

АСИММЕТРИЧНАЯ ИНАКТИВАЦИЯ X-ХРОМОСОМЫ У ВНУТРИУТРОБНО ПОГИБШИХ ЭМБРИОНОВ ЧЕЛОВЕКА

© *Е. Н. Толмачева*,^{1, 3, *} *С. А. Васильев*,^{1, 2} *Е. А. Саженова*,¹ *Д. И. Жигалина*,²
Э. И. Григорович,² *Т. В. Никитина*,¹ *А. А. Мельников*,¹ *Е. С. Жабина*,³
Т. В. Иванова,³ *И. Д. Евтушенко*,³ *И. Н. Лебедев*^{1–3}

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томск, 634050,

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, 634050,

³ Сибирский государственный медицинский университет

Министерства здравоохранения РФ, Томск, 634050;

* электронный адрес: kate.tolmacheva@medgenetics.ru

Соотношение полов в первом триместре беременности сдвинуто в сторону мужского за счет повышенной элиминации эмбрионов женского пола. Одной из причин этого явления может быть нарушение процесса инактивации X-хромосомы. В настоящей работе проведен анализ характера инактивации X-хромосомы во внезародышевых тканях спонтанных и индуцированных абортусов с кариотипом 46, XX. В цитотрофобласте хориона у спонтанных и у индуцированных абортусов обнаружена как равновероятная, так и асимметричная инактивация. Во внезародышевой мезодерме контрольной группы эмбрионов выявлена только равновероятная инактивация, тогда как у 15 % спонтанных абортусов (СА) наблюдалось смещение этого показателя. Наибольшая частота избирательной инактивации одного из родительских гомологов наблюдалась в группе с отсутствием развитого эмбриона и среди эмбрионов от женщин с привычным невынашиванием беременности. Одной из причин наблюдаемых результатов может быть компартиментализация клеток в малоклеточной бластоцисте, приводящая к неслучайному перераспределению и преобладанию во внутренней клеточной массе клеток с активной X-хромосомой, несущей абберрации, несовместимые с нормальным эмбриональным развитием.

Ключевые слова: спонтанные абортусы, анэмбриония, инактивация X-хромосомы, привычное невынашивание беременности.

Принятые сокращения: ВМ — внезародышевая мезодерма, МА — медицинский (индуцированный) абортус, СА — спонтанный абортус, ЦХ — цитотрофобласт хориона, ХСИ — инактивация X-хромосомы.

Инактивация X-хромосомы (ХСИ) — эпигенетический процесс, при котором репрессируется одна из двух копий X-хромосомы в женском организме, — необходима для компенсации дозы X-сцепленных генов. Она происходит в раннем эмбриогенезе на стадии имплантации бластоцисты, и, однажды установившись, неактивное состояние X-хромосомы наследуется во всех последующих клеточных поколениях. Инактивации подвергаются 85 % всех X-сцепленных генов. Для клеток человека характерен равновероятный характер ХСИ, когда каждый из родительских гомологов инактивируется в равной степени. Смещение в сторону инактивации одного из родительских гомологов чаще всего связано с патологиями, возникающими вследствие мутаций в X-сцепленных генах или микроструктурных аббераций на X-хромосоме, кроме того, зафиксированы случаи мутаций в центре инактивации (Plenge et al., 1997; Orstavik, 2006).

Вопрос о соотношении полов в процессе эмбриогенеза человека остается актуальным в настоящее время. Так, в одной из работ на эту тему с использованием обширных данных преимплантационной и пренатальной генетиче-

ской диагностики, а также исследований кариотипа СА показано, что при зачатии соотношение полов составляет 0.5. После зачатия в 1-ю нед соотношение уменьшается из-за повышенной смертности эмбрионов мужского пола, а затем увеличивается к 10—15-й нед беременности вследствие повышенной элиминации эмбрионов женского пола (Orzack et al., 2015). Соотношение полов у СА первого триместра беременности с нормальным кариотипом составляет от 0.77 до 0.31 в зависимости от тяжести нарушений развития (Евдокимова и др., 2000). После 20-й нед развития значение этого показателя медленно уменьшается из-за преобладания потерь плодов мужского пола, но в общем смертность эмбрионов женского пола во время беременности превышает общую смертность эмбрионов мужского пола (Orzack et al., 2015). Одной из причин повышения доли погибших эмбрионов женского пола может быть нарушение нормального процесса инактивации X-хромосомы.

