

**ОБЗОРНЫЕ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ
СТАТЬИ**

УДК 577.21+575.22:599.9

**ЭПИМУТАЦИИ ИМПРИНТИРОВАННЫХ ГЕНОВ В ГЕНОМЕ
ЧЕЛОВЕКА: КЛАССИФИКАЦИЯ, ПРИЧИНЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ,
СВЯЗЬ С НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПАТОЛОГИЕЙ**

© 2008 г. И. Н. Лебедев, Е. А. Саженова

*Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского научного центра
Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, Томск 634050;*

e-mail: igor.lebedev@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 20.09.2007 г.

Геномный импринтинг – эпигенетический феномен, характеризующийся моноаллельной экспрессией генов в зависимости от их родительского происхождения. Молекулярную основу такой экспрессии составляют ковалентные модификации ДНК и гистоновых белков, устанавливаемые при созревании половых клеток. Аномалии формирования геномного импринтинга в гаметогенезе или его поддержания на различных этапах онтогенеза, вызванные aberrантными эпигенетическими модификациями хроматина, преимущественно нарушениями статуса метилирования ДНК, являются одной из форм мутационной изменчивости импринтированных локусов генома. В настоящем обзоре рассматривается спектр эпимутаций импринтированных генов, приводится их классификация, а также обсуждаются возможные причины возникновения и роль в этиологии наследственных заболеваний человека.

Традиционно наследственное разнообразие фенотипов у вида объясняется через изменчивость первичной структуры молекулы ДНК. Однако в последнее время интенсивно накапливаются данные, свидетельствующие о том, что определенный вклад в изменчивость фенотипических признаков могут вносить вариации в структурной организации хроматина, определяющие активное или, напротив, неактивное состояние генов без изменения их кодирующей последовательности [1–3]. Такие вариации, получившие название эпимутаций [4], представляют собой достаточно широкий спектр изменений, затрагивающих экспрессию генов. Среди них можно отметить метилирование CpG-динуклеотидов в составе ДНК, ковалентные модификации гистонов (ацетилирование, метилирование, фосфорилирование, убиквитинилирование), активность малых регуляторных и интерферирующих РНК. Со смещением акцентов в современной генетике в область функциональной геномики изучение разнообразия, механизмов возникновения и наследования эпимутаций вызывает значительный интерес. По некоторым предположениям, частота эпимутаций может на один–два порядка превышать частоту генных мутаций [5], а следовательно их вклад в наследственную изменчивость, в том числе и у человека, пока остается недооцененным.

Одной из удобных модельных систем для исследования эпимутаций является геномный импринтинг, представляющий собой эпигенетический феномен, обеспечивающий моноаллельную экспрессию генов в зависимости от их родительского происхождения [6]. Молекулярной основой поддер-

жания такой экспрессии является в основном дифференциальное метилирование промоторных регионов импринтированных локусов или регуляторных последовательностей, так называемых центров импринтинга (ЦИ), на разных родительских копиях хромосом. Дополнительно механизмы импринтинга могут обеспечиваться модификациями гистонов и активностью малых регуляторных РНК. Дифференциальное метилирование импринтированных генов или ЦИ формируется в половых клетках родителей и сохраняется в соматических клетках потомства, как правило, на протяжении всех стадий онтогенеза. Для метилированного аллеля импринтированного гена характерно отсутствие экспрессии, тогда как неметилированные аллели являются функционально активными.

Эпимутации (нарушения статуса метилирования ДНК – как один из их вариантов) могут привести к двукратному увеличению дозы импринтированного гена в случае гипометилирования неактивного в норме аллеля, тогда как гиперметилирование единственного активного аллеля, напротив, вызовет полное отсутствие продукта гена в клетке. Очевидно, что спектр эпимутаций в импринтированных локусах генома (гипо- или гиперметилирование аллелей на материнском или отцовском гомологах) оказывается более широким, чем для биаллельно экспрессирующихся генов. Если активность последних регулируется метилированием промоторного региона, то эпимутации будут ограничены гиперметилированием ДНК. Цель настоящего исследования – рассмотрение спектра эпимутаций импринтированных генов у человека (на уровне изменений статуса

метилирования ДНК), вариантов их возможной классификации, потенциальных механизмов и причин возникновения, а также роли в этиологии ряда наследственных заболеваний.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИМУТАЦИЙ И МЕХАНИЗМОВ ИХ ВОЗНИКНОВЕНИЯ

Прежде чем приступить к рассмотрению разнообразия эпимутаций импринтированных генов, необходимо отметить, что в современной литературе предложено различать первичные и вторичные эпимутации [5]. Первичные, или “истинные”, эпимутации представляют собой непосредственные модификации статуса метилирования ДНК в регуляторных областях гена, приводящие к изменениям его экспрессии без нарушения кодирующей последовательности. Вторичные эпимутации также характеризуются аберрантными модификациями хроматина, однако эти изменения обусловлены *cis*- или *trans*-мутациями в других локусах, контролирующих его эпигенетическую организацию. Примерами вторичных эпимутаций, связанных с *cis*-эффектами, являются гиперметилирование CGG-повторов в гене *FMR1* при увеличении их копий при синдроме Мартина–Белл [7] или гипометилирование 3.3 тпн тандемного повтора *D4Z4* в субтеломерном районе хромосомы 4 с уменьшением числа его копий (меньше 11) при аутосомно-доминантном синдроме – лицевой и плечелопаточной дистрофии [8]. Наиболее ярким примером *trans*-эффектов является группа хроматиновых болезней (синдромы ICF, Ретта, Коффина–Лаури, Рубинштейна–Тейби и ряд других), обусловленных мутациями в генах, кодирующих белки и ферменты, участвующие в эпигенетической реорганизации хроматина [9].

Очевидно, что в основе вторичных эпимутаций лежат мутации в генах, продукты которых контролируют транскрипционную активность хроматина. Поэтому частота вторичных эпимутаций сопоставима с частотой генных мутаций и эти изменения присутствуют, как правило, во всех клетках организма. Высказывается предположение, что в отличие от вторичных первичные эпимутации могут возникать с гораздо более высокой частотой [5]. Кроме того, первичные эпимутации могут быть ограничены отдельными клетками или тканями организма, что затрудняет их идентификацию (и соответственно оценку частоты) и обуславливает, в ряде случаев, более мягкое фенотипическое проявление.

Первичные эпимутации, не нарушая последовательности ДНК, изменяют конфигурацию хроматина, который может находиться в транскрипционно активном или неактивном состоянии. У млекопитающих эпигенетическое подавление экспрессии генов сопровождается метилированием цитозинового остатка в области CpG-динуклеотидов в промоторных регионах. С метилированными регионами

(CpG-островками) взаимодействуют метилцитозин-связывающие белки, которые мобилизуют в эти участки макромолекулярные ферментативные комплексы, что и формирует, в конечном итоге, транскрипционно неактивную структуру хроматина. Метилирование ДНК осуществляют ДНК-метилтрансферазы, катализирующие перенос метильной группы с S-аденозилметионина на остатки цитозина в CpG-последовательностях. Подробному рассмотрению вопросов установления метилирования и формирования транскрипционно неактивных хроматиновых комплексов посвящен ряд обзоров в отечественной и зарубежной литературе [9–13].

При анализе эпимутаций необходимо учитывать и онтогенетическую специфичность эпигенетических процессов на разных этапах индивидуального развития организма. Наиболее значимые изменения эпигенетической организации генома происходят при созревании половых клеток и на ранних этапах пре- и постимплантационного развития млекопитающих [14]. Совокупность закономерных и последовательных изменений характера метилирования генома в эти периоды онтогенеза получила название эпигенетического репрограммирования (рис. 1). Оно начинается в примордиальных половых клетках при их поступлении в гонады. Деметилированию подвергаются как импринтированные, так и неимпринтированные локусы генома. Такое стирание эпигенетической информации необходимо для обеспечения тотипотентности половых клеток, а также, возможно, и для удаления аберрантных эпигенотипов. Деметилированное состояние хроматина сохраняется на период остановки митоза в мужских половых клетках и мейоза в женских гаметах. При возобновлении митотического деления сперматогоний в них запускается процесс установления метилирования *de novo*, который полностью завершается к стадии пахитены мейоза I. В ооцитах же установление метилирования начинается только лишь в период их созревания и завершается к стадии метафазы II. Кроме того, при созревании половых клеток в них происходит поло-зависимое метилирование импринтированных генов.

После оплодотворения начинается вторая волна репрограммирования, которая затрагивает геном соматических клеток. Отцовские хромосомы деконденсируются, протамины в составе хроматина замещаются на гистоны и запускается быстрое активное деметилирование отцовского генома. Материнский геном претерпевает при этом более медленное пассивное деметилирование. Позднее, в период имплантации, запускается процесс метилирования *de novo*, который и приводит к формированию специфичных рисунков метилирования в тех или иных областях генома в различных клетках. Этот процесс обеспечивает тканеспецифичность генной экспрессии и является одним из ключевых механизмов клеточной дифференцировки в ходе онтогенеза. Необходимо отметить, что импринтированные гены избегают

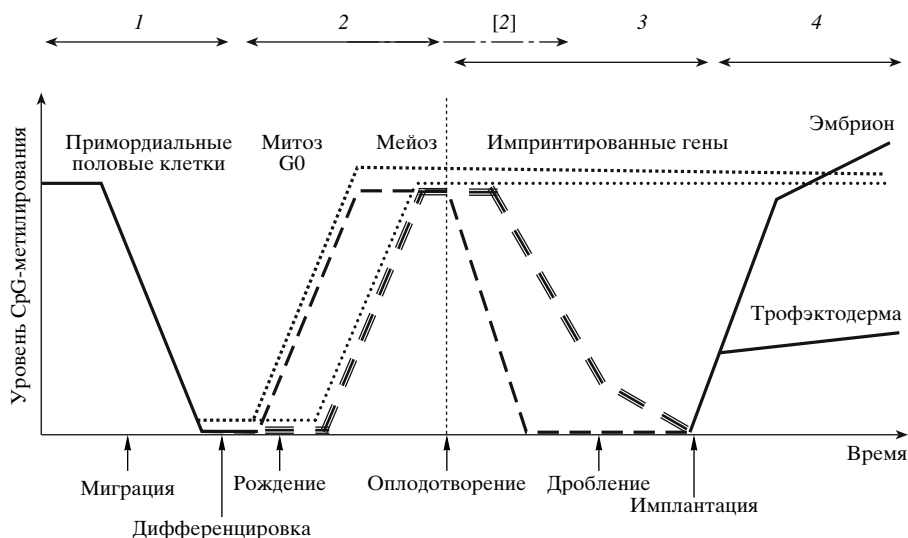


Рис. 1. Эпигенетическое репрограммирование генома. — материнский и отцовский геномы; == материнский геном (неимпринтированные локусы); — отцовский геном (неимпринтированные локусы); материнские аллели импринтированных генов; отцовские аллели импринтированных генов. Цифрами обозначены критические периоды репрограммирования импринтированных генов: 1 – стирание геномного импринтинга в примордиальных половых клетках; 2 – запись поло-специфичного импринтинга в гаметах; [2] – гипотетическое продолжение формирования импринтинга в некоторых локусах на ранних этапах постзиготического развития; 3 – постзиготическое поддержание импринтинга; 4 – поддержание импринтинга после обособления зародышевых листков.

