

<https://doi.org/10.15407/dopovidi2021.01.100>

УДК 577.218

О.К. Лихенко, М.Ю. Оболенська

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ

E-mail: Lykhenko.olexandr@gmail.com

Важливість параметра “стать” для широкомасштабного аналізу генної експресії

Представлено членом-кореспондентом НАН України А.В. Риндич

Мета дослідження — визначення статі плоду за даними генної експресії зчеплених з Y-хромосомою генів і з'ясування особливостей експресії генів статевих хромосом упродовж вагітності дівчинкою і хлопчиком. Визначено 27 диференційно експресованих генів статевих хромосом, за якими відрізняються зразки з ХУ і ХХ генотипами. Показано, що в більшості випадків експресія генів з Х-хромосом за перебігу вагітності дівчинкою вища, ніж у разі вагітності хлопчиком, але існують винятки з цієї закономірності, які потрібно враховувати під час широкомасштабних досліджень генної експресії. Характер різниці між експресією генів зберігається впродовж усього періоду вагітності як дівчинкою, так і хлопчиком (у кого більш або менш інтенсивна), а величина різниці може залишатися незмінною або спадати від першого до третього триместру. Урахування статевого диморфізму під час аналізу широкомасштабних даних генної експресії між триместрами вагітності забезпечує збільшення кількості диференційно експресованих генів, що поліпшує інформативність дослідження і важливе для з'ясування патогенезу ускладнень вагітності, пов'язаних з дисфункцією плаценти.

Ключові слова: *плацента людини, транскриптом, інтегративний аналіз, стать.*

Зріст, розвиток і стан здоров'я плоду в пренатальний період і після народження залежать від його статі [1]. Плоди дівчаток трохи менші на початку вагітності і залишаються меншими впродовж вагітності [2]. Плоди хлопчиків дещо більші за розмірами впродовж вагітності і немовлята після народження більші за масою. Але під час вагітності хлопчиком частіше, ніж під час вагітності дівчинкою, відбуваються спонтанні викидні: у 2,5 раза на початку і в 1,25 раза всередині вагітності [3]. Фенотипові прояви статевого диморфізму зумовлюються експресією генів у трофектодермі, з якої в подальшому утворюється плацента, і в самій бластоцисті, які мають однаковий генотип. Плацентарний диморфізм виявляється в експресії генів статевих хромосом і аутосом. Але ця різниця зазвичай не береться до уваги під час широкомасштабного аналізу експресії генів, хоча врахування диморфізму в

Цитування: Лихенко О.К., Оболенська М.Ю. Важливість параметра “стать” для широкомасштабного аналізу генної експресії. *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2021. № 1. С. 100–109. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2021.01.100>

експресії генів надзвичайно важливе особливо для визначення молекулярних механізмів патогенезу тих ускладнень вагітності, в яких дисфункція плаценти відіграє провідну роль, наприклад, при прееклампсії.

Мета дослідження полягала у визначенні статі плоду за даними генної експресії зчеплених з Y-хромосомою генів і з'ясуванні особливостей експресії генів статевих хромосом впродовж вагітності дівчинкою і хлопчиком. Своєрідність методу полягає у застосуванні інтегративного підходу до даних з генної експресії в плаценті людини, наявних у відкритих базах, з метою збільшення об'єму вибірки і статистичної значущості результатів аналізу.

Методи. З бази даних GEO ми завантажили дані із семи досліджень генної експресії в плаценті людини з трьох триместрів нормальної вагітності (GSE122214, GSE22490, GSE35574, GSE37901, GSE73374, GSE73685 і GSE9984), доповнили їх метаданими з власноствореної бази [4] і провели нормалізацію їх експресії. За експресією генів, зчеплених з Y-хромосомою (*AMELY*, *DDX3Y*, *EIF1AY*, *KDM5D*, *NLGN4Y*, *PCDH11Y*, *RPS4Y1*, *TTY11*, *TTY12*, *TTY14*, *TXLNGY*, *USP9Y*, *UTY* і *ZFY*), ми визначили стать плоду в кожному з датасетів (табл. 1), використовуючи R пакет *massR* [5]. Потім об'єднали дані з експресії генів у єдину матрицю, усунувши при цьому варіативність небіологічного характеру (batch effect) за допомогою функції *ComBat* з пакета R *sva* і включили стать плоду як параметр лінійної моделі. За допомогою узагальнених лінійних моделей з пакета R *limma* визначили диференційно експресовані гени і зробили поправку на множинні порівняння експресії генів ($FDR < 0,05$). Результати інтеграції даних ми перевірили за допомогою аналізу принципних компонент (PCA).

Статистичну достовірність різниці між експресією генів у плаценті на різних строках вагітності хлопчиком і дівчинкою визначали за допомогою one-way ANOVA і post hoc Tukey тесту для множинних порівнянь.