Ген рецептора андрогена *AR* локализован в регионе Xq11-12. В первом экзоне этого гена находится САG-повтор, кодирующий полиглутаминовый участок. Метили-

рование сайтов *HpaII* и *HpaI*, расположенных вблизи САG-тракта гена, строго коррелирует с неактивным состоянием X-хромосомы, а высокий полиморфизм этого участка позволяет достаточно эффективно различать X-хромосомы разного родительского происхождения (Allen et al., 1992). В связи с этим ген *AR* является удобной модельной системой для оценки характера X-инактивации при использовании метил-чувствительной количественной ПЦР (Allen et al., 1992).

В настоящем исследовании мы оценили связь эпигенетического состояния X-хромосом с селективной гибелью эмбрионов первого триместра беременности у человека в двух плацентарных тканях — цитотрофобласте хориона (ЦХ) и внезародышевой мезодерме (ВМ), происходящих из разных зародышевых листков.

Материал и методика

Проведение настоящего исследования было одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики.

Обследованы некультивированные плацентарные ткани ЦХ и ВМ у 73 СА на сроке 4—14 нед развития (в среднем 10.2 ± 1.7 нед) с кариотипом 46, XX. Среди них 62 СА получены от женщин со спорадическими случаями и 11 — с привычным невынашиванием беременности. Критерием привычного невынашивания было наличие у женщины двух спонтанных аборт и более.

Наиболее представленными в исследовании были две клинические группы СА, дифференцированных по степени тяжести нарушения эмбрионального развития — неразвивающиеся беременности и анэмбрионии. Для неразвивающейся беременности характерны наличие в полости плодного мешка сформированного эмбриона, не сопровождающееся его сердцебиением и двигательной активностью, а также несоответствие наблюдаемых размеров эмбриона ожидаемым на соответствующих сроках беременности. Анэмбрионии характеризуются остановкой развития на этапе дифференцировки внутренней клеточной массы и представлены пустыми плодными мешками, сформированными исключительно внезародышевыми оболочками. Кроме того, анализировали плацентарные ткани трех эмбрионов с диагнозом собственно спонтанный аборт и двух эмбрионов с пороками развития.

В качестве контрольной группы использовали внезародышевые ткани 50 медицинских (индуцированных) абортусов (МА) с кариотипом 46, XX. Эмбрионы были получены от здоровых женщин, не пожелавших сохранить нормально протекавшую беременность на сроках 8.0—12.5 нед (в среднем 9.8 ± 1.2 нед).

Кариотип эмбрионов определяли с помощью стандартного метафазного анализа с использованием культур клеток ВМ. В некоторых случаях кариотип уточняли с использованием метода сравнительной геномной гибридизации (Островерхова и др., 2002).

Ворсинчатый хорион состоит из нескольких типов клеток, включая клетки цитотрофобласта, мезенхимы и сосудистого эпителия. Для обогащения исследуемых образцов клетками ЦХ мы проводили мацерацию ворсин хориона, полученных после механического разделения внезародышевых тканей, 70%-ной уксусной кислотой в течение 3—5 мин, а затем полученную клеточную суспензию отмывали 3 раза раствором PBS.

