

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОЗАИЦИЗМ ПРИ БОЛЕЗНЯХ ГЕНОМНОГО ИМПРИНТИНГА

© 2019 г. Е. А. Саженова¹, *, И. Н. Лебедев¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

*e-mail: elena.sazhenova@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 06.05.2019 г.

После доработки 20.05.2019 г.

Принята к публикации 21.05.2019 г.

Дифференциальный характер генной экспрессии в развитии организма поддерживается сложными регуляторными эпигенетическими механизмами, обеспечивающими формирование различных специализированных типов клеток. В результате многоклеточный организм представляет собой мозаику клеток с различающимися эпигенетическими характеристиками. Высоко вероятно, что выход за границы нормальной эпигенетической вариабельности может обуславливать возникновение патологических мозаичных состояний, при которых одна часть клеточной популяции обладает нормальным эпигенотипом, а другая несет измененную эпигенетическую информацию. В настоящем обзоре на примере явления геномного импринтинга как классического эпигенетического феномена впервые обобщены данные о распространенности эпигенетического мозаицизма, механизмов его возникновения и роли в этиологии наследственных болезней, обусловленных дисфункцией импринтированных локусов генома.

Ключевые слова: геномный импринтинг, эпигенетический мозаицизм, болезни геномного импринтинга, гены контроля импринтинга, мультилокусные дефекты метилирования.

DOI: 10.1134/S0016675819100114

Соматические клетки диплоидного организма млекопитающих обладают двумя родительскими копиями генов. Это дает отцовским и материнским локусам потенциальную возможность быть в равной степени активными в геноме потомка. Геномный импринтинг — феномен, который нарушает такую биаллельную экспрессию как отцовских, так и материнских генов, приводя их к моноаллельной экспрессии и гаплоидизации. У млекопитающих на сегодняшний день выявлено более 100 импринтированных генов [1]. Это в основном белок-кодирующие гены, играющие ключевую роль в обеспечении нормального эмбрионального развития через влияние на степень экспрессии генов, контролирующих рост эмбриона, пролиферацию и дифференцировку клеток и другие процессы внутриутробного развития плода, плаценты, ЦНС и метаболизма [2].

Эпигенетический мозаицизм, как и любую форму генетического мозаицизма, можно определить как наличие разных эпигенотипов в различных клеточных популяциях в пределах организма, развившегося из одной зиготы. Однако в отличие от “структурного” мозаицизма по соматическим генным мутациям или хромосомным аномалиям эпигенетический мозаицизм доволь-

но сложно дифференцировать от нормального эпигенетического полиморфизма, при котором различные клетки организма, даже в пределах одного клеточного типа, обладают особыми эпигенетическими характеристиками. Очевидно, что рассмотрение вопроса о возможном патогенетическом значении эпигенетического мозаицизма (или эпимозаицизма) должно предусматривать наличие некоторой границы между нормальной и патологической эпигенетической вариабельностью. Если касаться импринтированных генов, то некоторые из них как раз обладают такой уникальной особенностью и могут по-разному экспрессироваться в тех или иных тканях. Кроме того, некоторые гены имеют разнонаправленный импринтинг, когда в клетках одних тканей происходит экспрессия материнского аллеля, а в других — отцовского [3]. Наличие тканевого мозаицизма для этих генов свидетельствует о том, что статус метилирования в них может устанавливаться не во время формирования гамет, а, возможно, даже в разные периоды онтогенеза. Все это приводит к тому, что у здорового организма в одних клетках активны одни импринтированные гены, в других клетках работают другие, во внутриутробном периоде включены одни локусы, а в

постнатальном онтогенезе и в разные его периоды — абсолютно другие. Тогда возникает вопрос, когда и каким образом такая нормальная эпигенетическая вариабельность превращается в патологическую.

Нарушение полиморфного характера метилирования импринтированных генов приводит к формированию болезней геномного импринтинга, которые бросают вызов современной молекулярной диагностике, включая клиническую и молекулярную гетерогенность, перекрывающиеся клинические особенности и множественные эпимутации в импринтированных генах. Соматический межтканевой и внутритканевой эпимозаицизм становится еще одной проблемой в диагностике болезней геномного импринтинга, так как присутствие нормального клеточного клона может смягчать или модифицировать клинические особенности этих синдромов. В связи с этим не исключено, что мозаичные варианты болезней геномного импринтинга могут быть пропущены клиницистами. В настоящем обзоре мы предприняли попытку охарактеризовать и дифференцировать эти случаи эпигенетического мозаицизма на примере импринтированных локусов генома.

МЕЖТКАНЕВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В ЭКСПРЕССИИ ИМПРИНТИРОВАННЫХ ГЕНОВ

На сегодняшний день тканеспецифичный импринтинг известен для таких импринтированных генов как *KCNQ1OT1* (11p15.5), *UBE3A* (15q11), *SNURF-SNRPN* (15q11), *IGF2R* (6q25.3), *GRB10* (7p21), *MEST* (7q32.2) и др. (табл. 1). Эти гены нарушают классическое представление об импринтированных генах, которые должны моноаллельно экспрессироваться только с одного аллеля во всех тканях. Тем не менее оказалось, что эпигенетический тканевой мозаицизм является нормальным феноменом в развитии организма.

Так, ген *IGF2R* (OMIM 147280, 6q25.3) у человека характеризуется полиморфным импринтингом, т.е. наличием моноаллельной экспрессии гена во всех тканях, кроме мозга, где зафиксирована его биаллельная экспрессия [5]. В то же время у мышей этот ген моноаллельно экспрессируется только с материнского гомолога во всех тканях. Этот пример демонстрирует не только тканеспецифичный, но и эволюционный эпиполиморфизм.

Еще один ген с моноаллельной экспрессией — ген, ассоциированный с раком мочевого пузыря *BLCAP* (OMIM: 613110, 20q11.23; ранее *BC10*), является опухолевым супрессором, который ограничивает пролиферацию клеток и стимулирует апоптоз. Белок *BLCAP* отсутствует во многих типах опухолей человека. Этот ген импринтирован

у мыши и человека и имеет моноаллельную материнскую экспрессию в мозге с биаллельной экспрессией в плаценте, яичке, сердце, легких, печени и скелетной мышечной ткани [3, 9].

Еще один ген с тканевыми различиями в экспрессируемом аллеле — *GRB10* (OMIM 601523, 7p12.2). Он имеет несколько изоформ с разнонаправленной моноаллельной экспрессией: только с экспрессией отцовского аллеля в эмбриональном головном и спинном мозге человека и только с материнского — в плаценте [4, 10]. Все остальные ткани плода, включая легкие, конечности, пуповину, кожу, почки, надпочечники, поджелудочную железу, печень и сердце, демонстрируют биаллельный характер экспрессии. Материнская экспрессия *GRB10* в плаценте может быть эволюционно важной, предположительно, для контроля роста плода. И действительно, потеря экспрессии материнского аллеля в эмбриогенезе приводит к значительному росту плода и плаценты, что нарушает правильное распределение материнских ресурсов на этот процесс [11]. Гарфилд с соавт. [12] продемонстрировали, что нарушение моноаллельной экспрессии *Grb10* в мозге мышей приводит к повышенному социальному доминированию, особенно среди других аспектов социального поведения, что подтверждается наблюдаемым увеличением аллогруминга у самцов с дефицитом *Grb10*. В то же время на нокаутных по гену *Grb10* мышах было показано, что он влияет в первую очередь на стабильность социального поведения, а не на социальное доминирование [13]. Наличие противоположной моноаллельной экспрессии в плаценте по сравнению с мозгом поддерживает гипотезу о том, что импринтинг *GRB10* мог эволюционировать, чтобы разделить различную роль этого гена в росте и поведении млекопитающих.

Ген *WT1* (ген опухоли Вильмса 1, OMIM 607102, 11p13) имеет импринтированную моноаллельную экспрессию только отцовского гомолога в фибробластах и лимфоцитах, моноаллельную материнскую экспрессию в плаценте и мозге и биаллельную в других органах (сердце, легкие, печень и кишечник) [14].

Ген *UBE3A* (убиквитин-зависимая лигаза E3, OMIM 601623, 15q11.2) показывает импринтированную моноаллельную экспрессию у человека только в мозге, а именно в клетках Пуркинье коры мозжечка и нейронах гиппокампа [15].

