

„Inaktywacja chromosomu X w zaburzeniach metabolizmu i u osób zdrowych”
mgr Patrycja Juchniewicz

Inaktywacja chromosomu X (XCI, ang. *X-chromosome inactivation*) jest procesem epigenetycznym polegającym na transkrypcyjnym wyciszeniu jednego z dwóch chromosomów X u kobiet podczas wczesnej embriogenezy. Dzięki temu zjawisku możliwa jest zrównoważona ekspresja genów zlokalizowanych w chromosomie X u kobiet (XX) i u mężczyzn (XY). XCI jest z założenia zjawiskiem losowym, co oznacza, iż stosunek liczby komórek z nieaktywnym chromosomem X dziedziczonym od matki do liczby komórek z nieaktywnym chromosomem X dziedziczonym od ojca powinien wynosić około 50:50. Jednakże zdarzają się przypadki znacznych odchyłeń od tej proporcji. Dotychczasowe badania wykazały, że nielosowa XCI jest dość powszechnym zjawiskiem, a częstość jej występowania zwiększa się wraz z wiekiem kobiet. Wzór inaktywacji zależy od rodzaju badanej tkanki, może przybierać różny poziom w różnych tkankach czy narządach sięgając u tej samej osoby od 50:50 do 80:20. Nie ma przesłanek by sądzić, że u zdrowych kobiet stopień losowości inaktywacji chromosomu X ma jakiegokolwiek znaczenie kliniczne. Natomiast u kobiet będących nosicielkami zmutowanego genu zlokalizowanego na chromosomie X może dojść do ujawnienia się klinicznych objawów choroby, jeżeli w większości komórek nieaktywny będzie allel prawidłowy.

Niniejsza rozprawa doktorska miała na celu porównanie wzoru inaktywacji chromosomu X w ogólnej populacji kobiet w różnych tkankach, określenie wpływu zapłodnienia *in vitro* na zjawisko XCI oraz lepsze zrozumienie procesu inaktywacji chromosomu X u ludzi. W ramach niniejszych badań został porównany wzór XCI w próbkach łatwo dostępnego materiału biologicznego (ślina, wymaz z policzka i krew) kobiet w różnych grupach wiekowych. W celu wyjaśnienia wpływu zapłodnienia *in vitro* na proces inaktywacji chromosomu X u ludzi, porównano wzór XCI w ślinie, wymazie z policzka i krwi dziewczynek poczętych *in vitro* i naturalnie. Aby lepiej zrozumieć mechanizm procesu inaktywacji chromosomu X w rozwoju embrionalnym określono również wzór XCI w tkance łożyska oraz krwi pępowinowej oraz zbadano profil ekspresji wybranych genów w próbkach o różnym wzorze XCI.

Kolejnym celem niniejszej pracy była analiza wzoru inaktywacji chromosomu X u heterozygotycznych kobiet z rodzinną historią choroby Fabry’ego oraz ocena wpływu nielosowej inaktywacji chromosomu X na pojawienie się objawów choroby Fabry’ego u kobiet.

Wyniki uzyskane w ramach rozprawy doktorskiej potwierdziły, że nielosowa inaktywacja chromosomu X jest dość powszechnym zjawiskiem wśród kobiet, oraz nasila się wraz z wiekiem. Zaobserwowano, że nielosowa inaktywacja chromosomu X wzrastała wraz z wiekiem kobiet w komórkach pozyskanych ze śliny, ale nie w innych analizowanych tkankach. Stwierdzono, że wzór XCI różnił się między badanymi tkankami, natomiast wzór inaktywacji chromosomu X ustalony w DNA izolowanym z próbek śliny, był bardziej zbliżony do wzoru XCI ustalonego dla krwi niż wzoru ustalonego dla wymazu policzkowego. Przedstawione badania nie wykazały istotnych różnic we wzorze inaktywacji chromosomu X w tkankach dziewczynek poczętych pozaustrojowo i naturalnie, co wskazuje, że jest mało prawdopodobne, aby techniki wspomaganego rozrodu zakłócały proces inaktywacji chromosomu X. Wyniki prezentowanych badań wykazały, że wzór XCI różnił się pomiędzy próbkami pobranymi z tego samego łożyska, co potwierdziło, że inaktywacja chromosomu X w tkankach pozazarodkowych u ludzi jest zjawiskiem losowym a nie wynikiem imprintingu, jak to ma miejsce np. u myszy. Ponadto w tkankach łożyska zaobserwowano odmienny profil ekspresji kilku z wyselekcjonowanych genów, w szczególności w próbkach tkanek łożyska z nielosową XCI >80:20 wykazano podwyższony poziom ekspresji genów: *CD44*, *KDM6A*, *PHLDA2* i *ZRSR2*.

Analiza wzoru inaktywacji chromosomu X u kobiet nosicielek choroby Fabry'ego wykazała, że nielosowa inaktywacja chromosomu X nie jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za manifestację choroby u heterozygotycznych kobiet. Zaobserwowano, że kobiety nosicielki choroby Fabry'ego prezentowały zróżnicowaną intensywność ciężkości objawów – od łagodnej do ciężkiej postaci choroby, natomiast ich kliniczna manifestacja nie korelowała z profilem inaktywacji chromosomu X. Wśród heterozygotycznych kobiet z losowym wzorem XCI objawy choroby Fabry'ego mogą ujawniać się w różnym nasileniu.