ДНК выделяли из ЦХ и ВМ с помощью стандартной фенол-хлороформной экстракции. ДНК обрабатывали метил-чувствительной эндонуклеазой рестрикции *HpaII*. Амплификацию участка гена *AR* проводили с помощью ПЦР с использованием последовательности FAM-меченных олигонуклеотидных праймеров (Mutter, Boynton, 1995). Состав реакционной смеси: 2.5 мМ смесь dNTP, буфер для HotStartTaq ДНК-полимеразы (67 мМ Tris-HCl (pH 8.8), 16.6 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.01% Tween-20), 1 мМ MgCl_2 , 5 пкМ каждого праймера и 1 е. а. HotStartTaq ДНК-полимеразы (Сибэнзим, Россия). Последовательности праймеров: 5'-FAM-TCCAGAATCTGTTCAGAGC-3' и 5'-GCTGTGAAGGTTGCTGTTCC-3'. Размер анализируемого фрагмента гена *AR* составлял от 255 до 330 п. н., число аллелей локуса — 14. Фрагментный анализ продуктов ПЦР осуществляли в денатурирующем геле на генетическом анализаторе ABI Prism 3130xl (Applied Biosystems, США) в присутствии стандарта длины молекул ДНК GeneScan500-ROX (Applied Biosystems, США). Идентификацию аллелей проводили с помощью программного обеспечения GeneMapper Software (Applied Biosystems, США).

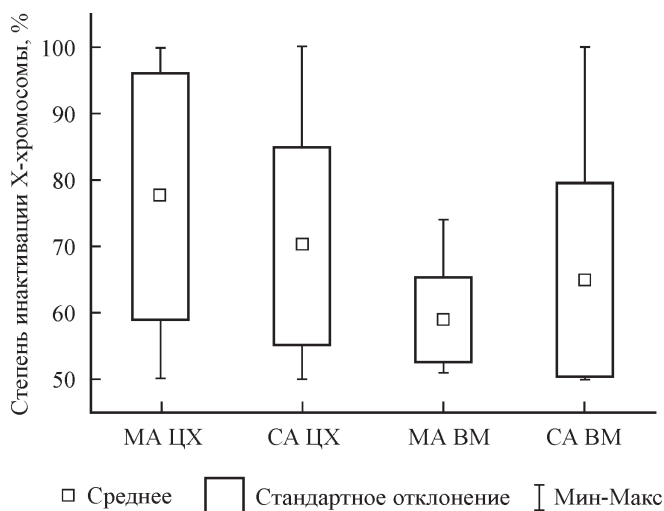
В исследование брали внезародышевые ткани только от эмбрионов, гетерозиготных по анализируемому региону гена *AR*. Степень инактивации X-хромосомы рассчитывали согласно формуле $(\text{Bd1}/\text{Bu1})/(\text{Bd1}/\text{Bu1} + \text{Bd2}/\text{Bu2})$, где Bd1 — интенсивность пика, продуцируемого *HpaII*-рестрицированным аллелем с максимальной интенсивностью сигнала, Bd2 — интенсивность пика, продуцируемого *HpaII*-рестрицированным аллелем с минимальной интенсивностью сигнала, Bu1 и Bu2 — соответствующие интенсивности пиков, продуцируемых нерестрицированными аллелями (Lau et al., 1997). Степень инактивации <75 % соответствовала равновероятному характеру инактивации, а ≥ 75 % принималась как асимметричная инактивация в соответствии с критериями, описанными нами ранее (Толмачева и др., 2011). Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения.

Р е а к т и в ы. Эндонуклеаза рестрикции *HpaII* и HotStartTaq ДНК-полимеразы (Сибэнзим, Россия); набор dNTP и 100 мМ водный раствор каждого праймера (Биосан, Россия); универсальный полимер POP-7(tm) (Polymer for 3730/3730x1 DNA Analyzers); деионизированный формамид для проведения капиллярного электрофореза Hi-Di TM Formamide; 10-кратный буфер с ЭДТА для проведения капиллярного электрофореза (Applied Biosystems, США).

Результаты и обсуждение

Анализ характера ХСІ был осуществлен в ЦХ 60 СА и 50 МА с нормальным кариотипом. В этой ткани выявили как равновероятную, так и асимметричную ХСІ. Степень ХСІ у МА колебалась от 50 до 100 % и в среднем составила 77.5 ± 15.9 % (см. рисунок). Та же картина наблюдалась у СА с нормальным кариотипом со средним значением ХСІ 70 ± 12.3 %. Различия между группами отсутствовали (критерий Манна—Уитни, $P = 0.12$).

