Tampereen yliopisto

Emilia Hautala

# X-KROMOSOMIN INAKTIVAATION VAIKUTUS IKÄÄNTYMISEEN

Lääketieteen ja terveysteknologian tiedekunta
Kandidaatintyö
Huhtikuu 2022

# TIIVISTELMÄ

Emilia Hautala: X-kromosomin inaktivaation vaikutus ikääntymiseen
Kandidaatintyö
Tampereen yliopisto
Bioteknologian ja biolääketieteen tekniikan tutkinto-ohjelma
Huhtikuu 2022

---

Ihmisillä on kaksi sukupuolikromosomia, X- ja Y-kromosomi, jotka määrittävät yksilönkehityksessä ihmisen biologisen sukupuolen. Naiset ovat kromosomistoltaan XX- ja miehet XY-kromosomistoisia. Y-kromosomi on sekä geenimäärältään että kooltaan huomattavasti pienempi kuin X-kromosomi, jolloin naisten ja miesten välinen epätasapaino geenituotteiden välillä täytyy tasoittaa. Geenituotteiden määrän tasoittajana toimii biologinen prosessi nimeltään X-kromosomin inaktivaatio, jossa jokaisessa solussa toinen X-kromosomi sattumanvaraisesti inaktivoidaan. X-kromosomin inaktivaatio kuitenkin usein iän myötä vinoutuu, jolloin toinen X-kromosomi on aktiivisena useammassa solussa kuin toinen.

Tässä työssä on tutkittu miten X-kromosomin inaktivaatio vinoutuu naisilla iän myötä, ja miten tämä vinouma vaikuttaa naisten terveyteen, sairauksien puhkeamiseen ja elinikään heidän vanhetessaan. Työssä on ensin käyty läpi mitä tällä hetkellä tiedetään X-kromosomin inaktivaatiosta, miksi se tapahtuu, mitkä asiat siihen vaikuttavat ja miten se tapahtuu ja mitä epigeneettisiä mekanismeja ja tapahtumaketjuja siinä on mukana. Työssä on myös esitelty yleisiä tutkimusmenetelmiä, joilla X-kromosomin inaktivaatiota voidaan tutkia. Työn loppupuolella perehdytään vanhenemiseen, etenkin sukupuolten välisiin eroihin vanhenemisessa ja eliniässä, sekä X-kromosomin rooliin vanhenemisessa sekä X-kromosomin inaktivaation vinoutumisen mahdollisiin vaikutuksiin ihmisen elinikään, sekä käydään lyhyesti mitä muita metylaatiomuutoksia X-kromosomissa tapahtuu inaktivaation lisäksi.

X-kromosomilla, sen inaktivaatiolla sekä inaktivaation vinoutumisella on useissa tutkimuksissa huomattu olevan yhteys vanhenemismuutoksiin. Se, että naisilla on kaksi X-kromosomia ja miehillä vain yksi, on selittävä tekijä sille, miksi naiset ja miehet sairastuvat usein eri sairauksiin. X-kromosomin inaktivaatio ja inaktivaation vinoutuminen puolestaan selittävät eroja naisten ja miesten keskimääräisissä elinajoissa, sekä tarjoavat selitystä ilmiölle, jossa pitkäikäiset miehet ovat kuitenkin keskimäärin terveempiä kuin pitkään eläneet naiset. X-kromosomi ei kuitenkaan yksin selitä kaikkea, vaan vanheneminen on prosessina hyvin monimutkainen, ja sen ymmärtämiseen tarvitaan vielä laajasti lisää tutkimusta.

Avainsanat: X-kromosomi, X-kromosomin inaktivaatio, inaktivaation vinoutuminen, ikääntyminen, elinikä

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck –ohjelmalla.

# SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO ..... 3
2. X-KROMOSOMIN INAKTIVAATIO ..... 4
2.1 X- ja Y-kromosomien rakenne ..... 4
2.2 X-kromosomin inaktivaatioon liittyvät epigeneettiset mekanismit ..... 5
2.3 Inaktivoidun X-kromosomin rakenne ..... 6
2.4 X-kromosomin inaktivaatio prosessina ..... 9
2.5 Inaktivoitu X-kromosomi aikuisilla ..... 12
2.6 X-kromosomin inaktivaation tutkiminen ..... 13
3. X-KROMOSOMIN VAIKUTUKSET IKÄÄNTYMISEEN ..... 16
3.1 Sukupuolten väliset erot vanhenemisessa ..... 16
3.2 X-kromosomin vaikutus vanhenemisessa ..... 18
3.3 X-kromosomin inaktivaation vinoutuminen ja elinikä ..... 19
3.4 Metylaatiomuutokset yleisesti X-kromosomissa ..... 21
4. YHTEENVETO ..... 22
LÄHDELUETTELO ..... 24

# 1. JOHDANTO

Suvullinen lisääntyminen on kehittynyt lähes kaikkien eukaryoottien yhteiseksi lisääntymistavaksi. Se mahdollistaa uusien uniikkien yksilöiden synnyn, koska geenien alleelit yhdistyvät yksilössä uudella tavalla, mikä mahdollistaa hyödyllisen suuren geneettisen vaihtelun yksilöiden välillä. Monet yksisoluiset eliöt tuottavat sukusoluja, jotka ovat kooltaan samankokoisia, mutta useimmilla monisoluisilla eliölajeilla suvullinen lisääntyminen on johtanut naaraiden sukusolujen suurempaan kokoon urosten sukusuoluihin verrattuna sekä kahden eriävän sukupuolen syntymiseen. Kaikilla monisoluisilla eliöillä ei tosin ole kahta eriävää sukupuolta, ja useimmat kukkivat kasvit ovat hermafrodiitteja, eli yksilöllä on sekä naaraan että uroksen sukuelimet, samoin kuin esimerkiksi joillain kaloilla, useimmilla etanoilla ja koralleilla. Kaikkia eläimiä katsottaessa hermafroditismi on kuitenkin harvinaista, vain noin 5 % kaikista lajeista, koska lajirikkaasta hyönteisten luokasta sitä ei löydy. (Bachtrog ym. 2014)

Erillisistä sukupuolista arvellaan olevan joitakin hyötyjä verrattuna kaksineuvoisiin hermafrodiitteihin, koska sukupuolten eroaminen erillisiksi on tapahtunut itsenäisesti monilla kasveilla ja eläimillä. Ensinnäkin hermafrodiittisilla lajeilla on arveltu tapahtuvan kompromisseja naaras ja uros ominaisuuksien välillä, jolloin naaraaksi tai urokseksi erikoistuminen tuo lisääntymisen kannalta etua. Toinen hypoteesi erillisten sukupuolten paremmuudesta joissain tilanteissa on itsehedelmöityksen välttäminen, sillä itsehedelmöitys saattaa johtaa huonompilaatuisiin jälkeläisiin johtuen resessiivisten alleelien suuresta määrästä, eikä myöskään geneettinen variaatio ole suurta. Suuren määrän itsehedelmöitystä on huomattu joillain kasveilla johtavan erillisten sukupuolten kehittymiseen. (Bachtrog ym. 2014)

Suvullisessa lisääntymisessä isossa roolissa ovat sukupuolikromosomit, jotka useissa tapauksissa toimivat määräävänä tekijänä sukupuolen kehittymisessä yksilönkehityksen aikana. Sukupuolen määräytymiseen on kuitenkin monia muita tapoja kuin nisäkkäiden kaksi sukupuolikromosomia. Polygeenisessä sukupuolen määräytymisessä sukupuolen määrittää joukko geenejä, esimerkiksi joillain kaloilla ja kukkivilla kasveilla sukupuolen määräytymiseen vaikuttaa useampi geeni. Joillain hyönteisillä, kuten mehiläisillä, muurahaisilla ja ampiaisilla, sukupuolen määrittää sukupuolikromosomien määrä, ja urospuoliset yksilöt kehittyvät hedelmöittämättömistä haploidisista munasoluista, kun taas naaraat kehittyvät hedelmöitetyistä diploidisista munasoluista. Joillain eläimillä sukupuoli ei edes määräydy sukupuolikromosomien mukaan, vaan esimerkiksi monilla matelijoilla ja joillain kaloilla yksilön sukupuolen määrittää ympäristöntekijät yksilönkehityksen aikana, kuten esimerkiksi lämpötila tai pH. Ympäristötekijöiden määrittelemä sukupuolen määräytyminen on hyödyllistä silloin, kun ympäristö on otollisempi toiselle sukupuolelle kuin toiselle,

ja ympäristötekijät ovat arvattavia ja pysyvät samanlaisena. Genotyyppinen sukupuolen määräytyminen, eli sukupuolikromosomien määrittelemä sukupuoli ja tapa jota suurin osa eläimistä käyttää, on taas hyödyllisempi tilanteissa, jolloin ympäristö on arvaamattomampi tai ei tarpeeksi vaihteleva, jolloin ympäristötekijöihin perustuva sukupuolen määritys tuottaisi vahvasti vinoutuneen sukupuolijakauman tai intersukupuolisia yksilöitä. (Bachtrog ym. 2014)

Nisäkkäillä sukupuolen määrää kaksi sukupuolikromosomia, X ja Y. Sukupuolikromosomeilla on yhteinen alkuperä, mutta sukupuolikromosomien välisen rekombinaation vaimentaminen yhdessä Y-kromosomin ei-rekombinoivan alueen degeneraation kanssa on johtanut sukupuolikromosomien morfologiseen ja geneettiseen erilaistumiseen. Se, miten erilaisia sukupuolikromosomit ovat verrattuna toisiinsa, vaihtelee pallokalan pienestä sukupuolen määrittävästä alueesta Y-kromosomissa ihmisen lähes täysin erilaisiin X- ja Y-kromosomeihin ja banaanikärpästen kahteen täysin erilliseen sukupuolikromosomiin. Nisäkkäiden lisäksi myös esimerkiksi linnuilla, käärmeillä ja perhosilla on kaksi sukupuolikromosomia, Z ja W, jotka määrittävät yksilön sukupuolen, mutta toisin kuin nisäkkäillä, linnuilla, käärmeillä ja perhosilla naaraat ovat kuitenkin heterogameettisia, eli naaraiden sukupuolikromosomit ovat ZW ja urosten ZZ. (Bachtrog ym. 2014) Sukupuolikromosomit ovat siis kehittyneet ja säilyneet evoluutiossa useilla eri eliölajeilla, mutta jotta geenituotteiden määrä pysyisi samana sukupuolten välillä sukupuolikromosomien eroista huolimatta, on täytynyt kehittyä mekanismeja, jolla tätä epätasapainoa hallitaan.

