker (Eds.) et. al., *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. (3rd ed.). Butterworths.

- Manolio, T. A. (2010). Genomewide association studies and assessment of the risk of disease. *The New England journal of medicine*, 363(2), 166–176. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0905980>
- Marcus, R., Cann, C., Madvig, P., Minkoff, J., Goddard, M., Bayer, M., Martin, M., Gaudiani, L., Haskell, W., & Genant, H. (1985). Menstrual function and bone mass in elite women distance runners. Endocrine and metabolic features. *Annals of internal medicine*, 102(2), 158–163. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-102-2-158>
- Maroulis, G. B., Parlow, A. F., & Marshall, J. R. (1977). Isolated follicle-stimulating hormone deficiency in man. *Fertility and sterility*, 28(8), 818–822. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)42734-2](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)42734-2)
- Marret, H., Fauconnier, A., Chabbert-Buffet, ... CNGOF Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français (2010). Clinical practice guidelines on menorrhagia: management of abnormal uterine bleeding before menopause. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*, 152(2), 133–137. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2010.07.016>
- Master-Hunter, T., & Heiman, D. L. (2006). Amenorrhea: evaluation and treatment. *American family physician*, 73(8), 1374–1382.
- Matthews, C. H., Borgato, S., Beck-Peccoz, ... Chatterjee, V. K. (1993). Primary amenorrhoea and infertility due to a mutation in the beta-subunit of follicle-stimulating hormone. *Nature genetics*, 5(1), 83–86. <https://doi.org/10.1038/ng0993-83>
- Mckellar, K., Sillence, E. (2020). Teenagers, Sexual Health Information and the Digital Age. Academic Press, 113-121. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816969-8.00009-6>.
- Meinsohn, M. C., Morin, F., Bertolin, K., Duggavathi, R., Schoonjans, K., Murphy, B. D. (2017). The orphan nuclear receptor liver homolog receptor-1 (Nr5a2) regulates ovarian granulosa cell proliferation. *J. Endocr. Soc.* 2 (1), 24–41. doi: 10.1210/js.2017-00329
- Mesen, T. B., & Young, S. L. (2015). Progesterone and the luteal phase: a requisite to reproduction. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*, 42(1), 135–151. <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2014.10.003>
- Mihm, M., Gangooly, S., & Muttukrishna, S. (2011). The normal menstrual cycle in women. *Animal reproduction science*, 124(3-4), 229–236. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.030>
- Mills, E. G., Yang, L., Nielsen, M. F., Kassem, M., Dhillon, W. S., & Cominos, A. N. (2021). The Relationship Between Bone and Reproductive Hormones Beyond Estrogens and Androgens. *Endocrine reviews*, bna015. Advance online publication. <https://doi.org/10.1210/endrev/bna015>
- Mishra, G. D., Dobson, A. J., & Schofield, M. J. (2000). Cigarette smoking, menstrual symptoms and miscarriage among young women. *Australian and New Zealand journal of public health*, 24(4), 413–420. <https://doi.org/10.1111/j.1467-842x.2000.tb01604.x>
- Morris, D. H., Jones, M. E., Schoemaker, M. J., Ashworth, A., & Swerdlow, A. J. (2010). Determinants of age at menarche in the UK: analyses from the Breakthrough Generations Study. *British journal of cancer*, 103(11), 1760–1764. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605978>
- Mueller, N. T., Jacobs, D. R., Jr, MacLehose, R. F., Demerath, E. W., Kelly, S. P., Dreyfus, J. G., & Pereira, M. A. (2015). Consumption of caffeinated and artificially sweetened soft drinks is associated with risk of early menarche. *The American journal of clinical nutrition*, 102(3), 648–654. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.100958>