Вопрос о том, какой тип ХСІ характерен для плаценты человека, в основном являющейся производной ЦХ, долгое время оставался открытым. ЦХ, стволовая линия всех клеток будущей плаценты, из которой возникают якорный, инвазивный трофобласт и синцитиотрофобласт, происходит из трофэктодермы — наружного слоя бласто-



Степень инактивации X-хромосомы у спонтанных и индуцированных абортусов.

МА ЦХ — цитотрофобласт хориона медицинских абортусов, СА ЦХ — цитотрофобласт хориона спонтанных абортусов, МА ВМ — внезародышевая мезодерма медицинских абортусов, СА ВМ — внезародышевая мезодерма спонтанных абортусов.

цисты. Ранее предполагали, что для плацентарных тканей человека характерна импринтированная инактивация с блокированием отцовского гомолога X-хромосомы (Vasques et al., 2002). Но в последние годы было показано, что в плаценте человека X-сцепленные гены экспрессируются с обеих родительских хромосом (Moreira de Mello et al., 2010). Тем не менее часто при анализе характера инактивации плацентарных тканей, как и в нашем исследовании, находят как равновероятную, так и избирательную инактивацию родительских гомологов X-хромосомы (Uehara et al., 2000; Zeng, Yankowitz, 2003). Исследования степени ХСИ в разных тканях 14 участков одной и той же плаценты человека показали значительную гетерогенность этого показателя (Peñaherrera et al., 2012). Скорее всего, эти противоречивые результаты можно объяснить особенностями развития плаценты, в которой определенные части являются клонами отдельных клеток-предшественниц с инактивированной отцовской или материнской X-хромосомой, что приводит к асимметричному характеру ХСИ в разных участках этого органа (Moreira de Mello et al., 2010). Данное предположение подтверждается также различным характером экспрессии X-сцепленных генов в разных частях одной и той же плаценты — равновероятным, преимущественно с одного гомолога и полностью моноаллельным (Moreira de Mello et al., 2010). Такая гетерогенность ХСИ в ЦХ делает затруднительным анализ эпигенетических модификаций у внутриутробно погибших эмбрионов в этой ткани.

ВМ является производной эпибласта, формирующаяся из внутренней клеточной массы и дающего впоследствии начало всем эмбриональным тканям. Уровень ХСИ проанализировали в 73 образцах ВМ СА и 50 образцах ВМ МА с нормальным кариотипом. В ВМ МА выявили только равновероятную ХСИ. Степень ХСИ одного из гомологов колебалась от 50 до 72 % и в среднем составила 58.9 ± 5.1 % (см. рисунок). При этом только два эмбриона имели смещение выше 70 % (72 и 73 %). У СА степень ХСИ в среднем составила 62.4 ± 13.84 %, различия между этими группами отсутствовали (критерий Манна—Уитни, $P = 0.12$) (см. рисунок), но у 11 из 73 образцов СА

(15 %) выявили асимметричный характер инактивации. В 5 случаях уровень смещения ХСИ одной из хромосом был от 75 до 90 %, а у 6 образцов ВМ наблюдалась избирательная ХСИ одного из гомологов (90—100 %).

При анализе характера ХСИ в ВМ различий между сроком развития погибших эмбрионов с равновероятной (средний срок 11.0 ± 1.8 нед) и асимметричной инактивацией (средний срок 9.8 ± 1.7 нед) не выявили (критерий Манна—Уитни, $P = 0.14$). Однако частота асимметричной ХСИ в ВМ в группе эмбрионов от женщин с привычным невынашиванием беременности (54 %) оказалась значительно выше, чем соответствующий показатель в группе эмбрионов от женщин со спорадическим невынашиванием (8 %) (точный критерий Фишера, $P = 0.021$).

Мы сравнили частоты асимметричной ХСИ в ВМ в двух клинических группах СА — «неразвивающиеся беременности» и «анэмбрионии» (см. таблицу) и обнаружили значительные различия между этими группами. Частота смещения ХСИ в группе неразвивающихся беременностей составила 8 %, тогда как этот показатель у анэмбрионий достиг 31 % (точный критерий Фишера, $P = 0.018$).

