

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2025.06.66-69>

Прогностическая значимость инактивации X-хромосомы у женщин-носительниц мутаций в гене EDA

Ковальская В.А., Череватова Т.Б., Зинина Е.В., Степанова А.А., Щагина О.А., Поляков А.В., Рыжкова О.П.

ФГБНУ Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова
115522, г. Москва, Россия, ул. Москворечье, д.1

Эктодермальная дисплазия представляет собой разнородную группу генетических заболеваний, связанных с нарушением формирования эктодермальных структур. Наиболее распространенной формой является X-сцепленная гипогидротическая эктодермальная дисплазия (ГЭД), обусловленная мутациями в гене *EDA*, кодирующем белок эктодисплазин А, ключевой для развития эктодермальных тканей. В связи с X-сцепленным характером наследования мужчины болеют чаще, однако у женщин-носительниц также могут наблюдаться клинические проявления. Вариабельность фенотипа у женщин традиционно связывается со смещенной инактивацией X-хромосомы (XCI), однако эта гипотеза остается дискуссионной. Цель: изучение паттернов XCI у женщин-носительниц мутаций в *EDA* и их связи с тяжестью клинических проявлений. Анализ проведен на 47 пациентках с использованием метил-чувствительной и флуоресцентно-меченой ПЦР. Полученные данные не выявили статистически значимой корреляции между степенью XCI и выраженностью симптомов ГЭД ($p = 0,277$). Исследование подтверждает, что анализ XCI в крови не является надежным предиктором тяжести заболевания у женщин с X-сцепленной ГЭД и не может быть рекомендован для диагностики и реклассификации вариантов неопределенного клинического значения в гене *EDA*.

Ключевые слова: эктодермальная дисплазия, *EDA*, инактивация X-хромосомы.

Для цитирования: Ковальская В.А., Череватова Т.Б., Зинина Е.В., Степанова А.А., Щагина О.А., Поляков А.В., Рыжкова О.П. Прогностическая значимость инактивации X-хромосомы у женщин-носительниц мутаций в гене *EDA*. *Медицинская генетика* 2025; 24(6): 66-69.

Автор для корреспонденции: Ковальская В.А.; e-mail: mikhalova.v.a@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ для ФГБНУ МГНЦ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 10.06.2025

Принята: 30.06.2025

Prognostic significance of X-chromosome inactivation in female carriers of EDA mutations

Kovalskaia V.A., Cherevatova T.B., Zinina E.V., Stepanova A.A., Schagina O.A., Polyakov A.V., Ryzhkova O.P.

Research Centre for Medical Genetics
1, Moskvorechye st, Moscow, 115522, Russian Federation

Introduction. Ectodermal dysplasia (ED) represents a heterogeneous group of genetic disorders associated with impaired development of ectodermal structures. The most common form is X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia (XLHED), caused by mutations in the *EDA* gene, which encodes ectodysplasin A, a key protein involved in the development of ectodermal tissues. Due to the X-linked inheritance pattern, males are more frequently affected; however, female carriers may also exhibit clinical manifestations. The phenotypic variability in females has traditionally been attributed to skewed X-chromosome inactivation (XCI), though this hypothesis remains controversial.

Objective: The aim of this study was to analyze XCI patterns in female carriers of *EDA* mutations and assess their correlation with the severity of clinical manifestations.

Methods. The study was conducted on 47 female patients using methylation-sensitive PCR and analysis of repeats in the AR gene.

Results. The obtained data did not reveal a statistically significant correlation between the degree of XCI and the severity of HED symptoms ($p = 0.277$).

Conclusion. This study confirms that the analysis of XCI in blood is not a reliable predictor of disease severity in females with X-linked HED and, therefore, should not be recommended for diagnostic purposes or reclassification of variants of uncertain significance in the *EDA* gene.

Keywords: ectodermal dysplasia, *EDA*, X-chromosome inactivation.

For citation: Kovalskaia V.A., Cherevatova T.B., Zinina E.V., Stepanova A.A., Schagina O.A., Polyakov A.V., Ryzhkova O.P. Prognostic significance of X-chromosome inactivation in female carriers of *EDA* mutations. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2025; 24(6): 66-69. (In Russ.)

Corresponding author: Kovalskaia V.A.; e-mail: mikhalova.v.a@mail.ru

Funding. This work was carried out with the support of the state assignment from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

Conflict of Interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 10.06.2025

Accepted: 30.06.2025

Введение

Эктодермальная дисплазия (ЭД) представляет собой разнородную группу генетических заболеваний, характеризующихся аномалиями в развитии и/или гомеостазе двух и более эктодермальных структур [1]. Существует множество форм ЭД (более 100 наследственных синдромов [2]), однако самой частой является Х-сцепленная гипогидротическая эктодермальная дисплазия (ГЭД), её минимальная расчетная частота в мире составляет от 2,8 до 2,99 на 100 000 [3,4]. Эта преобладающая форма ЭД обусловлена патогенными и вероятно-патогенными вариантами в гене *EDA*. Данный ген расположен на Х-хромосоме в локусе Xq13.1 и кодирует белок эктодисплазин А, который участвует в передаче эпителиально-мезенхимальных сигналов во время морфогенеза эктодермальных структур у человека [5,6].

