

ОБЗОРНЫЕ  
И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 616.8-056.7

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК  
ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

© 2019 г. Е. Ю. Федотова<sup>1</sup>, \*, С. Н. Иллариошкин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научный центр неврологии, Москва, 125367 Россия

\*e-mail: ekfedotova@gmail.com

Поступила в редакцию 12.04.2018 г.

После доработки 02.09.2018 г.

Принята к публикации 24.09.2018 г.

Эпигенетические модификации при нейродегенеративных заболеваниях только начинают изучаться, однако растущий интерес к данному феномену свидетельствует о его большом значении в молекулярных механизмах заболеваний и их фенотипической реализации. ДНК-метилирование занимает одно из центральных мест в регуляции экспрессии генов. В обзоре рассмотрены основные типы метилирования ДНК, механизмы метилирования и деметилирования, приведены основные сведения по эпигенетической регуляции генов болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, бокового амиотрофического склероза, болезни Гентингтона, наследственных атаксий. Обсуждаются возможные перспективы таргетной эпигенетической коррекции как нового подхода к терапии нейродегенеративных заболеваний.

*Ключевые слова:* нейродегенеративные заболевания, эпигенетика, регуляция экспрессии, ДНК-метилирование, 5-метилцитозин.

DOI: 10.1134/S001667581903007X

Эпигенетика исследует изменения в экспрессии определенных ДНК-последовательностей, которые нельзя объяснить классическими мутациями и структурными генными нарушениями. Термин “эпигенетика” был впервые введен в 1942 г. Конрадом Ваддингтоном (С.Н. Waddington) еще до открытия основных эпигенетических механизмов, и только в 1980-е годы данная область получила свое развитие. Этому предшествовало открытие главенствующей роли метилирования цитозина в эпигенетической регуляции у животных в 1975 г. На сегодняшний день выделяют три основных эпигенетических механизма регуляции экспрессии генов: модификация гистонов/ремоделирование хроматина, метилирование ДНК и действие некодирующих РНК. Экспрессия генов регулируется на обоих уровнях передачи генетической информации: на уровне транскрипции (с помощью модификации гистонов и ДНК-метилирования) и на уровне трансляции (с помощью некодирующих РНК) [1, 2].

Посттрансляционная модификация гистонов представляет собой ацетилирование, метилирование и фосфорилирование их N-концевого участка; также могут встречаться другие модификации, например сумоилирование, убиквитинирование, цитрулинирование. Модификации гистонов могут приводить как к активации рядом

расположенных генов (например, при ацетилировании и метилировании лизина гистона H3), что осуществляется преимущественно благодаря более свободному доступу к ДНК, так и к депрессии транскрипции (например, при диметилировании). Комбинацию различных модификаций гистонов иногда называют “гистоновым кодом”, который “пишется” специфическими ферментами, в частности гистоновыми ацетилтрансферазами и гистоновыми деацетилазами. Ремоделирование хроматина осуществляется также специфическими белковыми комплексами и изменяет доступ к нуклеосомной ДНК [3–5].

Некодирующие РНК признаны очень важным регуляционным инструментом в экспрессии генов. Если раньше считалось, что в белки транслируется только 2% всей ДНК, а остальное является условным “мусором” (“junk”), то сейчас это мнение существенно поменялось, и некодирующие РНК занимают одно из центральных мест в изучении регуляции генной экспрессии. Выделяют множество их типов: микроРНК (miRNA), малые интерферирующие РНК (siRNA), РНК, ассоциированные с белками семейства Piwi (piRNA), длинные некодирующие РНК (lncRNA) и др. Благодаря своей сайт-специфичности некодирующие РНК участвуют в регуляции экспрессии ге-

нов на всех уровнях: транскрипции, сплайсинга и трансляции [3–5].