этой волны репрограммирования в соматических клетках, сохраняя дифференциальный рисунок метилирования, наследованный от родителей.

Нарушения эпигенетического репрограммирования (отсутствие деметилирования каких-либо локусов или, напротив, aberrантное метилирование участков генома, которые в норме не должны подвергаться метилированию как в гаметах, так и в соматических клетках) могут оказывать существенное влияние на экспрессию генов и фенотипические признаки. Более того, такие эпимутации, возникшие на ранних этапах развития еще до обособления половой линии, потенциально могут быть переданы следующему поколению при условии, что они окажутся устойчивыми к репрограммированию в половых клетках. В связи с этим некоторые исследователи не исключают возможности мейотического наследования эпимутаций в ряду поколений [1, 2, 15, 16].

КЛАССИФИКАЦИЯ ЭПИМУТАЦИЙ ИМПРИНТИРОВАННЫХ ГЕНОВ

Принимая во внимание рассмотренные выше положения об эпигенетических модификациях генома, разнообразие эпимутаций импринтированных генов представляется возможным систематизировать несколькими следующими способами:

1. Классификация эпимутаций импринтированных генов по затрагиваемым локусам

1.1. Эпимутации, вызывающие тотальные нарушения геномного импринтинга на уровне целого генома.

1.2. Эпимутации в центрах импринтинга.

1.3. Эпимутации в отдельных импринтированных генах.

2. Классификация эпимутаций импринтированных генов по происхождению

2.1. Гаметические эпимутации:

2.1.1. Ошибки стирания геномного импринтинга во время гаметогенеза – сохранение метильных группировок в регуляторных областях импринтированных генов (критический период 1 на рис. 1).

2.1.2. Ошибки записи геномного импринтинга в гаметогенезе (критический период 2 на рис. 1):

2.1.2.1. Отсутствие метилирования аллелей импринтированных генов, которые в норме должны подвергаться метилированию в сперматозоидах или ооцитах.

2.1.2.2. Aberrантное метилирование аллелей импринтированных генов, которые не должны подвергаться метилированию в сперматозоидах или ооцитах.

2.2. Соматические эпимутации:

2.2.1. Нарушения защиты метилированных неэкспрессируемых аллелей импринтированных генов от деметилирования в соматических клетках при эпигенетическом репрограммировании (критический период 3 на рис. 1).

2.2.2. Аберрантное гиперметилирование экспрессируемых аллелей импринтированных генов в ходе установления *de novo* метилирования генома при его эпигенетическом репрограммировании в соматических клетках (критический период 4 на рис. 1).

2.2.3. Гиперметилирование экспрессируемых аллелей импринтированных генов в соматических клетках (критический период 4 на рис. 1).

2.2.4. Гипометилирование неэкспрессируемых аллелей импринтированных генов в соматических клетках (критический период 4 на рис. 1).

3. Классификация эпимутаций импринтированных генов по функциональной значимости

3.1. Гипометилирование неактивного материнского аллеля импринтированного гена.

3.2. Гипометилирование неактивного отцовского аллеля импринтированного гена.

3.3. Гиперметилирование активного материнского аллеля импринтированного гена.

3.4. Гиперметилирование активного отцовского аллеля импринтированного гена.

В таблице представлен спектр теоретически возможных эпимутаций, основанный на комбинации второй и третьей предложенных классификаций, и приведены примеры наследственных и онкологических заболеваний, в этиологии которых была показана роль нарушений характера метилирования импринтированных генов. Ниже эти примеры будут обсуждены в последовательности, соответствующей классификации эпимутаций по затрагиваемым локусам генома.

Эпимутации импринтинга на уровне генома

Примером эпимутаций, нарушающих активность многих импринтированных локусов в геноме, является биродительский полный пузырный занос (БППЗ, ViCHM – *Vi*parental *C*omplete *H*ydantidiform *M*ole) [17]. Как известно, классический полный пузырный занос развивается при наличии в зиготе двух геномов отцовского происхождения (андрогенетическая диплоидия) [18]. Такой кариотип формируется при оплодотворении яйцеклетки, утратившей свой геном, гаплоидным сперматозоидом с последующей дубликацией отцовского генома в зиготе. Альтернативным механизмом может являться диспермное оплодотворение ооцита, лишённого хромосомного набора вследствие аномальной сегрегации хромосом в полярные тельца. Естественно, что при таком кариотипе нарушается баланс дозы импринтированных

генов отцовского и материнского происхождения: экспрессия отцовских аллелей увеличивается в 2 раза, тогда как продукты импринтированных генов, экспрессирующихся исключительно с материнских аллелей, полностью исчезают.

В очень редких случаях (повторные пузырные заносы или семейные случаи этой патологии) типичная картина полного гидантиформного моля развивается и при нормальном биродительском диплоидном кариотипе зиготы. Установлено, что в этих случаях происходит нарушение характера метилирования импринтированных генов на разных материнских хромосомах. Так, дифференциально метилированные районы импринтированных локусов *KCNQ1OT1*, *PEG1*, *PEG3/ZIM2*, *SNURF-SNRPN*, экзон 1A и промоторный участок *NESPAS/XL α ₅* гена *GNAS1*, метилированные в норме на материнских хромосомах, при БППЗ оказываются в неметилированном состоянии [19, 20]. Высказывается предположение, что БППЗ обусловлен первичными эпимутациями, а именно глобальным нарушением метилирования импринтированных генов в ооцитах у матери (п. 2.1.2.1, здесь и далее – пункт в классификации эпимутаций) [17]. Материнские аллели импринтированных генов приобретают отцовский эпигенотип и в отношении затрагиваемых генов функционально такое состояние эквивалентно наследованию обоих аллелей от отца, как при классическом полном пузырном заносе (рис. 2).

В то же время анализ родословных с БППЗ указывает на аутосомно-рецессивный характер данной патологии [17]. Предполагается, что в основе БППЗ могут лежать мутации гена или генов, ответственных за установление геномного импринтинга в оогенезе. Одними из таких кандидатных генов могли бы быть гены ДНК-метилтрансфераз, однако их секвенирование не выявило точковых мутаций. Последующие полногеномные исследования позволили установить сцепление БППЗ с регионом 19q13.42, но конкретный ген, определяющий развитие данной патологии, пока не обнаружен. Представляется интересным, что среди 60 идентифицированных экспрессирующихся транскриптов в этом регионе есть протеин с SET-доменом, присутствующим в большинстве известных или предполагаемых гистоновых метилтрансфераз, однако точковые мутации в кодирующих регионах генов метилтрансфераз гистонов у женщин с БППЗ также не были обнаружены. Таким образом, пока нельзя полностью исключить того, что биродительский пузырный занос может оказаться результатом не первичных, а вторичных эпимутаций с *trans*-эффектом.

Эпимутации в центрах импринтинга

Большинство импринтированных генов в геноме человека расположены в кластерах и находятся под общим контролем ЦИ, который и является непосредственной мишенью метилирования.

Спектр эпимутаций импринтированных генов у человека

Тип эпимутаций		Аберрантное гипометилирование		Аберрантное гиперметилирование	
		материнского аллеля	отцовского аллеля	материнского аллеля	отцовского аллеля
Гаметические эпимутации	Ошибки стирания геномного импринтинга с сохранением метильных отпечатков (КП-1)	–	–	<i>IGF2/H19</i> (СВБ)	ЦИ-СПВ (СПВ); <i>PEG1/MEST</i> (СРС)
	Отсутствие метилирования аллелей, которые должны подвергаться метилированию (КП-2)	БППЗ; ЦИ-СПВ (СЭ); <i>LIT1</i> (СВБ, ТНСД); <i>ZAC</i> (ТНСД, СВБ)	<i>IGF2/H19</i> (СРС)	–	–
	Аберрантное метилирование аллелей, которые не должны метилироваться (КП-2)	–	–	<i>IGF2/H19</i> (СВБ)	ЦИ-СПВ (СПВ); <i>PEG1/MEST</i> (СРС)
Соматические эпимутации	Нарушение защиты метилированных (неэкспрессируемых) аллелей от деметилирования при репрограммировании генома (КП-3)	ЦИ-СПВ (мозаичные варианты СЭ); “синдром материнского гипометилирования” (мозаичные варианты ТНСД)	Частичное гипометилирование <i>IGF2/H19</i> (СРС)	–	–
	Стохастические эпимутации в соматических клетках (КП-4)	<i>LIT1</i> (карцинома пищевода, рак печени); <i>PEG3</i> (хорионкарцинома)	<i>P73</i> (карцинома почек, рак легкого)	<i>IGF2/H19</i> (широкий спектр опухолей – см. текст); <i>P73</i> (острая лейкемия, лимфома Беркитта); <i>GTL2</i> (карцинома почек)	ЦИ-СПВ (мозаичные варианты СПВ); <i>PEG3</i> (рак шейки матки и эндометрия); <i>ZAC</i> (рак яичников)

Примечание. Прочерк означает, что данного типа мутации не существует. КП – критические периоды в соответствии с рис. 1. Аббревиатура синдромов расшифровывается в тексте.

ЦИ метилирован на одном из двух родительских аллелей. В формирование поло-специфичного метилирования вовлечены последовательности ДНК, окружающие ЦИ, и негистоновые белки. Первичные эпимутации на уровне кластера импринтированных генов затрагивают ЦИ, который в этих случаях подвергается либо гипо-, либо гиперметилированию. В геноме человека известны два крупных кластера импринтированных генов – это прицентромерная область длинного плеча хромосомы 15 (15q11-q13) и теломерный регион короткого плеча хромосомы 11 (11p15.5).

Кластер на хромосоме 15 содержит не менее 14 импринтированных последовательностей [<http://fgc.otago.ac.nz/home.html>]*. Часть из них транскрибируется только с отцовской хромосомы (*MKRN3*, *MAGEL2*, *NDN*, *SNURF-SNRPN*, *HVII-436*, *HVII-13*, *HVII-437*, *HVII-438A*, *PWCRI*, *HVII-52*, *HVII-438A*, *UBE3A-AS*). Ближе к теломере располагаются два других гена (*UBE3A* и *ATP10A*), экспрессирующихся в некоторых тканях преимущественно с материнской хромосомы [21]. Мутации импринтированных генов в 15q11-q13 являются этиологической основой синдромов Прадера–

Вилли (СПВ, МИМ 176270) и Энгельмана (СЭ, МИМ 105830)**. В большинстве случаев эти заболевания вызываются микроделециями кластера импринтированных генов на отцовском или материнском гомологе, либо однородительским наследованием хромосомы 15 от матери или отца. Однако в редких случаях причинами развития синдромов становятся мутации (в том числе и эпимутации) в центрах импринтинга.

ЦИ региона 15q11-q13 (*SNURF-SNRPN*) находится в промоторной области гена *SNRPN* и содержит два регуляторных элемента – ЦИ-СПВ размером 4.3 тпн и, расположенный центрально на 35 тпн, ЦИ-СЭ размером 0.9 тпн [22]. Их функция заключается в переключении в ходе гаметогенеза женского эпигенотипа на мужской и наоборот, в зависимости от пола индивида, а также в поддержании активного или неактивного состояния импринтированных генов на протяжении всего онтогенеза. Показано, что в соматических клетках ЦИ-СПВ и ЦИ-СЭ обладают дифферен-

* Каталог импринтированных генов и родительских эффектов у человека и животных.