Хорошо известно, что пациенты с ГЭД демонстрируют характерные особенности, включающие аномалии волос (гипотрихоз кожи головы/алопеция, редкие или отсутствующие брови/ресницы), зубов (анодонтия/олигодонтия/микродонтия/конические или деформированные зубы), ногтей (гипоплазия, деформированные ногти), кожи (сухая, гиперпигментированная) и потовых желез (ангидроз или гипогидроз). Кроме того, могут наблюдаться дополнительные признаки, такие как выступающий лоб, гипоплазия молочных желез, экзема, утолщенные губы и др.

Ввиду такой геномной локализации, *EDA*-ассоциированной ГЭД чаще болеют мальчики, а матери являются зачастую гетерозиготными носительницами. Однако в части случаев и у лиц женского пола можно наблюдать тяжелые клинические проявления ГЭД. Традиционно такой характер вариабельности клинических проявлений Х-сцепленных заболеваний у женщин объяснялся неравной инактивацией Х-хромосом (ХСІ) в пользу здорового аллеля [7]. И в случае выявления вариантов неясного клинического значения в гене *EDA*, одним из путей реклассификации рассматривали именно обследование лиц женского пола в семье для уточнения каузативности выявленного изменения. Тем не менее, изучение лайонизации Х-хромосомы и её прогностическая значимость все еще остаются предметом обсуждения [8] и требуют более детального изучения. В частности, проведение данного исследования вызвано неоднозначными результатами в отношении *EDA*-ассоциированной ГЭД.

Цель исследования: проанализировать паттерны ХСІ в крови 47 женщин-носительниц патогенных и ве-

роятно-патогенных вариантов в гене *EDA* и уточнить наличие или отсутствие связи неравной лайонизации с тяжестью клинических проявлений при ГЭД.

Материалы и методы

Геномная ДНК пробандов мужского пола, их матерей и/или сестер, несущих патогенные и вероятно-патогенные варианты в гене *EDA*, была любезно предоставлена лабораторией ДНК-диагностики ФГБНУ МГНЦ. Пациентки были разделены на две группы: с клиническими проявлениями ГЭД и без них. В зависимости от выраженности симптомов применялась следующая градация: «+» характеризовал пациенток с минимальными симптомами ГЭД, «++» использовался для пациенток с умеренными проявлениями ГЭД и «+++» был применен к лицам женского пола с тяжелым фенотипом ГЭД. Паттерны ХСІ анализировали с использованием теста, оценивающего полиморфный повтор CAG в экзоне 1 гена андрогенного рецептора (*AR*) (*HUMARA*). Для анализа образцы ДНК подвергали обработке метил-чувствительной рестриктазой HpaII, разрезающей только активные Х-хромосомы, тогда как инактивированные (метилированные) Х-хромосомы оставались интактными. После рестрикции проводили ПЦР-амплификацию с использованием флуоресцентно меченого праймера, а анализ фрагментов выполняли на генетическом анализаторе 3130xl (HITACHI, Applied Biosystems, USA/Japan). Паттерны ХСІ классифицировали следующим образом: 1) случайная инактивация, если соотношение активных аллелей $\leq 75:25$; 2) умеренно смещенная инактивация, если соотношение от 75:25 до 80:20; 3) сильно смещенная инактивация, если соотношение $> 80:20$. Инактивацию мутантного или здорового аллеля определяли путем совместного анализа ДНК пробандов мужского пола и женщин-носительниц в семье.

Результаты

Анализ профилей ХСІ в периферической крови 47 женщин-носительниц мутаций в гене *EDA* не выявил статистически значимых различий между группами с клиническими проявлениями ГЭД и без них ($p = 0,277$). Большинство женщин с клиническими проявлениями ГЭД демонстрировало случайный профиль ХСІ (таблица). Более того, в одной и той же семье (пациентки 10 и 11) у женщин наблюдались противо-

Таблица. Паттерны инактивации у женщин-носительниц патогенных и вероятно-патогенных вариантов в гене *EDA*

Table. X-chromosome inactivation patterns in females with *EDA* mutations

Номер	X-инактивация, % (M/WT аллели)	Клинические проявления ГЭД
1	42/58	Да (+)
2	30/70	Да (+)
3	100/0	Нет
4	69/31	Нет
5	69/31	Нет
6	52/48	Нет
7	29/71	Да (+++)
8	66/34	Да (+)
9	35/65	Нет
10	16/84	Да (+)
11	76/24	Да (++)
12	45/55	Нет
13	52/48	Да (+)
14	42/58	Нет
15	54/46	Нет
16	56/44	Нет
17	33/67	Нет
18	44/56	Нет
19	53/47	Нет
20	57/43	Да (+)
21	53/47	Да (++)
22	28/72	Нет