Ген *GNAS* (OMIM 139320, 20q13.3) — сложный локус с точки зрения эпигенетической регуляции, который кодирует один биаллельный (*Gsa*) и четыре моноаллельных (*NESP55*, *GNAS-AS1*, *XLα* и *A/B*) транскрипта. С отцовского аллеля экспрессируется исключительно *XLAS*, с материнского — *NESP55*, в то время как биаллельно экспрессируется *Gsa*. В зависимости от ткани осу-

Таблица 1. Тканеспецифичная экспрессия импринтированных генов в норме

Ген регион	Моноаллельная экспрессия		Биаллельная экспрессия	Ссылка
	отцовского аллеля	материнского аллеля		
<i>GRB10</i> 7p12	Головной и спинной мозг	Плацента	Легкие, конечности, пуповина, кожа, почки, надпочечники, поджелудочная железа, печень и сердце	[4]
<i>MEST</i> 7q32.2	Легкие		Носовой эпителий, яичник	[5]
<i>CPA4</i> 7q32.2		В большинстве остальных тканей	Носовой эпителий	[5]
<i>PEG3</i> 7q21.3	В большинстве остальных тканей		Скелетные мышцы	[5]
<i>UBE3A</i> 15q13		Головной мозг	В большинстве тканей (носовой эпителий, мышцы, лимфоциты крови)	[6]
<i>SNURF-SNRPN</i> 15q12	В большинстве тканей		Яичники	[5]
<i>IGF2R</i> 6q25.3		В большинстве тканей	Мозг	[5]
<i>WT1</i> 11p13	Фибробласты кожи и лимфоциты крови	Плацента и мозг	Сердце, легкое, печень и кишечник	[7]
<i>KvLQT1</i> 11p15		В большинстве тканей	Сердце, скелетные мышцы	[5]
<i>IGF2</i> 11p15	В большинстве остальных тканей	Головной мозг	Печень	[5, 8]
<i>BLCAP</i> 20q11.2		Мозг	Плацента, сердце, легкие, печень и скелетная мышечная ткань	[9]
<i>GNAS</i> 20q13		Почечные каналы и гипофиз	В большинстве остальных тканей	[5]

шествуется либо биаллельная, либо моноаллельная экспрессия. Так, например, в большинстве тканей транскрибируются оба аллеля с образованием *Gsα*. В нейроэндокринных тканях головного и спинного мозга, в сердце, почках, легких, мышцах экспрессируется только материнский аллель локуса *GNAS*, продуктом которого является *NESP55* [16]. Промотор *NESP55* имеет специфический дифференциально метилированный регион (ДМР), который подвергается метилированию на отцовском аллеле, поэтому экспрессия идет только с материнской хромосомы. *NESP55* кодирует хромогранин-подобный нейроэндокринный секреторный белок и участвует в регуляции процессов метилирования ДМР *GNAS*, что влияет на экспрессию данного локуса [17]. *Gsα* биаллельно экспрессируется, за исключением небольшого количества тканей, включая проксимальные почечные каналы, щитовидную желе-

зу, гонады и гипофиз, где он моноаллельно экспрессируется только с материнского аллеля *GNAS*. *XLAS* — это вариант *Gsα*, который экспрессируется исключительно с отцовского аллеля *GNAS*, прежде всего в нейроэндокринных тканях и нервной системе.

Кэмпбелл с соавт. [18] представили данные, свидетельствующие о том, что *GNAS* биаллельно экспрессируется в широком диапазоне тканей плода человека. Они также показали, что *Gsα* моноаллельно экспрессируется с материнского аллеля в нормальной взрослой ткани гипофиза, а его биаллельная экспрессия регистрируется в опухоли соматотрофных клеток гипофиза независимо от нарушений в *GNAS*. Эти результаты показали возможную роль потери импринтинга *Gsα* при опухоли гипофиза.

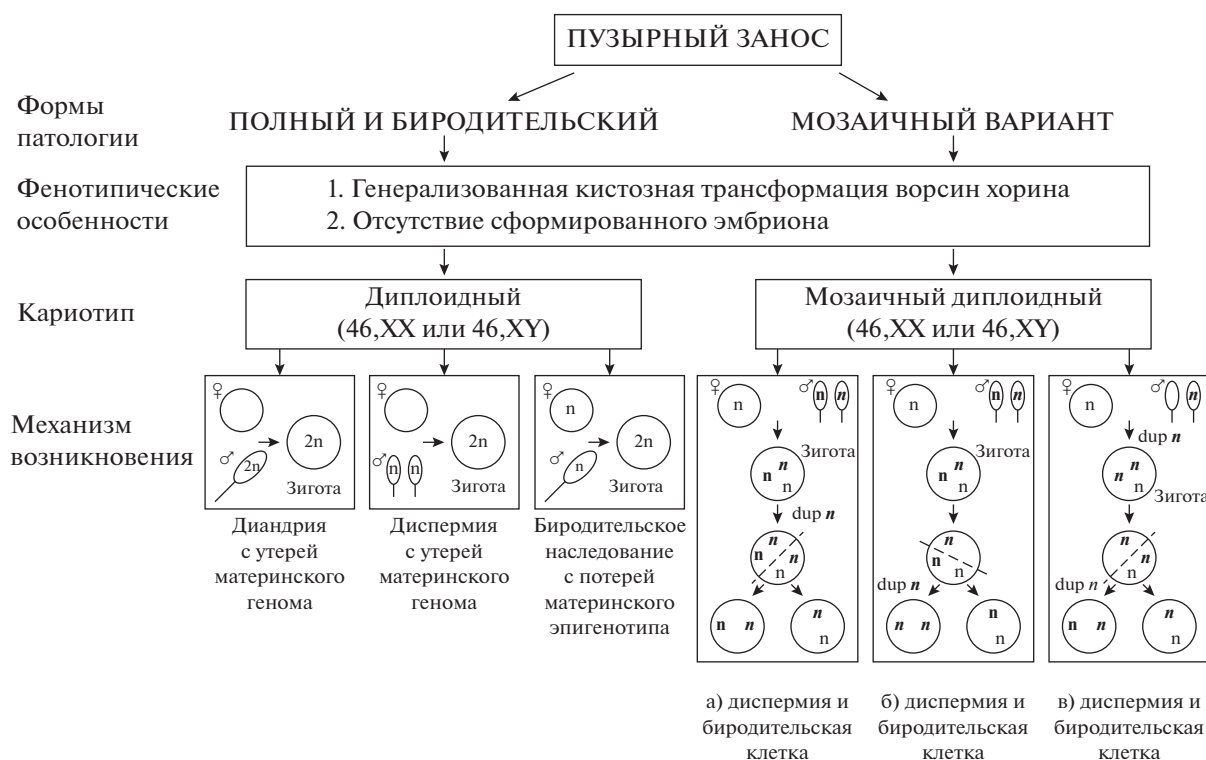


Рис. 1. Механизмы формирования пузырных заносов. dup — дупликация. Для правой половины рисунка: n — материнский геном; n — геном первого сперматозоида; n — геном второго сперматозоида.

Таким образом, в последнее время идентифицируется все больше импринтированных генов с полиморфным импринтингом и, скорее всего, может оказаться, что такие гены являются не исключением, а правилом. Определение импринтированной экспрессии какого-либо гена в отдельной ткани вовсе не означает, что этот ген будет импринтирован во всех остальных тканях. И наоборот, отсутствие импринтированного статуса гена в некоторых тканях вовсе не исключает его наличия в других. Эти данные подтверждают предположение о том, что тканеспецифичная эпигенетическая модификация генов является одним из основных механизмов, обеспечивающих дифференциальную экспрессию генов в клетках разных тканей в ходе развития. Нарушение такого эпигенетического баланса дозы импринтированных генов приводит к формированию болезней геномного импринтинга.

БОЛЕЗНИ ГЕНОМНОГО ИМПРИНТИНГА И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОЗАИЦИЗМ

Эпигенетический мозаицизм описан при следующих болезнях геномного импринтинга: пузырный занос, синдромы Энгельмана (СЭ), Прадера—Вилли (СПВ), Рассела—Сильвера (СРС), Видеманна—Беквита (СВБ), Тэмпла, псевдоги-

попаратиреоз 1В (ПГП1В) и транзиторный неонатальный сахарный диабет (ТНСД).

Пузырный занос (ПЗ, гидатидиформный моль, OMIM 231090) — патология беременности, сопровождаемая морфологическими изменениями цитотрофобласта хориона. Полный пузырный занос (ППЗ) характеризуется присутствием диплоидных андрогенических клеток трофобласта, имеющих два гаплоидных генома отцовского происхождения. Самый частый механизм формирования ППЗ — оплодотворение ооцита двумя гаплоидными сперматозоидами или одним диплоидным сперматозоидом с последующей элиминацией материнского пронуклеуса (диандрия) (рис. 1). Иногда ППЗ возникает в результате потери материнского хромосомного набора в яйцеклетке вследствие аномальной сегрегации двух гаплоидных наборов в полярное тельце и дублирования отцовского гаплоидного генома в зиготе, в итоге образуются так называемые гомозиготные заносы. Зигота при этом имеет кариотип 46,XX.