Асимметричная ХСИ либо может быть результатом первичной неслучайной инактивации, либо появляться вторично, вследствие каких-либо причин, нарушающих поддержание нормально установленной равновероятной инактивации родительских гомологов X-хромосом. Например, в случае семейной избирательной ХСИ были обнаружены мутации в промоторе гена *XIST*, ключевого для процесса инактивации (Plenge et al., 1997). Однако такие мутации очень редки, поэтому отклонения от случайной ХСИ чаще объясняются вторичной асимметрией, которая возникает в результате селекции клеточных клонов, несущих какие-либо мутации на активной X-хромосоме, от внутригенных до микроструктурных aberrаций, влияющих на жизнеспособность клетки (Толмачева и др., 2009). Повышение частоты асимметричной ХСИ фиксируют у женщин с привычным невынашиванием беременности (Kuo et al., 2008). Вероятно, смещение ХСИ в этих случаях является следствием именно таких мутаций. При этом асимметричная ХСИ скрывает мутантный фенотип. Но для внутриутробно погибших эмбрионов такое объяснение неуместно, так как здесь речь может идти о преимуществе клона клеток с «мутантной» X-хромосомой.

Процесс инактивации X-хромосомы происходит сразу после имплантации, когда бластоциста имеет еще небольшие размеры. Большинство соматических тканей в этих случаях являются производными 15—20 клеток-предшественников, из которых и состоит эпибласт, а в малоклеточных бластоцистах клеток-предшественников соответственно еще меньше. В этих случаях причиной смещения ХСИ у СА может быть компартиментализация

Характер инактивации X-хромосомы в ВМ разных клинических групп

Группа	Общее число случаев	Случаи с асимметричной ХСИ
Спонтанные абортусы	3	1
Неразвивающиеся беременности	50	4
Анэмбрионии	16	5
Пороки развития плода	2	1
Всего	73	11

клеток с активной X-хромосомой, несущей мутантный ген или микроструктурные aberrации, а также вариации по числу копий крупных блоков повторов ДНК (Copy Number Variation, CNV) в эпибласте. Компартментализация клеток с инактивированной X-хромосомой одного из родителей — на самом деле не исключительное событие. В нормальной популяции избирательная инактивация встречается у 1.5—7.0% здоровых женщин (Sullivan et al., 2003; Kuo et al., 2008). X-сцепленные мутации могут влиять на жизнеспособность и пролиферативную активность клетки, замедляя рост бластоцисты, либо затрагивать регионы X-хромосомы, несущие гены, ответственные за дифференцировку и морфогенез. Доказательством этого предположения может служить тот факт, что наибольшая частота асимметричной ХСИ наблюдалась в группе анэмбрионий. Анэмбрионии — наиболее тяжелая форма патологии эмбрионального развития, связанная с нарушениями самых ранних этапов дифференцировки внутренней клеточной массы. Эта группа характеризуется наибольшей частотой хромосомных аномалий среди других групп внутриутробно погибших эмбрионов, в том числе высокой частотой микроделетий и микродупликаций хромосомных регионов. Так, в проведенных нами ранее исследованиях в 9 из 10 случаев анэмбрионий были выявлены микроструктурные aberrации хромосом в ЦХ (Лебедев и др., 2013). Кроме того, соотношение полов у анэмбрионий имеет наименьшее значение в клинических группах СА и составляет 0.31 (Евдокимова и др., 2000). Таким образом, именно в случаях анэмбрионий наиболее вероятно выявить генетические нарушения в X-хромосоме, которые могут повлиять на формирование асимметричной ХСИ.

Показательно то, что асимметричная ХСИ характерна для эмбрионов, полученных от женщин с привычным невынашиванием беременности. В случаях, когда смещение инактивации происходит в сторону активной «мутантной» X-хромосомы, эмбрионы женского пола будут иметь риск гибели приблизительно такой же, как и эмбрионы мужского пола, что обычно нехарактерно для X-сцепленных мутаций при равновероятной ХСИ. Таким образом, женщина, у которой aberrация на X-хромосоме могут быть замаскированы равновероятной инактивацией, может иметь СА обоего пола. Но для того чтобы предметно рассуждать по этому поводу, необходимо провести молекулярно-генетические исследования для выявления микроструктурных aberrаций или секвенирование X-хромосом у эмбрионов со смещенной инактивацией.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ (соглашение № 14.120.14.5096-НШ) и программы «Научный фонд им. Д. И. Менделеева Томского государственного университета» в 2015 г.