** <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=OMIM&tool=toolbar-OMIM-Online Mendelian Inheritance in Man> – Интернет-версия Каталога наследственных болезней человека под редакцией Виктора МакКьюсика. Цифры в скобках при указании синдромов соответствуют номеру заболевания в каталоге.

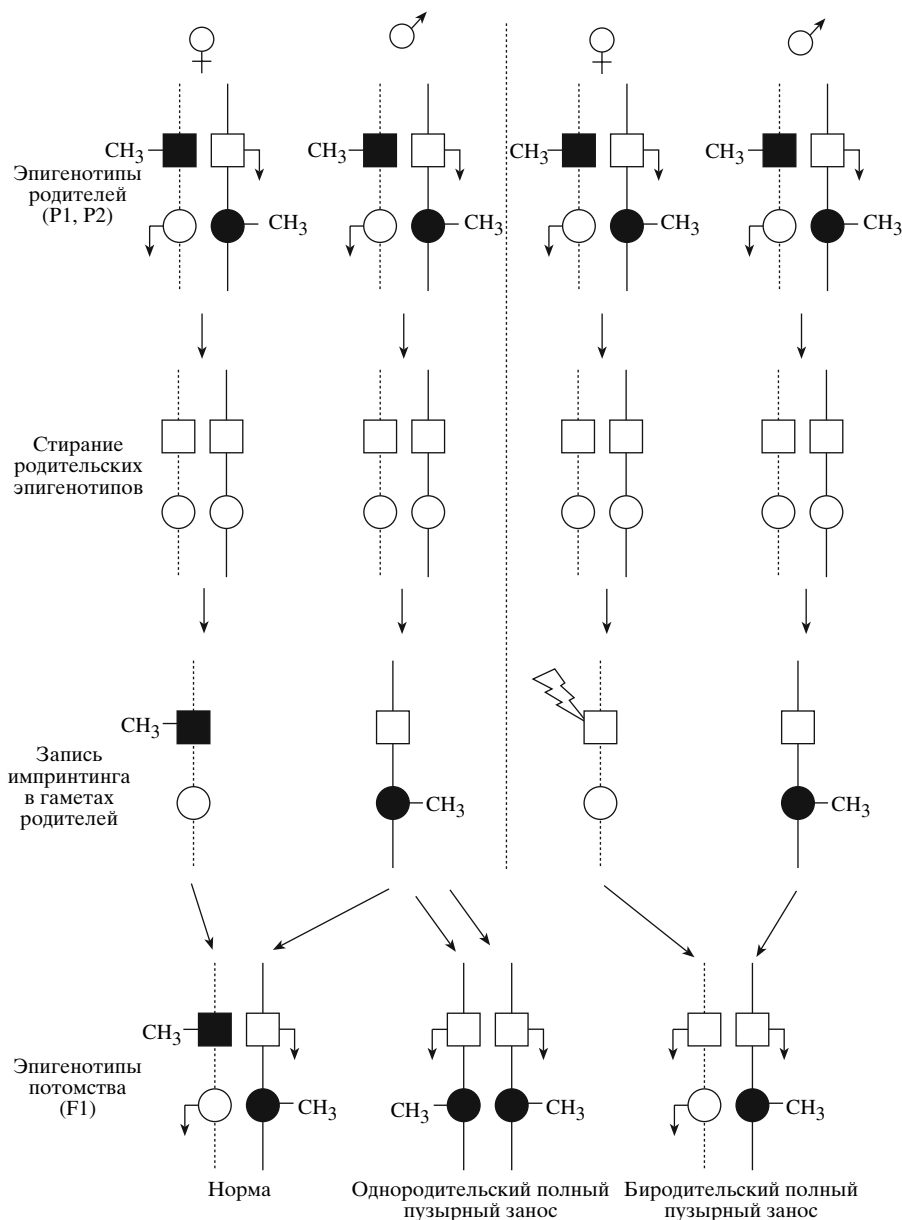


Рис. 2. Цитогенетические и эпигенетические механизмы формирования полного пузырного заноса. □ – импринтированный ген, экспрессирующийся с отцовской хромосомы; ○ – импринтированный ген, экспрессирующийся с материнской хромосомы; ⚡ – эпимутация (отсутствие метилирования материнских аллелей импринтированных генов в оогенезе). Черным цветом обозначено функционально неактивное состояние гена.

циальной активностью на разных родительских копиях хромосомы 15 [23]. Так, на отцовской хромосоме активным является ЦИ-СПВ. На материнской хромосоме, напротив, ЦИ-СПВ является гиперметилированным, тогда как в ЦИ-СЭ имеет место ацетилирование гистонов H4 и H3, что вызывает декомпактизацию хроматина и обеспечивает экспрессию данного локуса. Кроме того, показано, что активный ЦИ-СЭ участвует в обеспечении метилирования и супрессии ЦИ-СПВ на материнском гомологе.

ЦИ-СЭ необходим для записи геномного импринтинга в регионе 15q11-q13 в женской половой линии. Его делеции приводят к исчезновению эпигенетической маркировки материнской хромосомы 15. Дети, унаследовавшие такую хромосому, обнаруживают признаки СЭ. Данное нейродегенеративное заболевание характеризуется глубокой степенью умственной отсталости, отсутствием речи, стереотипными отрывистыми кукольными движениями, частыми необоснованными приступами смеха. Популяционная частота синдрома составля-

ет 1 : 15000 новорожденных [24]. Заболевание обусловлено отсутствием продукта импринтированного гена *UBE3A*, экспрессирующегося исключительно с материнской хромосомы в некоторых отделах головного мозга (в гиппокампе и клетках Пуркинье). В отличие от большинства импринтированных генов моноаллельная экспрессия *UBE3A* не связана с дифференциальным метилированием его промотора. Имеются экспериментальные доказательства того, что отцовский аллель данного гена инактивируется антисмысловой РНК, транскрибируемой с близлежащего локуса *SNURF-SNRPN* – ЦИ-СПВ [25]. В норме ЦИ-СПВ метилирован на материнской хромосоме и экспрессируется только с отцовского гомолога. У пациентов с СЭ, имеющих мутации центра импринтинга (примерно 3% случаев заболевания), материнский аллель ЦИ-СПВ находится в гипометилированном состоянии и экспрессируется, приводя тем самым к инактивации транскрипции *UBE3A* на материнской хромосоме. Среди пациентов с мутациями ЦИ при синдроме Энгельмана только 10% имеют делеции ЦИ-СЭ, тогда как у 90% больных развитие заболевания обусловлено первичными эпимутациями ЦИ-СПВ (п. 2.1.2.1 и 3.1) [5].

ЦИ-СПВ необходим для формирования и поддержания отцовского импринтинга на хромосоме 15 [26]. Делеции ЦИ-СПВ ведут к установлению материнского эпигенотипа хромосомы 15, что проявляется в форме СПВ. Данный синдром встречается, по разным оценкам, с частотой 1 : 10000–1 : 25000 новорожденных и характеризуется неонатальной мышечной гипотонией, гипогонадизмом, низким ростом, умеренной степенью умственной отсталости, гиперфагией и ожирением. Это смежный генный синдром, связанный с потерей функции целого ряда импринтированных генов хромосомы 15, экспрессирующихся исключительно с отцовского гомолога. У пациентов с мутациями ЦИ, которые составляют около 1% случаев заболевания, отцовские аллели всех импринтированных генов региона 15q11-q13 находятся в инактивированном состоянии. Также как и при СЭ, около 10% таких пациентов имеют делеции ЦИ-СПВ, тогда как у 90% выявляются первичные эпимутации (п. 2.1.2.2 и 3.4) [5].

Для пациентов с эпимутациями ЦИ часто бывают характерны мозаичные нарушения метилирования, возникающие *de novo* на постзиготических этапах развития, либо являющиеся следствием коррекции гаметической эпимутации в части соматических клеток. Мозаицизм по эпимутациям описан как при СПВ [27], так и при СЭ [28], но среди больных с СЭ он является более распространенным явлением. Показано, что около 30% больных с СЭ имеют мозаичный характер метилирования ЦИ, при этом доля клеток с нормальным эпигенотипом варьирует от 1 до 40% [28]. Мозаицизм по эпимутациям может модифицировать характер фенотипического проявления некоторых симптомов заболевания.

Так, с применением регрессионного анализа было установлено, что пациенты с более высоким процентом нормально метилированных клеток имеют более умеренные клинические признаки. У некоторых больных мозаичные эпимутации могут сопровождаться “нетипичным СЭ”, характеризующимся ожирением, мышечной гипотонией и способностью к речи, т.е. теми клиническими признаками, которые в большей степени сопровождают клиническую картину СПВ [29].

Другой крупный кластер импринтированных генов в геноме человека расположен в сегменте 11p15.5 и содержит по меньшей мере, 11 эволюционно консервативных по статусу импринтинга локусов как с материнской (*H19*, *KCNQ1*, *KCNQ1DN*, *CDKN1C*, *SLC22A18*, *PHLDA2*, *OSBPL5*), так и с отцовской экспрессией (*IGF2*, *IGF2-AS*, *KCNQ1OT1*, *INS*) [<http://igc.otago.ac.nz/home.html>]. Два центра импринтинга *IGF2/H19* (ЦИ1) и *LIT1/KCNQ1OT1* (ЦИ2) обеспечивают моноаллельную экспрессию этих генов. ЦИ1 в норме находится в неметилированном состоянии на материнском гомологе. С ним взаимодействует специфический белок-регулятор импринтированных сайтов – CTCF. Этот белок функционирует как своего рода молекулярный изолятор, блокируя действие энхансера, расположенного дистальнее гена *H19*, что делает невозможным экспрессию импринтированного гена *IGF2* с материнской хромосомы. На отцовском гомологе ЦИ1, напротив, находится в метилированном состоянии. CTCF не взаимодействует с метилированной последовательностью *H19* и энхансер обеспечивает инициацию транскрипции *IGF2*. ЦИ2 (в литературе употребляются различные его синонимы – *KCNQ1OT1*, *LIT1*, *KvDMR1* или *KvLQT1*) локализован в 10-м интроне гена *KCNQ1*, метилирован на материнской хромосоме и экспрессируется исключительно с отцовского гомолога. Продукт транскрипции – нетранслируемая РНК (*KCNQ1OT1*) – выключает активность группы рядом расположенных импринтированных генов на отцовской хромосоме.

Нарушение дозы импринтированных генов в регионе 11p15.5 приводит к формированию синдрома Видемана–Беквита (СВБ, МИМ 130650), популяционная частота которого варьирует от 1 : 12000 до 1 : 25000 новорожденных. Основными диагностическими признаками заболевания являются пре- и постнатальное увеличение роста и веса, макрогlossия, аномалии брюшной стенки, пупочная грыжа, или омфалоцеле. Кроме того, отмечаются гемигипертрофия, неонатальная гипогликемия, вертикальные бороздки на ушах, аномалии почек. Примерно у 5% пациентов имеется повышенный риск развития эмбриональных опухолей, в частности опухоли Вильмса. В отличие от СПВ и СЭ, где эпимутации – достаточно редкое событие, при СВБ они ответственны за развитие большинства (60–70%) случаев заболевания. В среднем около 5–10% эпиму-

таций затрагивают ЦИ1 и связаны с его гиперметилированием на материнском гомологе (п. 3.3), что приводит к потере импринтинга и установлению биаллельной экспрессии *IGF2*. В большинстве же случаев эпигенетические изменения затрагивают ЦИ2. Гипометилирование этого локуса на материнском гомологе (п. 3.1) ведет к активации биаллельной экспрессии *KCNQ1OT1* и, как следствие, к супрессии ряда активных импринтированных генов на материнской хромосоме, включая опухолесупрессор *CDKN1C*, рассматриваемый в качестве одного из ключевых генов в патогенезе СВБ. Анализ корреляций “эпигенотип–фенотип” при СВБ показывает, что aberrантное метилирование *H19* ассоциировано с риском развития эмбриональных опухолей, тогда как эпимутации *LIT1* специфически связаны с увеличением роста и формированием характерных для данного синдрома пороков развития [30, 31].