23	44/56	Да (+++)
24	56/44	Да (+++)
25	30/70	Нет
26	69/31	Нет
27	86/14 или 14/86	Да (++)
28	54/46	Да (++)
29	48/52	Да (+++)
30	3/97	Да (+++)
31	91/9	Да (+)
32	47/53	Да (+)
33	51/49	Да (+)
34	13/87 или 87/13	Да (+++)
35	38/62	Нет
36	67/33	Да (++)
37	19/81 или 81/19	Да (++)
38	56/44	Нет
39	38/62	Нет
40	67/33	Нет
41	27/73	Да (+)
42	44/56	Нет
43	51/49	Нет
44	53/47	Нет
45	65/35	Нет
46	38/62	Да (неизвестная тяжесть симптомов)
47	21/79	Да (неизвестная тяжесть симптомов)
48	28/72	Да (неизвестная тяжесть симптомов)
49	59/41	Да (+++)
50	60/40	Нет

положные паттерны XCI, однако у обеих присутствовали признаки ГЭД. Три пациентки (27, 34 и 37) с клиническими проявлениями ГЭД и смещенной XCI были исключены из анализа, так как не удалось определить, какой аллель подвергся инактивации.

Обсуждение

В данном исследовании мы идентифицировали, что паттерны XCI в крови не коррелируют с тяжестью ГЭД у женщин-носительниц патогенных изменений в гене *EDA*. Испанские исследователи пришли к аналогичным выводам, продемонстрировав, что значитель-

ная часть женщин-пробандов с патогенным вариантом в *EDA* демонстрирует случайный паттерн XCI [9]. Другое исследование также не обнаружило связи между фенотипическими проявлениями X-сцепленной ГЭД и паттернами XCI [10]. Кроме того, авторы доказали, что смещенная XCI в пользу мутантного аллеля не была связана с более тяжелыми фенотипами. Мы предполагаем, что это связано с чрезвычайно низким уровнем экспрессии *EDA* в крови (0,16 TPM, база данных GTEx), вследствие чего определение XCI в клетках периферической крови является малоинформативным. Кроме того, анализ XCI у матерей мальчиков с ГЭД часто проводят изолированно, без сопоставления с ДНК

их сыновей. Такой подход выявляет дисбаланс экспрессии аллелей, но не позволяет определить, инaktivируется ли дикий или мутантный аллель.

Заключение

Мы не рекомендуем анализ паттернов ХСІ в крови у женщин с ГЭД методом HUMARA, так как он не предсказывает тяжесть ГЭД у женщин и потому не помогает установить патогенность вариантов *EDA* с неопределенным значением.

Литература/References

1. Itin P. H., Fistarol S. K. Ectodermal dysplasias. American Journal of Medical Genetics. 2004; 131C(1), 45–51. doi:10.1002/ajmg.c.30033
2. Wright J.T., Fete M., Schneider H., *et. al.* Ectodermal dysplasias: Classification and organization by phenotype, genotype and molecular pathway. Am J Med Genet A. 2019;179(3):442–447. doi: 10.1002/ajmg.a.61045.
3. Herlin L.K., Schmidt S.A.J., Hermann X.B., *et. al.* Prevalence and Patient Characteristics of Ectodermal Dysplasias in Denmark. JAMA Dermatol. 2024;160(5):502–510. doi: 10.1001/jamadermatol.2024.0036.
4. Butcher C., Abbott B.M., Grange D., *et. al.* Prevalence rates for ectodermal dysplasia syndromes. Am J Med Genet A. 2024;194(12):e63832. doi: 10.1002/ajmg.a.63832.
5. Bayés M., Hartung A., Ezer S., *et. al.* The anhidrotic ectodermal dysplasia gene (EDA) undergoes alternative splicing and encodes ectodysplasin-A with deletion mutations in collagenous repeats. Hum. Mol. Genet. 1998;7(11):1661–1669. DOI 10.1093/hmg/7.11.1661.
6. Mikkola M., Thesleff I. Ectodysplasin signaling in development. Cytokine Growth Factor Rev. 2003;14(3–4):211–224. DOI 10.1016/s1359-6101(03)00020-0
7. Puck J.M., Willard H.F. X inactivation in females with X-linked disease. N Engl J Med. 1998;338(5):325–8. doi: 10.1056/NEJM199801293380611.
8. Migeon B.R. X-linked diseases: susceptible females. Genet Med. 2020; 22: 1156–1174, <https://doi.org/10.1038/s41436-020-0779-4>
9. Martínez-Romero M.C., Ballesta-Martínez M.J., López-González V., *et. al.*; GIEDE (Spanish multidisciplinary research group for ectodermal dysplasia). EDA, EDAR, EDARADD and WNT10A allelic variants in patients with ectodermal derivative impairment in the Spanish population. Orphanet J Rare Dis. 2019;14(1):281. doi: 10.1186/s13023-019-1251-x.
10. Körber L., Schneider H., Fleischer N. *et. al.* No evidence for preferential X-chromosome inactivation as the main cause of divergent phenotypes in sisters with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. Orphanet J Rare Dis. 2021; 16: 98. <https://doi.org/10.1186/s13023-021-01735-2>