# 2. X-KROMOSOMIN INAKTIVAATIO

## 2.1 X- ja Y-kromosomien rakenne

Ihmisillä naisilla on kaksi X-kromosomia, jotka molemmat sisältävät noin 800 geeniä, kun taas miehillä on yhden X-kromosomin lisäksi yksi Y-kromosomi, joka sisältää alle 78 proteiinia koodaavaa geeniä. (Snell ja Turner, 2018) X-kromosomi on Y-kromosomiin verrattuna suhteellisen suuri ja geenirikas kromosomi. Useat X-kromosomin sisältämät geenit vaikuttavat sukupuolen määräytymiseen mies- ja naispuolisilla yksilöillä, sukusolujen syntymiseen sekä hormonierityksen. X-kromosomin sisältämillä geeneillä on sukupuolen määräytymisen ja lisääntymisen lisäksi paljon muutakin merkitystä, ja sen sisältämistä geeneistä iso osa vaikuttaakin solujen toimintaan. X-kromosomin molempien käsivarsien päässä on Y-kromosomin kanssa sekvenssiltään homologinen alue, joka mm. auttaa kromosomeja pariutumaan mitoosin ja meioosin aikana. (Chan ym. 2019)

Y-kromosomi on ihmisgenomin pienin kromosomi, sekä kooltaan että geenimäärältään, sillä Y-kromosomi on kooltaan noin 60 miljoonaa emäsparia ja sen sekvenssistä yli puolet on toistoa. X- ja Y-kromosomilla on evolutiivisesti yhteinen alkuperä, ja molemmat ovat alun perin kehittyneet autosomeista, mutta X-kromosomeissa säilyi iso osa alkuperäisistä geeneistä, kun taas Y-kromosomista ne ovat jääneet ajan saatossa pois. Tämä on johtanut siihen, että naisilla on useista geeneistä kaksi kopiota, kun taas miehillä on kyseisistä geeneistä vain yksi kopio. Y-kromosomissa on kuitenkin geenejä, joita ei ole X-kromosomissa, ja näillä geeneillä on oleellinen biologinen merkitys muun muassa sukupuolen määräytymisessä ja miesten hedelmällisyydessä. (Quintana-Murci ja Fellous, 2001)

Sukupuolen määräytymiseen vaikuttaa oleellisesti kaksi geeniä, SRY-geeni eli sukupuolen määräävä alue Y-kromosomissa (sex-determining region of the Y), sekä DAX-1-geeni eli annossensitiivinen sukupuolen kumoamisgeeni (dosage-sensitive sex reversal gene). SRY-geeni sijaitsee Y-kromosomin lyhyessä p-käsivarressa, ja se aiheuttaa kivesten muodostumisen ja näin sukupuolen määräytymisen sikiössä. Tämän geenin puuttuminen sikiöltä, jolla ei ole Y-kromosomia, aiheuttaa munasarjojen muodostumisen ja kehittymisen naaraspuoliseksi yksilöksi. DAX-1-geeni X-kromosomin lyhyessä p-käsivarressa estää SRY-geenin ekspressiota, mutta sitä miten DAX-1- ja SRY-geenin vuorovaikuttavat keskenään ei vielä tarkkaan tiedetä. (Jones ja Lopez, 2014)

## 2.2 X-kromosomin inaktivaatioon liittyvät epigeneettiset mekanismit

Epigeneettiset mekanismit ovat muutoksia kromatiinissa, jotka muokkaavat geenien ekspressiota muuttamatta kuitenkaan DNA:n sekvenssiä. Epigeneettisiä mekanismeja ovat esimerkiksi DNA:n metylaatio ja histonien modifikaatiot. DNA:n metylaatio nisäkässoluissa on epigeneettinen mekanismi, jossa siirretään metyyliryhmä sytosiinille, jolloin muodostuu 5-metyylisytosiinia. DNA:n metylaatiota katalysoi DNA metyylitransferaasit, jotka siirtävät metyyliryhmän S-adenosyylimetioniinilta sytosiinille. Suurin osa metylaatiosta tapahtuu sytosiineissa, jotka sijaitsevat DNA:ssa ennen guaniinia. DNA:n metylaation tarkoituksena on säädellä geenien ekspressiota joko houkuttelemalla geenien alaspäin säätelyyn liittyviä proteiineja tai inhiboimalla transkriptiofaktoreiden sitoutumista DNA:han. DNA:n metylaatio on oleellinen tapahtuma retroviruselementtien hiljentämisessä, kudoskohtaisessa geenien ekspression säätelyssä, geneettisessä leimaantumisessa sekä X-kromosomin inaktivaatiossa. DNA:n metylaatiolla on eri vaikutukset eri genomin kohdissa, koska sen vaikutus geeneihin riippuu metyloitavasta kohdasta. (Moore ym. 2013)

DNA:n metylaatio voi myös purkautua joko passiivisella tai aktiivisella demetylaatiolla. Passiivinen demetylaatio tapahtuu jakautuvissa soluissa, jos metylaatiota ylläpitävät elementit inhiboidaan tai ne eivät toimi kunnolla, jolloin uuden DNA-juosteen sytosiini jää metyloimattomaksi. Aktiivinen

demetylaatio taas vaatii entsymaattisia reaktioita, jotta sytosiinista saadaan metyyliryhmä pois. Nisäkässoluissa ei ole vielä kuitenkaan löydetty mekanismia, joka saisi irrotettua metyyliryhmän sytosiinista suoraan, vaan demetylaatio tapahtuu sarjalla kemiallisia reaktioita, jotka muovaavat 5-metyylisytosiinia deaminaatio- ja hapettumisreaktioilla, jolloin DNA:n korjausmekanismit tunnistavat sen ja korvaavat sen sytosiinilla. (Moore ym. 2013)

DNA:n metylaatio ei ole ainoa X-kromosomin inaktivaatioon osallistuva epigeneettinen mekanismi, vaan se säätelee transkriptiota yhdessä histonimodifikaatioiden ja mikroRNA:iden kanssa. Eukaryooteilla histoniproteiinien tarkoitus on pakata pitkät DNA-juosteet pieneen tilaan tumassa. Metylaatiota katalysoivat entsyymit tekevät yhteistyötä histonimodifikaatioita tekevien entsyymien kanssa hiljentääkseen geenien ekspressiota. Histonimodifikaatiot voivat myös vaikuttaa DNA:n metylaatioon joko stimuloimalla metyylitransferaasiaktiivisuutta tai estämällä DNA:n metylaatiota. MikroRNA:t ovat lyhyitä yksijuosteisia RNA:ita, jotka puolestaan liittyvät mikroRNA:n indusoimaan hiljennyskompleksiin ja vähentävät geenien ekspressiota joko inhiboimalla translaatiota tai lisäämällä RNA:iden pilkkoutumista solussa. MikroRNA:t voivat myös säädellä histonimodifikaatiota ja metylaatiota katalysoivia entsyymejä, ja sitä kautta myös DNA:n metylaatiota. (Moore ym. 2013)

DNA:n metylaation, histonimodifikaatioiden ja mikroRNA:iden lisäksi X-kromosomin inaktivaatioon osallistuu pitkiä ei-koodaavia RNA:ita. Pitkät ei koodaavat RNA:t, eli lncRNA:t, ovat yli 200 nukleotidiä pitkiä transkriptejä, joilla ei ole kykyä koodata proteiinituotteita. Uskotaan että noin 98–99 % ei-koodaavista alueista ihmisen genomissa transkriptoi lncRNA:ita, kuten myös monet muut geenialueet, kuten geenien väliset alueet sekä eksonit koodattuna antisense suuntaan eli toiseen suuntaan verrattuna proteiinia koodaavaan geeniin. Tutkimuksissa on löytynyt todisteita lncRNA:iden toiminnasta tärkeinä säätelytekijöinä solun tapahtumissa, kuten proliferaatiossa, erilaistumisessa, apoptoosissa, liikkumisessa ja muihin kudoksiin tunkeutumisessa. Pitkät ei-koodaavat RNA:t säätelevät solun toimintaa säätelemällä kohdegeenien ekspressiotasoja epigeneettisen säätelyn, transkription ja transkription jälkeisten muokkauksien kautta. (Wang ym. 2021)

## 2.3 Inaktivoidun X-kromosomin rakenne

Inaktivoituneen X-kromosomin kromatiinia kutsutaan Barrin kappaleeksi, joka on kondensoitunutta heterokromatiinia, jolle on tyypillistä myöhäinen replikaatio, hypermetyloituneisuus ja hypoasetyloituneet histonit (Brown ja Robinson, 2000). Inaktivoidun X-kromosomin kromatiinin rakenne myös näyttää erilaiselta kuin aktiivisen X-kromosomin. Inaktivoidun X-kromosomin pinta on tasaisempi, kun taas aktiivinen X-kromosomi vie enemmän tilaa ja on pinnaltaan epäsäännöllisempi. Vaikka inaktivoitu X-kromosomi on tiukemmin pakkautuneempi kuin aktiivinen X-kromosomi, sen kokonaispakkautuminen on vain 1,2 kertaa suurempi kuin aktiivisella X-kromosomilla. Geenirikkaat

alueet kromatiinissa ovat kuitenkin huomattavasti tiukemmin pakattuja kuin aktiivisessa X-kromosomissa. (Jégu ym. 2017)

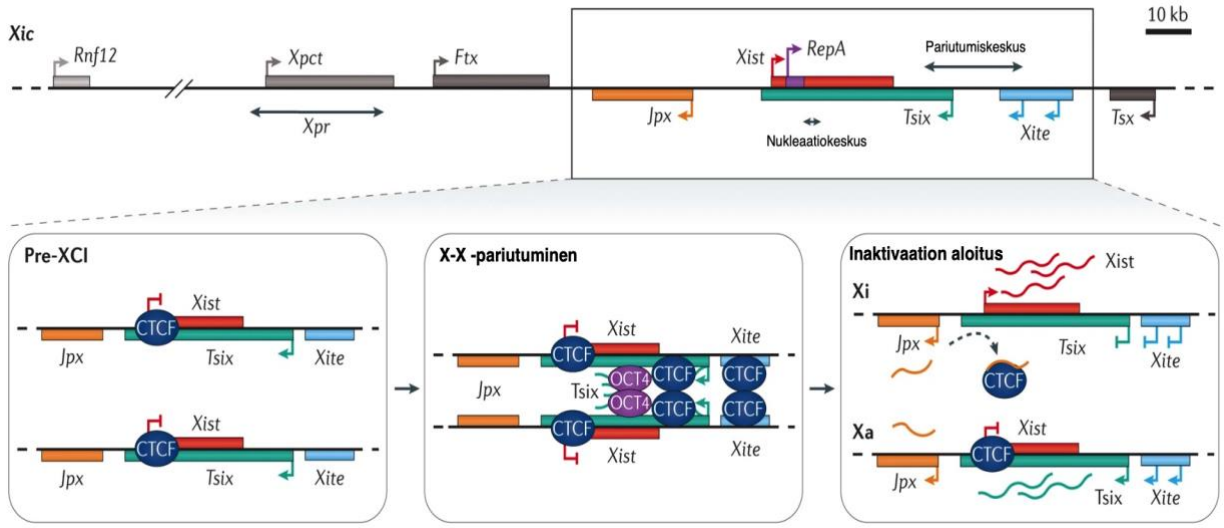
X-kromosomin inaktivaatiota säädellään useilla eri tavoilla solussa. Antisense-pari ei-koodaavaa RNA:ta, nimeltään Xist (X-inactive specific transcript) ja Tsix ovat tärkein säätelijä X-kromosomin sattumanvaraisessa inaktivoinnissa. Xist on ryhmä 15 000-20 000 nukleotidiä pitkiä sekvenssejä X-kromosomin inaktivaatiokeskuksessa kromosomissa Xq13.2, ja sen geeni sijaitsee 15 kiloemästä alavirtaan Tsix:in templaattijuosteesta, (Wang ym. 2021). Tsix:iä transkriptoidaan kaikissa aktiivisissa X-kromosomeissa molemmilla sukupuolilla, ja kun inaktivaation käynnistävä signaali välitetään, Xist:iä ja Tsix:iä säädellään riippuen siitä, onko kyseessä X-kromosomi, joka jää aktiiviseksi eli $X_A$, vai inaktivoitava X-kromosomi $X_I$. Inaktivoitavassa kromosomissa Xist transkriptit leviää *in cis* niiden synteesipaikalta päällystämään koko kromosomin ja aloittamaan kromosomissa tapahtuvan transkription hiljentämisen. Tsix hiljennetään $X_I$-kromosomissa, jotta Xist pääsee toimimaan X-kromosomin inaktivaation aloittajana. Xist:in ja Tsix:in transkriptio jatkuu vielä lyhyen aikaa toisen kromosomin hiljentämisen jälkeen $X_A$-kromosomissa, jonka jälkeen se sammutetaan. Xist-RNA jatkaa X-kromosomin päällystämistä tulevissa solunjakautumisissa, ja näin edesauttaa inaktivaation pysyvyyttä soluissa. (Panning 2008)