Интересно, что эпимутации ЦИ1 хромосомы 11 сравнительно недавно были описаны и у пациентов с синдромом Рассела–Сильвера (СРС, ММ 180860) [32–34]. Это редкое наследственное заболевание клинически характеризуется выраженной пре- и постнатальной задержкой роста, карликовостью, гемигипотрофией, асимметрией рук и/или ног, клинодактилией мизинцев, черепно-лицевой диспропорцией, треугольным лицом с выступающим лбом, ранним половым развитием. СРС – генетически гетерогенное заболевание. Около 10% пациентов обнаруживают однородительскую дисомию хромосомы 7 материнского происхождения (ОРД7мат), что указывает на возможную роль в этиологии заболевания дисбаланса дозы импринтированных генов *PEG1/MEST* (7q32) и *GRB10* (7p12), экспрессирующихся с отцовского и материнского гомолога соответственно. Достаточно часто у пробандов с СРС выявляются хромосомные перестройки, затрагивающие хромосомы 1, 7, 8, 11, 15, 17 и 18 [32, 33]. В этом ряду особого внимания заслуживают дупликации региона 11p15, содержащего кластер импринтированных генов. Еще в 1988 г. Читая с соавт. [35], заметив, что основные клинические признаки заболевания (пре- и постнатальная задержка роста, гемигипотрофия) являются прямо противоположными увеличению роста и гемигипертрофии при СВБ, высказали предположение, что оба синдрома могут быть вызваны дисфункцией одного и того же гена. В 2005 г. впервые у пациентов с СРС были описаны эпимутации в локусе *IGF2 / H19*, а именно гипометилирование ЦИ1 на отцовском гомологе (п. 2.1.2.1 и 3.2), приводящее к невозможности экспрессии *IGF2* в клетке [32]. То есть была выявлена эпимутация ЦИ1, противоположная по своему эффекту и родительскому происхождению той, что регистрируется при СВБ. Позднее эти данные были подтверждены и другими исследователями [33, 34], показывая, что примерно в 20–30% случаев СРС может быть обусловлен гипометилированием ло-

куса *IGF2/H19* на отцовской хромосоме 11. Интересно, что у одних пациентов было описано полное [33], а у других мозаичное гипометилирование ЦИ1 [32, 33], указывая на возможность гаметических и соматических эпимутаций в данном локусе (п. 2.1.2.1 и 2.2.4, соответственно).

Что касается ЦИ2 (*KCNQ1OT1*), то следует ожидать его гиперметилирования на отцовском гомологе, которое будет приводить к увеличению экспрессии *CDKN1C* при СРС [36]. Однако в проведенных к настоящему времени исследованиях таких изменений статуса метилирования обнаружено не было [33]. Вместе с тем в 2007 г. появилось первое сообщение о пациенте с СРС, имеющим дупликацию 11p15 материнского происхождения, затрагивающую ЦИ2 [37]. Дупликация захватывала импринтированные гены, экспрессирующиеся только с материнского (*KCNQ1, CDKN1C, SLC22A18, PHLDA2*) или с отцовского (*KCNQ1OT1*) гомолога, и приводила к увеличению дозы *CDKN1C*. Индекс метилирования ЦИ2 на материнском гомологе у пациента был повышен, тогда как изменений статуса метилирования ЦИ1 не наблюдалось. Таким образом, синдромы Рассела–Сильвера и Видемана–Беквита действительно могут рассматриваться в качестве модели наследственных заболеваний, обусловленных реципрокными по родительскому происхождению и функциональной направленности эпимутациями центров импринтинга.

Кроме классических болезней геномного импринтинга эпимутации ЦИ обнаруживаются и при раке [38–40]. Так, гиперметилирование *IGF2/H19* на материнском гомологе (п. 3.3), приводящее к потере импринтинга и установлению биаллельной экспрессии протоонкогена *IGF2*, выявлено при широком спектре онкологической патологии: опухоль Вильмса, гепатобластомы, рабдомиосаркомы, колоректальный рак, глиомы, карцинома почек и шейки матки, лейомиосаркома матки, рак печени и легких [40]. Гипометилирование дифференциально метилированного региона в ЦИ2 *LIT1/KCNQ1OT1* (п. 3.1) обнаружено при карциноме пищевода. Такое нарушение эпигенотипа приводит к снижению уровня экспрессии гена *CDKN1C*, который кодирует ингибитор циклин-зависимых киназ $P57^{KIP2}$, вовлеченный в регуляцию клеточного цикла. Интересно, что снижение экспрессии *CDKN1C* в этом случае не было ассоциировано ни с модификациями гистонов, ни с метилированием CpG-островков в его собственном промоторе [41]. Гипометилирование ЦИ2 на материнском гомологе, сопровождающееся уменьшением экспрессии генов *CDKN1C* и *IGF2*, было показано и для опухолей печени [42].

Исходя из популяционной частоты болезней геномного импринтинга, можно получить приблизительные оценки частоты эпимутаций в различных

центрах импринтинга в геноме человека. Так, частота СЭ в популяции составляет 1 : 15000 [24]. Примерно 3% пациентов имеют отцовский эпигенотип на материнской хромосоме, являющийся результатом эпимутаций ЦИ-СЭ. Поэтому частота формирования первичных эпимутаций данного локуса может составлять 1:500000 (5×10^{-5}).

Популяционная частота СПВ оценивается как 1 : 10000–1 : 25000 новорожденных [5, 22, 43]. Мутации в ЦИ обнаружены у 1% больных, причем 90% из них – это первичные эпимутации. Таким образом, частота рождения ребенка с СПВ и первичными эпимутациями ЦИ-СПВ находится в диапазоне $(1.1–2.8) \times 10^{-6}$.

Если принять распространенность больных с СВБ в популяции как 1 : 25000 рождений [5] и то, что в 7% случаев заболевания первичные эпимутации затрагивают ЦИ1, а в 55% – ЦИ2 [44], то вероятность рождения ребенка с СВБ и первичной эпимутацией в ЦИ1 или в ЦИ2 составит 3.6×10^{-5} и 4.5×10^{-4} соответственно. Что касается эпимутаций этих локусов при СРС, то получить их частоты пока не представляется возможным, вследствие низкой частоты синдрома и небольшого числа опубликованных к настоящему времени случаев с нарушенным статусом метилирования.

Приведенные оценки показывают, что, во-первых, первичные эпимутации в различных центрах импринтинга возникают с разной частотой; во-вторых, частота формирования aberrантных эпигенотипов, как правило, на один – два порядка превышает среднюю частоту генных мутаций; в-третьих, среди возможных типов эпимутаций (гипометилирование ЦИ на материнской (ЦИ-СЭ и *LIT1/KCNQ1OT1*) или на отцовской (*IGF2/H19*) хромосомах, гиперметилирование ЦИ на материнском (*IGF2/H19*) или на отцовском (ЦИ-СПВ) гомологах) преобладающими оказываются нарушения статуса метилирования импринтированных локусов на материнских хромосомах. Одно из возможных объяснений данного феномена может быть связано с тем, что большинство регуляторных импринтированных доменов в геноме человека метилируются именно в ооцитах. Пока известно только три домена (*H19*, *MEG3*, *GNAS*), метилирование которых происходит в мужской половой линии. Предполагается, что столь видимое различие между статусом метилирования импринтированных генов на разных родительских копиях хромосом возникло, вероятно, в ходе эволюции как дополнительная защита от активного деметилирования отцовского генома, которое запускается сразу после оплодотворения [45].

Эпимутации в отдельных импринтированных генах

Среди болезней геномного импринтинга, связанных с эпимутациями импринтированных генов, выделяется транзиторный неонатальный сахар-

ный диабет (ТНСД, ММ 601410), проявляющийся задержкой внутриутробного развития, гипергликемией, низким ростом и макроглоссией. Это редкое наследственное заболевание (1 : 400000 новорожденных) может быть обусловлено однородительской дисомией хромосомы 6 отцовского происхождения (ОРД6отц), дупликацией региона 6q24 на отцовской хромосоме, однако примерно в 50% случаев оно связано с дефектами метилирования импринтированного гена *ZAC*, локализованного в 6q24. Продуктом гена является транскрипционный фактор, вовлеченный в контроль клеточного цикла и в аутокринную регуляцию секреции инсулина в поджелудочной железе. Экспрессия *ZAC* происходит исключительно с отцовской хромосомы, тогда как материнский аллель метилирован. У больных с ТНСД без ОРД6отц и дупликаций обнаруживается гипометилирование CpG-последовательностей в экзоне 1 гена *ZAC* на материнском гомологе (п. 3.1) [46]. Принимая во внимание распространенность ТНСД и долю случаев заболевания, обусловленных эпимутациями *ZAC*, частота гипометилирования материнского аллеля может составлять 8×10^{-5} , что сопоставимо с частотой эпимутаций в центрах импринтинга в геноме человека, регулируемых метилированием на материнских гомологах.

Интересно, что у некоторых пациентов с ТНСД был описан мозаицизм по гипометилированию и других импринтированных генов, локализованных на разных хромосомах – *GRB10* (7p12), *PEG1* (7q32), *LIT1/KCNQ1OT1* (11p15) и *PEG3* (19q13), в то время как статус метилирования импринтированных генов *SNRPN* (15q11-q13), *H19* (11p15) и *DLK1* (14q32) оставался нормальным [47]. Мозаицизм в этих случаях проявлялся по степени нарушений метилирования, по затрагиваемым тканям и генным локусам. В сравнении с пробандами с классическими формами ТНСД пациенты с мозаицизмом отличались более высоким весом при рождении и более широким клиническим полиморфизмом, что может быть обусловлено дисфункцией множества импринтированных генов. Выказывается предположение, что ТНСД может являться моделью так называемого “синдрома материнского гипометилирования”, при котором пробанд, имея в соматических клетках гипометилирование одного из материнских импринтированных генов, может иметь гипометилированные материнские аллели и в других локусах, что неизбежно приведет к усложнению и запутыванию клинической картины заболевания [47]. Другим примером “синдрома материнского гипометилирования” может служить рассмотренный выше биродительский полный пузырный занос, возникающий, однако, вследствие гаметических эпимутаций и не обнаруживающий мозаицизма по метилированию.

Необходимо отметить, что эпимутации в ряде импринтированных локусов (преимущественно

в 11p15) при ТНСД были подтверждены и в исследованиях других авторов [48]. Кроме того, было показано, что эпимутации *ZAC* могут вносить вклад и в формирование некоторых признаков СВБ через нарушение экспрессии *CDKN1C* и *LIT1*. С другой стороны, изменения статуса метилирования *LIT1* обнаруживаются и у некоторых пациентов с ТНСД. Эти находки позволили сформулировать предположение о существовании особого сигнального пути, объединяющего гены *ZAC*, *CDKN1C*, *LIT1* и участвующего в регуляции клеточного роста [48]. Не исключено, что эпигенетическая инактивация генов, вовлеченных в этот путь, может лежать в основе формирования некоторых общих для двух синдромов клинических признаков.