Метилирование ДНК — это модификация ДНК, при которой цитозиновый остаток в CpG-динуклеотиде метилируется в позиции N5-пиримидинового кольца (5mC). Доказано, что с метилированием ДНК связаны пролиферация и дифференцировка нейтральных стволовых клеток, синаптическая пластичность, нейрональная репарация, обучение и память [6]. В геноме существуют два типа распределения CpG-динуклеотидов: рассеянный, при котором CpG присутствуют в виде одиночных динуклеотидов, составляя около 80% их общего числа, и районы обогащения CpG, называемые CpG-островками. Подсчитано, что в головном мозге человека около 6–8% CpG-островков метилированы. Основная функция метилирования ДНК — супрессия генов, однако это справедливо преимущественно в случаях расположения метилирования в промоторной области. При расположении метилированных CpG-сайтов внутри или после кодирующей последовательности гена регуляция может быть обратной, т.е. приводить к активации экспрессии гена [1, 5].

Метилирование CpG-сайтов осуществляется специальными ферментами ДНК-метилтрансферазами — DNMT1, DNMT3a, DNMT3b. Первый фермент DNMT1 отвечает за поддержание ДНК-метилирования, тогда как DNMT3a и DNMT3b — за метилирование *de novo*. При этом фермент DNMT2, несмотря на свое название, метилирует РНК, а не ДНК. Метильная группа для метилирования ДНК поступает от S-аденозилметионина (SAM), который в результате переноса превращается в S-аденозилгомоцистеин (SAH), а последний в свою очередь регенерируется в SAM через соответствующий цикл с участием гомоцистеина, фолиевой кислоты, витаминов B6, B12 и метионина [6, 7].

CpG-метилирование — обратимая модификация ДНК. С помощью ферментов TET1, TET2, TET3 происходит поэтапное превращение 5mC в 5-гидроксиметилцитозин (5hmC), затем в 5-формилцитозин (5fC), 5-карбоксилцитозин (5caC) и опять в цитозин (C). Считается, что 5hmC является функционально активной эпигенетической меткой, тогда как значение 5fC и 5caC еще предстоит исследовать [8].

Кроме CpG-сайтов метилирования привлекает исследовательское внимание не-CpG-метилирование в динуклеотидах CpA, CpT, CpC, которое наиболее часто встречается в центральной нервной системе: так, например, ДНК-метилом в зубчатом ядре взрослой мыши содержится из всех метилированных сайтов 75% CpG и 25% не-CpG. Значимость данных модификаций ДНК требует дальнейшего изучения [8]. Кроме цитозина показано метилирование гуанина и аденина (7mG, 3mA) [7]. В данном обзоре мы остановимся толь-

ко на классической модификации цитозина — 5mC.

Считается, что в целом с возрастом происходит гиперметилирование ДНК, однако изменение ДНК-метилирования — это не однонаправленный процесс. Так, известный метод определения возраста, предложенный Ховатом (Horvath's epigenetic clock), исследует 353 CpG-сайта, из которых с возрастом гиперметилируются 193 и гипометилируются 160. Эпигенетический возраст по мере развития организма увеличивается в логарифмической прогрессии, тогда как во взрослом состоянии отмечается его линейное увеличение [7]. При этом при болезнях Альцгеймера и Паркинсона многие исследования обнаруживают тенденцию к общему гипометилированию ДНК.