Tutkimuksissa on löydetty, että X-kromosomin inaktivaatiota säätelisi yksi inaktivaatiokohta X-kromosomissa, joka tekee kaiken kromosomien laskemisesta ja inaktivoitavan kromosomin valinnasta hiljentämisen aloittamiseen. (Lee 2011) Tämä inaktivaatiokohta koostuu X-linkatuista elementeistä muutaman sadan kiloemäksen säteellä Xist geenin ympärillä, jotka yhdessä muodostavat X-inaktivaatiokeskuksen eli Xic:in. (Clerc ja Avner, 2006) Xic koostuu ihmisellä 2,3 miljoonan emäsparin kokoisesta alueesta X-kromosomissa, ja sisältää klusterin ei-koodaavien RNA:iden, kuten esimerkiksi Jpx:n, Xist:in, Tsix:in ja Xite:n, lokuksia (Wang ym. 2021).

Xist:in ja Tsix:in yhteisen säätelyn mekanismeja ei tarkkaan tiedetä. DNA metylaatio saattaa olla mukana molempien RNA:iden negatiivisessa säätelyssä, ja alkion kantasoluilla tehdyssä tutkimuksessa on selvitetty, että Xist:in transkriptiokohdan vieressä DNA on vahvasti metyloitunutta. Kahdessa kantasolulinjoista oli Xist promoottoreissa mutaatioita, jotka aiheuttivat Xist:in yliaktiivisuuden, ja näissä kohdissa oli havaittavissa myös hypometylaatiota. Näiden tulosten perusteella Xist:in DNA:n metylaatiotasolla ja Xist:in aktiivisuudella soluissa on yhteys, mutta siitä aktivoiko Xist:in aktiivisuus demetylaation vai toisinpäin ei ole tietoa. Xist ja Tsix myös säätelevät toisiaan negatiivisesti, joten myös Tsix:in aktiivisuus vaikuttaa Xist:in metylaatioon ja aktiivisuuden vähentymiseen. (Panning 2008)

Toinen tapa, jolla X-kromosomin inaktivaatiota säädellään Xist:in ja Tsix:in lisäksi on ns. laskutapahtuma, jossa X-kromosomien ja autosomien suhde mitataan ja X-kromosomin inaktivaatio

aloitetaan kaikissa muissa paitsi yhdessä kromosomissa. Tämän säännön mukaan X0- tai XY-kromosomistoisilla henkilöillä X-kromosomia ei inaktivoida, XX- tai XXY-kromosomistoisilla henkilöillä inaktivaatio tapahtuu yhdelle X-kromosomille jokaisessa solussa, ja XXX-kromosomistoisilla henkilöillä kaksi X-kromosomia inaktivoidaan. (Lee, 2011) Pitkien ei-koodaavien RNA:iden ajatellaan olevan osana laskutapahtumaa. Sitä, miten lasku käytännössä tapahtuu, ei vielä tarkkaan tiedetä, mutta pitkän ei-koodaava RNA:n Jpx:n on tutkimuksissa huomattu mahdollisesti vaikuttavan laskutapahtumaan hiirillä. Sitä transkriptoidaan Xic:in lokuksessa Xist:istä ylävirtaan, ja se on konservoitunut istukallisilla eläimillä. X-inaktivaatiokeskuksen rakenteen pystyy näkemään kuvassa 1. Geneettisessä analyysissä on selvinnyt, että Jpx RNA toimii Xist:in aktivaattorina sikiön kantasoluissa, ja Xist:in aktiivisuus riippuu Jpx:n määrästä niin, että yhden alleelin poistaminen aiheuttaa Xist:in aktiivisuuden vähentymisen ja useammat kopiot Jpx:stä johtavat Xist:in transkription lisääntymiseen. Lisäanalyysit ovat osoittaneet, että Jpx toimii poistamalla Xist:in promoottorista CCCTC-sitoutumisfaktorin eli CTCF:n (CCCTC-binding factor), joka on proteiini, joka toimii kromatiinin säätelyssä ja kromatiinin eristäjänä. Xist:in transkription aktiivisuus riippuukin Jpx RNA:n ja CTCF proteiinin dynaamisesta tasapainosta solussa. (Jégu ym. 2017)




**Kuva 1.** *X-inaktivaatiokeskus eli Xic hiirellä. Ei-koodaavat geenit, jotka säätelevät X-kromosomin inaktivaatiota on merkitty väreillä ja geenit, jotka ovat mahdollisia säätelytekijöitä on merkitty harmaalla. Ennen X-kromosomin inaktivaatiota CTCF, joka toimii kromatiinin säätelyssä, on kiinni Xist:in promoottorialueessa. X-kromosomien pariutuminen tapahtuu CTCF:n ja OCT4:n (Octamer-binding transcription factor 4) avulla, jolloin Jpx irrottaa CTCF:n Xist:in promoottorista, Xist:iä aletaan transkriptoimaan inaktivoitavassa X-kromosomissa ja X-kromosomin inaktivaatio pääsee alkamaan. Tsix:iä puolestaan transkriptoidaan aktiiviseksi jäävässä X-kromosomissa. (muokattu lähteestä Jégu ym. 2017)*

## 2.4 X-kromosomin inaktivaatio prosessina

X-kromosomin inaktivaatio on prosessi, jonka aikana toinen X-kromosomeista hiljennetään kaikissa soluissa sattumanvaraisesti kehityksen aikana, jolloin saadaan tasoitettua geenituotteiden määrä XX-kromosomistoisten ja XY-kromosomistoisten yksilöiden välillä (Panning 2008). X- ja Y-kromosomien välisen geenimäärän eron tasaamiseksi täytyy olla menetelmä, jonka tarkoituksena on sekä tasapainottaa X-kromosomien geenien ekspressiota autosomien välillä, että tasata X-kromosomin sisältämien geenien ekspressiota sukupuolten välillä. Tästä syystä naisilla toinen X-kromosomeista inaktivoidaan sattumanvaraisesti kaikissa soluissa, jolloin ekspressoitavien geenien määrä on lähtökohtaisesti molemmilla sukupuolilla suunnilleen sama. (Snell ja Turner, 2018)

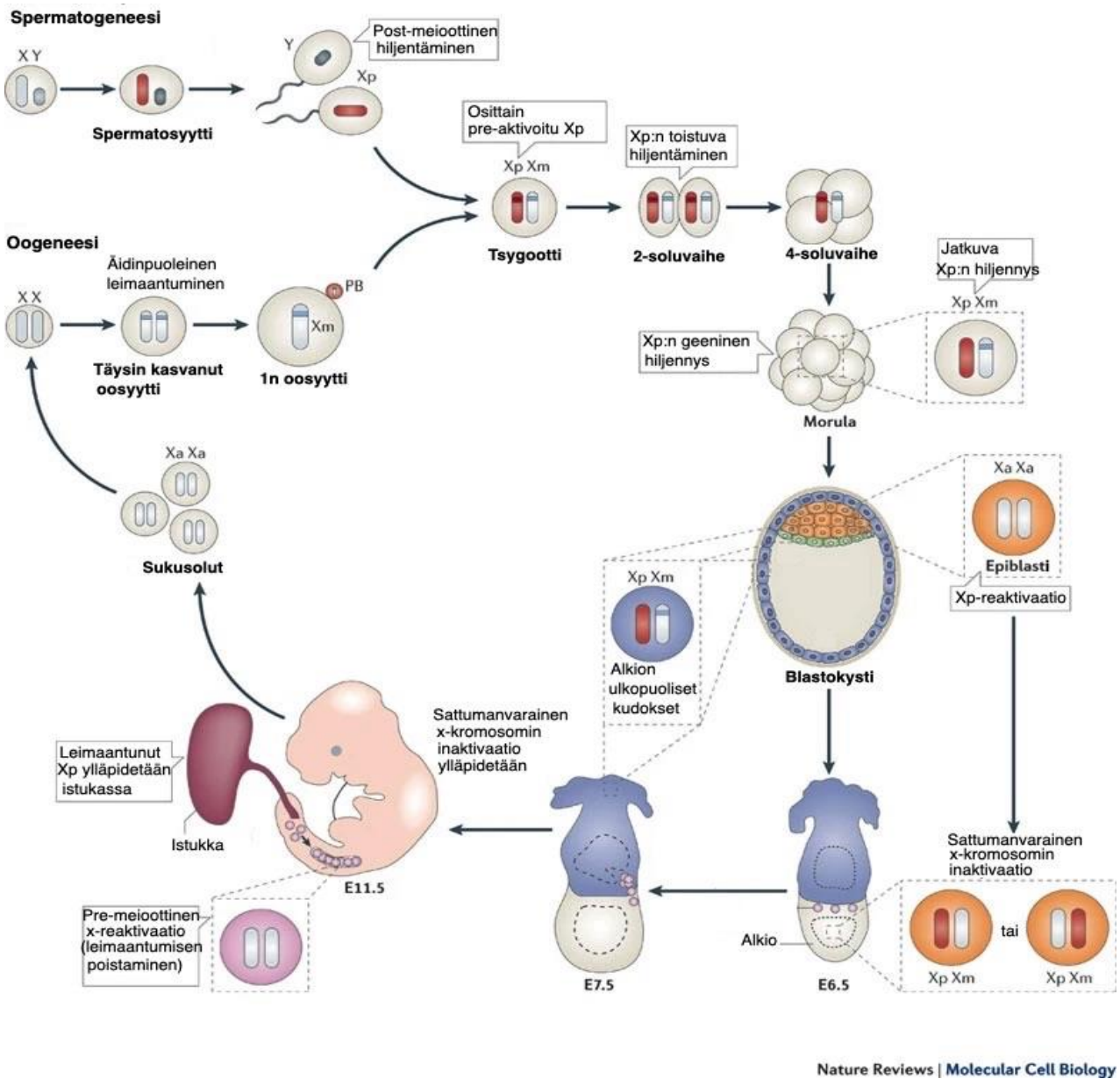
X-kromosomin inaktivaatio ei ole yksi prosessi, vaan se tapahtuu sykleissä ja sisältää monta kierrosta inaktivaatiota ja reaktivaatiota. X-kromosomin inaktivaatio alkaa sekä oogeneesissä, joka on prosessi, jossa muodostuu naisen sukusoluja, että spermiogeneesissä, joka on viimeinen vaihe spermatogeneesissä, joka on prosessi, jossa muodostuu siittiöitä. Useimmilla eläimillä X-kromosomin inaktivaatio on alussa leimaantunut prosessi, jossa ensin inaktivoidaan isältä peritty X-kromosomi, jonka jälkeen epiblastivaiheessa inaktivaatio puretaan ja X-kromosomi inaktivoidaan uudelleen, jolloin kummalta tahansa vanhemmalta saatu X-kromosomi voi päätyä inaktivoiduksi. Tämä X-kromosomin inaktivaatio on pysyvä, ja aiheuttaa sen, että jokainen nisäkäsnaaras muodostuu soluista, joissa jompikumpi X-kromosomi on aina hiljennetty. (Lee 2011)