Как уже отмечалось выше, ОРД7 материнского происхождения, нарушающая баланс дозы импринтированных генов *PEG1/MEST* и *GRB10*, встречается примерно у 10% пациентов с синдромом Рассела-Сильвера [32]. В 2007 г. появилось первое сообщение о девочке с СРС, родившейся в результате искусственного оплодотворения и имеющей гиперметилирование CpG-динуклеотидов в дифференциально метилированном регионе гена *PEG1/MEST* на отцовской хромосоме [49]. Анализ микросателлитных маркеров показал нормальное бородительское наследование хромосомы 7 у пробанда, являясь дополнительным подтверждением наличия эпимутации импринтированного гена (п. 2.1.2.2). Продукт гена *PEG1/MEST* – фермент с предполагаемой гидролазной активностью. Наследование отцовских нокаутных аллелей *Peg1/Mest* у мышей приводит к замедлению плацентарного и эмбрионального развития, задержке постнатального роста и снижению жизнеспособности потомства [50]. Несмотря на то что *PEG1/MEST* рассматривается в качестве кандидатного гена для СРС, точковые мутации в нем у пациентов с данным синдромом пока не идентифицированы [51]. Не исключено, что в ряде случаев эпимутации *PEG1/MEST* или других импринтированных генов (в частности, *GRB10*) могут являться этиологической основой этого генетически гетерогенного заболевания [49].

Так же как и в случае с эпигенетическими аберрациями центров импринтинга, первичные эпимутации в отдельных импринтированных генах были выявлены при различных формах рака. Гиперметилирование импринтированных опухолесупрессорных генов или активация импринтированных протоонкогенов путем гипометилирования приводят к полному отсутствию продуктов гена в первом случае и к биаллельной экспрессии во втором. Так, гиперметилирование экспрессируемого отцовского аллеля *ZAC* (п. 3.4) описано при раке яичников [52]. При карциноме почек гиперметилированию подвергается активный материнский аллель гена *GTL2* (14q32) (п. 3.3), вызывая тем самым существенное снижение экспрессии другого импринтированного

гена в этом регионе – *DLK1*, активного на отцовском гомологе [53].

В отношении связи эпимутаций импринтированных генов с риском развития опухоли прослеживается значительная роль полиморфного характера импринтинга некоторых генов в разных тканях и даже у разных индивидов. Так, гиперметилирование активного материнского аллеля импринтированного гена *P73* (1p36) (п. 3.3) было описано при острой лимфобластной лейкемии и лимфоме Беркитта [54]. В то же время при карциноме почек и опухолях легкого наблюдается биаллельная экспрессия данного гена, обусловленная гипометилированием отцовского аллеля (п.3.2) [55, 56]. Такая тканеспецифичность эпимутаций вызывает дискуссии о функциях *P73* как опухолесупрессора или протоонкогена [38].

Другой опухолесупрессорный ген *CDKN1C*, экспрессирующийся в норме с материнской хромосомы, часто обнаруживает генетические мутации при различных формах рака. Например, потеря материнского аллеля наблюдается в 85% случаев рака легкого, сопровождаемых делецией региона 11p15 [57]. Интересно, что при опухолях Вильмса с делецией материнского аллеля *CDKN1C* начинает экспрессироваться отцовский аллель данного гена [58], что так же, как и в случае с *P73*, поднимает вопрос о функциях гена как протоонкогена, по крайней мере в тканях почек.

Еще одним импринтированным геном, вовлеченным в формирование опухоли Вильмса, является *WT1*, локализованный в 11p13. Для этого гена установлен полиморфный характер импринтинга в разных тканях и органах. Биаллельная экспрессия *WT1* обнаруживается в почках, сердце, легком, печени и кишечнике, тогда как в фетальном мозге и плаценте происходит предпочтительная транскрипция материнского аллеля. В фибробластах и лимфоцитах, напротив, активным оказывается отцовский аллель. Высказывается мнение, что такой полиморфный импринтинг может оказывать влияние на риск развития некоторых тканеспецифичных форм рака [38].

При раке шейки матки и эндометрия отмечается инактивация импринтированного гена *PEG3* (19q13.4) вследствие гиперметилирования активного отцовского аллеля (п. 3.4), тогда как при хорионкарциномах обнаруживается биаллельная экспрессия гена, обусловленная гипометилированием материнского аллеля (п. 3.1) [59].

Интересными в отношении риска развития рака являются гены, статус импринтинга которых изменился в ходе эволюции млекопитающих. Один из примеров – локус *M6P/IGF2R*. Продуктом гена является рецептор, который связывает как маннозо-6-фосфатгликопротеин, так и IGF2, обеспечивая их транспорт в лизосомы для деградации. Данный ген импринтирован у мыши и крысы, но обладает полиморфным импринтингом у человека – большинство

индивидов имеют биаллельный характер экспрессии *M6P/IGF2R*. Высказывается предположение, что в случае моноаллельной экспрессии этого опухолесупрессорного гена может повышаться риск развития рака [38]. Действительно, в одном из исследований был установлен импринтированный статус *M6P/IGF2R* у 50% пациентов с опухолью Вильмса [60].

ПРИЧИНЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ПЕРВИЧНЫХ ЭПИМУТАЦИЙ

Принимая во внимание, что вторичные эпимутации – это результат мутаций в последовательности локусов, контролирующей структуру хроматина, остается неясным, что вызывает формирование первичных эпимутаций. По всей видимости, они являются результатом стохастических ошибок в установлении или поддержании эпигенетического статуса гена. В норме спонтанная частота эпимутаций может быть модифицирована генетическими и средовыми факторами.

Как уже отмечалось выше, частота эпимутаций может быть различной в разных центрах импринтинга. Это наводит на мысль, что в геноме человека существуют последовательности, более восприимчивые к возникновению эпимутаций, чем другие. Недавно были получены доказательства существования генетической предрасположенности к формированию первичных эпимутаций в сегменте 11p15 [61]. Оказалось, что в дифференциально метилированном регионе *IGF2/H19* существуют 4 SNP (T123C, G358A, T382G и A402G), которые встречаются в трех из 16 возможных гаплотипах: TGTA, CATG и CAGA. Было показано значимое увеличение частоты гаплотипа CAGA и уменьшение частоты гаплотипа CATG у пациентов с СВБ, по сравнению с контролем. В другом исследовании была прослежена предпочтительная передача материнского гаплотипа H-AS3 в области ЦИ-СЭ в семьях с детьми с СЭ, имеющими эпимутацию в центре импринтинга [62].

Эпигенетический статус гена также может быть затронут изменениями последовательности локусов, которые тем или иным способом вовлечены в регуляцию структуры хроматина. Известно, что полиморфные варианты гена 5,10-метилентетрагидрофалатредуктазы (*MTHFR*) могут оказывать влияние на характер метилирования ДНК, поскольку изменяют уровень S-аденозилметионина, который является донором метильных группировок для реакций метилирования [63]. Было показано, что наличие гомозиготной замены 677C > T в гене *MTHFR* у женщины увеличивает риск рождения ребенка с СЭ и эпимутацией в ЦИ [62]. Этот пример демонстрирует достаточно условную границу в определении первичных и вторичных эпимутаций и соответственно факторов, их обуславливающих. Действительно, генетические и эпигенетические изменения тесно вза-

имосвязаны. С одной стороны, именно нуклеотидная последовательность гена определяет локализацию потенциальных сайтов метилирования (CpG-островков) и кодирует ферменты, вовлеченные в обеспечение эпигенетических механизмов регуляции генной экспрессии. С другой стороны, эпигенетические механизмы отвечают за контроль активности гена и, кроме того, могут обуславливать индукцию в нем точковых мутаций вследствие спонтанного дезаминирования метилированного цитозина в тимин [64].

Одним из источников эпимутаций может являться и активность ДНК-метилтрансфераз. Так, например, было показано, что мутации в генах *Dnmt3a* и *Dnmt3l* у мышей ведут к потере импринтинга и ранней эмбриолетальности [65]. Однако, как уже отмечалось, у человека мутации генов ДНК-метилтрансфераз пока не обнаружены при глобальном нарушении установления импринтинга в случаях бородительского полного пузырьного заноса [17]. В норме происходит скоординированная транскрипция генов *DNMT1*, *DNMT3A* и *DNMT3B*, которая нарушается в опухолях, где на фоне умеренного повышения экспрессии *DNMT1*, *DNMT3A* высокий уровень экспрессии отмечен для *DNMT3B* [66]. Сложная структура генов ДНК-метилтрансфераз и кодируемых ими белков предполагает наличие у них разнообразных регуляторных элементов. Показана роль белка DNMT3L в регуляции метилирования ДНК *de novo* и установлении геномного импринтинга в оогенезе, а в ассоциации с гистоновой деацетилазой этот белок выполняет функцию транскрипционного репрессора [67]. DNMT3L не проявляет трансферазной активности, так как у него отсутствуют или укорочены несколько ключевых аминокислотных мотивов, в то же время он стимулирует активность DNMT3A и DNMT3B и прямо с ними взаимодействует. Одним из механизмов регуляции экспрессии *DNMT3L* является метилирование его промоторного региона. Действительно, экспрессия гена *Dnmt3L* была отмечена в эмбриональных стволовых клетках мыши, причем все исследованные CpG-динуклеотиды этого гена оказались не метилированы, в то время как в дифференцированных клетках они находились в метилированном состоянии [68].

Ген *DNMT1* человека имеет один главный и три минорных участка инициации, с которых может идти транскрипция. Область главного промотора гена *DNMT1* – P1 отличается наличием CpG-последовательностей, в то время как области минорных промоторов P2–P4 их не имеют [69]. Ген *Dnmt1* мыши имеет регуляторный элемент AP-1, который активируется через Ras-Jun-протоонкогенный сигнальный путь и репрессируется Rb-супрессором опухолей. Промоторная область этого гена содержит 29 CpG-динуклеотидов, выполняющих функцию сенсора состояния метилирования генома. На

основании этих данных сформулирована гипотеза о регуляции экспрессии гена *DNMT1* по принципу обратной связи, когда метилированная ДНК регулирует экспрессию гена *DNMT1* в *cis*-положении. Такое объяснение согласуется с парадоксальным явлением существования в раковых клетках общего гипометилирования генома на фоне высокого уровня ДНК-метилтрансферазной активности [70]. Процессинг и энзиматические ковалентные модификации также могут модулировать активность ДНК-метилтрансфераз. Так, модификация метилазы *Dnmt3a* убиквитиноподобным пептидом SUMO-1 регулирует ее взаимодействие с деацетилазами гистонов и активность как транскрипционного репрессора [71].