Результати і обговорення. *Різниця в експресії генів статевих хромосом у плаценті з XY і XX генотипом.* Ми визначили генотип у зразках плаценти за даними експресії генів, зчеплених з Y-хромосомою, відповідно розділили зразки на дві групи – з XY і XX генотипом і порівняли експресію генів між двома групами у зразках з кожного триместру вагітності. У результаті було виявлено 27 диференційно експресованих генів статевих хромосом і 11 генів аутосом на різних строках вагітності. У цьому дослідженні ми зосередились на аналізі експресії генів статевих хромосом (табл. 2), 16 з них зчеплені з X-хромосомою і 11 – з Y-хромосомою.

Таблиця 1. Кількість зразків плаценти за статтю плоду та триместрами вагітності в об'єднаних даних із семи датасетів

| Стать | Строк вагітності | | | | Кількість зразків загалом |
|---------------------------|------------------|---|----|----|---------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| Жіноча | 7 | 5 | 11 | 22 | 45 |
| Чоловіча | 6 | 4 | 8 | 20 | 38 |
| Кількість зразків загалом | 13 | 9 | 19 | 42 | 83 |

Примітка. Строки вагітності: 1 – I триместр, 4–11 тижнів; 2 – II триместр, 13–19 тижнів; 3 – III триместр, пологи в межах 28–37 тижнів віднесені до дуже і помірно передчасних; 4 – III триместр, вчасні пологи, 38–42 тижні. Строки вагітності визначені згідно з міжнародною класифікацією.

Таблиця 2. Диференційно експресовані гени в зрілій плаценті (III триместр) за результатами порівняння вагітностей дівчиною і хлопчиком

| Символ | Назва гена | logFc | Adj. P.Val | Розташування на хромосомі |
|-----------------|--|--------|-----------------------|---------------------------|
| <i>ARMCX3</i> * | Armadillo repeat containing X-linked 3 | -0,329 | 0,0213985 | Xq22.1 |
| <i>CD99</i> * | CD99 molecule (Xg blood group) | -0,488 | 0,0002320 | Xp22.32, Yp11.3 |
| <i>CHM</i> | CHM Rab escort protein | 0,2651 | 0,009202852 | Xq21.2 |
| <i>DDX3X</i> | DEAD-box helicase 3 X-linked | 0,4718 | $2,83 \cdot 10^{-10}$ | Xp11.4 |
| <i>DDX3Y</i> | DEAD-box helicase 3 Y-linked | -0,977 | 0,00020541 | Yq11.221 |
| <i>EIF1AX</i> | Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit gamma | 0,4298 | 0,040493561 | Xp22.11 |
| <i>EIF1AY</i> | Eukaryotic translation initiation factor 1A Y-linked | -2,556 | $9,63 \cdot 10^{-27}$ | Yq11.223 |
| <i>HSD17B10</i> | Hydroxysteroid 17-beta dehydrogenase 10 | 0,2524 | 0,018502507 | Xp11.22 |
| <i>KDM5C</i> | Lysine demethylase 5C | 0,2692 | 0,000237297 | Xp11.22 |
| <i>KDM5D</i> | Lysine demethylase 5D | -1,043 | $8,21 \cdot 10^{-26}$ | Yq11.223 |
| <i>KDM6A</i> | Lysine demethylase 6A | 0,5804 | $4,29 \cdot 10^{-14}$ | Xp11.3 |
| <i>NAA10</i> | N(alpha)-acetyltransferase 10, NatA catalytic subunit | 0,2082 | 0,015686337 | Xq28 |
| <i>PCDH11Y</i> | Protocadherin 11 Y-linked | -0,509 | 0,00063005 | Yp11.2 |
| <i>PUDP</i> | Pseudouridine 5'-phosphatase | 0,6457 | $1,67 \cdot 10^{-6}$ | Xp22.31 |
| <i>RPS4Y1</i> | Ribosomal protein S4 Y-linked 1 | -4,597 | $8,76 \cdot 10^{-50}$ | Yp11.2 |
| <i>TTY14</i> | Testis-specific transcript, Y-linked 14 | -0,253 | $7,13 \cdot 10^{-5}$ | Yq11.222 |
| <i>TTY15</i> | Testis-specific transcript, Y-linked 15 | -1,362 | 0,003429898 | Yq11.221 |
| <i>TXLNGY</i> | Taxilin gamma pseudogene, Y-linked | -0,838 | $2,87 \cdot 10^{-16}$ | Yq11.221 |
| <i>UBA1</i> | Ubiquitin like modifier activating enzyme 1 | 0,1663 | 0,018502507 | Xp11.3 |
| <i>USP9Y</i> | Ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked | -0,461 | $5,44 \cdot 10^{-5}$ | Yq11.221 |
| <i>UTY</i> | Ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat containing, Y-linked | -0,722 | $1,13 \cdot 10^{-7}$ | Yq11.221 |
| <i>VAMP7</i> * | Vesicle associated membrane protein 7 | -0,24 | 0,025057666 | Xq28 |
| <i>XIST</i> * | X inactive specific transcript | 1,7699 | $9,75 \cdot 10^{-7}$ | Xq13.2 |
| <i>YIPF6</i> | Yip1 domain family member 6 | 0,3392 | 0,040493561 | Xq12-q13.1 |
| <i>ZFX</i> | Zinc finger protein X-linked | 0,3259 | 0,002187016 | Xp22.11 |
| <i>ZFY</i> | Zinc finger protein Y-linked | -0,538 | $6,10 \cdot 10^{-5}$ | Yp11.2 |