Интересно, что в некоторых случаях ППЗ может развиваться и при нормальном биродительском диплоидном кариотипе зиготы. Речь идет о биродительском полном пузырном заносе (БППЗ, Biparental Complete Hydatidiform Mole). Исследование эпигенетических аспектов БППЗ выявило глобальные нарушения характера метилирования

импринтированных генов на хромосомах материнского происхождения. При этом было показано, что в диплоидном кариотипе зиготы ряд материнских аллелей импринтированных генов приобретают отцовский эпигенотип, и функционально такое состояние эквивалентно наследованию обоих аллелей от отца, как при классическом варианте диандрогенетического ППЗ (рис. 1). Так, было выявлено гипометилирование импринтированных на материнских хромосомах генов *SNRPN*, *PEG1*, *PEG3*, *KCNQ1OT1*, что приводило к их биаллельной экспрессии с обоих родительских гомологов [19].

Кроме вышеперечисленных форм ПЗ описаны мозаичные случаи этой патологии. Так, Сунде с соавт. [20] среди 162 случаев диплоидных пузырных заносов описали восемь, которые имели мозаицизм — смесь андрогенетических диплоидных и биродительских диплоидных клеток, при этом нарушения трофобласта развивались по типу ППЗ. Авторы предположили, что мозаичные ПЗ, охватывающие андрогенетическую клеточную популяцию, являются результатом различных постзиготических аномалий, включая дупликацию отцовского пронуклеуса, асимметричный цитокинез и постзиготическую диплоидизацию. Это подтверждает предположение, что оплодотворение безъядерной яйцеклетки не является обязательным событием для создания андрогенной клеточной популяции.

Возможные механизмы формирования мозаичных вариантов ПЗ следующие (рис. 1): а) оплодотворение яйцеклетки (n) двумя сперматозоидами (n + n). В результате эндоредупликации появляются клетки с отцовским и материнским геномом в популяции диплоидных родительских клеток и клетки с двумя отцовскими геномами в популяции диплоидных андрогенных клеток; б) оплодотворение яйцеклетки с материнским геномом двумя сперматозоидами с последующей эндоредупликацией и дупликацией отцовского генома. В результате возникают также диплоидные клетки, как андрогенетические, так и биродительские; в) оплодотворение яйцеклетки одним спермием с последующей дупликацией отцовского пронуклеуса и формированием триплоидной зиготы, затем эндоредупликации и последующей еще одной дупликацией отцовского генома. В итоге так же, как и в двух вышеизложенных случаях, формируются диплоидные клетки с диандрическим ПЗ и биродительские клетки с отцовским и материнским геномом [20].

Недавно было показано, что во время цитокинеза зиготы млекопитающих могут спонтанно сегрегировать целые родительские геномы в различные бластомеры [21]. Молекулярные механизмы, лежащие в основе возникновения бластомеров с различными родительскими геномами в течение

первого митотического цикла, пока остаются невыясненными, тем не менее первая зиготическая метафаза вызывает асимметричные взаимодействия между митотическим веретеном и родительскими кинетохорами. Это приводит к формированию гетерогенных бластомеров с различными вариантами полиплоидии. Так, при триполярном цитокинезе возникают бластомеры с диплоидным биродительским, гаплоидным отцовским и гаплоидным материнским геномами. Все это может приводить к клинической картине ПЗ. Таким образом, эпигенетический мозаицизм на уровне целых гаплоидных наборов может формироваться как вследствие аномалий оплодотворения, цитокинеза и хромосомной сегрегации, так и возникать в результате ошибок установления и поддержания геномного импринтинга.

Транзиторный неонатальный сахарный диабет (OMIM 601410, сегмент 6q24, частота в популяции — 1 : 400000) характеризуется внутриутробной задержкой роста и неонатальной гипергликемией. Больные имеют диабет при рождении или в подростковом возрасте, у них может присутствовать макроглоссия и пупочная грыжа, а также возможная внезапная смерть у новорожденных.

Причиной ТНСД является гипометилирование генов *HYMAI* и *PLAGL1*. Первый из них — супрессор опухоли и кодирует нетранслируемую РНК. Продуктом опухолесупрессорного гена *PLAGL1* является транскрипционный фактор, который вместе с белком p53 вовлечен в регуляцию клеточного цикла через контроль перехода фазы G1/S и запуск апоптоза. Он подавляет клеточный рост и экспрессируется только с отцовского гомолога. В связи с этим гипометилирование гена может привести к уменьшению пролиферативной активности клеток.

Маккей с соавт. [22] у шести из 12 пациентов с ТНСД показали мозаичное гипометилирование в одном или одновременно в нескольких импринтированных и не экспрессирующихся в норме на материнском гомологе генах — *GRB10* (7p12), *PEG1* (7q21), *KCNQ1OT1* (11p15.5) и *PEG3* (7q21), при этом не было отмечено изменения уровня метилирования в отцовском метилированном локусе *H19* (11p15.5). Были исследованы периферическая кровь, фибробласты кожи и буккальный эпителий. Отмечено, что в лимфоцитах крови у всех пациентов не имелось мозаицизма по гипометилированию этих генов, тогда как в фибробластах кожи и буккальном эпителии присутствовал мозаицизм по гипометилированию. В то же время основные для данного заболевания импринтированные гены области 6q24 (*HYMAI* и *PLAGL1*) были полностью гипометилированы во всех тканях, т.е. не имели мозаицизма по гипометилированию. Никаких изменений характера метилирования изученных генов у родителей про-

бандов не было обнаружено. Авторы не обнаружили никаких фенотипических различий у пациентов с мозаицизмом по гипометилированию в импринтированных генах. По-видимому, это было связано с тем, что основные гены, определяющие данный синдром, не были задействованы в мозаицизме.

Тканеспецифичный эпигенетический мозаицизм, проявляющийся мультилокусными дефектами метилирования импринтированных генов (MLID — multilocus imprinting defects) при ТНСД, предполагает наличие какого-либо *cis*- или *trans*-действующего фактора. И действительно, у больных с ТНСД и MLID были обнаружены мутации в гене *ZFP57*, указывая на то, что именно он может быть вовлечен в поддержание материнского и отцовского статуса метилирования в соматических клетках эмбриона после оплодотворения [23]. К сожалению, авторы [22] не провели поиск мутаций в гене *ZFP57* у больных с мозаичным вариантом MLID и ТНСД.

ZFP57 (OMIM 612192, 6p22.1) кодирует белок, который имеет KRAB домен, ассоциированный с цинковыми пальцами типа Cys2His2. KRAB — домен транскрипционной репрессии, действующий через белок-белковые взаимодействия с KAP1/TIF1b/Trim28, которые могут начать *de novo* метилирование ДНК мыши во время эмбриогенеза. *Zfp57* необходим для поддержания статуса метилирования импринтированных генов, особенно в период эпигенетических волн репрограммирования во время преимплантационного развития. После оплодотворения отцовский геном активно деметируется, в то время как деметилирование материнского генома происходит пассивно. В зиготе DPPA3 защищает материнский геном и импринтированные гены от активного деметилирования путем связывания с деметилированным гистоном H3K9me2. Комплексом *ZFP57/TRIM28* обеспечивается доставка ДНК-метилтрансферазы DNMT1 в регионы локализации импринтированных генов, что гарантирует устойчивость их метилирования при репрограммировании [24, 25].

Синдром Рассела—Сильвера (OMIM 180860, субсегменты 11p15.5 и 7p11.2, частота в популяции 1 : 10000—30000) сочетает в себе внутриутробную и постнатальную задержку роста, низкий индекс массы тела, маленькое треугольное лицо. У 50% больных наблюдается асимметрия скелета, нарушение полового развития, трудности в обучении. Пре- и постнатальная задержка роста, гемигипотрофия являются противоположными увеличению роста и гемигипертрофии при СВБ.