Список литературы

- Евдокимова В. Н., Никитина Т. В., Лебедев И. Н., Суханова Н. Н., Назаренко С. А. 2000. К вопросу о соотношении полов при ранней эмбриональной летальности у человека. Онтогенез. 31 (4) : 251—257. (Evdokimov V. N., Nikitin T. V., Lebedev I. N., Sukhanova N. N., Nazarenko S. A. 2000. On the question of the sex ratio in the early embryonic lethality in humans. Developmental Biology. 31 (4) : 251—257.)
- Лебедев И. Н., Кашеварова А. А., Скрябин Н. А., Никитина Т. В., Лопаткина М. Е., Мельников А. А., Саженова Е. А., Иванова Т. В., Евтушенко И. Д. 2013. Матричная сравнитель-

ная геномная гибридизация (array-CGH) в диагностике хромосомного дисбаланса. Журн. акушерства и женских болезней. 62 (2) : 117—125. (Lebedev I. N., Kashevarova A. A., Scriabin N. A., Nikitina T. V., Lopatkina M. E., Melnikov A. A., Sazhenova E. A., Ivanova T. V., Yevtushenko I. D. 2013. The matrix comparative genomic hybridization (array-CGH) in the diagnosis of chromosomal imbalance. J. of obstetrics and gynecological diseases. 62 (2) : 117—125.)

Островерхова Н. В., Назаренко С. А., Лебедев И. Н., Черемных А. Д., Никитина Т. В., Суханова Н. Н. 2002. Детекция анеуплоидии у спонтанных абортусов методом сравнительной геномной гибридизации. Генетика. 38 (2) : 1435—1442. (Ostroverkhova N. V., Nazarenko S. A., Lebedev I. N., Cheremnyh A. D., Nikitina T. V., Sukhanova N. N. 2002. Detection of aneuploidy in spontaneous abortions by comparative genomic hybridization. Genetics. 38 (2) : 1435—1442.)

Толмачева Е. Н., Кашеварова А. А., Лебедев И. Н. 2009. Инактивация X-хромосомы и патологии человека. Мед. генет. 8 (9) : 9—15. (Tolmacheva E. N., Kashevarova A. A., Lebedev I. N. 2009. The inactivation of the X chromosome and human pathology. Medical Genetics. 8 (9) : 9—15.)

Толмачева Е. Н., Кашеварова А. А., Суханова Н. Н., Харьков В. Н., Лебедев И. Н. 2011. Асимметричная инактивация X-хромосомы у эмбрионов человека с мозаичной трисомией хромосомы 16. Генетика. 43 (3) : 401—405. (Tolmacheva E. N., Kashevarova A. A., Sukhanova N. N., Kharkov V. N., Lebedev I. N. 2011. Asymmetric inactivation of the X chromosome in human embryos with mosaic trisomy of chromosome 16. Genetics. 43 (3) : 401—405.)

Allen R. C., Zoghbi H. Y., Moseley A. B., Rosenblatt H. M., Belmont J. W. 1992. Methylation of HpaII and HhaI sites near the polymorphic CAG repeat in the human androgen-receptor gene correlates with X chromosome inactivation. Amer. J. Hum. Genet. 51 (6) : 1229—1239.

Kuo P. L., Huang S. C., Chang L. W., Lin C. H., Tsai W. H., Teng Y. N. 2008. Association of extremely skewed X-chromosome inactivation with Taiwanese women presenting with recurrent pregnancy loss. J. Formosan Med. Assoc. 107 : 340—343.

Lau A. W., Brown C. J., Penaherrera M. S., Langlois S., Kalousek D. K., Robinson W. P. 1997. Skewed X-chromosome inactivation is common in fetuses or newborns associated with confined placental mosaicism. Amer. J. Hum. Genet. 61 : 1353—1361.