Примітка. logFc – логарифм кратності різниці між значеннями експресії генів за перебігу вагітності дівчиною і хлопчиком. adj.P.Val (adjusted p-Value) – скориговане значення *p* за поправкою на множинні порівняння експресії генів. Позитивне значення logFc означає, що за перебігу вагітності дівчиною експресія гена більша за експресію гена у разі вагітності хлопчиком. Негативне значення logFc означає, що за перебігу вагітності хлопчиком експресія гена більша за експресію гена у разі вагітності дівчиною. Гени, зчленні з X-хромосою і позначені зірочкою, є повністю інактивованими на інактивованій X-хромосомі на відміну від інших зчленних з X-хромосою генів, які уникли інактиваци. Усі диференційно експресовані і зчленні з X-хромосою гени, крім позначених ромбом ♦, експресуються в плаценті з XX генотипом більш інтенсивно, ніж у плаценті з XY генотипом. Усі диференційно експресовані і зчленні з Y-хромосою гени експресуються більш інтенсивно в плаценті з XY генотипом.

12 зчеплених з X-хромосою генів уникають інактивації в інактивованій X-хромосомі (гени-уникачі, англ. *escaper*). Гени-уникачі з’являються до і на стадії імплантації під час випадкової інактивації однієї з X-хромосом у рамках міжстатевої компенсації дози генів, яка завершується до 7-го дня після запліднення. Їх кількість становить від 15 до 25 % генів, зчеплених з X-хромосою. Глибина уникнення інактивації варіює від 5 до >75 % експресії гена з активної хромосоми [6, 7]. Хоча гени-уникачі експресуються з інактивованої хромосоми зазвичай менш інтенсивно, ніж з активної хромосоми, їхня експресія додається до експресії з активної хромосоми і зумовлює більш інтенсивну експресію цих генів у плаценті з XX генотипом, ніж у плаценті з XY генотипом. Як видно з табл. 2, десять генів-уникачів активніше експресуються в плаценті з XX генотипом, ніж у плаценті з XY генотипом. Два гени, які теж уникають інактивації в інактивованій X-хромосомі (*ARMCX3* і *CD99*), експресуються більш інтенсивно за перебігу вагітності хлопчиком, ніж у разі вагітності дівчинкою. Один із них (*CD99*) хоча й уникає інактивації на X-хромосомі, але знаходиться також і на Y-хромосомі, і, найімовірніше, це пояснює його більш активну експресію за перебігу вагітності хлопчиком. Ген *ARMCX3* активніше експресується за перебігу вагітності хлопчиком, ніж у разі вагітності дівчинкою. Наші дані з використанням мікроарей-технології підтвердили дані РНК-секвенування щодо експресії гена *ARMCX3*. Пояснень цього феномену поки що немає [8]. Ген *PUDP* експресується значно інтенсивніше, ніж інші зчеплені з X-хромосою гени, крім гена *XIST*, що пояснюється тим, що обидва алелі транскрибуються з однаковою інтенсивністю [9]. Два гени (*XIST* і *YIPF6*) інактивовані на інактивованій X-хромосомі і, незважаючи на це, активніше експресуються в плаценті з XX генотипом, особливо це стосується гена *XIST* — за рахунок активної X-хромосоми. За експресією зчеплених з Y-хромосою унікальних генів, гомологи яких відсутні на X-хромосомі, різниця між XY і XX генотипами сягає найбільших значень ($\log F_c$ 1,4–5,8).