Особый вид контроля метилирования ДНК может проходить на уровне ДНК-белковых взаимодействий. Действительно, фактор транскрипции Sp1 часто бывает ассоциирован с неметилированными CpG-островками, запрещая их *de novo* метилирование и поддерживая, таким образом, конститутивную экспрессию [72]. В отношении импринтированных генов нарушение их эпигенетического статуса также может идти через изменение регуляции активности или дозы некоторых белков, например CTCF. Этот белок обладает выраженным энхансер-блокирующим эффектом, который был продемонстрирован выше на примере контроля ЦИ1 *IGF2/H19*. CTCF имеет ДНК-связывающий домен, состоящий из мотива 11 цинковых пальцев, который эффективно и специфично связывается с неметилированной ДНК. Метилированное состояние ДНК делает невозможным взаимодействие белка с хроматином. Мутации сайтов связывания приводят к потере способности CTCF блокировать энхансер, а увеличение потенциальных сайтов связывания, напротив, усиливает эффект блокировки [73]. Кроме того, было показано, что эффекты CTCF могут быть модифицированы действием других регуляторных механизмов. Так, ингибирование фермента поли-АДФ-рибозилполимеразы может уменьшать энхансер-блокирующее действие CTCF у мыши, что приводит к активации экспрессии *Igf2* на материнской хромосоме [74]. Белки, подобные CTCF, в том числе и недавно идентифицированный BORIS (Brother of Regulator of Imprinting Sites) – паралог CTCF, могут играть ключевую роль в регуляции экспрессии импринтированных генов, а также в обеспечении наследования эпигенетического статуса, поскольку остаются ассоциированными со своими сайтами связывания во время клеточного деления [75, 76].

Уровень S-аденозилметионина для реакций метилирования ДНК зависит не только от активности генетических систем метаболизма фолатов, но и от содержания фолиевой кислоты и витамина B12 в среде. Поэтому неудивительно, что эпигенетический статус, в некоторой степени, мо-

жет зависеть и от рациона. Такие наблюдения были сделаны при исследовании различных типов опухолевых образований, а также в экспериментах на модельных животных [77]. Значительный вклад в понимание роли средовых модификаций в этиологии эпигенетической изменчивости внесли и данные о связи вспомогательных репродуктивных технологий с повышенным риском рождения детей с болезнями геномного импринтинга – СЭ и СВБ [45, 78–80]. Примечательным является тот факт, что практически у всех детей с данными заболеваниями, родившимися в результате использования процедур ЭКО или ИКСИ, были выявлены эпимутации импринтированных локусов на материнских хромосомах, а именно гипометилирование ЦИ-СПВ или *KCNQ1OT1*. Одной из гипотез, объясняющей данные находки, является предположение о неспособности искусственных сред, используемых для культивирования гамет и эмбрионов, обеспечивать корректное установление и поддержание материнского геномного импринтинга в период событий тотального эпигенетического репрограммирования генома. Недавние сообщения о двух пациентах с СРС, родившихся после применения ИКСИ или ЭКО и имеющих гипометилирование *IGF2/H19* [33] или гиперметилирование *PEG1/MEST* [49] на отцовских хромосомах, указывают на возможность aberrантных модификаций импринтинга и в мужской половой линии. Более того, до настоящего времени нет сообщений о гиперметилировании отцовских аллелей *PEG1/MEST* у пробандов с СРС, родившихся в результате естественного зачатия.

Согласно другой гипотезе, современные медицинские технологии, позволяя преодолевать множество репродуктивных барьеров, приводят к манифестации скрытой (эпи)генетической изменчивости. Несомненно, что для решения вопроса о соотношении роли средовых и наследственных факторов в возникновении эпимутаций (в том числе и в импринтированных локусах) необходимы специальные исследования распространения, спектра и частоты aberrантных эпигенетических модификаций генома как при использовании вспомогательных репродуктивных технологий, так и при патологии пре- и постнатального онтогенеза в естественных циклах.

НАСЛЕДОВАНИЕ ЭПИМУТАЦИЙ ИМПРИНТИРОВАННЫХ ГЕНОВ

Одним из центральных вопросов генетики, безусловно, является исследование наследуемости генетических изменений. В полной мере этот вопрос может быть адресован и к наследованию эпимутаций в ряду поколений. Вместе с тем при изучении наследуемости эпимутаций необходимо принимать во внимание, как минимум, два обстоятельства: во-первых, эпигенетические модификации генома явля-

ются обратимыми событиями; во-вторых, существуют онтогенетически детерминированные периоды тотального эпигенетического репрограммирования генома, которые могут обеспечивать удаление aberrантных эпигенотипов. Очевидно, что наследование эпимутации в ряду поколений должно преодолевать оба эти барьера. В этом отношении особый интерес представляет наследование эпимутаций именно импринтированных генов, поскольку их фенотипическое проявление будет зависеть от пола родителя, передавшего эпимутацию потомку.

Действительно, большинство случаев мутаций в ЦИ при СЭ и СПВ являются семейными. Поскольку мутации ЦИ-СЭ затрагивают только материнский импринтинг, они передаются без фенотипического проявления через мужскую половую линию. Аналогичным образом мутации ЦИ-СПВ, затрагивающие отцовский импринтинг, не проявляются при передаче через материнский гаметогенез. Это объясняет необычный характер наследования мутаций ЦИ в поколениях (рис. 3). Так, мутация ЦИ-СПВ, возникнув на хромосоме 15 у бабушки, не приведет ни к каким фенотипическим последствиям ни у нее, ни у ее сына. Однако, пройдя через сперматогенез, эта мутация обусловит возникновение СПВ у внуков. Подобным образом и для возникновения СЭ требуется прохождение мутаций ЦИ через материнский гаметогенез.

Необходимо отметить, что указанные особенности наследования мутаций ЦИ справедливы для точковых мутаций или делеций в этих регуляторных областях. Что же касается первичных эпимутаций ЦИ, то вопрос об их наследуемости пока остается открытым. Вместе с тем при анализе родословных 19 пациентов с СПВ, имеющих первичные эпимутации и доказанное отсутствие точковых мутаций в ЦИ-СПВ, было показано, что aberrантная хромосома всегда наследовалась от бабушки по отцовской линии [81]. По мнению авторов данного исследования, это может быть объяснено нарушением стирания aberrантного материнского импринтинга в гаметогенезе отцов (п. 2.1.1), приводящим к трансгенерационному наследованию эпимутации, что в принципе согласуется с рассмотренной выше моделью наследования мутаций ЦИ. Однако данные о статусе метилирования ЦИ-СПВ у отцов и бабушек в настоящей работе представлены не были, что затрудняет интерпретацию описанного типа наследования как передачу именно aberrантного статуса метилирования в двух последовательных поколениях родословной.

В этом же исследовании [81] было изучено происхождение хромосомы 15 с эпимутациями ЦИ-СЭ у 18 пациентов с СЭ. Оказалось, что у семи пациентов мутация наследовалась от бабушки, а у 11 – от бабушки по материнской линии. Такой характер наследования, по мнению авторов работы, может быть объяснен возникновением дефекта импринтинга уже после стирания родительских эпигенотипов и,

возможно, даже после оплодотворения. То есть, строго говоря, в данном случае речь идет о *de novo* возникших эпимутациях, а не об их наследовании через два поколения. Дополнительным доказательством постзиготического возникновения эпимутаций может служить рассмотренный выше соматический мозаицизм по метилированию ЦИ, выявляемый примерно у 30% пациентов с СЭ. Механизмы возникновения такого мозаицизма пока остаются неясными, но скорее всего они могут быть связаны с деметилированием ЦИ в части соматических клеток.

Тем не менее одно из первых доказательств возможности наследования aberrантных эпигенотипов импринтированных генов было получено в рассмотренном уже случае рождения девочки с синдромом Рассела–Сильвера после процедуры ЭКО и имеющей гиперметилирование отцовского аллеля гена *PEG1/MEST* [49]. При анализе 31 CpG-динуклеотида в дифференциально метилированном регионе данного гена в лимфоцитах пробанда было выявлено восемь метилированных цитозинов. Примечательно, что и в лимфоцитах отца ребенка четыре из этих восьми CpG-динуклеотидов также находились в метилированном состоянии. Предполагается, что в сперматогенезе все эти четыре динуклеотида оказались устойчивы к репрограммированию и, кроме того, произошло гиперметилирование еще четырех других CpG-динуклеотидов. Наследование ребенком хромосомы с эпимутацией от отца было подтверждено анализом микросателлитных локусов. Интересно отметить, что у этой супружеской пары в результате попытки ЭКО и имплантации двух blastоцист родилось две девочки (дизиготные близнецы). Вторая девочка была здоровой и она унаследовала от отца хромосому 7, не несущую эпимутаций в гене *PEG1/MEST*.

Наряду с наследованием эпимутаций импринтированных генов в литературе начинают появляться сообщения и о возможной передаче потомкам aberrантных эпигенетических модификаций неимпринтированных локусов генома. Так, в 2004 г. были описаны два пациента с колоректальным раком, имеющие мозаичное гиперметилирование промоторного региона гена мис-матч репарации *MLH1* [82]. Эпимутация также присутствовала в сперматозоидах одного из больных, указывая на дефект в зародышевой половой линии и возможную передачу потомству. В 2007 г. тем же коллективом авторов в семье с наследственным колоректальным раком была показана передача первичной эпимутации *MLH1* от матери к сыну и стирание aberrантного эпигенотипа в его сперматозоидах [83]. Наличие гемиллельного метилирования *MLH1* у матери было подтверждено в соматических клетках всех трех зародышевых листков, указывая на гаметическое происхождение эпимутации. У одного из четырех ее сыновей в лимфоцитах периферической крови также было зафиксировано метилирование примерно половины ($42.0 \pm 4.6\%$) аллелей *MLH1*, при