Отсутствие продуктов генов *MEST*, *CDKN1C*, *IGF2* и *KCNQ1OT1*, так же как и увеличение дозы гена *H19* могут приводить к СРС. Продукт гена *MEST* (7q32) участвует в регуляции процессов ро-

ста эмбриона и плаценты, а *CDKN1C* (11p15.5) является негативным регулятором клеточной пролиферации. *KCNQ1OT1* (11p15.5) — один из двух центров импринтинга (ЦИ) кластера импринтированных генов 11p15, который кодирует длинную нетранслируемую РНК, ингибирующую активность рядом расположенных импринтированных генов. Продукт гена *IGF2* является фактором роста плода, а с *H19* считается длинная некодирующая РНК, которая функционирует как опухолесупрессор. Одной из причин СРС также является биаллельная экспрессия *GRB10* — рецептора фактора роста. *GRB10* относится к адаптерным белкам, которые взаимодействуют с рядом рецепторных тирозинкиназ и сигнальных молекул. Белковый продукт *GRB10* взаимодействует с рецепторами инсулина и инсулиноподобного фактора роста через SH2 домен, подавляя активность тирозинкиназы, которая участвует в стимуляции активности инсулина и инсулиноподобных факторов роста I и II, регулируя процессы роста, развития и дифференцировки клеток и тканей организма. Таким образом, *GRB10* оказывает супрессирующее влияние на рост, а увеличенная доза этого гена может способствовать подавлению роста клеток [26].

Фуке-Сато с соавт. [27] описали ребенка с СРС и мозаицизмом по однородительской дисомии (ОРД) хромосомы 7 материнского происхождения. Ребенок имел все клинические признаки СРС, кроме асимметрии скелета: внутриутробную и постнатальную задержку роста, низкий индекс массы тела, маленькое треугольное лицо и гемигипотрофию. Авторы показали, что клон клеток с ОРД хромосомы 7 материнского происхождения в лейкоцитах периферической крови составил 92%, в клетках буккального эпителия — 91% и 11% в плацентарной ткани. ОРД нарушает баланс дозы импринтированных генов, так же как и эпимутации, поэтому мозаицизм по ОРД может приводить к возникновению эпигенетического мозаицизма по импринтированным генам.

Генетические и эпигенетические аномалии с участием импринтированных генов региона 11p15 также могут являться причиной СРС, т.е. эпигенетические и генетические аномалии при синдромах Рассела—Сильвера и Видеманна—Беквита являются реципрокными по отношению друг к другу: гипометилирование (СРС) в сравнении с гиперметилированием (СВБ) импринтированного центра *IGF2/H19*, дупликация 11p15 материнская (СРС) против отцовской (СВБ), однородительская дисомия хромосомы 11 материнского происхождения (СРС) против отцовской ОРД хромосомы 11 (СВБ).

Фонтана с соавт. [28] у семи больных с СРС обнаружили мозаицизм по гипометилированию ЦИ *IGF2/H19* (индекс метилирования (ИМ) варьиро-

вал от 25 до 36%). Оценку уровня метилирования проводили с использованием системы MassArray EpiTYPER с применением нуклеотид-специфического расщепления и последующей идентификации продуктов посредством масс-спектрометрии MALDI-TOF. У двух больных дополнительно было показано гипометилирование других импринтированных локусов: *MEST* (ИМ 16%) у одного больного и *MEST* (ИМ 22%) и *GNASXL* (ИМ 31%) у другого. У одного из них была выявлена гетерозиготная миссенс-мутация в гене *ZFP42* (4q35.2), унаследованная от отца. У больных с эпимозаицизмом и СРС не были выявлены какие-либо клинические особенности, то есть они имели классический для данного синдрома фенотип.

Хиура с соавт. [29] описали пять детей с СРС, рожденных после использования вспомогательных репродуктивных технологий. Все пациенты имели гипометилирование ЦИ *IGF2/H19*. У четырех из них наблюдались MLID в мозаичном состоянии с вовлечением других импринтированных генов — *MEST*, *CDKN1C*, *IGF2* и *KCNQ1OT1*, что свидетельствует о нарушении импринтинга после оплодотворения. Полногеномное секвенирование у больных с эпигенетическим мозаицизмом по MLID для поиска генов, возможно контролирующих этот патологический процесс, в данном исследовании не проводилось. Интересно, что все пять пациентов с эпигенетическим мозаицизмом имели классический для СРС фенотип.

Балман с соавт. [30] описали ребенка с СРС и мозаицизмом по изодисомии хромосомы 11 материнского происхождения. С использованием метода MS-MLPA было показано, что уровень мозаицизма по ОРД хромосомы 11 составил 18%. Ребенок имел характерные признаки СРС: внутриутробную и постнатальную задержку роста, низкий индекс массы тела при рождении (1.76 кг), треугольное лицо, в то же время отсутствовала асимметрия конечностей. Таким образом, присутствие даже небольшого клона клеток с ОРД, ведущей к эпигенетическому нарушению импринтированных генов, привело к формированию клинической картины данного синдрома.

У матерей больных СРС и MLID, сочетающихся с гипометилированием *IGF2/H19*, в некоторых случаях обнаруживается носительство мутации гена *NLRP5* [31]. *NLRP5* (*NALP5*, OMIM 609658, 19q13.43, мышинный гомолог Mater) — цитозольный белок, Nod-подобный рецептор семейства NALP, регулирует ранний эмбриогенез и апоптоз. Он играет определенную роль в раннем эмбриогенезе, участвуя в процессе активации эмбрионального генома, деградации материнских РНК-продуктов и регулировании функционирования органелл [32]. Этот ген может выступать в качестве *trans*-действующего фактора, регулиру-

ющего эпигенетические нарушения при СРС. Еще одним геном с подобной функцией может выступать *ZFP42* (OMIM 614572, 4q35.2), который был обнаружен у больного с СРС и эпигенетическим мозаицизмом по MLID. Этот белок входит в семейство KRAB-домена цинковых пальцев и является ДНК-связывающим фактором транскрипции. Резкое подавление экспрессии этого гена происходит при начале дифференцировки клеток.

Синдром Видеманна–Беквита (OMIM 130650, субсегмент 11p15.5, частота в популяции 1 : 13700) включает в себя следующие клинические признаки: гигантизм, макроглоссию, макросомию, висцеромегалию, гемигиперплазию, дефекты брюшной стенки, пупочную грыжу, микроцефалию, насечки на мочках ушных раковин, пигментные невусы, неонатальную гипогликемию. Опухоль Вильмса описана в 7.5% случаев. Больные с СВБ подвержены риску развития нейробластомы, гепатобластомы и опухолей надпочечников. Те же самые молекулярные изменения как при СВБ, обнаруживаются примерно у 30% пациентов с изолированной гемигиперплазией (OMIM 235000) [33]. Повышен риск рождения детей с СВБ и гипометилированием *KCNQ1OT1* после применения вспомогательных репродуктивных технологий [34].

Регион 11p15.5 содержит, по меньшей мере, 12 импринтированных генов, которые регулируются двумя ЦИ, разделенными неимпринтированными участками. Импринтированные гены *H19* и *IGF2*, расположенные в этом субсегменте, регулируются координированно благодаря конкуренции их промоторов за доступ к общему энхансеру, который играет важную роль в регуляции активности обоих локусов. На хромосоме, полученной от матери, энхансер активирует транскрипцию гена *H19*, с которого считывается нетранслируемая РНК, а ген *IGF2* находится в неактивном состоянии. На хромосоме отцовского происхождения в результате метилирования локуса *H19* ген *IGF2* становится доступным для энхансера и активируется. При СРС происходит гипометилирование *H19*, в результате он полностью выключает экспрессию *IGF2*, что может обусловить внутриутробную и постнатальную задержку роста и низкий индекс массы тела. При СВБ происходит обратная картина — биаллельная экспрессия *IGF2* приводит к полному отсутствию продукта *H19*, вследствие чего пренатально формируется органо-мегалия.

MLID при СВБ выявляются в 50% случаев. Блик с соавт. [35] в выборке 149 пациентов с СВБ обнаружили у 17 из них гипометилирование *KCNQ1OT1*. Помимо гипометилирования данного ЦИ у шести пациентов имелось мозаичное гипометилирование гена *MEST*, у семи пациентов — *PLAGL1*, у шести больных *IGF2R*, у четырех — *GRB10* и у десяти пациентов — *GNAS/NESPAS*.

Анализ эпигенотипов проводили только в лейкоцитарной ДНК. Масса тела, частота неонатальной макросомии и гемигипертрофия при рождении у пациентов с множественным гипометилированием в импринтированных генах были в среднем ниже, чем в подгруппе с изолированным гипометилированием *KCNQ1OT1*. Кроме того, некоторые пациенты с гипометилированием нескольких импринтированных генов имели признаки, не связанные с СВБ, — нарушение речи, задержку развития, трудности кормления при рождении, проблемы со слухом.

Наличие эпигенетического мозаицизма по MLID поддерживает гипотезу о том, что *trans*-действующие факторы могут влиять на соматическое поддержание импринтинга в нескольких материнских метилированных локусах. И действительно, в некоторых случаях при наличии множественных эпимутаций в импринтированных генах у больных СВБ у их матерей выявляются мутации в генах *NLRP2* или *NLRP5* [31, 36].