Аналіз значень $\log F_c$ показує, що диференційно експресовані гени в плаценті третього триместру відрізняються за величиною різниці за перебігу вагітності хлопчиком і дівчинкою та за неоднаковою активністю генів-гомологів на X- і Y-хромосомах (*DDX3X* і *DDX3Y*, *EIF1AX* і *EIF1AY*, *KDM5C* і *KDM5D*, *KDM6A* і *UTY*, *ZFX* і *ZFY*). В означених парах експресія гомологів на Y-хромосомі певною мірою перебільшує експресію на X-хромосомі. Найближчими за рівнем експресії є гени *ZFX* і *ZFY*, а найбільш віддалені гени в парі *EIF1AX* і *EIF1AY*, у якої експресія гомолога на Y-хромосомі значно перебільшує експресію на X хромосомі. За перебігу вагітності хлопчиком значно інтенсивніше, ніж у разі вагітності дівчинкою, експресується ген *RPS4Y1*. Підвищена експресія двох генів, пов’язаних з трансляцією, *EIF1AY* і *RPS4Y*, і наявність другого гена на Y-хромосомі, *RPS4Y2*, який теж кодує білок S4 малої субодиниці рибосом 40 S [10], дають підставу припустити, що трансляція в плаценті чоловічої статі відбувається більш інтенсивно, ніж у плаценті жіночої статі, як і інші процеси, за кодovanі на Y-хромосомі в гомологічних X/Y парах.

Функції генів статевих хромосом, за експресією яких достовірно розрізняються плаценти з XY і XX генотипом. Нижче наводиться короткий перелік функцій диференційно експресованих генів статевих хромосом, визначених у результаті порівняння генної експресії в зразках плаценти з XX і XY генотипами.

1. Участь у регуляції експресії генів на транскрипційному і посттранскрипційному рівнях.

Ген *ZFX* і його гомолог *ZFY* — це транскрипційні фактори з 13 Zn-пальцями, які мають сайти активації транскрипції, зв'язування з ДНК і локалізації в ядрі. Білок *ZFX* необхідний для самовідтворення стовбурових клітин, він є прогностичним фактором несприятливого розвитку пухлин, його нокаут призводить до припинення росту [11]. Його гомолог *ZFY* необхідний для сперматогенезу і тимчасової інактивації хромосом під час мейозу, *ZFY* найінтенсивніше експресується в яєчках і простаті.

Дві лізинспецифічні деметилази деметилують три- і диметильовані форми Lys-4 гістону H3 (*KDM5C*) і Lys-27 гістону H3 (*KDM6A*). Деметилування Lys-4 гістону H3 інгібує транскрипційну активність. Ген *KDM5C* має паралог *KDM5D* на Y-хромосомі. Незважаючи на схожість у нуклеотидній послідовності, *KDM5D* не компенсує дефіцит *KDM5C*. Ген *KDM6A* відграє центральну роль у розвитку задньої частини передньо-задньої осі тіла через регуляцію гена *HOX*. Гомолог *KDM6A* ген *UTY* не має деметилазної активності і регулює експресію рецепторів андрогенів.

DDX3X кодує АТФ-залежну РНК-хеліказу, задіяну в регуляції транскрипції, дозріванні мРНК, експорті її з ядра і трансляції. Його паралог *DDX3Y* має високий ступінь гомології з ним, але у разі делеції одного з них інший не компенсує дефіцит. Транскрипти обох генів визначаються в усіх тканинах, а білок *DDX3Y* визначається тільки в яєчках.

XIST кодує довгу нетрансльовану мРНК, яка вкриває собою ту ж саму хромосому, з якої транскрибується. Разом із залученими нею білками повністю інактивує цю хромосому.

Білок *TXLNGX* взаємодіє з білками родини синтаксинів, задіяний у транскрипції, клітинному циклі, альтернативному сплайсингу і метилуванні, а також у транспорті речовин за допомогою везикул. *TXLNGY* — псевдоген, про який немає відомостей.

Ген *PUDP* кодує псевдоуридинову 5'-фосфатазу, яка дефосфорилує продукти деградації рРНК.

2. Участь у регуляції трансляції і модифікації білків.

Ген *EIF1AX* і його гомолог *EIF1AY* кодують фактор ініціації трансляції, який стабілізує зв'язування ініціаторної мет-тРНК з рибосомальною субодиницею 40 S. Гомолог *EIF1AY* виконує ту ж саму функцію і максимально підвищує інтенсивність трансляції в зразках з XY генотипом.

Ген *RPS4Y1* кодує рибосомальний білок S4, який входить до складу 40 S субодиниці і активує мРНК для зв'язування кеп-комплексу з факторами ініціації трансляції (eIFs) і сприяє процесингу тРНК. Рибосомальний білок S4 є єдиним білком, який кодується більше, ніж одним геном, а саме *RPS4Y1* і *RPS4Y2* та X-зчепленим *RPS4X*. Три ізоформи цього білка не ідентичні, але функціонально еквівалентні [10].

Ген *UBA1*, зчеплений з X-хромосомою, каталізує приєднання убіквітину (Ub) до білків, які залучаються до деградації у протеасомах, а ген *USP9Y* регулює деубіквітинування і впливає, зокрема, на сигнальний шлях TGF β , вкрай важливий для процесів розвитку. Убіквітин і ензими, задіяні в убіквітинуванні, беруть активну участь в обміні білків під час розвитку плаценти людини.