- Mumby, H. S., Elks, C. E., Li, S., Sharp, S. J., Khaw, K. T., Luben, R. N., Wareham, N. J., Loos, R. J., & Ong, K. K. (2011). Mendelian Randomisation Study of Childhood BMI and Early Menarche. *Journal of obesity*, 2011, 180729. <https://doi.org/10.1155/2011/180729>
- Munro, M. G. (2017). Practical aspects of the two FIGO systems for management of abnormal uterine bleeding in the reproductive years. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*, 40, 3–22. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2016.09.011>
- Muttukrishna, S., Sharma, S., Barlow, D. H., Ledger, W., Groome, N., & Sathanandan, M. (2002). Serum inhibins, estradiol, progesterone and FSH in surgical menopause: a demonstration of ovarian pituitary feedback loop in women. *Human reproduction (Oxford, England)*, 17(10), 2535–2539. <https://doi.org/10.1093/humrep/17.10.2535>
- Münster, K., Schmidt, L., & Helm, P. (1992). Length and variation in the menstrual cycle--a cross-sectional study from a Danish county. *British journal of obstetrics and gynaecology*, 99(5), 422–429. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.1992.tb13762.x>
- Nagma, S., Kapoor, G., Bharti, R., Batra, A., Batra, A., Aggarwal, A., & Sablok, A. (2015). To evaluate the effect of perceived stress on menstrual function. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 9(3), QC01–QC3. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/6906.5611>
- Neidhart, M. (2016). *DNA Methylation and Complex Human Disease (1st ed.)*. San Diego: Academic Press. p. 222. ISBN 9780124201941.
- Norman, R. J., Dewailly, D., Legro, R. S., & Hickey, T. E. (2007). Polycystic ovary syndrome. *Lancet (London, England)*, 370(9588), 685–697. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61345-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61345-2)
- Patnala, R., Clements, J., & Batra, J. (2013). Candidate gene association studies: a comprehensive guide to useful in silico tools. *BMC genetics*, 14, 39. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-14-39>
- Pauerstein, C. J., Eddy, C. A., Croxatto, H. D., Hess, R., Siler-Khodr, T. M., & Croxatto, H. B. (1978). Temporal relationships of estrogen, progesterone, and luteinizing hormone levels to ovulation in women and infrahuman primates. *American journal of obstetrics and gynecology*, 130(8), 876–886. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(78\)90264-8](https://doi.org/10.1016/0002-9378(78)90264-8)
- Pearson, T. A., & Manolio, T. A. (2008). How to interpret a genome-wide association study. *JAMA*, 299(11), 1335–1344. <https://doi.org/10.1001/jama.299.11.1335>
- Peccei, J. S. (2000). Genetic correlation between the ages of menarche and menopause. *Human nature (Hawthorne, N.Y.)*, 11(1), 43–63. <https://doi.org/10.1007/s12110-000-1002-6>
- Perry, J. R., Day, F., Elks, C. E., ... Ong, K. K. (2014). Parent-of-origin-specific allelic associations among 106 genomic loci for age at menarche. *Nature*, 514(7520), 92–97. <https://doi.org/10.1038/nature13545>
- Peters, B. J., Rodin, A. S., de Boer, A., & Maitland-van der Zee, A. H. (2010). Methodological and statistical issues in pharmacogenomics. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 62(2), 161–166. <https://doi.org/10.1211/jpp.62.02.0002>
- Pinola, P., Lashen, H., Bloigu, A., ... Morin-Papunen, L. (2012). Menstrual disorders in adolescence: a marker for hyperandrogenaemia and increased metabolic risks in later life? Finnish general population-based birth cohort study. *Human reproduction (Oxford, England)*, 27(11), 3279–3286. <https://doi.org/10.1093/humrep/des309>
- Raven, P. H., Losos, J. B., Mason, K. A., Singer, S. R., & Johnson, G. B. (2010). *Part III Genetic and Molecular Biology. Biology. (9th ed.)*. New York: McGraw-Hill.