Фонтана с коллегами [28] с использованием метода MassArray у 17 из 21 пациента с СВБ показали мозаицизм по гипометилированию *IGF2* (ИМ варьировал от 7 до 31%), которое сопровождалось гипометилированием в генах: *PEG10* (ИМ от 21 до 41%) у четырех пациентов, *MEST* (ИМ от 20 до 31%) у трех больных; *GNAS* (ИМ от 20 до 34%) у двух пациентов. Трое больных с СВБ имели мозаицизм по гиперметилированию ЦИ *IGF2/H19* (ИМ варьировал от 59 до 62%). Изменения уровня метилирования других импринтированных генов не было обнаружено. У одного пациента с MLID была выявлена гетерозиготная мутация в гене *NLRP2* (регион 19q13.42), унаследованная от отца. Все больные с эпимозаицизмом по MLID имели более низкий вес при рождении, также присутствовали признаки, не характерные для СВБ (задержка речи, апноэ и трудности кормления).

Мозаицизм по гипометилированию гена *IGF2* был выявлен у детей с СВБ и несиндромальным вариантом, когда обнаруживалась только опухоль Вильмса. Результаты анализа мозаицизма по метилированию в образцах почек и крови больных с опухолью Вильмса показали варьирование индекса метилирования в гене *H19* от 7 до 56% и от 6 до 85% в *IGF2*. Мозаичная биаллельная экспрессия *IGF2* и метилирование *H19* были обнаружены во всех тканях почек, прилегающих к опухоли Вильмса, с мозаичным гипометилированием в локусе *IGF2*. Высокая доля эпигенетически модифицированных клеток в нормальной почке указывает на то, что эпигенетические нарушения должны были произойти на ранней стадии развития, предшествующей появлению опухоли Вильмса [37]. Поэтому степень и локализация мозаицизма по генетическим или эпигенетическим изменениям

могут быть ответственны за нетипичные диагностические признаки СВБ.

Айтох с соавт. [38] описали девять пациентов с СВБ и различной степенью мозаицизма по отцовской ОРД короткого плеча хромосомы 11 (от 60.9 до 89.5%). Все больные имели акросомию при рождении, гемигипертрофию и легкую макрогlossию. Мозаицизм по отцовской ОРД хромосомы 11 наблюдается примерно у 20% пациентов с СВБ, из них большинство имеют сегментную изодисомию 11p15.5 и только в 8% случаев выявляют ОРД всей хромосомы 11 отцовского происхождения. Авторы считают, что мозаичная сегментная ОРД 11p15.5 могла возникнуть в результате соматической рекомбинации на ранней стадии эмбрионального развития.

Романелли с соавт. [39] описали девять пациентов с СВБ и сегментной изодисомией 11p15.5 отцовского происхождения, которая затрагивала весь данный кластер импринтированных генов. Доля клеток с сегментной ОРД составила 64–70%. Авторы показали, что опухоль Вильмса более часто встречается при данной патологии.

Отсак с соавт. [40] на выборке из 32 больных с СВБ и ОРД хромосомы 11 отцовского происхождения у 28 из них выявили сегментную ОРД 11p15.5 отцовского происхождения с уровнем мозаицизма от 15 до 70%. Минимальный размер сегментной ОРД 11p15.5 составил 2.71 Мб и включал оба центра импринтинга — *IGF2/H19* и *KCNQ1OT1*. Авторы показали, что у пациентов с СВБ и мозаичным вариантом сегментной ОРД 11p15.5 чаще выявляются аномалии сердца, гемигиперплазия и высокий риск развития эмбриональных опухолей, в том числе опухоли Вильмса и гепатобластомы. Макрогlossия была также характерна для мозаичной сегментной ОРД 11p15.5.

Синдром Энгельмана (OMIM 105830, частота синдрома 1 : 16000). Ведущими клиническими признаками являются тяжелая задержка интеллектуального и физического развития, атаксия и стереотипные кукольные движения, специфическое лицо с гримасой улыбки, частые приступы смеха, отсутствие речи, гипотония, судороги и микроцефалия.

Эпимутации в локусе *SNURF-SNRPN* встречаются у 2–4% больных с СЭ, при этом соматический мозаицизм был обнаружен примерно у 30% детей [41]. Выявлено, что нарушение импринтинга произошло на ранней стадии эмбрионального развития и доля нормальных клеток составляла от 10 до 40%. Пациенты с более высоким процентом нормально метилированных клеток, как правило, имели более мягкие клинические симптомы, чем пациенты с более низким процентом, при этом признаки иногда перекрывались с СПВ: так, например, отмечалось наличие гиперфагии и ожирения или неспецифической умственной отста-

лости. В отличие от детей с типичной клинической картиной СЭ они могли иметь словарный запас до 100 слов и говорить предложениями. Атаксия и судороги могли отсутствовать. У большинства детей также не было микроцефалии [42].

Бьюитинг с коллегами [43] у 27 из 85 пациентов с СЭ выявили мозаицизм по гипометилированию ЦИ *SNURF-SNRPN*. Показано, что данная эпимутация произошла на хромосоме, унаследованной от бабушки, и явилась следствием нарушения процессов деметилирования импринтированных генов во время сперматогенеза у отца.

Синдром Прадера–Вилли (OMIM 176270, частота в популяции 1 : 17500). В неонатальном периоде больные имеют выраженную мышечную гипотонию, снижение сосательного рефлекса и сильное отставание развития статических и локомоторных функций. После первого года жизни проявляется гиперфагия, связанная с поражением центра насыщения в гиппокампе, поэтому больные имеют ярко выраженное ожирение. Пациенты имеют гипогонадотропный гипогонадизм, акромикрию, долихоцефальную форму черепа, деформированные, низко расположенные ушные раковины, мягкий ушной хрящ, миндалевидные глазные щели, эпикант, гипертелоризм, сходящийся страбизм. Интеллект у больных варьировал в пределах 60–70 IQ. Также был описан мозаицизм по материнской изодисомии хромосомы 15 и сочетание изо- и гетеродисомии материнской хромосомы 15 у другого пациента при СПВ [44]. Новорожденные имели легкие дисморфии лица и гипотонию, задержку физического развития, т.е. каких-либо особенностей в клинической картине заболевания у этих пациентов не было обнаружено.

Вэй с соавт. [45] описали женщину 20 лет с клиническими признаками СПВ. В то же время в отличие от основной картины синдрома в перинатальном периоде с ней не было проблем в кормлении, гиперфагия началась позднее — в 6 лет, а также наблюдалась эпилепсия. С использованием методов метил-специфической ПЦР с последующей денатурирующей высокоэффективной жидкостной хроматографией (MSP/DHPLC), чувствительных к метилированию рестрикционным ферментным анализом и ПЦР в реальном времени, показано, что 50% лимфоцитов крови имели гипометилирование ЦИ *SNURF-SNRPN*, а 50% клеток обладали нормальным характером метилирования импринтированного локуса.

Ведущими для синдрома Тэмпла (OMIM 616222, сегмент 14q32) выступают следующие клинические признаки: задержка эмбрионального и постнатального развития, низкий рост и вес при рождении, неонатальная гипотония с трудностями кормления, задержка моторного и физического развития, лицевые дисморфии, сколиоз, гипер-

растяжимость суставов и преждевременное половое развитие. В младенчестве фенотип пациентов может напоминать СПВ или СРС [46]. Бейго с соавт. [47] у двух из 13 пациентов с синдромом Тэмпла показали мозаичное гипометилирование ЦИ *MEG3/DLK1* и *MEG3*. Индекс метилирования составил 38 и 21% у одного пациента и 34 и 23.5% у другого соответственно. Авторы предположили, что мозаичное гипометилирование могло возникнуть в результате ошибки в поддержании статуса метилирования ЦИ *MEG3/DLK1* после оплодотворения, а затем гена *MEG3*, который находится под его контролем.

Псевдогипопаратиреоз 1В (OMIM 603233, 20q13.3) — редкое наследственное заболевание костной системы, имитирующее гипопаратиреоз и характеризующееся нарушением обмена кальция и фосфора, часто сопровождается задержкой умственного и физического развития. Больные имеют низкий рост за счет укорочения нижних конечностей, брахидактилию, круглое “лунообразное” лицо, нарушение интеллектуального развития. Заболевание обусловлено дефицитом тканевых рецепторов к паратиреоидному гормону в органах-мишенях и ограниченной резистентностью к паратормону. Мопетит-Михас с соавт. [48] у больных с ПГП1В показали мозаичное снижение уровня метилирования в лимфоцитах крови в четырех ДМР гена *GNAS*, а именно в ДМР локуса *NESP55* уровень метилирования варьировал от 24 до 68%. Элли с соавт. [49] у 42% больных с ПГП1В показали снижение уровня метилирования в различных ДМР гена *GNAS*: у 18% больных были выявлены в ДМР локуса *XL*, у 7% — в ДМР локуса *AS* и у 10% — одновременно в ДМР локусов *XL* и *AS*.