NAA10 кодує N-кінцеву ацетилтрансферазу, каталітичну субодиницю основного комплексу аміноацилтрансферази A, яка приєднує ацетильну групу на N-кінець майже половини білків усього протеому. Синдром розумової відсталості пов'язують з асиметричною інактивацією цього гена, коли надається перевага в процесі інактивації одній з хромосом у

більш ніж 50 % випадків. У разі наявності спадкової мутації в одній з алелей гена виникає ризик розвитку патології.

3. Участь у внутрішньоклітинному транспорті речовин і спрямованому русі органел.

Процес внутрішньоклітинного транспорту речовин, екзоцитозу і ендоцитозу набуває особливого значення для плаценти, оскільки плацента “спілкується” одночасно з материнським організмом та плодом і в обох “спілкуваннях” вона є й отримувачем “послуг” і “постачальником” їх на відміну від будь-яких інших клітин організму, які “спілкуються” тільки із загальним кровоотоком.

Ген *СНМ* кодує каталітичну субодиницю геранілгеранілтрансферази Rab білка і бере участь у приєднанні ліпофільної групи геранілгеранілізопрену до С-кінця Rab білків, які утворюють найбільшу родину мономерних ГТФаз і координують процеси транспорту в клітині, утворення везикул і спрямований рух везикул та органел, прикріплення везикул до цільових мембран.

Білок VAMP7 бере участь у злитті і формуванні везикул, злитті ендосом і лізосом, транспорті хіломікрон із ендоплазматичного ретикулула до апарату Гольджі, екзоцитозі медіаторів у процесі дегрануляції еозинофілів і нейтрофілів, а також медіаторів клітин-убивць. Збільшення дози гена *VAMP7* спричиняє підвищення активності естрогенових рецепторів у урогенітальних тканинах людини чоловічої статі і супроводжується відповідними дефектами після народження.

Білок PCDH11Y належить до родини протокадеринів і пов'язаний з міжклітинним розпізнаванням у процесі розвитку центральної нервової системи. Він розташований на ділянці X/Y гомології в Y-хромосомі і має паралог на X-хромосомі. Якщо гени *DDX3Y*, *EIF1AY*, *KDM5D*, *RPS4Y1*, *TXLNGY*, *USP9Y*, *UTY*, *ZFY* походять від давнього предка сумчастих і плацентарних, то специфічний для людини ген *PCDH11Y* виник відносно недавно, 6 млн років тому, внаслідок дуплікації і транспозиції гена з X-хромосоми. З появою цього гена пов'язують швидкий розвиток нервової системи у людини [12].

Білок YIPF6 пов'язаний з утворенням везикул і забезпеченням ними внутрішньоклітинного транспорту речовин. Через деградацію ARMCX3 за участю протеїнкінази C регулюється розподіл мітохондрій у клітині.

4. Дані щодо інших диференційно експресованих генів статевих хромосом.

Ген *HSD17B10* відповідає за бета-окиснення жирних кислот, андрогенів і естрогенів, а *CD99* – за адгезію Т-клітин. *TTY15* РНК – специфічна для яєчків довга нетрансльована РНК; її видалення блокує проліферацію клітин раку простати. Транскрипт псевдогена *PRKY* не має сенсу і руйнується. Внаслідок аномальної рекомбінації *PRKY* і *PRKX*, які знаходяться в псевдоаутосомному регіоні, часто виникають XX генотип у осіб чоловічої статі і XY генотип у осіб жіночої статі

Експресія диференційно експресованих генів статевих хромосом впродовж вагітності. Згідно з даними наукових джерел, більшість генів, зчеплених з X-хромосомами, мають стабільний характер інактивації та її уникнення. Однак експресія деяких генів-уникачів змінюється залежно від типу тканини і стадії розвитку. Було проведено дослідження стосовно того, чи змінюється різниця в експресії між стать-залежними генами впродовж першого триместру, між 11-м і 13-м тижнями вагітності. Виявилось, що зміни, пов'язані зі строком вагітності, були меншими за різницю між статями, яка зберігалася протягом такого корот-

кого періоду [8]. Ми прослідкували, як змінюється різниця в експресії визначених диференційно експресованих генів впродовж чотирьох строків вагітності. Виявилось, що характер різниці, тобто знак перед $\log F_c$ залишається постійним впродовж вагітності. За величиною самої різниці гени можна умовно поділити на такі: ті, у яких різниця ($\log F_c$) достовірно не змінюється впродовж вагітності, і ті, у яких вона знижується від першого до третього триместру (*DDX3Y*, *KDM5D*, *RPS4Y1*, *USP9* і *XIST*) ($0,02 < p < 0,05$) (табл. 3).