Suurimmalla osalla istukallisista eläimistä on kahdenlaista X-kromosomin inaktivaatiota, joista toinen on alkion kehityksen alussa tapahtuva leimaantunut X-kromosomin inaktivaatio ja toinen on muulloin kehityksen aikana tapahtuva X-kromosomin sattumanvarainen inaktivaatio. Ihmisillä ei kuitenkaan todennäköisesti tapahdu leimaantunutta X-kromosomin inaktivaatiota, vaan ihmisillä on oma mekanisminsa, X-kromosomin vaimentaminen eli XCD (X-chromosome dampening). (Wang ym. 2021) Tätä mekanismia ei ole vielä löydetty muilta nisäkkäiltä. Alkionkehityksen alussa ihmisillä molempien X-kromosomien transkriptio vaimennetaan mutta ei hiljennetä kokonaan, ja tämä toimii X-kromosomin inaktivaation tilalla ennen myöhemmin yksilönkehityksessä tapahtuvaa sattumanvaraista inaktivaatiota. Ihmisalkiot osoittavat X-kromosomin geenien vaimenemista alkionkehityksen päivinä 4–7, ja tämä korreloi Xist:in määrän lisääntymiseen alkiossa. Tarkkaa ajankohtaa sille, milloin Xist alkaa hiljentämään vain toista X-kromosomia ei tiedetä, mutta ajankohta on todennäköisesti hyvin tarkkaan määritelty, koska molempien X-kromosomien inaktiivisuus aiheuttaisi suurimman osan X-kromosomin geenituotteiden puuttumisen ja yksilön kuoleman. Myöskään XCD:tä sääteleviä molekulaarisia mekanismeja ei vielä tunneta. (Sahakyan ym., 2018)

XCD:n olemassaoloa vastaan on kuitenkin osoitettu vahvaa kritiikkiä. XCD löydettiin alun perin ihmisen naiiveista pluripotenteista kantasoluista, kun huomattiin että molempien X-kromosomien

aktiivisuutta hiljennetään. Sahakyanin ym. (2018) tutkimuksessa todettiin X-kromosomin vaimentamista kun ihmisen pluripotentteja kantasoluja muutettiin implantaation jälkeisestä tilasta naiiviin tilaan in vitro. On esitetty, että ihmisen naiivit pluripotentit kantasolut eivät ole verrattavissa siihen mitä tapahtuu alkionkehityksessä ja alkion blastokysteissä. Blastokystien ja naiivien pluripotenttien kantasolujen Xist:in määrän on tutkimuksissa todettu olevan eri, jolloin niitä ei voi X-kromosomin inaktivaation tutkimiseksi verrata. Sahakyanin ym. (2018) tutkimuksessa ei myöskään ole otettu huomioon aktiivisen X-kromosomin ylöspäin säädeltyä tilaa, jonka olemassaolosta on saatu useita todisteita, jolloin tulokset voivat vääristyä. Onkin esitetty, että kyseessä onkin X-kromosomin geenien ekspression vaimeneminen hetkellisesti, mikä johtuu aktiivisen X-kromosomin muutoksesta ylöspäin säädellystä tilasta aktiiviseen tilaan (Kaur ym. 2020). Mandalin ym. (2020) tutkimuksessaan tekemä yksisoluanalyysi tukee tätä väitettä, ja he tulevatkin siihen tulokseen, että aktiivisen X-kromosomin ylöspäin säätelyn lopettaminen johtaa X-kromosomin geenien ekspression hetkelliseen vaimenemiseen (Mandal ym. 2020).

Muilla nisäkkäillä X-kromosomin inaktivaatio alkaa spermiogeneesin meioosissa, kun sekä X- että Y-kromosomin ei-homologiset alueet inaktivoidaan, luultavasti siksi että ei-homologisessa kromatiinissa ei tapahtuisi rekombinaatiota. X-kromosomin inaktivaation sykli spermiogeneesin meioosissa ja yksilönkehityksessä on esitetty kuvassa 2. X-kromosomin kromatiinista osa pysyy inaktivoituneena spermiogeneesin ajan ja X-kromosomi onkin valmiiksi osaksi inaktivoitunut hedelmöitysvaiheessa. Preimplantaatiovaiheessa isältä perittyä X-kromosomia inaktivoidaan lisää ja varhaisessa blastokystivaiheessa koko isältä saatu X-kromosomi on inaktivoituna. Tämän jälkeen peri-implantaatiovaiheessa X-kromosomin inaktivaatio puretaan ja tehdään uusi inaktivaatiokierros, tällä kertaa riippumatta siitä kummalta vanhemmalta X-kromosomi on peräisin. Tämä sattumanvaraisesti tapahtuva toisen X-kromosomin inaktivaatio epiblastissa on yhteydessä tsygootin jakautumisessa kolmeen alkiokerrokseen, joista muodostuvat alkion eri elimet ja sitä säädellään X-inaktivaatiokeskuksessa (Xic:issä). (Lee 2011)




**Kuva 2.** *X-kromosomin inaktivaation sykli hiirellä. X-inaktivaation tapahtuminen tapahtuu sykleittäin spermiogeneesin meioosissa ja yksilönkehityksen aikana. X-kromosomi inaktivoidaan ensin spermatogeneesissä, mutta hedelmöityksen jälkeen inaktivaatio peruutetaan ja tapahtuu sattumanvarainen X-kromosomin inaktivaatio, jossa jompikumpi X-kromosomeista inaktivoidaan. Kuluneiden päivien määrä hedelmöityksen jälkeen on merkitty E:llä. (muokattu lähteestä Lee 2011)*

Juuri ennen X-kromosomin inaktivaation aloittamista X-kromosomit käyvät läpi homologisen kromosomien pariutumisen, jossa Xic ja sen sisällä sijaitsevat ei-koodaavat RNA:t Tsix ja Xite ovat pääosassa. Pariutumisen tarkkaa mekanismia ei vielä täysin tiedetä, mutta arvellaan, että pariutumisen keskuksena toimii Xic ja X-kromosomit ovat kiinni toisissaan Xic:in kohdalta. Tsix ja Xite toimivat todennäköisesti CTCF-proteiinin houkuttelussa noin 15 kiloemäksen kokoiseen pariutumiskeskukseen, jossa CTCF-proteiini säätelee kromosomien laskutapahtumaa, alleelien

pariutumista ja valintaa sekä X-kromosomien kolmiulotteista rakennetta. Kromosomien pariutumisen jälkeen X-kromosomeista toinen lopulta inaktivoidaan. X-X -kromosomipariutumisen merkityksestä X-kromosomin inaktivaatiolle ei ole vielä varmuutta (Jégu ym., 2017). Xist toimii X-kromosomin inaktivoinnissa houkuttelemalla proteiinikomplekseja uudelleenohjelmoimaan kromosomeja ja toimii näin inaktivoinnin mahdollistajana (Wang ym. 2021).

Inaktivoitavassa X-kromosomissa ekspressoitava Xist päällystää X-kromosomin ja sen leviäminen koko kromosomin alueelle aiheuttaa koko kromosomin laajuisen hiljentämisen. Ennen tätä levittäytymistä Xist RNA:n täytyy sitoutua Xist geeniin, jotta se voidaan säilyttää inaktivoidussa X-kromosomissa. Tämä sitoutuminen tapahtuu transkriptiofaktori YY1:den avulla, joka sitoutuu Xist-geenin ensimmäisen eksonin nukleaatiokohtaan ja kiinnittää Xist RNA:n itsensä välityksellä DNA:han. Ilman tätä nukleaatiotapahtumaa Xist RNA vapautetaan transkriptiokohdasta eikä se voi levittäytyä X-kromosomia pitkin ja inaktivoida koko kromosomia. Ei ole vielä selvillä miksi YY1 ja Xist eivät sitoudu DNA:han aktiiviseksi jäävässä X-kromosomissa, mutta DNA:n metylaation eroja X-kromosomien välillä on esitetty selittäväksi tekijäksi. (Jégu ym. 2017)

## 2.5 Inaktivoitu X-kromosomi aikuisilla

X-kromosomin inaktivaatiota pidetään yllä yksilön soluissa solunjakautumisten aikana. X-kromosomin inaktivaation ylläpitäminen ja periytyminen tytärsoluille johtaa mosaikisimiin naisilla X-kromosomin suhteen, mikä voidaan havaita heterotsygoottisilla naisilla pieninä laikkuina soluja, joissa on sama X-kromosomi aktiivisena. Ihmisillä nämä laikut eivät näy, mutta esimerkiksi punamustilla kissoilla voidaan nämä laikut nähdä ihan fyysisestikin turkin värityksessä. Jos inaktivaatio ei tapahdu sattumanvaraisesti, se saattaa johtaa resessiivisten alleelien ekspressioon kyseisen alleelin suhteen heterotsygooteilla naisilla. Ei-sattumanvarainen X-kromosomin inaktivaatio voi olla seurausta mutaatiosta Xist tai Tsix-geenissä tai muutoksista X:ää kontrolloivassa elementissä eli XCE:ssä, joka on alue X-inaktivaatiokeskuksessa. Esimerkiksi yksi sekvenssivariaatio ihmisen Xist-geenin promoottorissa, jossa C muuttuu G:ksi, johtaa melkein täydelliseen kromosomin inaktivaatioon osalla ihmisistä. Jotkut tulokset tosin heittelevät täydellisestä toisen kromosomin inaktivaatiosta vain hieman vinoutuneeseen inaktivaatioon. Alleelierot XCE:ssä hiirillä johtaa 20–30 % vinoumaan sattumanvaraisessa inaktivaatiossa. Ihmisillä on saatu todisteita XCE:n vaikutuksesta, kun samassa suvussa useilla naisilla inaktivaatio on huomattavan vinoutunutta, mutta se voi johtua XCE:n sijaan luonnonvalinnasta X-kromosomissa periytyvää letaalia mutaatiota vastaan. (Brown ja Robinson, 2000)