Moreira de Mello J. C., de Araújo E. S., Stabellini R., Fraga A. M., de Souza J. E., Sumita D. R., Camargo A. A., Pereira L. V. 2010. Random X inactivation and extensive mosaicism in human placenta revealed by analysis of allele-specific gene expression along the X chromosome. PLoS ONE. 5 : e10947.

Mutter G. L., Boynton K. A. 1995. PCR bias in amplification of androgen receptor alleles, a trinucleotide repeat marker used in clonality studies. Nucl. Acids Res. 23 : 1411—1418.

Orstavik K. H. 2006. Skewed X inactivation in healthy individuals and in different disease. Acta Paediatrica Suppl. 95 : 24—29.

Orzack S. H., Stubblefield J. W., Akmaev V. R., Colls P., Munne S., Scholl T., Steinsaltz D., Zuckerman J. E. 2015. The human sex ratio from conception to birth. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. pii : 201416546.

Peñaherrera M. S., Jiang R., Avila L., Yuen R. K., Brown C. J., Robinson W. P. 2012. Patterns of placental development evaluated by X chromosome inactivation profiling provide a basis to evaluate the origin of epigenetic variation. Hum. Reprod. 27 : 1745—1753.

Plenge R. M., Hendrich B. D., Schwartz C., Arena J. F., Nauwatsch A., Sapienza C., Winter R. M., Willard H. F. 1997. A promoter mutation in the XIST gene in two unrelated families with skewed X-chromosome inactivation. Nat. Genet. 17 : 353—356.

Sullivan A. E., Lewis T., Stephenson M., Odem R., Schreiber J., Ober C., Branch D. W. 2003. Pregnancy outcome in recurrent miscarriage patients with skewed X chromosome inactivation. Obstet. Gynecol. 101 : 1236—1242.

Uehara S., Tamura M., Nata M., Ji G., Yaegashi N., Okamura K., Yajima A. 2000. X-chromosome inactivation in the human trophoblast of early pregnancy. J. Hum. Genet. 45 : 119—126.

Vasques L. R., Klocker M. N., Pereira L. V. 2002. X chromosome inactivation: how human are mice? *Cytogenet. Genome Res.* 99 : 30—35.

Zeng S. M., Yankowitz J. 2003. X-inactivation patterns in human embryonic and extra-embryonic tissues. *Placenta.* 24 : 270—275.

Поступила 19 VIII 2015

SKEWED X-CHROMOSOME INACTIVATION IN HUMAN MISCARRIAGES

E. N. Tolmacheva,^{1,3,*} *S. A. Vasilyev*,^{1,2} *E. A. Sazhenova*,¹ *D. I. Zhigalina*,²
E. I. Grigorovich,² *T. V. Nikitina*,¹ *A. A. Melnikov*,¹ *E. S. Zhabina*,³ *T. V. Ivanova*,³
I. D. Evtushenko,³ *I. N. Lebedev*^{1—3}

¹ Institute of Medical Genetics, Tomsk, 634050,

² National Research Tomsk State University, 634050,
and ³ Siberian State Medical University, Tomsk, 634050;

* e-mail: kate.tolmacheva@medgenetics.ru

Sex ratio in first trimester of pregnancy is skewed due to preferential elimination of female embryos. It could be resulted from aberrant X-chromosome inactivation. X-chromosome inactivation was analyzed in extra-embryonic tissues of miscarriages and induced abortions with 46, XX karyotype. In chorion cytotrophoblast of both miscarriages and induced abortions observed either random or skewed X-chromosome inactivation. In extra-embryonic mesoderm of the control group, random inactivation was observed, whereas 15 % of miscarriages had skewed X-chromosome inactivation. The highest frequency of skewed inactivation of one of the parental homologues was observed in the groups of blighted ovum pregnancy and embryos from women with recurrent pregnancy loss. It was suggested that in these cases compartmentalization of cells in the blastocyst probably leads to predominance of cell with mutant active X-chromosome among the cells of inner cell mass carrying the aberrations that are incompatible with normal embryonic development.

Key words: miscarriage, blighted ovum pregnancy, X-chromosome inactivation, recurrent pregnancy loss.