Цікавий випадок становить диференційна експресія аутосомного гена *NOS3* у плаценті людини. За перебігу вагітності хлопчиком експресія гена більша, ніж у разі вагітності дівчинкою, і різниця між ними поступово сходиться нанівець впродовж першого, другого триместру і передчасних та вчасних пологів ($\log F_c$ $-0,81$, $-0,52$, $-0,36$, немає різниці відповідно). У мишей з вимкненим *NOS3* розвиваються симптоми, подібні до проявів затримки росту плоду та прееклампсії в людини [13]. В іншому дослідженні було показано, що стимуляція експресії *NOS3* усуває ці прояви [14]. На підставі цих даних і результатів нашого дослідження можна припустити, що експресія *NOS3* відіграє важливішу роль за перебігу вагітності хлопчиком, ніж у разі вагітності дівчинкою.

Користуючись наявними даними про експресію генів у плаценті людини в першому, другому і третьому триместрах вагітності, ми провели попереднє дослідження і з'ясували, як впливає додавання параметра "стать" на визначення кількості диференційно експресованих генів, порівнюючи зразки плаценти першого і другого триместру та другого і третього триместру. Виявилось, що кількість диференційно експресованих генів зростає з 297

Таблиця 3. Диференційно експресовані гени за результатами порівняння впродовж чотирьох строків вагітності дівчинкою і хлопчиком (значення $\log F_c$)

| Ген | Строк вагітності | | | | Розташування на хромосомі |
|---------------|------------------|--------|--------|-------|---------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| <i>DDX3Y</i> | -3,08 | -2,71 | -0,52* | -0,52 | Yq11.221 |
| <i>EIF1AX</i> | — | — | 1,12 | 0,43 | Xp22.12 |
| <i>EIF1AY</i> | -2,83 | -2,96 | -2,51 | -2,55 | Yq11.223 |
| <i>KDM5D</i> | -2,5 | -3,14 | -1,13 | -1,04 | Yq11.223 |
| <i>KDM6A</i> | 0,5 | 0,54* | 0,74 | 0,58 | Xp11.3 |
| <i>PUDP</i> | — | — | 0,99 | 0,64 | Xp22.31 |
| <i>RPS4Y1</i> | -5,48 | -5,2 | -4,72 | -4,59 | Yp11.2 |
| <i>TTY15</i> | -1,58* | -0,9 | -1,45 | -1,36 | Yq11.221 |
| <i>TXLNGY</i> | -0,65* | -0,51* | -0,7 | -0,83 | Yq11.222–q11.223 |
| <i>USP9Y</i> | -1,92 | -1,45 | -0,25* | -0,46 | Yq11.221 |
| <i>UTY</i> | -0,57* | -0,42* | -0,66 | -0,72 | Yq11.221 |
| <i>XIST</i> | 3,5 | 4,94 | 1,61 | 1,76 | Xq13.2 |
| <i>ZFY</i> | | -1,03 | | 0,54 | Yp11.2 |

Примітка. Строки вагітності відповідають означенням у табл. 1. Достовірність різниці між показниками в плаценті чоловічої і жіночої статі позначена: прочерком — відсутність достовірної різниці, зірочкою — дані достовірні при $p < 0,05$, без позначки — дані достовірні при скоригованому значенні $p < 0,05$ з поправкою на множинні порівняння (FDR). Додатні числа означають більший рівень експресії гена за перебігу вагітності дівчинкою, а від'ємні — менший, ніж у разі вагітності хлопчиком.

до 326 генів у першому випадку і з 592 до 607 — у другому (при $|\log F_c| > 1$, тобто зміна кратності більша, ніж удвічі), що поліпшує інформативність аналізу.

Висновки. Експресія генів статевих хромосом у плаценті людини відрізняється за перебігу вагітності хлопчиком і дівчинкою. Інтенсивність експресії і різниця в експресії між “статями” плаценти залежить від типу гена і від строку вагітності. За експресією генів, які відповідають за ініціацію трансляції і синтез рибосомального білка, висловлюється припущення, що процес трансляції в плаценті чоловічої статі відбувається інтенсивніше, ніж у плаценті жіночої статі. Включення параметра “стать” у широкомасштабний аналіз експресії генів забезпечує збільшення кількості диференційно експресованих генів. Рекомендується використовувати дані про стать під час широкомасштабного аналізу генної експресії для підвищення інформативності аналізу. У разі відсутності інформації про стать у літературних джерелах або базах даних з генної експресії її можна визначити за наявністю транскриптів з Y-хромосоми. Метод визначення статі за значеннями генної експресії та інтегративний підхід придатні для аналізу будь-яких даних з генної експресії.