Inaktivaation ylläpitämiseksi soluissa Xist päällystää inaktivoitua X-kromosomia, ja Xist:iä esiintyy vaihtelevassa määrin koko inaktivoidun X-kromosomin matkalta, ja sen määrä korreloi histonissa 3 olevan lysiinin numero 27 metylaatiotasojen kanssa. Lisäksi geenien Orc2 (origin recognition

complex 2) ja HP1, sekä epigeneettiseen muokkaukseen osallistuvan rakenneproteiinin SMCHD1:en (structural maintenance of chromosomes hinge domain containing 1) on epäilty osallistuvan X-kromosomin inaktivaation ylläpitämiseen. Ainoat solut, joissa inaktivaation aikana tapahtuneita epigeneettisiä muutoksia ei ylläpidetä ovat alkuitusolut, joista muodostuu sukusoluja. (Chuaire-Noack ym. 2014)

X-kromosomin inaktivaatio ihmisellä on somaattisissa soluissa stabiilia, ja esimerkiksi Xist geenin ekspression katoaminen ei peruuta inaktivaatiota. Somaattisissa soluissa yksittäisten muissa kromosomeissa sijaitsevien geenien ekspressiota ei kuitenkaan ylläpidetä yhtä stabiilisti ja se on altis demetylaatiolle (hybridisolut). Inaktivaation stabiilina pitäminen on siis todennäköisesti useiden kromatiinin muokkausten yhteisvaikutuksesta johtuvaa. (Brown ja Robinson, 2000) Inaktivaation stabiiliudesta huolimatta X-kromosomin geeneistä pääsevät kuitenkin karkuun inaktivaatiota. Ihmisillä noin 15 % geeneistä hiljennetyssä X-kromosomissa ovat aktiivisia, ja monet niistä ovat rykelmässä. (Lee 2011) Kun X-kromosomissa olevia geenejä pääsee karkuun inaktivaatiota, joitain geenejä ekspressoidaan naisilla miehiä enemmän, mikä johtaa myös eroihin sukupuolten välillä, mm. sairastuvuudessa ja syöpien kehittymisessä (Snell ja Turner, 2018).

X-kromosomin inaktivaatiota karkaavia geenejä on sekä pseudoautosomaalisella alueella eli PAR:illa, joka on sekvenssiltään homologinen alue X- ja Y-kromosomien välillä, että sen ulkopuolella. PAR-alue mahdollistaa mm. X-Y-pariutumisen ja rekombinaation meioosin aikana. PAR-alueen ulkopuolella noin 12 % geeneistä osoittaa johdonmukaista karkaamista, kun taas loput karkaavat vaihtelevasti eri ihmisillä ja eri kudoksissa. Ihmisillä vain noin 41 %: inaktivaatiota karkaavista geeneistä ilmennetään johdonmukaisesti molemmissa alleeleissa eri kudoksissa, ja lopuissa ilmennettävissä geeneissä on kudosten välistä vaihtelua. Muutenkin X-kromosomin inaktivaation välttäminen on joidenkin geenien kohdalla tarkasti säädeltyä ja joidenkin geenien kohdalla se vaihtelee paljon, mutta tarkkaa selitystä ei vielä tiedetä. (Snell ja Turner, 2018)

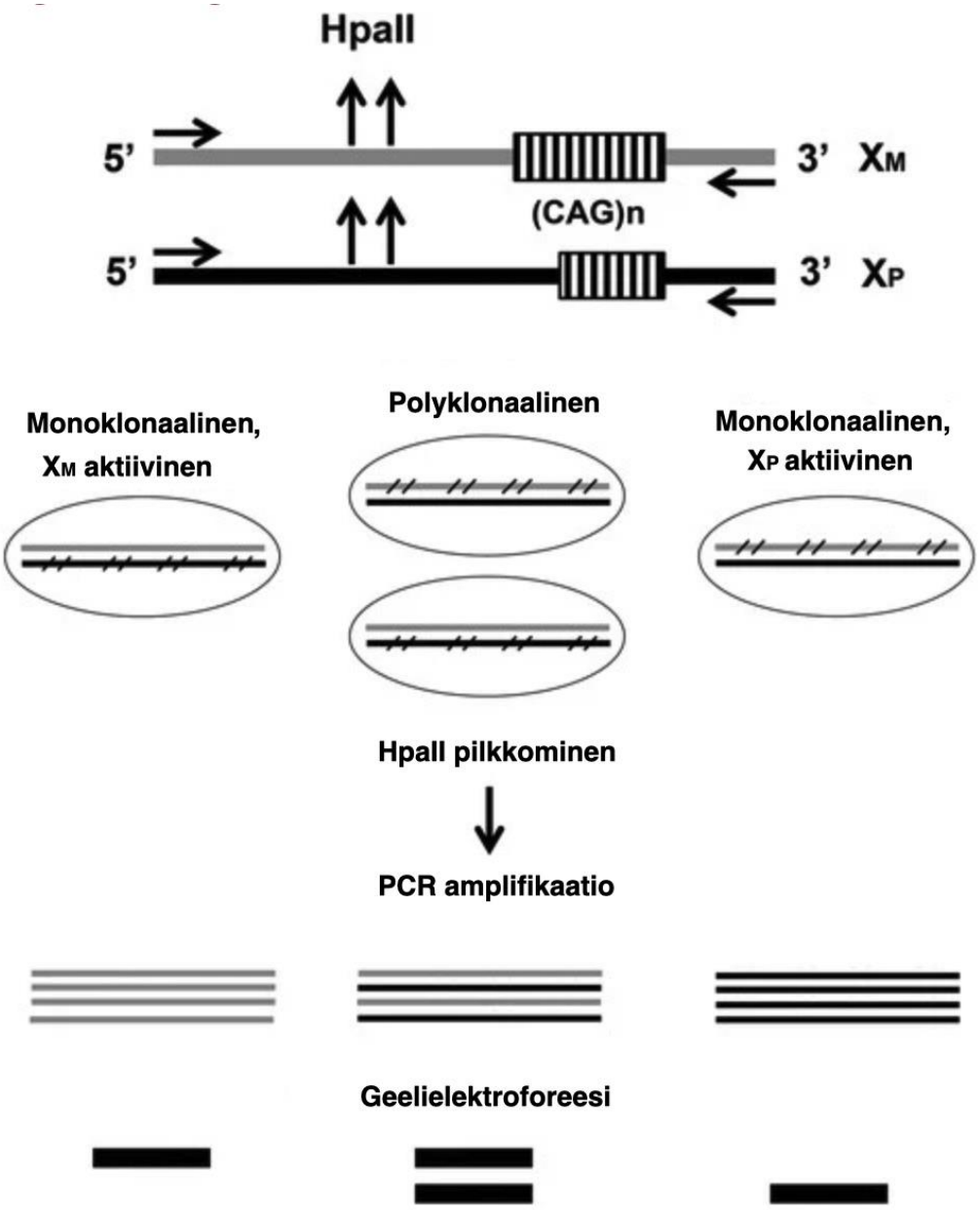
Inaktivaation välttäminen X-kromosomissa perustuu todennäköisesti kromatiinin eristeisiin, eli komplekseihin, jotka muodostuvat kromatiinin osista ja niihin liittyneistä proteiineista, jotka toimivat esteinä positiivisille tai negatiivisille signaaleille, jotka ajavat X-kromosomin inaktivaatiota, tai kromatiinin silmukoimiseen pois inaktiivisen X-kromosomin ytimestä. Myös karkaavan geenin läheisyydessä sijaitsevat cis-säätelyelementit, jotka ovat ei-koodaavaa DNA:ta ja säätelevät läheisten geenien transkriptiota, auttavat sitä välttämään hiljennystä. (Lee 2011)

## 2.6 X-kromosomin inaktivaation tutkiminen

On olemassa useita tutkimusmenetelmiä, jotka yhdistävät X-kromosomissa esiintyvät polymorfismit inaktiivisen ja aktiivisen X-kromosomin erottaviin piirteisiin, jotta saadaan selvitettyä mm. X-

kromosomin inaktivaation vinoutumista soluissa. Useat näistä menetelmistä perustuvat polymeraasiketjureaktioon, eli PCR-reaktioon, ja yleensä niissä tutkitaan joko kromatiinin metylaatiota, jonkin geenin ekspressiota, tai molempia. Tutkimusmenetelmät, joilla tutkitaan metylaatiota, tarvitsevat tutkittavan yksilön DNA:ta, kun taas ekspression tutkimiseen tarvitaan sekä DNA:ta että RNA:ta. DNA:ta tarvitaan, jotta voidaan selvittää, onko yksilö homotsygootti vai heterotsygootti tutkittavan alleelin suhteen sekä luoda kontrolli alleelien intensiteetille, kun taas RNA:ta tarvitaan, jotta voidaan tutkia ekspressiotasoja solussa. Usein DNA ja RNA otetaan tutkittavan yksilön verestä, koska se on helpoin tapa, mutta inaktivaation vinoutumisessa saattaa olla kudosten välillä eroja, jotka jäävät huomaamatta. Tästä syystä DNA- tai RNA-näytteitä saatetaan ottaa joissain tutkimuksissa myös muista kudoksista. (Brown & Robinson, 2000)

HUMARA (Human androgen receptor assay) on menetelmä, jolla tutkitaan metylaation määrää X-kromosomin HUMARA geenissä, ja sitä käytetään paljon mm. X-kromosomin inaktivaation tutkimiseen. HUMARA geeni on hyvin polymorfinen kohta, mikä mahdollistaa isältä ja äidiltä saatujen alleelien erottamisen toisistaan CAG-toistojen määrän avulla. Assay perustuu DNA:n pilkkomiseen HpaII restriktioentsyymillä, joka pilkkoo ei-metyloituneen alleelin tunnistamalla CCGG-sekvenssin HUMARA geenissä. Tämän jälkeen metyloitunutta pilkkomatonta alleelia monistetaan PCR:llä. Näyte analysoidaan elektroforeesilla, jotta saadaan selville alleelin pituus ja intensiteetti. (Clerc ja Avner, 2006) X-kromosomin inaktivaation tapauksessa HUMARA assaylla saadaan selville kumpi X-kromosomi solussa on aktiivisena eli ei-metyloituneena HUMARA-geenin kohdalta sillä perusteella kumman vanhemman alleeli PCR:ssä monistui. Kuvassa 3 näkyy HUMARA assay:n perusperiaate. (Comertpay ym. 2014)