Нейродегенерация при *болезни Альцгеймера* (БА) связана с накоплением амилоидных бляшек в межклеточном пространстве и нейрофибриллярных клубков, состоящих из гиперфосфорилированного внутриклеточно тау-белка. Общее гипометилирование ДНК, упомянутое ранее, при БА соотносится с уменьшением SAM в различных областях головного мозга; также у пациентов показано увеличение фолиевой кислоты и гомоцистеина в плазме кроме, что может косвенно отражать процессы гипометилирования [9]. Основными генами семейных форм БА являются *APP* (предшественник  $\beta$ -амилоида), *PSEN1* (пресенилин 1) и *PSEN2* (пресенилин 2). Для спорадических форм наиболее значим аллельный вариант  $\epsilon 4$  гена *ApoE*. В первых эпигенетических исследованиях было показано гипометилирование промоторной области гена *APP*, однако в последующих работах были получены противоречивые результаты, так же как и для генов *PSEN1* и *MAPT* (последний кодирует белок тау). Для гена *ApoE* показано, что аллель  $\epsilon 4$  может приводить к снижению метилирования CpG-островка, расположенного в 3'-области. Кроме основных генов также в единичных работах были исследованы гены *CLU*, *PP2A*, *SORBS3*, *S100A2*, *NEP*, *SPI*, *COX2*, *BDNF*, *CREB*, *ANK1* с различными результатами по метилированию: для ряда генов отмечался паттерн гиперметилирования, для других — гипометилирования [9, 10]. Интересна работа, в которой показано изменение метилирования в митохондриальной ДНК, однако в связи с методическими ограничениями данная находка требует репликативных исследований [8].

*Болезнь Паркинсона* (БП) с молекулярной точки зрения является синуклеинопатией. Белок альфа-синуклеин обнаруживается в нервных окончаниях и составляет около 1% общего белка мозга, предположительно участвует в процессах передачи сигнала, обучения и формирования памяти [11]. Ген альфа-синуклеина, *SNCA*, локализуется на хромосоме 4q21.3-q22. Изменения его дозы (дупликации и три-

пликации), а также миссенс-мутации ассоциированы с аутосомно-доминантным наследованием БП. Мутации в гене *SNCA* приводят к изменению его конформации, белок синуклеин при этом приобретает новые свойства и структуру, что приводит к его агрегации и образованию характерных интранейрональных белковых включений — телец Леви [12].

Понимание того, что повышение дозы гена запускает патологические механизмы БП, привело к изучению метилирования *SNCA*. Несколькими исследованиями было показано, что у пациентов с БП ген *SNCA* гипометилирован [13–16]. По некоторым данным, при этом наблюдается параллельное увеличение мРНК альфа-синуклеина [17]. Гипометилирование может быть использовано как диагностический маркер заболевания с достаточно хорошей специфичностью 74–78%. Метилирование зависит от пола (оно больше у женщин), возраста (у пожилых лиц постепенно снижается), определенных вариантов нуклеотидной последовательности гена (rs3756063, REP1) и от дозы получаемого препарата леводопы — предшественника дофамина (увеличивается на фоне повышения дозы препарата). Способность леводопы индуцировать метилирование *SNCA* также была подтверждена на мононуклеарной культуре клеток [18]. У пациентов с БП уровень метилирования в лейкоцитах периферической крови соответствует таковому в клетках головного мозга [16, 19]. Несмотря на общее мнение по этому вопросу, существуют единичные работы, в которых не выявлено различий в метилировании *SNCA* между пациентами с БП и контрольной группой [20–22].

Для других моногенных форм паркинсонизма, в частности связанных с генами *LRRK2* и *PRKN*, изменений метилирования обнаружено не было [17, 23]. Для БП также было показано гипометилирование промоторной области гена фактора некроза опухоли альфа, участвующего в процессах воспаления, которые также имеют прямое отношение к патогенезу данного заболевания [24].

В большом исследовании GWAS по БП были выявлены два гена, ассоциированных с заболеванием, — *SNCA* и *MAPT* [25]. Ген *MAPT* располагается на 17-й хромосоме (17q21.1) и кодирует тау-белок, основная функция которого — стабилизация цитоскелетных микротрубочек в нейронах. Кроме БП, патология тау-белка является ключевой в широком спектре различных нейродегенераций — так называемых таупатий (БА, лобновисочная деменция, прогрессирующий надъядерный паралич и др.). В отличие от других генов для *MAPT* большее значение имеет определенный гаплотип: так, H1-гаплотип является фактором риска развития нейродегенеративной патологии [26]. В недавней работе показано, что H1-гаплотип более метилирован по сравнению с H2-гаплотипом. Метилиро-

вание *MAPT* обратно коррелирует с экспрессией гена в головном мозге, при этом уровень метилирования меньше в скорлупе по сравнению с мозжечком и поясной извилиной по аутопсийным данным. Возраст начала БП коррелирует с уровнем метилирования *MAPT*, что может рассматриваться как подтверждение нейропротективных свойств гиперметилирования *MAPT*, уменьшающего патологическую экспрессию гена [27].