Дослідження проведено в рамках бюджетної теми № 2.2.4.18 і підтримано Національною академією наук України.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Di Renzo G. C., Rosati A., Sarti R. D., Cruciani L., Cutuli A. M. Does fetal sex affect pregnancy outcome? *Gend. Med.* 2007. **4**, № 1. P. 19–30. [https://doi.org/10.1016/s1550-8579\(07\)80004-0](https://doi.org/10.1016/s1550-8579(07)80004-0)
2. Peacock J. L., Marston L., Marlow N., Calvert S. A., Greenough A. Neonatal and infant outcome in boys and girls born very prematurely. *Pediatr. Res.* 2012. **71**, № 3. P. 305–310. <https://doi.org/10.1038/pr.2011.50>
3. Byrne J., Warburton D. Male excess among anatomically normal fetuses in spontaneous abortions. *Am. J. Med. Genet.* 1987. **26**, № 3. P. 605–611. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320260315>
4. Lykhenko O. K., Frolova A. O., Obolenskaya M. Yu. Creation of gene expression database on preeclampsia-affected human placenta. *Biopolym. Cell.* 2017. **33**, № 6. P. 442–452. <https://doi.org/10.7124/bc.000967>
5. Buckberry S., Bent S. J., Bianco-Miotto T., Roberts C. T. *massiR*: a method for predicting the sex of samples in gene expression microarray datasets. *Bioinformatics.* 2014. **30**, № 14. P. 2084–2085. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu161>
6. Carrel L., Willard H. F. X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females. *Nature.* 2005. **434**, № 7031. P. 400–404. <https://doi.org/10.1038/nature03479>
7. Moreira de Mello J. C., Fernandes G. R., Vibranovski M. D., Pereira L. V. Early X chromosome inactivation during human preimplantation development revealed by single-cell RNA-sequencing. *Sci. Rep.* 2017. **7**. 10794. 12 p. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11044-z>
8. Gonzalez T. L., Sun T., Koeppl A. F., Lee B., Wang E. T., Farber C. R., Rich S. S., Sundheimer L. W., Buttle R. A., Chen Y.-D. I., Rotter J. I., Turner S. D., Williams J., Goodarzi M. O., Pisarska M. D. Sex differences in the late first trimester human placenta transcriptome. *Biol. Sex Differ.* 2018. **9**, № 1. 4, 23 p. <https://doi.org/10.1186/s13293-018-0165-y>
9. Garieri M., Stamoulis G., Blanc X., Falconnet E., Ribaux P., Borel C., Santoni F., Antonarakis S. E. Extensive cellular heterogeneity of X inactivation revealed by single-cell allele-specific expression in human fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018. **115**, № 51. P. 13015–13020. <https://doi.org/10.1073/pnas.1806811115>
10. Andrés O., Kellermann T., López-Giráldez F., Rozas J., Domingo-Roura X., Bosch M. *RPS4Y* gene family evolution in primates. *BMC Evol. Biol.* 2008. **8**. 142. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-8-142>
11. Ni W., Perez A. A., Schreiner S., Nicolet C. M., Farnham P. J. Characterization of the ZFX family of transcription factors that bind downstream of the start site of CpG island promoters. *Nucleic Acids Res.* 2020. **48**, № 11. P. 5986–6000. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa384>
12. Cortez D., Marin R., Toledo-Flores D., Froidevaux L., Liechti A., Waters P. D., Grützner F., Kaessmann H. Origins and functional evolution of Y chromosomes across mammals. *Nature.* 2014. **508**, № 7497. P. 488–493.

13. Pallares P, Perez-Solana M. L., Torres-Rovira L., Gonzalez-Bulnes A. Phenotypic characterization by high-resolution three-dimensional magnetic resonance imaging evidences differential effects of embryo genotype on intrauterine growth retardation in NOS3-deficient mice. *Biol. Reprod.* 2011. **84**, № 5. P. 866–871. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.088534>
14. Younes S. T., Maeda K. J., Sasser J., Ryan M. J. The glucagon-like peptide 1 receptor agonist liraglutide attenuates placental ischemia-induced hypertension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2020. **318**, № 1. P. H72–H77. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00486.2019>