**Kuva 3.** *HUMARA assay kaavakuva. $X_M$ on äidiltä peritty X-kromosomi, ja $X_P$ on isältä peritty X-kromosomi. HUMARA assayssa DNA pilkotaan HpaII-restriktioentsyymillä, joka pilkkoo ei-metyloituneen DNA:n. Tämän jälkeen näytteitä monistetaan ja tutkitaan geelielektroforeesilla, jolloin saadaan selville onko näytteessä aktiivisena äidiltä vai isältä peritty X-kromosomi (monoklonaalinen solupopulaatio) vai molemmat (polyklonaalinen solupopulaatio). X-kromosomin inaktivaation tutkimisen kannalta polyklonaaliset näytteet eivät kuitenkaan ole tarkoituksenmukaisia. (muokattu lähteestä Comertpay ym. 2014)*

DNA:n metylaatiota X-kromosomissa voidaan tutkia myös metylaatiosiruilla, jolloin voidaan koko genomista selvittää CpG-kohdat eli ne kohdat, joissa sytosiinin jälkeen DNA:ssa tulee guaniini, yhden nukleotidin tarkkuudella. Metylaatioanalyysien, niin metylaatiosirujen kuin HUMARA-

menetelmänkin, jälkeen saatu data prosessoidaan ja käytetään tilastollisia menetelmiä, jotta saadaan selville mikä saadusta datasta on oleellista ja tilastollisesti merkittävää. (Li ym. 2020)

Kromosomin konformaation tutkimustekniikat, joiden avulla voidaan havaita fyysisiä vuorovaikutuksia toisistaan kaukana olevien DNA sekvenssien välillä, on mahdollistanut X-kromosomin topologian tarkan selvittämisen. Esimerkiksi inaktiivisen ja aktiivisen X-kromosomin laskostuminen tumassa on pystytty selvittämään, ja on mm. selvinnyt, että aktiivinen X-kromosomi on tumassa järjestäytyneenä yli sataan topologisesti assosioituneeseen domeeniin, kun taas inaktiivinen X-kromosomi on tumassa järjestäytyneenä kahteen megadomeeniin, joilla on jatkuvaa kromosomin sisäistä vuorovaikutusta. Kromosomien järjestäytymisen avulla voidaan tutkia X-kromosomin inaktivaatiota koko kromosomin tasolla, jolloin voidaan saada myös selville esimerkiksi inaktivaatioon vaikuttavien tekijöiden, kuten Xist:in, vaikutus kromosomin konformaatioon. (Jégu ym. 2017)

# 3. X-KROMOSOMIN VAIKUTUKSET IKÄÄNTYMISEEN

## 3.1 Sukupuolten väliset erot vanhenemisessa

Vanhenemisen määrittely on joissain tapauksissa haastavaa, koska ero normaalin vanhenemisen ja sairauksien välillä on joskus vaikeaa tarkasti määrittää. Vanhenemisessa voidaan katsoa olevan biologisesti kyse ajan saatossa solujen rakenteessa ja toiminnassa tapahtuvista haitallisista muutoksista, jotka johtuvat DNA-vaurioiden kerääntymisestä, telomeerien lyhentymisestä, epigeneettisistä muutoksista sekä monista muista solujen normaalin toiminnan häiriintymistä aiheuttavista tekijöistä, kuten mitokondrioiden toiminnan häiriöt ja vähentynyt autofagia. Myös kantasolujen määrä ja toiminta vähenevät vanhenemisen myötä. DNA-vaurioita alkaa kerääntyä soluihin, koska DNA:ssa tapahtuu mutaatioita solun elämän aikana, eikä niitä kaikkia saada korjattua, jolloin mutaatiot siirtyvät aina seuraavalle solujen sukupolvelle. DNA-vaurioiden somaattisissa soluissa onkin arveltu olevan pääsyy vanhenemiselle. Telomeerit ovat toistojaksoja kromosomien päissä ja joiden tehtävä on estää kromosomin päitä vaurioitumasta. Kromosomeja ei ikinä voida kopioida päähän asti, minkä takia telomeerit lyhentyvät jokaisessa solunjakautumisessa. Telomeerien lyhentyminen on syy siihen miksi solut eivät voi jakautua ikuisesti, ja osasyy myös vanhenemiselle. Vanhenemista ei pystytä vielä tällä hetkellä mittaamaan yksiselitteisesti, joten vanhenemiseen liittyvät tutkimukset keskittyvät pääasiassa vanhenemisen mekanismeihin ja seurauksiin. (Ferrucci ym. 2020)

Kun tutkitaan ihmisten vanhenemisen genetiikkaa, puhutaan yleensä sekä siitä, miten pitkään yksilö eli, että siitä, miten pitkään yksilö oli terve ja pystyi esimerkiksi toimimaan normaalisti. Yksi tapa tutkia vanhenemista on pitkäikäiset, esimerkiksi yli satavuotiaiksi eläneet ihmiset, jolloin tutkitaan joko elinikää tai yksilöiden terveydentilaa tai molempia. (Austad ja Fischer, 2016) Geneettisten tekijöiden on todettu vaikuttavan ihmisten välisiin eroihin elinajassa noin 25 %:ssa tapauksista. Tämä näkyy etenkin vanhuudessa, yli 60 ikävuoden jälkeen. Tekijöiden, kuten telomeerien lyhentymisen sekä mutaatioiden aineenvaihdunnassa, endokriinisessa signaloinnissa ja stressireaktioiden säätelyyn vaikuttavissa geeneissä, on todettu eläinmalleissa olevan geneettisiä määrääviä tekijöitä sekä elinajan pituudessa että ikääntymisen nopeudessa ja laadussa. (Chuaire-Noack ym. 2014)

Naisten ja miesten elinajanodotteissa on nähtävillä eroja, ja naiset elävät selkeästi keskimäärin pidempään kuin miehet. Naisten elinajanodote on maailmanlaajuisesti 4,5 vuotta pidempi kuin miesten, ja kehittymättömissä maissa naiset elävät keskimäärin 2,4–3,7 vuotta ja kehittyneissä maissa 6,7 vuotta pidempään kuin miehet. (Chuaire-Noack ym. 2014) Myöskin naisten kuolleisuus on pienempi kaikissa ikäluokissa. Tästä syystä mikä tahansa saavutettu normaalia korkeampi ikä on harvinaisempi miehillä kuin naisilla, esimerkiksi 1 % 1900-luvun vaihteessa Yhdysvalloissa syntyneistä naisista eli 100-vuotiaaksi, kun taas miesten vastaava luku oli 0,1 %. (Brooks-Wilson 2013)

Mahdollisia syitä sukupuolten väliselle erolle elinajanodotteessa on hormonien ja immuunijärjestelmän erot ja se, että miehillä on vain yksi kappale X-kromosomia kromosomistossaan sekä toistaiseksi tuntemattomat tekijät. Tanskalaisilla kaksosilla tehdyn tutkimuksen mukaan perinnöllisyys eliniässä aikuisuudessa on miehillä 0,26 ja naisilla 0,23, ja eliniän perinnöllisyys kasvaa mitä vanhemmaksi elämisestä on kyse. Perinnöllisyys elää satavuotiaaksi on miehillä noin 0,48 ja naisilla 0,33. Yhdysvaltalaisessa tutkimuksessa miespuolisilla sisaruksilla oli 17-kertainen ja naispuolisilla sisaruksilla kahdeksankertainen todennäköisyys elää satavuotiaaksi verrattuna keskimääräiseen tilanteeseen, jos pitkäikäisyyttä esiintyi perheessä. (Brooks-Wilson 2013)

Miesten ja naisten välillä on eroja sairastuvuudessa, ja lisäksi naiset ja miehet sairastuvat usein eri sairauksiin. Naiset kärsivät miehiä useammin autoimmuunisairauksista, masennuksesta ja dementiasta, kun taas skitsofrenia, Parkinsonin tauti ja sydänsairaudet ovat yleisempiä miehillä. (Snell ja Turner, 2018) Se, että miehet sairastuvat sydänsairauksiin naisia useammin, on yksi selittävä tekijä naisten ja miesten elinajanodotteiden eroissa, sillä sydänsairaudet ovat yleisiä ja vakavia sairauksia, ja ne olivat esimerkiksi 2010 yleisin kuolinsyy Yhdysvalloissa. (Austad ja Fischer, 2016) Monet sairaudet joiden esiintyvyys on sukupuolittunutta on myös yhdistetty sukupuolten välisiin eroavaisuuksiin hormonierityksessä. Esimerkiksi on löydetty, että astma on yleistä pojilla ennen murrosikää, ja sen vaikutukset pienenevät murrosiässä, kun taas tytöillä ei esiinny paljoa

astmaa lapsuudessa mutta sen todennäköisyys kasvaa iän myötä, kun taas 50–65-vuotiailla naisilla, eli menopaussin jälkeen ja estrogeenitasojen laskiessa, astman esiintyvyys naisilla pienenee. Naisten riski sairastua sydänsairauksiin myös kasvaa vaihdevuosien jälkeen. Hormonierityksellä vaikuttaisi siis olevan merkitystä sairauksien puhkeamiseen, ja sitä kautta elinikään. Kuitenkin kun opitaan lisää sukupuolikromosomeista, on selvää että osa naisten ja miesten eroista johtuu geneettisistä tekijöistä. (Snell ja Turner, 2018)

## 3.2 X-kromosomin vaikutus vanhenemisessa

Eroille elinajassa naisten ja miesten välillä on useita eri teorioita. Yksi teoria on, että koska naaraat yleensä pitävät huolta jälkikasvusta, pitkään elävillä naarailla on valintaetu ja koska heidän elinaikansa on keskimäärin pidempi, he ehtivät saada enemmän jälkikasvua. Tätä teoriaa tukee se, että muutamalla lajilla, joissa urokset pitävät huolta jälkeläisistä, urosten elinikä on hieman pidempi kuin naaraiden. On olemassa myös kaksi teoriaa, jotka perustuvat periytymisen epäsymmetrisyyteen. Yksi teorioista on, että koska mitokondriot peritään aina äidiltä, niiden yhteensopivuus naaraiden kromosomiston kanssa on parempi ja tämä lyhentää urosten elinikää naaraisiin verrattuna. Toinen teoria perustuu X-kromosomien eri määrään naarailla ja uroksilla. Koska naarailla on X-kromosomeissa kaikkia geenejä kaksi mutta uroksilla vain yksi, naarailla toinen alleeli pystyy kompensoimaan jos toisen alleelin geenituotteet eivät toimi normaalisti. Tämä saattaa aiheuttaa eroja eliniässä. (Austad ja Fischer, 2016)