- Reed, B. G., & Carr, B. R. (2018). The Normal Menstrual Cycle and the Control of Ovulation. In K. R. Feingold (Eds.) et. al., *Endotext*. MDText.com, Inc.
- Reindollar, R. H., Novak, M., Tho, S. P., & McDonough, P. G. (1986). Adult-onset amenorrhea: a study of 262 patients. *American journal of obstetrics and gynecology*, 155(3), 531–543. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(86\)90274-7](https://doi.org/10.1016/0002-9378(86)90274-7)
- Ruth, K. S., Beaumont, R. N., Tyrrell, ... Murray, A. (2016). Genetic evidence that lower circulating FSH levels lengthen menstrual cycle, increase age at menopause and impact female reproductive health. *Human reproduction (Oxford, England)*, 31(2), 473–481. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev318>
- Saxena, D., Escamilla-Hernandez, R., Little-Ihrig, L., & Zeleznik, A. J. (2007). Liver receptor homolog-1 and steroidogenic factor-1 have similar actions on rat granulosa cell steroidogenesis. *Endocrinology*, 148(2), 726–734. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0108>
- Schaid, D. J., Chen, W., & Larson, N. B. (2018). From genome-wide associations to candidate causal variants by statistical fine-mapping. *Nature reviews. Genetics*, 19(8), 491–504. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0016-z>
- Schliep, K. C., Zarek, S. M., Schisterman, E. F., Wactawski-Wende, J., Trevisan, M., Sjaarda, L. A., Perkins, N. J., & Mumford, S. L. (2015). Alcohol intake, reproductive hormones, and menstrual cycle function: a prospective cohort study. *The American journal of clinical nutrition*, 102(4), 933–942. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.102160>
- Sherman, B. M., & Korenman, S. G. (1975). Hormonal characteristics of the human menstrual cycle throughout reproductive life. *The Journal of clinical investigation*, 55(4), 699–706. <https://doi.org/10.1172/JCI107979>
- Small, C. M., Manatunga, A. K., Klein, M., Feigelson, H. S., Dominguez, C. E., McChesney, R., & Marcus, M. (2006). Menstrual cycle characteristics: associations with fertility and spontaneous abortion. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 17(1), 52–60. <https://doi.org/10.1097/01.ede.0000190540.95748.e6>
- Sowers, M. R., Jannausch, M. L., McConnell, D. S., Kardia, S. R., & Randolph, J. F., Jr (2006). Menstrual cycle markers of ovarian aging and sex steroid hormone genotypes. *The American journal of medicine*, 119(9 Suppl 1), S31–S43. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2006.07.004>
- Staley, J. R., Blackshaw, J., Kamat, ... Butterworth, A. S. (2016). PhenoScanner: a database of human genotype-phenotype associations. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 32(20), 3207–3209. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw373>
- Zhang, Q., Wang, Y. Y., Zhang, Y., Zhang, H. G., Yang, Y., He, Y., Xu, J. H., Zhao, J., Peng, Z. Q., & Ma, X. (2017). The influence of age at menarche, menstrual cycle length and bleeding duration on time to pregnancy: a large prospective cohort study among rural Chinese women. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*, 124(11), 1654–1662. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.14469>
- Zhu, M., & Zhao, S. (2007). Candidate gene identification approach: progress and challenges. *International journal of biological sciences*, 3(7), 420–427. <https://doi.org/10.7150/ijbs.3.420>
- Zondervan, K. T., Cardon, L. R., & Kennedy, S. H. (2001). The genetic basis of endometriosis. *Current opinion in obstetrics & gynecology*, 13(3), 309–314. <https://doi.org/10.1097/00001703-200106000-00011>
- Tabor, H. K., Risch, N. J., & Myers, R. M. (2002). Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nature reviews. Genetics*, 3(5), 391–397. <https://doi.org/10.1038/nrg796>