Таким образом, эпигенетический мозаицизм при болезнях геномного импринтинга несет, по всей видимости, различный вклад в формирование клинической картины заболевания. Так, при мозаицизме в случае СВБ, СПВ и СЭ показаны более мягкий фенотип и появление клинических признаков, не характерных для данной патологии. В то же время для ТНСД и СРС даже низкий клон эпигенетически измененных клеток формирует классический фенотип этих болезней. Кроме того, у больных с ТНСД отмечено, что эпигенетический мозаицизм может быть продемонстрирован только в определенных тканях. Это затрагивает вопрос о механизмах возникновения эпигенетического мозаицизма.

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ МОЗАИЧНЫХ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ

Моноаллельная экспрессия импринтированного гена предполагает, что для проявления патологического фенотипа достаточно мутации в од-

ном из аллелей [50]. Спектр таких мутаций сводится к четырем основным типам:

1) генные мутации, инактивирующие единственный экспрессирующийся аллель;

2) микроделеции или микродупликации участков хромосом, а также CNV (Copy number variation — вариации числа копий последовательностей ДНК), содержащие импринтированные гены;

3) ОРД хромосом, изменяющая баланс дозы генов материнского и отцовского происхождения в геноме;

4) эпимутации — наследуемые и ненаследуемые изменения экспрессии гена, не связанные с нарушением его нуклеотидной последовательности, а обусловленные эпигенетическими модификациями ДНК или хроматиновых белков.

На сегодняшний день мозаицизм при болезнях геномного импринтинга описан по ОРД, захватывающей целую хромосому или только отдельный регион, и эпимутациям, затрагивающим в большинстве своем сразу несколько импринтированных генов (MLID), как ответственных за формирование клинических признаков синдромов, так и других генов, расположенных на разных хромосомах [51].

Наличие мозаицизма по характеру метилирования в нескольких импринтированных генах в разных тканях свидетельствует о присутствии в клетках соматических эпимутаций, возникших уже после разделения разных зародышевых листков. Такие эпимутации могли возникнуть в онтогенезе во время второй волны репрограммирования. В онтогенезе млекопитающих известны две волны эпигенетического репрограммирования генома. Одна из них протекает при закладке и созревании половых клеток и представлена последовательными событиями тотального де- и реметилирования ДНК. Тем не менее деметилирование ДНК происходит не полностью, и средний индекс метилирования в мужских и женских примордиальных половых клетках остается на уровне 7.8 и 6.0%, соответственно. В зрелых гаметах происходит *de novo* гиперметилирование, в то же время примерно 10% CpG динуклеотидов остаются в неметилированном состоянии. Другая волна репрограммирования происходит сразу после оплодотворения. В это время материнский и отцовский геномы подвергаются деметилированию, за исключением импринтированных генов. Согласно результатам исследований, во время оплодотворения средний индекс метилирования в зрелых сперматозоидах составляет 54%, а в ооцитах, находящихся в метафазе II, 48%. В зиготе этот показатель составляет 41% и уменьшается до 32% на преимплантационных этапах развития [52]. Таким образом, соматическое гипометилирование импринтированных генов формируется на преимплантационном этапе развития и обусловлено

нарушением механизмов поддержания импринтинга в соматических клетках зародыша. Мозаицизм по гипометилированию мог возникнуть и после имплантации в результате неспособности поддерживающей метилтрансферазы DNMT1 точно воспроизвести импринтированный статус генов при клеточных делениях.

Большинство импринтированных генов сгруппированы в кластеры и находятся под общим внутренним регуляторным контролем ЦИ. В каждом кластере эти центры в *cis*-положении иницируют выключение транскрипции импринтированных генов через продукцию нетранслируемой РНК, а последующее метилирование ДНК закрепляет это состояние. Кроме того, тканеспецифичный эпигенетический мозаицизм мультилокусного нарушения импринтинга предполагает наличие какого-либо *trans*-действующего фактора, контролирующего процессы поддержания импринтинга или, как в случае с *GRB10*, переключения одного импринтинга на другой. И действительно в последние годы идентифицирован новый класс генов, мутации в которых сопровождаются множественными эпимутациями в импринтированных локусах. Это эмбриональный стволовой клеточно-ассоциированный транскрипт 1 — *KHDC3L*; гены семейства цинковых пальцев — *ZFP57* и *ZFP42*; гены семейства NOD-подобных рецепторов — *NLRP2*, *NLRP5* и *NLRP7*; пептидиларгининдеминаза 16 — *PADI6* [31, 53]. Наличие такого класса генов контроля импринтинга свидетельствует о необходимости при наличии у пациента MLID проводить поиск мутаций в этих генах как у самого больного, так и его родителей. Соответственно, это поднимает вопрос модификации алгоритмов молекулярно-генетической диагностики болезней геномного импринтинга.

ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ МОЗАИЧНЫХ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ИМПРИНТИНГА

В настоящее время известно о 12 болезнях геномного импринтинга, проявляющихся, как правило, нарушением роста, физического и интеллектуального развития, обмена веществ и центральной нервной системы. Помимо известных СРС, СВБ, СПВ, СЭ в последнее время этот список пополнился новыми синдромами Бирка—Баррела, Тэмпла, Кагами—Огата, IMAGe, Шеф—Янга [54], но только в половине из них пока обнаружен мозаицизм по метилированию импринтированных генов, ответственных за формирования клинической картины этих болезней. Это синдромы Рассела—Сильвера, Энгельмана, Прадера—Вилли, Видеманна—Беквита, Тэмпла, псевдогипопаратиреоз и транзиторный неонатальный сахарный диабет.

Мозаичные формы болезней геномного импринтинга представляют собой проблему как для постановки клинического диагноза, так и для молекулярно-генетического анализа вследствие того, что мозаицизм “сглаживает” типичную клиническую картину синдромов до неузнаваемости, следовательно такие пациенты не могут быть направлены на соответствующее молекулярное тестирование. Например, ведущими диагностическими признаками для СЭ являются атаксия походки и отсутствие речи, тогда как больные с мозаицизмом ЦИ *SNURF-SNRPN* способны говорить отдельные слова, у них отсутствуют стереотипные движения, а в некоторых случаях имеются перекрывающиеся с СПВ клинические признаки (ожирение и гиперфагия) [42]. Не все дети с СВБ демонстрируют классический фенотип данного заболевания из-за неоднородности молекулярных нарушений и соматического мозаицизма. В то же время наличие небольшого клона MLID при ТНСД уже способно сформировать классическую клиническую картину этого заболевания.

Болезни геномного импринтинга, как правило, обусловлены нарушением конкретных импринтированных локусов генома. Вместе с тем соматический эпигенетический мозаицизм приводит к нарушениям характера метилирования нескольких других импринтированных генов одновременно, а значит к трудностям молекулярно-генетического подтверждения клинического диагноза [55]. Таким образом, для определения этиологии того или иного синдрома необходимо тщательное описание пациентов, а в молекулярную диагностику болезней геномного импринтинга должно входить исключение всех описанных для этих синдромов генетических и эпигенетических нарушений. Кроме того, чтобы выявить мозаичный вариант того или иного синдрома необходимо проводить молекулярный анализ в нескольких доступных типах клеток (например, в лимфоцитах периферической крови, буккальном эпителии, фибробластах кожи), использовать методы таргетного бисульфитного массового параллельного секвенирования, анализ на уровне единичных клеток (*single-cell technologies*).

И действительно, достижения последних лет в области молекулярной и клинической диагностики болезней геномного импринтинга помогают эффективно решать эти вопросы. Так, метод пиросеквенирования успешно применяют для определения уровня метилирования отдельных импринтированных генов. Он позволяет определить метилирование всех CpG-динуклеотидов в исследуемой нуклеотидной последовательности и процент метилирования каждой CpG-пары в образце, что дает возможность для успешной диагностики мозаичных форм болезней импринтинга. Метод MS-MLPA позволяет оценить статус метилирования одновременно нескольких десятков

импринтированных локусов в одной реакции. Это уменьшает количество этапов ДНК-диагностики и тем самым сокращает время постановки генетического диагноза. Сегодня на основе этого метода разработаны специализированные наборы компании MRC-Holland (Амстердам, Нидерланды). Так, для диагностики СПВ и СЭ используется MS-MLPA (kit ME028-PWS/AS), который содержит 46 зондов, 32 из которых входят в область 15q11-q13. В качестве контроля используются 14 зондов за пределами этого региона. Определение статуса метилирования одновременно нескольких импринтированных локусов, как в регионе 15q11-q13, так и за его пределами, помогает повысить точность тестирования. Подобные наборы представлены также для диагностики СВБ/СРС (kit ME030-BWS/RSS), ТНСД (kit ME033-TNDM), псевдогипопаратиреоза типа 1А и 1В (kit ME031-GNAS).