Ihmisillä naiset perivät yhden X-kromosomin molemmilta vanhemmiltaan, joista kumpi tahansa saattaa olla aktiivisena solussa, kun taas miehet perivät X-kromosominsa vain äidiltään, mikä saattaa johtaa erilaisiin geenilekspressioihin sukupuolten välillä, ja näin vaikuttaa esimerkiksi sairauksien puhkeamiseen. (Snell ja Turner, 2018) Naisilla toisen X-kromosomin inaktivaatio pienentää resessiivisen X-kromosomissa sijaitsevan mutanttialleelin ilmentymistä, mikä saattaa johtaa siihen, että naisilla on etulyöntiasema miehiin verrattuna, joka saattaa vaikuttaa elinkelpoisuuteen ja elinaikaan. Naisilla on kaikista X-kromosomin sisältämistä geeneistä kaksi kopiota, joten todennäköisyys että resessiivistä mutanttialleelia ei ekspressoida kasvaa. Koska miehillä X-kromosomin geenejä ekspressoidaan aina, vahingolliset sairauksia aiheuttavat alleelit X-kromosomissa ilmenevät väistämättä, mikä on osasyy miesten suurempaan kuolleisuuteen sekä kohdussa että lapsuudessa. (Chuaire-Noack ym. 2014) On myös huomattu, että monet geeneistä, jotka karkaavat inaktivaatiota X-kromosomissa ovat geenejä, joilla ei ole Y-kromosomissa homologeja, joten geenituotteiden määrässä on sukupuolten välillä X-kromosomin inaktivaatiosta huolimatta eroja. Tämä saattaa myös johtaa eroihin sairastuvuudessa, etenkin polygeenisten ja monitekijäisten sairauksien kohdalla, joista osa vaikuttaa myös vanhemmalla iällä, kuten autoimmuunisairaudet, jolloin ne vaikuttavat myös yksilön elinaikaan ja kuolleisuuteen. (Brown ja Robinson, 2000)

X-kromosomin inaktivaatio saattaa olla syynä elinajan eroissa ihmisten välillä, mutta näin ei kuitenkaan ole kaikilla eläimillä, vaan esimerkiksi useilla pussieläimillä erot elinajassa sukupuolten välillä eivät ole huomattavia. (Chuaire-Noack ym. 2014) Kuitenkin monilla eläimillä, esimerkiksi muilla nisäkkäillä, kuten kissoilla ja koirilla, on huomattu mahdollisesti pieni ero sukupuolten välisissä keskimääräisissä elinajoissa, ja naaraspuoliset yksilöt elävät näissä lajeissa hieman pidempään kuin urokset. Ihmisillä tämä ero on kuitenkin paljon suurempi, ja naisten etulyöntiasema elinajan suhteen alkaa jo muutamia viikkoja ennen syntymää. Lisäksi naisilla on esimerkiksi pienempi todennäköisyys kuolla suurimpaan osaan yleisimmistä kuolinsyistä Yhdysvalloissa, kuten sydänsairauksiin tai syöpään. Toisaalta naisilla vaikuttaisi olevan kuitenkin enemmän terveysongelmia keskimäärin elämänsä aikana, ja naiset esimerkiksi viettävätkin keskimäärin enemmän päiviä sairaalassa kuin miehet, ja joutuvat ottamaan keskimäärin enemmän lääkkeitä elämänsä aikana. (Austad ja Fischer, 2016)

## 3.3 X-kromosomin inaktivaation vinoutuminen ja elinikä

X-kromosomin inaktivaatio soluissa voi myös vinoutua. Alun perin puolissa yksilön soluissa on toiselta vanhemmalta peritty X-kromosomi ja puolissa on toiselta vanhemmalta saatu X-kromosomi. X-kromosomin inaktivaatio ei kuitenkaan ole muuttumaton, vaan vanhenemisen myötä se alkaa kallistua huomattavasti 50:50 suhteesta jompaankumpaan X-kromosomiin niin, että toinen kromosomi on inaktiivisena suuremmassa osassa soluja kuin toinen. (Ostan ym. 2016) Tällöin X-kromosomin inaktivaatio ei ole enää sattumanvaraista. Tilanteissa, joissa X-kromosomin inaktivaatio on vinoutunut, toisen vanhemman geenejä ilmennetään enemmän, mikä saattaa johtaa siihen, että naisilla esiintyy yleensä miehillä tyypillistä sairautta tai taudinkuvaa. X-kromosomin inaktivaation vinouma voi olla primaarista vinoumaa, jossa toisen X-kromosomin XCE on vahvempi, jolloin sillä on suurempi todennäköisyys pysyä aktiivisena, jolloin inaktivaatio on vinoutunutta alusta lähtien. Primaarista vinoutumista on huomattu esiintyvän hiirillä, mutta sen olemassaolosta ihmisillä on löydetty vain vähän viitteitä. Joissain tutkimuksissa on löydetty todisteita geneettisestä komponentista inaktivoitavan X-kromosomin valinnasta, mutta lisätutkimusta tarvitaan. (Snell ja Turner, 2018)

Ihmisillä on löydetty sen sijaan sekundaarista vinoumaa X-kromosomissa. Tilanteessa, jossa alussa X-kromosomin inaktivaatio on 50:50 suhteessa soluissa ja vinoumaa ei ole, soluissa toiselta vanhemmalta perityt X-kromosomit ilmentävät eri alleelia kuin toiselta vanhemmalta perityt. Näillä alleeleilla saattaa olla eri vaikutuksia solun kasvuun, ja esimerkiksi proliferaation nopeus saattaa vaihdella. Tämä johtaa kilpailuun, jossa solut joilla on kasvuetu jakaantuvat nopeammin ja leviävät suuremmalle alueelle. On todennäköistä, että sekundaarinen vinouma on hyvinkin kudoskohtaista ja normaalia terveillä yksilöillä. (Snell ja Turner, 2018)

X-kromosomin inaktivaation vinouman on tutkimuksissa huomattu kasvavan ikääntymisen myötä. Tämä näkyy etenkin verisoluissa, jossa >90 % vinouman frekvenssi on alle 3 % vastasyntyneillä, 4 % noin 30-vuotiailla naisilla ja yli 30 % yli 75-vuotiailla naisilla. On olemassa ainakin kaksi mekanismia, jotka vaikuttavat kasvavaan vinoumaan iän myötä. Ensinnäkin toista X-kromosomia saatetaan suosia inaktivoinnissa, ja toisekseen kantasoluissa tapahtuu ehtymistä ajan myötä, joka johtaa toisen X-kromosomin inaktivaation yleistymiseen. Iso osa samamunaisista kaksosista osoittaa vinoumaa saman X-kromosomin suuntaan, mikä puoltaa näkemystä siitä, että inaktivaation kallistuminen kohti toista X-kromosomia aiheutuisi valintahyödystä. Toisaalta vinouma kasvaa radikaalimmin mitä vanhemmaksi yksilö tulee, joka taas vahvistaa näkemystä siitä, että solujen ikääntymisen ja inaktivaation vinoutumisen välillä olisi yhteys. (Brown ja Robinson, 2000)

Satavuotiaaksi eläneillä ihmisillä ja heidän jälkeläisillään toteutetuissa kokeissa on tutkittu X-kromosomin inaktivaation vinoutumisen ja pitkän eliniän välistä yhteyttä. Tutkimustulokset esittävät, että mitä pienempi poikkeama tai vinouma X-kromosomien inaktivaatiossa tapahtuu tai mitä vanhempana vinoumaa alkaa tapahtua, sitä suurempi todennäköisyys elää pidempään. Tämä saattaa selittyä sillä, että mitä kauemmin isän ja äidin X-kromosomien aktiivisuus pysyy solujen välillä 50:50 suhteessa, sitä todennäköisemmin resessiivisiä mutanttialleeleja ei ekspressoida. Toisaalta, vaikka naisilla on kaikki ikäryhmät huomioon ottaen etulyöntiasema elinajan suhteen, tutkimuksissa on todettu, että yli satavuotiaaksi eläneet miehet ovat yleisesti terveempiä kuin yli satavuotiaaksi eläneet naiset. Tämä saattaa johtua geneettisistä ja immunologisista syistä, jotka vaikuttavat eri ihmisiin eri tavalla. On myös mahdollista, että näin korkeassa iässä todennäköisyys sille, että naiset ilmentävät haitallisia alleeleja on suurentunut merkittävästi johtuen nimenomaan ikään liittyvästä vinoutuneesta X-kromosomin inaktivaatiosta. (Chuaire-Noack ym. 2014)

X-kromosomin inaktivaatio on, kuten sanottua, sattumanvarainen prosessi, ja johtaa siihen, että osassa soluista on eri X-kromosomi aktivoituneena kuin toisissa. Näiden solujen yhteistoiminta määrittelee sen minkälaista fenotyyppiä ilmennetään, jolloin jos X-kromosomin inaktivaatio vinoutuu, se vaikuttaa X-kromosomeista transkriptoitavien geenituotteiden määrään yksilössä. Joidenkin X-kromosomissa periytyvien sairauksien kohdalla tällä on paljonkin väliä, esimerkiksi Hunter syndroomassa, joka on lysosomaalinen sairaus ja heterotsygoottisilla naisilla ns. terveet solut tuottavat tarpeeksi entsyymiä korvaamaan toimimattomien solujen aiheuttamaa vajetta. Ilmiön nimi on metabolinen yhteistyö, ja sitä ei tapahdu miehillä, koska X-kromosomi joko toimii normaalisti tai solut sisältävät mutanttialleelin. Saman tyyppinen mekanismi voi toimia muissakin sairauksissa ja osaltaan selittää naisten keskimäärin pidempää elinikää, etenkin kun osa tällaisista sairauksista on myöhemmällä iällä puhkeavia, kuten autoimmuunisairaudet. Tämä on lisätodiste sille, että X-kromosomin inaktivaation vinouma geneettisesti tasapainottaa haitallisia alleeleja. (Chuaire-Noack ym. 2014)

Toisaalta vaikka tulokset selvästi osoittavat, että X-kromosomin inaktivaation vinouma kasvaa iän myötä tutkittaessa eri ikäisiä ihmisiä samalla ajanhetkellä, yhtä vahvoja tuloksia ei ole saatu, kun on otettu näytteitä samoista naisista eri ajanhetkinä. X-kromosomin inaktivaatio ei näytä vinoutuvan näytteissä, joiden välissä on 18 kuukautta tai 20 vuotta. Ainoastaan tutkimuksessa, jossa näytteiden oton välissä oli kulunut 60 vuotta, saatiin näyttöä X-kromosomin inaktivaation vinoutumisesta. Tilastoanalyysillä on myös saatu tuloksia siitä, että X-kromosomin inaktivaation vinouma kyllä kasvaa iän myötä, tosin se tapahtuu hitaasti ja se ei ole yhtä radikaalia kuin miltä se joissain tutkimuksissa vaikuttaisi. X-kromosomin inaktivaatio todennäköisesti siis vinoutuu, mutta siihen vaikuttaa paljon iän lisäksi syntymäaika, koska elinolosuhteet ovat tutkimuksissa ikäryhmien välillä muuttuneet paljon. (Mengel-From ym. 2021)

## 3.4 Metylaatiomuutokset yleisesti X-kromosomissa

X-kromosomissa tapahtuu myös X-kromosomin inaktivaatioon liittymättömiä metylaatiomuutoksia, ja iso osa metylaatiomuutoksista, joita tapahtuu ikääntymisen myötä, tapahtuu nimenomaan X-kromosomissa. Ikään liittyviä metylaatiomuutoksia X-kromosomissa on havaittu tapahtuvan sekä sukupuolesta riippumatta että sukupuoleen sidotusti. Ikään liittyvät metylaatiomuutokset X-kromosomissa, jotka ovat samoja molemmilla sukupuolilla, vaikuttavat yleensä olevan metylaation lisääntymistä, ja demetylaatiota tapahtuu X-kromosomissa vähemmän. Miehille tyypilliset metylaatiomuutokset X-kromosomissa ovat myös useimmiten metylaation lisääntymistä, samoin kuin naisille tyypilliset metylaatiomuutokset. Suurempi osa sukupuolille ominaisista metylaatiomuutoksista on kuitenkin demetylaatiota verrattuna sukupuolesta riippumattomiin metylaatiomuutoksiin. Tämä näkyy etenkin naisilla, ja demetylaation määrä X-kromosomissa kasvaakin iän myötä naisilla enemmän kuin miehillä. (Li ym. 2020)

