

Abstrakt

U žen nalézáme dvojnásobný počet X-vázaných genů oproti mužům, neboť mají dva chromozomy X, zatímco muži jsou pro X-vázané geny hemizygoti. Tato nerovnováha je kompenzována v průběhu časně embryogeneze procesem X-inaktivace (XCI), tzv. primární X-inaktivace. Inaktivace chromozomu X je náhodný proces, přičemž ženy jsou mozaiky dvou buněčných populací. Poměr exprimovaných alel u žen může být náhodný (cca 50:50) nebo nevyvážený ($\geq 80:20$). K nevyvážené XCI může dojít v důsledku selekce, kdy je preferenčně inaktivována jedna z alel. V tomto případě mluvíme o sekundární XCI.

V této diplomové práci jsme prováděli stanovení inaktivace chromozomu X u heterozygotních žen s různou závažností fenotypových příznaků u vybraných X-vázaných dědičných metabolických onemocnění. Naším hlavním zájmem byla Fabryho choroba (deficit enzymu α -galaktosidázy A kódovaného genem *GLA*). Dále jsme studovali XCI u jedné rodiny s X-vázanou agamaglobulinémií.

Zabývali jsme se studiem mutantních alel a stavu XCI na základě analýzy různých lokusů, různých metodických přístupů a různých tkání. Poprvé jsme využili přímou analýzu transkriptu genu *GLA* k detekci poměru alel. K alelově specifické expresi (ASE) jsme dále využili jednonukleotidových polymorfismů v genech *IDS* a *LAMP2*. K methyl-senzitivní restriční analýze (MSRA) jsme využili lokusy *AR*, *RP2* a *CNKSR2*. Pro ASE jsme použili RNA izolovanou z krve a pro MSRA jsme využili DNA izolovanou z krve a bukálních stěrů. Testovali jsme zaměnitelnost a spolehlivost jednotlivých sond vzhledem k přímé analýze genu *GLA*, sledovali jsme tkáňovou specifitu v krvi a bukálních stěrech.

Mezi stanovovanými sondami jsme zjistili vysoký stupeň korelace. Tkáňová specifita odhalila u 25 % pacientek nevyvážené poměry XCI v krvi, zatímco mezi vzorky bukálních stěrů byl nevyvážený poměr XCI detekován pouze u jedné pacientky. Enzymová aktivita α -galaktosidázy A odpovídala hodnotám relativní exprese genu *GLA*.

Výsledky analýz ASE a MSRA byly porovnány s tíží klinických projevů pacientek s Fabryho chorobou a X-vázanou agamaglobulinémií. Výsledky ukazují, že stav XCI stanovený v krvi a bukálních stěrech neodpovídá fenotypovému postižení pacientek. U Fabryho choroby je zřejmě podstatnějším faktorem typ mutace a věk pacientky, u X-vázané agamaglobulinémie je výsledek stavu XCI v krvi ovlivněn sekundární X-inaktivací.