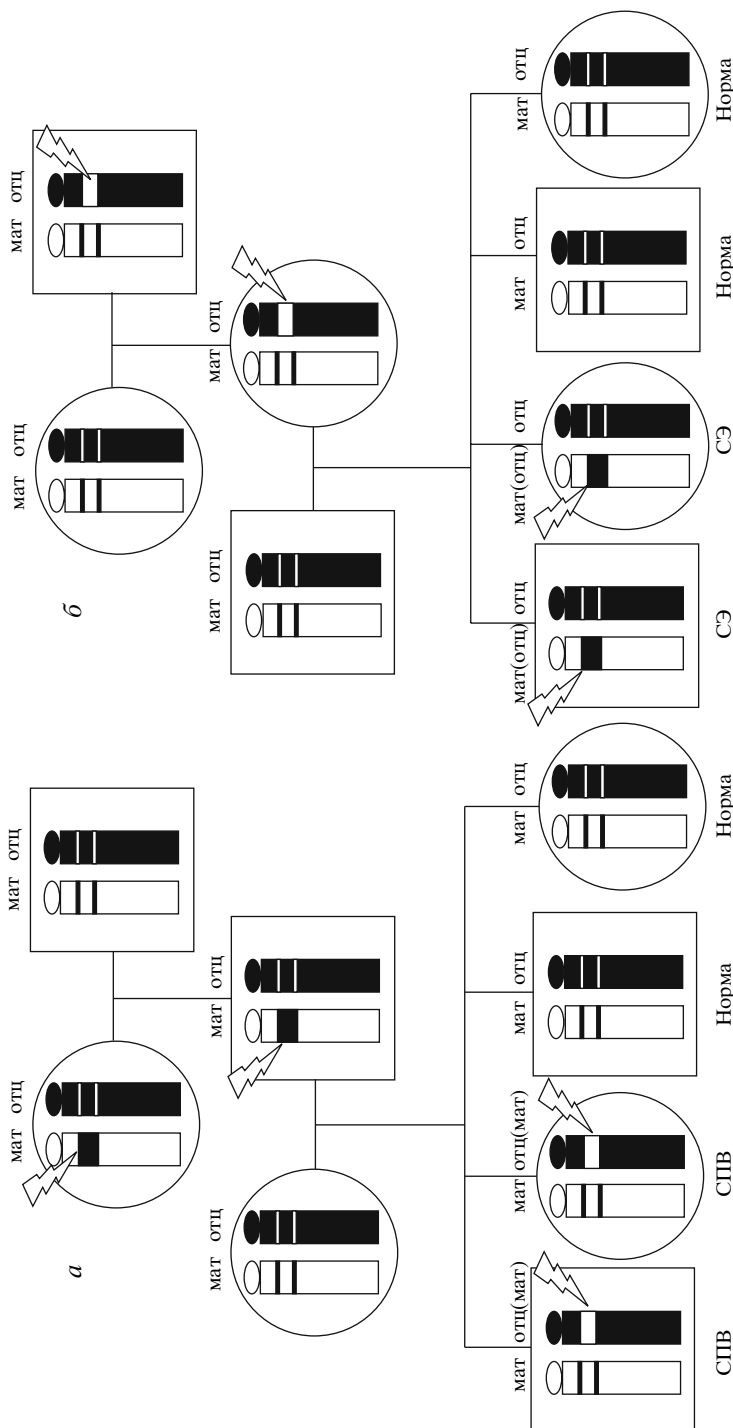


Рис. 3. Гипотетические родословные, объясняющие наследование мутаций ЦИ хромосомы 15, фиксирующих материнский (а) или отцовский (б) импринтинг, при синдромах Прадера–Вилли и Ангельмана. При передаче материнского фиксированного импринтинга через сперматогенез пробанд имеет отцовский гомолог с материнским эпигенотипом – отц(мат), что приводит к формированию СПВ. При прохождении фиксированного отцовского импринтинга через оогенез у пациента имеется материнский гомолог с отцовским эпигенотипом – мат(отц), что приводит к формированию СЭ.

этом экспрессионный анализ показал активность данного гена только на отцовской хромосоме. При исследовании сперматозоидов сына аномалий метилирования *MLH1* выявлено не было, несмотря на то что в анализируемой выборке половых клеток материнские и отцовские аллели присутствовали в равных пропорциях. Более того, в гаметах сына была установлена реактивация экспрессии материнского аллеля *MLH1*, что свидетельствует о реверсии эпимутации в ходе сперматогенеза.

Эти данные показывают, что не только сама по себе ДНК является носителем наследственной информации в ряду поколений, но возможно также наследование и ее конформации (эпигенотипа), определяющей функциональную активность гена и соответственно развитие болезни в определенных случаях. Особенностью такого эпигенетического наследования может быть как передача эпимутации через несколько поколений, так и возможное восстановление нормального эпигенетического статуса в родословной. В то же время пока остается неясным, определяется ли репарация или устойчивость эпимутаций полом (сперматогенез или оогенез), что может иметь особое значение в случае импринтированных генов, активность которых зависит от пола родителя, их передавшего. Даже в рассмотренном выше примере с колоректальным раком и эпимутацией неимпринтированного гена *MLH1* предполагается наследование эпигенетической модификации от матери к сыну, но репарация aberrантного эпигенотипа в его сперматозоидах. Вместе с тем авторы работы [83] не исключают, что эпимутация и у матери и у сына теоретически могла возникнуть независимо в том же самом локусе, а вовсе не наследоваться. Подобную ситуацию нельзя отвергать и в примере с синдромом Рассела–Сильвера, где эпигенетический статус *PEG1/MEST* в сперматозоидах отца исследован не был. Поэтому на сегодняшний момент остается дискуссионной возможность переноса первичных эпимутаций и их репарации в ряду поколений, и пока нет достаточно убедительных молекулярных подтверждений, объясняющих подобные механизмы эпигенетического наследования. Вместе с тем, учитывая рассмотренное в настоящем обзоре разнообразие эпимутаций импринтированных генов, изучение причин их возникновения, фенотипических эффектов и наследования представляется чрезвычайно актуальным направлением в современной генетике человека, расширяющим наши представления об этиологических основах наследственных заболеваний.

Исследование поддержано грантом РФФИ (№ 08-04-01344).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jablonka E. Epigenetic epidemiology // *Int. J. Epidemiology*. 2004. V. 33. P. 929–935.
2. Whitelaw N.C., Whitelaw E. How lifetimes shape epigenotype within and across generations // *Hum. Mol. Genet.* 2006. V. 15. R131–R137.
3. Santos-Rebouças C.B., Pimentel M.M.G. Implication of abnormal epigenetic patterns for human diseases // *Eur. J. Hum. Genet.* 2007. V. 15. P. 10–17.
4. Holliday R. The inheritance of epigenetic defects // *Science*. 1987. V. 238. P. 163–170.
5. Horsthemke B. Epimutations in human disease // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2006. V. 310. P. 45–59.
6. Reik W., Walter J. Genomic imprinting: Parental influence on the genome // *Nat. Rev. Genet.* 2001. V. 2. P. 21–32.
7. Warren S.T., Sherman S.L. The fragile X syndrome // *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* / Eds Scriver C.R., Beaudet A.L., Valle D., Sly W.S. N. Y.: McGraw Hill, 2001. P. 1257–1289.
8. Gabellini D., Green M.R., Tupler R. Inappropriate gene activation in FSHD: A repressor complex binds a chromosomal repeat deleted in dystrophic muscle // *Cell*. 2002. V. 110. P. 339–348.
9. Bickmore W.A., van der Maarel S.M. Perturbations of chromatin structure in human genetic disease: recent advances // *Hum. Mol. Genet.* 2003. V. 12. R207–R213.
10. Назаренко С.А. Эпигенетические модификации генома и болезни человека // *Мед. генетика*. 2004. Т. 3. № 2. С. 70–77.
11. Ванюшин Б.Ф. Метилирование ДНК и эпигенетика // *Генетика*. 2006. Т. 42. № 9. С. 1186–1199. (Vanyushin B.F. DNA methylation and epigenetics // *Rus. J. Genetics*. 2006. V. 42. № 9. P. 985–987.)
12. Чуриков Н.А. Молекулярные механизмы эпигенетики // *Биохимия*. 2005. Т. 70. № 4. С. 493–513.
13. Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory // *Genes Dev.* 2002. V. 16. P. 6–21.
14. Li E. Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development // *Nat. Rev. Genet.* 2002. V. 3. P. 662–673.
15. Martin D.I.K., Ward R., Suter C.M. Germline epimutation: A basis for epigenetic disease in human // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2005. V. 1054. P. 68–77.
16. Jablonka E., Lamb M. Epigenetic inheritance systems // *Evolution in Four Dimensions* / Eds Jablonka E., Lamb M. MIT Press, 2005. P. 242–265.
17. Van den Veyver I.B., Al-Hussaini T.K. Biparental hydatidiform moles: A maternal effect mutation affecting in the offspring // *Hum. Reprod.* 2006. V. 12. P. 233–242.
18. Devriendt K. Hydatidiform mole and triploidy: the role of genomic imprinting in placental development // *Hum. Reprod. Upd.* 2005. V. 11. P. 137–142.
19. Judson H., Hayward B.E., Sheridan E., Bonthron D.T. A global disorder of imprinting in the human female germ line // *Nature*. 2002. V. 416. P. 539–542.
20. El-Maarri O., Seoud M., Coullin P. et al. Maternal alleles acquiring paternal methylation patterns in biparental

- complete hydatidiform moles // *Hum. Mol. Genet.* 2003. V. 12. P. 1405–1413.
21. *Nicholls R.D., Knepper J.L.* Genome organization, function, and imprinting in Prader-Willi and Angelman syndromes // *Ann. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2001. V. 2. P. 153–175.
 22. *Ohta T., Gray T.A., Rogan P.K. et al.* Imprinting-mutation mechanisms in Prader-Willi syndrome // *Am. J. Hum. Genet.* 1999. V. 64. P. 397–413.
 23. *Perk J., Makedonski K., Lande L.* The imprinting mechanism of the Prader-Willi / Angelman region // *EMBO J.*, 2002. V. 21. P. 5807–5814.
 24. *Steffenburg S., Gillberg C.L., Steffenburg U., Kyllerman M.* Autism in Angelman syndrome: a population-based study // *Pediatr. Neurol.* 1996. V. 14. № 2. P. 131–136.
 25. *Rougeulle C., Cardoso C., Fontes M. et al.* An imprinted antisense RNA overlaps UBE3A and a second maternally expressed transcript // *Nat. Genet.* 1998. V. 19. P. 15–16.
 26. *Bielinska B., Blaydes S.M., Buiting K. et al.* De novo deletions of *SNRPN* exon 1 in early human and mouse embryos result in a paternal to maternal imprinting switch // *Nat. Genet.* 2000. V. 25. P. 74–78.
 27. *Wey E., Bartholdi D., Riegel M. et al.* Mosaic imprinting defect in a patient with an almost typical expression of the Prader-Willi syndrome // *Eur. J. Hum. Genet.* 2005. V. 13. P. 273–277.
 28. *Nazlican H., Zeschnick M., Claussen U. et al.* Somatic mosaicism in patients with Angelman syndrome and an imprinting defect // *Hum. Mol. Genet.* 2004. V. 13. P. 2547–2555.
 29. *Gillessen-Kaesbach G., Demuth S., Thiele H. et al.* A previously unrecognized phenotype characterized by obesity, muscular hypotonia, and ability to speak in patients with Angelman syndrome caused by an imprinting defect // *Eur. J. Hum. Genet.* 1999. V. 7. P. 638–644.
 30. *Engel J.R., Smallwood A., Harper A. et al.* Epigenotype-phenotype correlations in Beckwith-Wiedemann syndrome // *J. Med. Genet.* 2000. V. 37. P. 921–926.
 31. *DeBaun M.R., Niemitz E.L., McNeil D.E. et al.* Epigenetic alterations of *H19* and *LIT1* distinguish patients with Beckwith-Wiedemann syndrome with cancer and birth defects // *Am. J. Hum. Genet.* 2002. V. 70. P. 604–611.
 32. *Gicquel C., Rossignol S., Cabrol S. et al.* Epimutation of the telomeric imprinting center region on chromosome 11p15 in Silver-Russell syndrome // *Nat. Genet.* 2005. V. 37. P. 1003–1007.
 33. *Bliek J., Terhal P., van den Bogaard M.-J. et al.* Hypomethylation of the *H19* gene causes not only Silver-Russell syndrome (SRS) but also isolated asymmetry or an SRS-like phenotype // *Am. J. Hum. Genet.* 2006. V. 78. P. 604–614.
 34. *Schonherr N., Meyer E., Eggermann K. et al.* (Epi)mutations in 11p15 significantly contribute to Silver-Russell syndrome: But are they generally involved in growth retardation? // *Eur. J. Med. Genet.* 2006. V. 49. P. 414–418.
 35. *Chitayat D., Friedman J.M., Anderson L., Dimmick J.E.* Hepatocellular carcinoma in a child with familial Russell-Silver syndrome // *Am. J. Med. Genet.* 1988. V. 31. P. 909–914.
 36. *Delaval K., Wagschal A., Feil R.* Epigenetic deregulation of imprinting in congenital diseases of aberrant growth // *BioEssays.* 2006. V. 28. P. 453–459.
 37. *Schonherr N., Meyer E., Roos A. et al.* The centromeric 11p15 imprinting centre is also involved in Silver-Russell syndrome // *J. Med. Genet.* 2007. V. 44. P. 59–63.
 38. *Jirtle R.L.* Genomic imprinting and cancer // *Exp. Cell Res.* 1999. V. 248. P. 18–24.
 39. *Feinberg A.P., Cui H., Ohlsson R.* DNA methylation and genomic imprinting: insights from cancer into epigenetic mechanisms // *Seminars in Cancer Biol.* 2002. V. 12. P. 389–398.
 40. *Plass C., Soloway P.D.* DNA methylation, imprinting and cancer // *Eur. J. Hum. Genet.* 2002. V. 10. P. 6–16.
 41. *Soejima H., Joh K., Mukai T.* Gene silencing in DNA damage repair // *Cell Mol. Life Sci.* 2004. V. 61. P. 2168–2172.
 42. *Scelfo R.A., Schwienbacher C., Veronese A. et al.* Loss of methylation at chromosome 11p15.5 is common in human adult tumors // *Oncogene.* 2002. V. 21. P. 2564–2572.
 43. *Cassidy S.B.* Prader-Willi syndrome // *J. Med. Genet.* 1997. V. 34. P. 917–923.
 44. *Bliek J., Maas S.M., Ruijter J.M. et al.* Increased tumour risk for BWS patients correlates with aberrant *H19* and not *KCNQ1OT1* methylation: Occurrence of *KCNQ1OT1* hypomethylation in familial cases of BWS // *Hum. Mol. Genet.* 2001. V. 10. P. 467–476.
 45. *Arnaud Ph., Feil R.* Epigenetic deregulation of genomic imprinting in human disorders and following assisted reproduction // *Birth Defects Res. (Part C).* 2005. V. 75. P. 81–97.
 46. *Temple I.K., Shield J.P.* Transient neonatal diabetes, a disorder of imprinting // *J. Med. Genet.* 2002. V. 12. P. 872–875.
 47. *Mackay D.J.G., Hahnemann J.M.D., Boonen S.E. et al.* Epimutation of the TNDM locus and the Beckwith-Wiedemann syndrome centromeric locus in individuals with transient neonatal diabetes mellitus // *Hum. Genet.* 2006. V. 119. P. 179–184.
 48. *Arima T., Kamikihara T., Hayashida T. et al.* *ZAC*, *LIT1* (*KCNQ1OT1*) and *p57^{Kip2}* (*CDKN1C*) are in an imprinted gene network that may play a role in Beckwith-Wiedemann syndrome // *Nucl. Acids Res.* 2005. V. 33. № 8. P. 2650–2660.
 49. *Kagami M., Nagai T., Fukami M. et al.* Silver-Russell syndrome in a girl born after in vitro fertilization: partial hypermethylation at the differentially methylated region of *PEG1/MEST* // *J. Assist. Reprod. Genet.* 2007. V. 24. P. 131–136.
 50. *Lefebvre L., Viville S., Barton S.C. et al.* Abnormal maternal behaviour and growth retardation associated with loss of the imprinted gene *Mest* // *Nat. Genet.* 1998. V. 20. P. 163–169.
 51. *Kobayashi S., Uemura H., Kohda T. et al.* No evidence of *PEG1/MEST* gene mutations in Silver-Russell syndrome patients // *Am. J. Med. Genet.* 2001. V. 104. P. 225–231.
 52. *Kamikihara T., Arima T., Kato K. et al.* Epigenetic silencing of the imprinted gene *ZAC* by DNA methylation in the progression of human ovarian cancer // *Int. J. Cancer.* 2005. V. 115. P. 690–700.