- Talma, H., Schönbeck, Y., van Dommelen, P., Bakker, B., van Buuren, S., & Hirasing, R. A. (2013). Trends in menarcheal age between 1955 and 2009 in the Netherlands. *PloS one*, 8(4), e60056. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060056>
- Taylor, K. C., Small, C. M., Epstein, M. P., Sherman, S. L., Tang, W., Wilson, M. M., Bouzyk, M., & Marcus, M. (2010). Associations of progesterone receptor polymorphisms with age at menarche and menstrual cycle length. *Hormone research in paediatrics*, 74(6), 421–427. <https://doi.org/10.1159/000316961>.
- Teede, H., Deeks, A., & Moran, L. (2010). Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC medicine*, 8, 41. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-8-41>
- Thurston, L., Abbara, A., & Dhillon, W. S. (2019). Investigation and management of subfertility. *Journal of clinical pathology*, 72(9), 579–587. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2018-205579>
- Turner, S., Armstrong, L. L., Bradford, Y., ... Ritchie, M. D. (2011). Quality control procedures for genome-wide association studies. *Current protocols in human genetics*, Chapter 1, Unit 1.19. <https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0119s68>
- Van Sinderen, M., Cuman, C., Gamage, T., Rainczuk, K., Osianlis, T., Rombauts, L., & Dimitriadis, E. (2014). Localisation of the Notch family in the human endometrium of fertile and infertile women. *Journal of molecular histology*, 45(6), 697–706. <https://doi.org/10.1007/s10735-014-9587-y>
- Vande Wiele, R. L., Bogumil, J., Dyrenfurth, I., Ferin, M., Jewelewicz, R., Warren, M., Rizkallah, T., & Mikhail, G. (1970). Mechanisms regulating the menstrual cycle in women. *Recent progress in hormone research*, 26, 63–103. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-571126-5.50006-6>
- Vitzthum, V. J., Spielvogel, H., Caceres, E., & Miller, A. (2001). Vaginal bleeding patterns among rural highland Bolivian women: relationship to fecundity and fetal loss. *Contraception*, 64(5), 319–325. [https://doi.org/10.1016/s0010-7824\(01\)00260-8](https://doi.org/10.1016/s0010-7824(01)00260-8)
- Vollman, R. F. (1977). The menstrual cycle. *Major problems in obstetrics and gynecology*, 7, 1–193.
- Wang, W. Y., Barratt, B. J., Clayton, D. G., & Todd, J. A. (2005). Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. *Nature reviews. Genetics*, 6(2), 109–118. <https://doi.org/10.1038/nrg1522>
- Wang, Y., Fortin, J., Lamba, P., Bonomi, M., Persani, L., Roberson, M. S., & Bernard, D. J. (2008). Activator protein-1 and smad proteins synergistically regulate human follicle-stimulating hormone beta-promoter activity. *Endocrinology*, 149(11), 5577–5591. <https://doi.org/10.1210/en.2008-0220>
- Watanabe, K., Taskesen, E., van Bochoven, A., & Posthuma, D. (2017). Functional mapping and annotation of genetic associations with FUMA. *Nature communications*, 8(1), 1826. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01261-5>
- Wei, M., Cheng, Y., Bu, H., Zhao, Y., & Zhao, W. (2016). Length of Menstrual Cycle and Risk of Endometriosis: A Meta-Analysis of 11 Case-Control Studies. *Medicine*, 95(9), e2922. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002922>
- Wei, S., Schmidt, M. D., Dwyer, T., Norman, R. J., & Venn, A. J. (2009). Obesity and menstrual irregularity: associations with SHBG, testosterone, and insulin. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 17(5), 1070–1076. <https://doi.org/10.1038/oby.2008.641>

WHO (1995). Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. World Health Organization technical report series, 854, 1–452.

Williams, C. J., & Erickson, G. F. (2012). Morphology and Physiology of the Ovary. In K. R. Feingold (Eds.) et. al., Endotext. MDText.com, Inc.

Winkler, T. W., Day, F. R., Croteau-Chonka, D. C., ... Genetic Investigation of Anthropometric Traits (GIANT) Consortium (2014). Quality control and conduct of genome-wide association meta-analyses. *Nature protocols*, 9(5), 1192–1212. <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.071>

## **KASUTATUD VEEBIAADRESSID**

GWAS kataloog: <https://www.ebi.ac.uk/gwas/> (kasutatud 08.08.2021)

PhenoScanner andmebaas: <http://www.phenoscanter.medschl.cam.ac.uk/> (kasutatud 08.08.2021)

FinnGen andmebaas: <https://r5.finngen.fi/> (kasutatud 08.08.2021)

FinnGen koduleht: <https://www.finngen.fi/en> (kasutatud 08.08.2021)

## **LIHTLITSENTS**

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Anet Tammemäe (01.02.1993),

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose „Menstruaaltsükli pikkuse geneetika ning selle seos naiste tervisega“, mille juhendajateks on Triin Laisk ja Maarja Lepamets, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 3.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

*Anet Tammemäe*

**08.08.2021**