И, наконец, обращает на себя внимание технология секвенирования нового поколения (*Next-Generation Sequencing, NGS*), которая позволяет провести массовое параллельное прочтение огромного количества относительно небольших фрагментов ДНК, что является главным отличием от более ранних методов секвенирования [56]. В ходе NGS могут генерироваться до сотен мегабайт и гигабайт нуклеотидных последовательностей за один рабочий цикл, что позволяет получить огромный объем данных о статусе метилирования изучаемых генов. Данный метод также оказывается ценным для поиска мутаций в генах, вовлеченных в регуляцию импринтинга, в случае наличия у пациента множественных дефектов метилирования импринтированных генов, либо в повторных случаях пузырных заносов или при биродительских полных пузырных заносах.

Таким образом, в последние годы мы являемся свидетелями успеха в разработке протоколов диагностики и идентификации генетических и эпигенетических основ многих болезней геномного импринтинга человека. В настоящее время совершенствуются существующие и разрабатываются новые алгоритмы диагностики таких синдромов. Возможность в рамках одного исследования идентифицировать статус метилирования многих импринтированных генов с достаточно высокой степенью оценки мозаичного метилирования увеличивает точность и сокращает сроки молекулярно-генетической диагностики, а для врача-генетика знания о генетических и эпигенетических нарушениях при болезнях импринтинга способствуют более эффективному медико-генетическому консультированию семей.

Исследование выполнено в рамках темы государственного задания НИИ медицинской генетики ФГБНУ “Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН” (номер

государственного учета НИОКТР АААА-А19-119020890005-5).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. База данных по импринтированным генам у человека и мыши. <http://igc.otago.ac.nz>.
2. Tucci V., Isles A.R., Kelsey G., Ferguson-Smith A.C. Erice imprinting group. genomic imprinting and physiological processes in mammals // *Cell*. 2019. V. 21. № 176. P. 952–965. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.043>
3. Thamban T., Sowpati D., Pai V. et al. The putative Neuronatin imprint control region is an enhancer that also regulates the Bclap gene // *Epigenomics*. 2019. V. 11. № 3. P. 251–266. <https://doi.org/10.2217/epi-2018-0060>
4. Monk D., Arnaud P., Frost J. et al. Reciprocal imprinting of human *GRB10* in placental trophoblast and brain: evolutionary conservation of reversed allelic expression // *Hum. Mol. Genet.* 2009. V. 15. № 18(16). P. 3066–3074. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp248>
5. Baran Y., Subramaniam M., Biton A. et al. The landscape of genomic imprinting across diverse adult human tissues // *Genome Res.* 2015. V. 25. № 7. P. 927–936. <https://doi.org/10.1101/gr.192278.115>
6. Martins-Taylor K., Hsiao J.S., Chen P.F. et al. Imprinted expression of *UBE3A* in non-neuronal cells from a Prader–Willi syndrome patient with an atypical deletion // *Hum. Mol. Genet.* 2014. V. 23. № 9. P. 2364–2373. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt628>
7. Bielinska E., Matiakowska K., Haus O. Heterogeneity of human *WT1* gene // *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2017. V. 11. № 71. P. 595–601.
8. Bergman D., Halje M., Nordin M., Engstrom W. Insulin-like growth factor 2 in development and disease: a mini-review // *Gerontology*. 2013. V. 59. № 3. P. 240–249. <https://doi.org/10.1159/000343995>
9. Schulz R., McCole R.B., Woodfine K. et al. Transcript- and tissue-specific imprinting of a tumour suppressor gene // *Hum. Mol. Genet.* 2009. V. 1. № 18(1). P. 118–127. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn322>
10. Hsiao J.S., Germain N.D., Wilderman A. et al. A bipartite boundary element restricts *UBE3A* imprinting to mature neurons // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2019. V. 116. № 6. P. 2181–2186. <https://doi.org/10.1073/pnas.1815279116>
11. Hitchins M.P., Monk D., Bell G.M. et al. Maternal repression of the human *GRB10* gene in the developing central nervous system; evaluation of the role for *GRB10* in Silver–Russell syndrome // *Eur. J. Hum. Genet.* 2001. V. 9. № 2. P. 82–90. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200583>
12. Garfield A.S., Cowley M., Smith F.M. et al. Distinct physiological and behavioural functions for parental alleles of imprinted *Grb10* // *Nature*. 2011. V. 469. № 7331. P. 534–538. <https://doi.org/10.1038/nature09651>
13. Rienecker K.D., Chavasse A.T., Moorwood K. et al. Detailed analysis of paternal knockout *Grb10* mice suggests effects on stability of social behavior, rather than social dominance // *Genes Brain Behav.* 2019. Apr 1. P. e12571. <https://doi.org/10.1111/gbb.12571>
14. Nishiwaki K., Niikawa N., Ishikawa M. Polymorphic and tissue-specific imprinting of the human Wilms tumor gene *WT1* // *Jpn. J. Hum. Genet.* 1997. V. 42. № 1. P. 205–211.
15. Lopez S.J., Segal D.J., La Salle J.M. *UBE3A*: An E3 ubiquitin ligase with genome-wide impact in neurodevelopmental disease // *Front. Mol. Neurosci.* 2019. V. 11. № 476. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00476>
16. Turan S., Bastepe M. The *GNAS* complex locus and human diseases associated with loss-of-function mutations or epimutations within this imprinted gene // *Horm. Res. Paediatr.* 2013. V. 80. № 4. P. 229–241. <https://doi.org/10.1159/000355384>
17. Chotalia M., Smallwood S.A., Ruf N. et al. Transcription is required for establishment of germline methylation marks at imprinted genes // *Genes Dev.* 2009. V. 23. № 1. P. 105–117. <https://doi.org/10.1101/gad.495809>
18. Campbell R., Gosden C.M., Bonthron D.T. Parental origin of transcription from the human *GNAS1* gene // *J. Med. Genet.* 1994. V. 31. № 8. P. 607–614. <https://doi.org/10.1136/jmg.31.8.607>
19. Hemida R., van Doorn H., Fisher R. A novel genetic mutation in a patient with recurrent biparental complete hydatidiform mole: a brief report // *Int. J. Gynecol. Cancer*. 2016. V. 26. № 7. P. 1351–1353.
20. Sunde L., Niemann I., Hansen E.S. et al. Mosaics and moles // *Eur. J. Hum. Genet.* 2011. V. 10. P. 1026–1031. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2011.93>
21. Destouni A., Vermeesch J.R. How can zygotes segregate entire parental genomes into distinct blastomeres? The zygote metaphase revisited // *Bioessays*. 2017. V. 39. № 4. <https://doi.org/10.1002/bies.201600226>
22. Mackay D.J., Boonen S.E., Clayton-Smith J. et al. A maternal hypomethylation syndrome presenting as transient neonatal diabetes mellitus // *Hum. Genet.* 2006. V. 120. P. 262–269. <https://doi.org/10.1007/s00439-006-0205-2>
23. Boonen S.E., Mackay D.J., Hahnemann J.M. et al. Transient neonatal diabetes, *ZFP57*, and hypomethylation of multiple imprinted loci: a detailed follow-up // *Diabetes Care*. 2013. V. 36. P. 505–512. <https://doi.org/10.2337/dc12-0700>
24. Messerschmidt D.M., de Vries W., Ito M., et al. Trim is required for epigenetic stability during mouse oocyte to