Metylaation lisääntyminen iän myötä voisi ilmiönä johtua siitä, että metylaatio leviää progressiivisesti X-kromosomissa vuosi vuodelta. Myöskin Y-kromosomin metylaation on huomattu lisääntyvän iän myötä miehillä. Autosomeissa sen sijaan ikään liittyvät metylaatiomuutokset ovat yleensä demetylaatiota. Tämä voisi viitata siihen, että sukupuolikromosomit käyvät läpi erilaisia metylaatiomuutoksia ikääntymisprosessin myötä verrattuna autosomaalisiin kromosomeihin. Tutkimustulokset myös viittaavat siihen, että X-kromosomi käy läpi suurempia metylaatiomuutoksia naisilla kuin miehillä, mutta asian varmistamiseksi tarvitaan lisää tutkimusta. (Li ym. 2020)

# 4. YHTEENVETO

X-kromosomin inaktivaatiossa tarkoituksena on inaktivoida X-kromosomeista toinen siten, että geenituotteiden määrä tasoittuu XX-kromosomistoisten ja XY-kromosomistoisten yksilöiden välillä, koska Y-kromosomi on sekä kooltaan että geenimäärältään huomattavasti pienempi kuin X-kromosomi. X-kromosomin inaktivaatioon liittyy erilaisia epigeneettisiä mekanismeja, kuten metylaatio, histonimodifikaatiot sekä pitkät ei-koodaavat RNA:t, joiden tarkoituksena on hiljentää X-kromosomissa olevien geenien transkriptiota, pakata kromatiinia tiukemmaksi heterokromatiiniksi, jolloin geenejä ei transkriptoida ja säädellä kohdegeenien ekspressiotasoja.

X-kromosomin inaktivaation säätelyssä isossa roolissa on antisense-pari ei-koodaavaa RNA:ta, Xist ja Tsix, jotka toimivat tärkeimpinä säätelijöinä inaktivaatioprosessissa. Xist on inaktivoitavassa X-kromosomissa aktiivisena, ja aloittaa X-kromosomin inaktivaation sekä jatkaa inaktiivisen X-kromosomin päällystämistä solunjakautumisissa ja pitää yllä inaktivaatiota soluissa. Tsix:iä taas transkriptoidaan aktiivisissa X-kromosomeissa ja se edesauttaa X-kromosomia pysymään aktiivisena. X-kromosomin inaktivaation säätelyssä toimii myös laskutapahtuma, joka huolehtii siitä, että oikea määrä X-kromosomeja aktivoidaan soluissa, myöskin tilanteissa, joissa kromosomeja on epätavallinen määrä, esimerkiksi XXY- tai XXX-kromosomistoissa. X-kromosomin inaktivaatio on suhteellisen pysyvää, ja sitä pidetään yllä solunjakautumistenkin aikana. Osa geeneistä kuitenkin pääsee karkaamaan inaktivaatiota, ja ihmisillä noin 15 % inaktiivisen X-kromosomin geeneistä on aktiivisia.

X-kromosomin inaktivaatio tapahtuu sykleissä, eikä sen eteneminen ole suoraviivainen prosessi vaan se sisältää useita kierroksia inaktivaatiota ja reaktivaatiota. Muilla nisäkkäillä X-kromosomin inaktivaatio toimii siten, että alkion kehityksen alussa tapahtuu leimaantunutta inaktivaatiota, jossa isältä peritty X-kromosomi inaktivoidaan. Myöhemmin kehityksessä se taas reaktivoidaan ja tapahtuu sattumanvarainen X-kromosomin inaktivaatio, jossa aktivoidaan toinen X-kromosomeista sattumanvaraisesti. Ihmisillä ei kuitenkaan välttämättä ole näin, vaan leimaantuneen inaktivaation tilalla on mahdollisesti X-kromosomin vaimentaminen, jossa molempien X-kromosomien transkriptiota vaimennetaan mutta ei inaktivoida kokonaan, ja myöhemmin yksilönkehityksessä tapahtuu varsinainen sattumanvarainen X-kromosomin inaktivaatio. Tästä ei kuitenkaan olla aivan varmoja, ja X-kromosomin vaimentaminen on saanut myös epäilevää kritiikkiä osakseen, joten asiaa täytyy tutkia enemmän.

Inaktivoidut X-kromosomit ovat alun perin jakautuneet niin, että puolissa soluissa on aktiivisena isältä peritty X-kromosomi ja puolissa äidiltä peritty, mutta iän myötä X-kromosomin inaktivaatio alkaa vinoutumaan. Tällöin toisen vanhemman geenejä ilmennetään enemmän, jolloin esimerkiksi myös

naisille voi puhjeta resessiivisenä toisessa X-kromosomissa oleva sairaus. X-kromosomin vinoutumisen on epäilty olevan yhteydessä pitkäikäisyyteen, ja tutkimuksissa on saatukin tuloksia, joiden perusteella mitä pienempää X-kromosomin vinoutuminen on tai mitä myöhempään X-kromosomin vinoutuminen alkaa tapahtua, sitä suurempi todennäköisyys elää pitkään. X-kromosomin inaktivaation vinoutuminen saattaisi osittain selittää myös ilmiötä, jossa naiset elävät keskimäärin pidempään, mutta pitkään elävät miehet ovat keskimäärin terveempiä.

X-kromosomin inaktivaatio vinoutuu naisilla väistämättä, jolloin pitkän iän saavuttaneilla naisilla on todennäköisemmin vinoumasta johtuen puhjennut sairauksia, joita taas pitkään eläneillä miehillä ei välttämättä ole. Inaktivaation vinoutuminen ei kuitenkaan välttämättä ole yhtä vahvaa kuin miltä se joissain tutkimuksissa vaikuttaa, ja esimerkiksi elämän alkuaikojen elinolosuhteet vaikuttavat X-kromosomin inaktivaation vinoutumiseen myöhemmin. Lisäksi sukupuolten välisiin eroihin vaikuttaa geneettisten tekijöiden lisäksi huomattavasti myös ympäristötekijät, ja esimerkiksi miehet ovat perinteisesti olleet fyysisesti raskaammissa ja riskialttiimmissa töissä kuin naiset, joka yksin jo selittää miesten suurempaa kuolleisuutta kaikissa ikäluokissa. Vanhenemisen ja sukupuolten välisten erojen tutkiminen ei ole helppoa, ja elinikään vaikuttaa niin monet eri tekijät, että niiden erittely voi olla vaikeaa. X-kromosomin ja sen inaktivaation vinoutumisen vaikutusta voi siis olla huomattavan vaikea tutkia ja eritellä muista elinikään vaikuttavista tekijöistä.

# LÄHDELUETTELO

Austad SN, Fischer KE. (2016). Sex Differences in Lifespan. Cell metabolism, 23(6), 1022–1033.

Bachtrog D, Mank JE, Peichel CL, ym. (2014). Sex Determination: Why So Many Ways of Doing It? PLOS Biology, 12(7), e1001899.

Brooks-Wilson AR. (2013). Genetics of healthy aging and longevity. Human Genetics, 132(12), 1323–1338.

Brown C, Robinson W. (2000). The causes and consequences of random and non-random X chromosome inactivation in humans. Clinical Genetics, 58(5), 353–363.

Chan Y, Hannema SE, Achermann JC, ym. (2019). Disorders of Sex Development. In: Williams Textbook of Endocrinology. (s. 867-936). Elsevier.

Chuaire-Noack L, Sánchez-Corredor MC, Martínez-Agüero M. (2014). Revisiting the X-Chromosome Inactivation and Its Impact on Female Longevity. Advances in Bioscience and Biotechnology, 2014.

Clerc P, Avner P. (2006). Random X-chromosome inactivation: Skewing lessons for mice and men. Current Opinion in Genetics & Development, 16(3), 246–253.

Comertpay S, Pastorino S, Tanji M, ym. (2014). Evaluation of clonal origin of malignant mesothelioma. Journal of Translational Medicine, 12(1), 301.

Ferrucci L, Gonzalez-Freire M, Fabbri E, ym. (2020). Measuring biological aging in humans: A quest. Aging Cell, 19(2), e13080.

Jégu T, Aeby E, Lee JT. (2017). The X chromosome in space. Nature Reviews Genetics, 18(6), 377–389.

Jones RE, Lopez KH. (2014). Sexual Differentiation. In: Human Reproductive Biology. (s. 87-102). Elsevier.

Kaur H, RV P, Gayen S. (2020). Dampened X-chromosomes in human pluripotent stem cells: Dampening or erasure of X-upregulation? Chromosoma, 129(2), 111–113.

Lee JT. (2011). Gracefully ageing at 50, X-chromosome inactivation becomes a paradigm for RNA and chromatin control. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 12(12), 815–826.

Li S, Lund JB, Christensen K, ym. (2020). Exploratory analysis of age and sex dependent DNA methylation patterns on the X-chromosome in whole blood samples. Genome Medicine, 12(1), 39.

Mandal S, Chandel D, Kaur H, ym. (2020). Single-Cell Analysis Reveals Partial Reactivation of X Chromosome instead of Chromosome-wide Dampening in Naive Human Pluripotent Stem Cells. Stem Cell Reports, 14(5), 745.

Mengel-From J, Lindahl-Jacobsen R, Nygaard M, ym. (2021). Skewness of X-chromosome inactivation increases with age and varies across birth cohorts in elderly Danish women. Scientific Reports, 11(1), 4326.

Moore LD, Le T, Fan G. (2013). DNA Methylation and Its Basic Function.

Neuropsychopharmacology, 38(1), 23–38.

Ostan R, Monti D, Gueresi P, ym. (2016). Gender, aging and longevity in humans: An update of an intriguing/neglected scenario paving the way to a gender-specific medicine. Clinical Science, 130(19), 1711–1725.

Panning B. (2008). X-chromosome inactivation: The molecular basis of silencing. Journal of Biology, 7(8), 30.

Quintana-Murci L, Fellous M. (2001). The human Y chromosome: The biological role of a “functional wasteland”. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 1(1), 18–24.

Sahakyan A, Yang Y, Plath K. (2018). The Role of Xist in X-Chromosome Dosage Compensation. Trends in Cell Biology, 28(12), 999–1013.

Snell DM, Turner JMA. (2018). Sex Chromosome Effects on Male–Female Differences in Mammals. Current Biology, 28(22), R1313–R1324.

Wang W, Min L, Qiu X, ym. (2021). Biological Function of Long Non-coding RNA (LncRNA) Xist. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 9.