Надійшло до редакції 26.01.2021

REFERENCES

1. Di Renzo, G. C., Rosati, A., Sarti, R. D., Cruciani, L. & Cutuli, A. M. (2007). Does fetal sex affect pregnancy outcome? *Gend. Med.*, 4, No. 1, pp. 19-30. [https://doi.org/10.1016/s1550-8579\(07\)80004-0](https://doi.org/10.1016/s1550-8579(07)80004-0)
2. Peacock, J. L., Marston, L., Marlow, N., Calvert, S. A. & Greenough, A. (2012). Neonatal and infant outcome in boys and girls born very prematurely. *Pediatr. Res.*, 71, No. 3, pp. 305-310. <https://doi.org/10.1038/pr.2011.50>
3. Byrne, J. & Warburton, D. (1987). Male excess among anatomically normal fetuses in spontaneous abortions. *Am. J. Med. Genet.*, 26, No. 3, pp. 605-611. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320260315>
4. Lykhenko, O. K., Frolova, A. O. & Obolenskaya, M. Yu. (2017). Creation of gene expression database on preeclampsia-affected human placenta. *Biopolym. Cell*, 33, No. 6, pp. 442-452. <https://doi.org/10.7124/bc.000967>
5. Buckberry, S., Bent, S. J., Bianco-Miotto, T. & Roberts, C. T. (2014). *massiR*: a method for predicting the sex of samples in gene expression microarray datasets. *Bioinformatics*, 30, No. 14, pp. 2084-2085. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu161>
6. Carrel, L. & Willard, H. F. (2005). X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females. *Nature*, 434, No. 7031, pp. 400-404. <https://doi.org/10.1038/nature03479>
7. Moreira de Mello, J. C., Fernandes, G. R., Vibranovski, M. D. & Pereira, L. V. (2017). Early X chromosome inactivation during human preimplantation development revealed by single-cell RNA-sequencing. *Sci. Rep.*, 7, 10794. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11044-z>
8. Gonzalez, T. L., Sun, T., Koeppl, A. F., Lee, B., Wang, E. T., Farber, C. R., Rich, S. S., Sundheimer, L. W., Buttle, R. A., Chen, Y.-D. I., Rotter, J. I., Turner, S. D., Williams, J., Goodarzi, M. O. & Pisarska, M. D. (2018). Sex differences in the late first trimester human placenta transcriptome. *Biol. Sex Differ.*, 9, No. 1, 4. <https://doi.org/10.1186/s13293-018-0165-y>
9. Garieri, M., Stamoulis, G., Blanc, X., Falconnet, E., Ribaux, P., Borel, C., Santoni, F. & Antonarakis, S. E. (2018). Extensive cellular heterogeneity of X inactivation revealed by single-cell allele-specific expression in human fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 115, No. 51, pp. 13015-13020. <https://doi.org/10.1073/pnas.1806811115>
10. Andrés, O., Kellermann, T., López-Giráldez, F., Rozas, J., Domingo-Roura, X. & Bosch, M. (2008). *RPS4Y* gene family evolution in primates. *BMC Evol. Biol.*, 8, 142. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-8-142>
11. Ni, W., Perez, A. A., Schreiner, S., Nicolet, C. M. & Farnham, P. J. (2020). Characterization of the ZFX family of transcription factors that bind downstream of the start site of CpG island promoters. *Nucleic Acids Res.*, 48, No. 11, pp. 5986-6000. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa384>
12. Cortez, D., Marin, R., Toledo-Flores, D., Froidevaux, L., Liechti, A., Waters, P. D., Grützner, F. & Kaessmann, H. (2014). Origins and functional evolution of Y chromosomes across mammals. *Nature*, 508, No. 7497, pp. 488–493.
13. Pallares, P., Perez-Solana, M. L., Torres-Rovira, L. & Gonzalez-Bulnes, A. (2011). Phenotypic characterization by high-resolution three-dimensional magnetic resonance imaging evidences differential effects of embryo genotype on intrauterine growth retardation in NOS3-deficient mice. *Biol. Reprod.*, 84, No. 5, pp. 866-871. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.088534>
14. Younes, S. T., Maeda, K. J., Sasser, J. & Ryan, M. J. (2020). The glucagon-like peptide 1 receptor agonist liraglutide attenuates placental ischemia-induced hypertension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 318, No. 1, pp. H72-H77. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00486.2019>

Received 26.01.2021

O.K. Lykhenko, M.Yu. Obolenskaya

Institute of Molecular Biology and Genetics of the NAS of Ukraine, Kyiv

E-mail: Lykhenko.olexandr@gmail.com

THE KNOWLEDGE OF CHROMOSOMAL SEX IS IMPORTANT FOR LARGE-SCALE ANALYSIS OF GENE EXPRESSION

The aim of the study was to determine the sex of the fetus in gene expression data lacking this information using expression of the Y-linked genes, and to elucidate the difference between sex-chromosomal-linked gene expression between placental samples with XX and XY genotypes during pregnancy. We have detected 27 differentially expressed sex-chromosomes-linked genes. We have shown that, in most cases, the expression of genes from X-chromosomes in pregnancy carrying baby girls is higher than in pregnancy carrying baby boys, but there are exceptions to this pattern, which must be taken into account in large-scale studies of gene expression. The nature of the difference in gene expression during pregnancy carrying baby girls and boys (positive or negative difference) persists during pregnancy, but the magnitude of the difference may remain unchanged or decrease from the first to the third trimester. Taking sex dimorphism into account when analyzing large-scale gene expression data between trimesters of pregnancy increases the number of differentially expressed genes, which improves the informative value of the study and is important for elucidating the pathogenesis of pregnancy complications associated with placental dysfunction.

Keywords: *human placenta, transcriptome, integrative analysis, sex.*