- embryo transition // *Science*. 2012. V. 335. № 6075. P. 1499–1502.
<https://doi.org/10.1126/science.1216154>
25. *Smith Z.D., Meissner A.* DNA methylation: roles in mammalian development // *Nat. Rev. Genet.* 2013. V. 14. № 3. P. 204–220.
<https://doi.org/10.1038/nrg3354>
 26. *Plasschaert R.N., Bartolomei M.S.* Tissue-specific regulation and function of *Grb10* during growth and neuronal commitment // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2015. V. 112. № 22. P. 6841–6847.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1411254111>
 27. *Fuke-Sato T., Yamazawa K., Nakabayashi K. et al.* Mosaic upd(7)mat in a patient with Silver-Russell syndrome // *Am. J. Med. Genet. A*. 2012. V. 158. № 2. P. 465–468.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.34404>
 28. *Fontana L., Bedeschi M.F., Maitz S. et al.* Characterization of multi-locus imprinting disturbances and underlying genetic defects in patients with chromosome 11p15.5 related imprinting disorders // *Epigenetics*. 2018. V. 13. № 9. P. 897–909.
<https://doi.org/10.1080/15592294.2018.1514230>
 29. *Hiura H., Okae H., Chiba H. et al.* Imprinting methylation errors in ART // *Reprod. Med. Biol.* 2014. V. 13. № 4. P. 193–202.
 30. *Bullman H., Lever M., Robinson D.O. et al.* Mosaic maternal uniparental disomy of chromosome 11 in a patient with Silver-Russell syndrome // *J. Med. Genet.* 2008. V. 45. № 6. P. 396–399.
 31. *Docherty L.E., Rezwan F.I., Poole R.L. et al.* Mutations in *NLRP5* are associated with reproductive wastage and multilocus imprinting disorders in humans // *Nat. Commun.* 2015. V. 1. № 6. P. e.8086.
<https://doi.org/10.1038/ncomms9086>
 32. *Mahadevan S., Wen S., Wan Y.W. et al.* *NLRP7* affects trophoblast lineage differentiation, binds to overexpressed YY1 and alters CpG methylation // *Hum. Mol. Genet.* 2014. V. 23. P. 706–716
 33. *Weksberg R., Shuman C., Beckwith J.B.* Beckwith–Wiedemann syndrome // *Eur. J. Hum. Genet.* 2010. V. 18. № 1. P. 8–14.
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2009.106>
 34. *Choufani S., Shuman C., Weksberg R.* Molecular findings in Beckwith–Wiedemann syndrome // *Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet.* 2013. V. 163. № 2. P. 131–140.
 35. *Bliek J., Verde G., Callaway J. et al.* Hypomethylation at multiple maternally methylated imprinted regions including *PLAGL1* and *GNAS* loci in Beckwith–Wiedemann syndrome // *Eur. J. Hum. Genet.* 2009. V. 17. № 5. P. 611–619.
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2008.233>
 36. *Meyer E., Lim D., Pasha S. et al.* Germline mutation in *NLRP2 (NALP2)* in a familial imprinting disorder (Beckwith–Wiedemann syndrome) // *PLoS Genet.* 2009. V. 5. № 3. P. e1000423.
 37. *Okamoto K., Morison I.M., Taniguchi T., Reeve A.E.* Epigenetic changes at the insulin-like growth factor *II/H19* locus in developing kidney is an early event in Wilms tumorigenesis // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1997. V. 94. № 10. P. 5367–5371.
<https://doi.org/10.1073/pnas.94.10.5367>
 38. *Itoh N., Becroft D.M., Reeve A.E., Morison I.M.* Proportion of cells with paternal 11p15 uniparental disomy correlates with organ enlargement in Wiedemann–Beckwith syndrome // *Am. J. Med. Genet.* 2000. V. 92. № 2. P. 111–116.
 39. *Romanelli V., Meneses H.N., Fernández L., Martínez-Glez V. et al.* Beckwith–Wiedemann syndrome and uniparental disomy 11p: fine mapping of the recombination breakpoints and evaluation of several techniques // *Eur. J. Hum. Genet.* 2011. V. 19. № 4. P. 416–421.
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2010.236>
 40. *Ohtsuka Y., Higashimoto K., Sasaki K. et al.* Autosomal recessive cystinuria caused by genome-wide paternal uniparental isodisomy in a patient with Beckwith–Wiedemann syndrome // *Clin. Genet.* 2015. V. 88. P. 261–266.
 41. *Fairbrother L.C., Cytrynbaum C., Boutis P. et al.* Mild Angelman syndrome phenotype due to a mosaic methylation imprinting defect // *Am. J. Med. Genet. A*. 2015. V. 167. № 7. P. 1565–1569.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37058>
 42. *Le Fevre A., Beygo J., Silveira C. et al.* Atypical Angelman syndrome due to a mosaic imprinting defect: Case reports and review of the literature // *Am. J. Med. Genet. A*. 2017. V. 173. № 3. P. 753–757.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38072>
 43. *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. № 3. P. 571–577.
 44. *Izumi K., Santani A.B., Deardorff M.A., Feret H.A.* Mosaic maternal uniparental disomy of chromosome 15 in Prader–Willi syndrome: utility of genome-wide SNP array // *Am. J. Med. Genet. A*. 2013. V. 161. № 1. P. 166–171.
 45. *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. № 3. P. 273–277.
 46. *Kagami M., Kato F., Matsubara K. et al.* Relative frequency of underlying genetic causes for the development of UPD(14)pat-like phenotype // *Eur. J. Hum. Genet.* 2012. V. 20. № 9. P. 928–932.
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2012.26>
 47. *Beygo J., Mertel C., Kaya S. et al.* The origin of imprinting defects in Temple syndrome and comparison with other imprinting disorders // *Epigenetics*. 2018. V. 13. № 8. P. 822–828.
<https://doi.org/10.1080/15592294.2018.1514233>
 48. *Maupetit-Mehouas S., Mariot V., Reynes C. et al.* Quantification of the methylation at the *GNAS* locus identifies subtypes of sporadic pseudohypoparathyroidism type // *Ib. J. Med. Genet.* 2011. V. 48. № 1. P. 55–63.
<https://doi.org/10.1136/jmg.2010.081356>
 49. *Elli F.M., Bordogna P., Arosio M., Spada A.* Mosaicism for *GNAS* methylation defects associated with pseudohypoparathyroidism type 1B arose in early post-zygotic phases // *Clin Epigenetics*. 2018. V. 6. № 10. P. e16.
<https://doi.org/10.1186/s13148-018-0449-4>

50. *Soellner L., Begemann M., Mackay D.J. et al.* Recent advances in imprinting disorders // *Clin. Genet.* 2017. V. 91. P. 3–13.
<https://doi.org/10.1111/cge.12827>
51. *Monk D., Mackay D.J., Eggermann T. et al.* Genomic imprinting disorders: lessons on how genome, epigenome and environment interact // *Nat. Rev. Genet.* 2019. V. 20. № 4. P. 235–248.
<https://doi.org/10.1038/s41576-018-0092-0>
52. *Guo F., Yan L., Guo H. et al.* The transcriptome and DNA methylome landscapes of human primordial germ cells // *Cell.* 2015. V. 161. № 6. P. 1437–1452.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.015>
53. *Qian J., Nguyen N.M., Rezaei M. et al.* Biallelic *PADI6* variants linking infertility, miscarriages, and hydatidiform moles // *Eur. J. Hum. Genet.* 2018. V. 26. № 7. P. 1007–1013.
<https://doi.org/10.1038/s41431-018-0141-3>
54. *Elhamamsy A.R.* Role of DNA methylation in imprinting disorders: an updated review // *J. Assist. Reprod. Genet.* 2017. V. 9. P. 1–14.
<https://doi.org/10.1007/s10815-017-0895-5>
55. *Grafodatskaya D., Choufani S., Basran R. et al.* An update on molecular diagnostic testing of human imprinting disorders // *J. Pediatr. Genet.* 2017. V. 6. № 1. P. 3–17.
<https://doi.org/10.1055/s-0036-1593840>
56. *Kim J., Kim D., Lim J.S. et al.* The use of technical replication for detection of low-level somatic mutations in next-generation sequencing // *Nat. Commun.* 2019. V. 10. № 1. P. e.1047.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-09026-y>

Epigenetic Mosaicism in Diseases of Genomic Imprinting

E. A. Sazhenova^{a,*} and I. N. Lebedev^a

^a*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center
of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia*

^{*}*e-mail: elena.sazhenova@medgenetics.ru*

The differential gene expression during development is supported by complex regulatory epigenetic mechanisms that ensure the formation of various specialized cell types. As a result, a multicellular organism is a mosaic of cells with differing epigenetic characteristics. It is highly likely that going beyond the normal epigenetic variability may cause the occurrence of pathological mosaic states in which part of the cell population has a normal epigenotype, while another carries modified epigenetic information. In this review, taking into account a genomic imprinting as a classic epigenetic phenomenon, for the first time, data on the prevalence of epigenetic mosaicism, its origin and the role in the etiology of hereditary diseases related to abnormalities of imprinted genes are summarized.

Keywords: genomic imprinting, epigenetic mosaicism, genomic imprinting diseases, imprinting control genes, multilocus imprinting defects.