53. Kawakami T., Chano T., Minami K. et al. Imprinted *DLK1* is a putative tumor suppressor gene and inactivated by epimutation at the region upstream of *GTL2* in human renal cell carcinoma // *Hum. Mol. Genet.* 2006. V. 15. P. 821–830.
54. Corn P.G., Kuerbitz S.J., van Noesel M.M. et al. Transcriptional silencing of the *p73* gene in acute lymphoblastic leukemia and Burkitt's lymphoma is associated with 5' CpG island methylation // *Cancer Res.* 1999. V. 59. P. 3352–3356.
55. Mai M., Qian C., Yokomizo A. et al. Loss of methylation and allele switching of *p73* in renal cell carcinoma // *Oncogene.* 1998. V. 17. P. 1739–1741.
56. Mai M., Yokomizo A., Qian C. et al. Activation of *p73* silent allele in lung cancer // *Cancer Res.* 1998. V. 58. P. 2347–2349.
57. Kondo M., Matsuoka S., Uchida H. et al. Selective maternal-allele loss in human lung cancers of the maternally expressed *p57KIP2* gene at 11p15.5 // *Oncogene.* 1996. V. 12. P. 1365–1368.
58. Taniguchi T., Okamoto K., Reeve A.E. Human *p57(KIP2)* defines a new imprinted domain on chromosome 11p but is not a tumour suppressor gene in Wilms tumour // *Oncogene.* 1997. V. 14. P. 1201–1206.
59. Dowdy S.C., Gostout B.S., Shridhar V. et al. Biallelic methylation and silencing of paternally expressed gene 3 (*PEG3*) in gynecologic cancer cell lines // *Gynecol. Oncol.* 2005. V. 99. P. 126–134.
60. Xu Y.Q., Grundy P., Polychronakos C. Aberrant imprinting of the insulin-like growth factor II receptor gene in Wilms' tumor // *Oncogene.* 1997. V. 14. P. 1041–1046.
61. Murrell A., Heeson S., Cooper W.N. et al. An association between variants in the *IGF2* gene and Beckwith-Wiedemann syndrome: Interaction between genotype and epigenotype // *Hum. Mol. Genet.* 2004. V. 13. P. 247–255.
62. Zogel C., Bohringer S., Gross S. et al. Identification of cis- and trans-acting factors possibly modifying the risk of epimutations on chromosome 15 // *Eur. J. Hum. Genet.* 2006. V. 14. № 6. P. 752–758.
63. Castro R., Rivera I., Ravasco P. et al. 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) 677C > T and 1298A > C mutations are associated with DNA hypomethylation // *J. Med. Genet.* 2004. V. 41. P. 454–458.
64. Costello J.F., Plass C. Methylation matters // *J. Med. Genet.* 2001. V. 38. P. 285–303.
65. Jaenisch R., Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals // *Nat. Genet.* 2003. V. 33 (Suppl.). P. 245–254.
66. Robertson G.P., Huang H.J., Cavenee W.K. Identification and validation of tumor suppressor genes // *Mol. Cell Biol. Res. Commun.* 1999. V. 2. P. 1–10.
67. Aapola U., Liiv I., Peterson P. Imprinting regulator DNMT3L is a transcriptional repressor associated with histone deacetylase activity // *Nucl. Acids Res.* 2002. V. 30. P. 3602–3608.
68. Aapola U., Maenpaa K., Kaipia A., Peterson P. Epigenetic modifications affect *Dnmt3L* expression // *Biochem. J.* 2004. V. 380 (Part 3). P. 705–713.
69. Bigey P., Ramchandani S., Theberge J. et al. Transcription regulation of the human DNA methyltransferase (*DNMT1*) gene // *Gene.* 2000. V. 242. P. 407–418.
70. Slack A., Cervoni N., Pinard M., Szyf M. Feedback regulation of DNA methyltransferase gene expression by methylation // *Eur. J. Biochem.* 1999. V. 264. P. 191–199.
71. Ling Y., Sankpal U.T., Robertson A.K. et al. Modification of *de novo* DNA methyltransferase 3a (*Dnmt3a*) by SUMO-1 modulates its interaction with histone deacetylases (HDACs) and its capacity to repress transcription // *Nucl. Acids Res.* 2004. V. 32. P. 598–610.
72. Macleod D., Charlton J., Mullins J., Bird A.P. Sp1 sites in the mouse *Aprt* gene promoter are required to prevent methylation of the CpG island // *Genes Dev.* 1994. V. 8. P. 2282–2292.
73. Bell A.C., West A.G., Felsenfeld G. The protein CTCF is required for the enhancer blocking activity of vertebrate insulators // *Cell.* 1999. V. 98. P. 387–396.
74. Yu W., Giniala V., Pant V. Poly(ADP-ribosyl)ation regulates CTCF-dependent chromatin insulation // *Nat. Genet.* 2004. V. 36. P. 1105–1110.
75. Klenova E.M., Morse H.C.III., Ohlsson R., Lobanenkov V.V. The novel *BORIS + CTCF* gene family is uniquely involved in the epigenetics of normal biology and cancer // *Seminars in Cancer Biology.* 2002. V. 12. P. 399–314.
76. Burke L.J., Zhang R., Bartkuhn M. et al. CTCF binding and higher order chromatin structure of the *H19* locus are maintained in mitotic chromatin // *EMBO J.* 2005. V. 24. P. 3291–3300.
77. Garfinkel M.D., Ruden D.M. Chromatin effects in nutrition, cancer, and obesity // *Nutrition.* 2004. V. 20. P. 56–62.
78. Niemitz E.L., Feinberg A. Epigenetics and assisted reproductive technology: a call for investigation // *Am. J. Hum. Genet.* 2004. V. 74. P. 599–609.
79. Horsthemke B., Ludwig M. Assisted reproduction: the epigenetic perspective // *Hum. Reprod. Upd.* 2005. V. 11. P. 473–482.
80. Лебедев И.Н., Пузырев В.П. Эпигенетические аспекты безопасности вспомогательных репродуктивных технологий // *Генетика.* 2007. Т. 43. № 9. С. 1157–1171. (Lebedev I.N., Puzyrev V.P. Epigenetic perspectives of safety in assisted reproductive technologies // *Rus. J. Genetics.* 2007. V. 43. № 9. P. 961–972.)
81. Buiting K., Gross S., Lich C. et al. Epimutations in Prader-Willi and Angelman syndromes: A molecular study of 136 patients with an imprinting defect // *Am. J. Hum. Genet.* 2003. V. 72. P. 571–577.
82. Suter C.M., Martin D.I., Ward R.L. Germline epimutation of *MLH1* in individuals with multiple cancers // *Nat. Genet.* 2004. V. 36. P. 497–501.
83. Hitchins M.P., Wong J.J.L., Suthers G. et al. Inheritance of a cancer-associated *MLH1* germ-line epimutation // *N. Engl. J. Med.* 2007. V. 356. P. 697–705.

Epimutations of Imprinting Genes in the Human Genome: Classification, Causes, Association with Hereditary Pathology

I. N. Lebedev and E. A. Sazhenova

*Institute of Medical Genetics, Tomsk Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, 634050 Russia;
e-mail: igor.lebedev@medgenetics.ru*

Genomic imprinting is an epigenetic phenomenon characterized by monoallelic expression of the genes depending on their parental origin. The molecular basis of this expression is covalent modifications of DNA and histones that are formed during maturation of germline cells. Abnormalities of the establishment of genome imprinting during gametogenesis or its maintenance at various stages of development, caused by aberrant epigenetic modifications of the chromatin, predominantly disturbance of DNA methylation state, are a form of mutational variability of imprinted genomic loci. In this review, we consider the spectrum of epimutations of imprinted genes, present their classification, and discuss possible causes of their appearance and their role in etiology of hereditary human diseases.