В одном полногеномном исследовании ассоциаций (epigenome-wide association study) были выявлены около 20 генов, ассоциированных с БП и отличающихся по метилированию от контроля, из которых значимость двух генов подтверждена в больших когортных исследованиях — это гены *FANCC* (cg14115740) и *TNKS2* (cg11963436) [28].

*Боковой амиотрофический склероз (БАС) и лобно-височная деменция (ЛВД)* — заболевания единого фенотипического спектра. В первую очередь их объединяет ген *C9orf72*, который был открыт в 2011 г. Описана также возможность выявления мутации *C9orf72* при БА, паркинсонизме, фенкопиях болезни Гентингтона. Основной мутацией в гене *C9orf72* является экспансия гексануклеотидных повторов GGGGCC, которая располагается в первом интроне [29]. Экспансия считается патологической при числе копий гексануклеотидных повторов выше 30, а “бесспорно патологической” — от 400 до >4400 гексануклеотидных повторов [30]. Обсуждаются три возможных взаимодополняющих молекулярных механизма, через которые реализуется патологическое действие экспансии в гене *C9orf72*: 1) гаплонедостаточность; 2) образование РНК-фокусов с секвестрацией РНК-связывающих белков; 3) RAN-зависимая трансляция области экспансии (от англ.: *repeat associated non-ATG translation*), приводящая к образованию белков, состоящих из повторов и формирующих внутри клетки нерастворимые агрегаты [31, 32].

Рядом работ для гена *C9orf72* было показано, что гиперметилирование промоторной области является нейропротекторным механизмом. Подсчитано, что около трети носителей экспансии в *C9orf72* имеют гиперметилированный промоторный участок в цис-положении по отношению к мутации [33, 34]. Гиперметилирование увеличивает продолжительность жизни у пациентов с ЛВД, т.е. медленное прогрессирование заболевания ассоциировано с супрессией мутантного гена *C9orf72*. Показано, что уровень метилирования передается из поколения в поколение [35]. Уровень метилирования в лейкоцитах периферической крови соответствует таковому в различных областях головного мозга и не зависит от возраста на момент взятия крови, что свидетельствует об определенной стабильности данного молекулярного показателя [35]. При гиперметилировании *C9orf72* у пациентов с ЛВД отмечается лучшее вы-

полнение нейропсихологических тестов, а также большая сохранность гиппокампа, лобной коры, таламуса при нейровизуализационных и нейропатологических исследованиях [36]. При гистопатологических исследованиях показано, что гиперметилирование ассоциировано с подавлением транскрипции и уменьшением патологических РНК-фокусов и соответствующих дипептидных белковых включений в головном мозге. Деметилирование *C9orf72* приводит к процессам аутофагии и нарастанию окислительного стресса, уменьшению патологических включений [33].

Появились первые работы по изучению метилирования *C9orf72* на культурах клеток. Например, в работе с различными клеточными линиями, несущими данную мутацию, был продемонстрирован дифференцированный паттерн метилирования и подтвержден нейропротекторный эффект гиперметилирования [37].

Для больных БАС также характерно гипометилирование генов *SOD1*, *VEGF*, *GLT*, для больных ЛВД – гиперметилирование гена *GRN* [38, 39].

Для полиглутаминовых заболеваний изучение эпигенетических феноменов в основном было сосредоточено на модификации гистонов. Так, при болезни Гентингтона (БГ) в качестве нового лекарственного препарата для последующих клинических испытаний предложен один из ингибиторов гистоновых деацетилаз [40, 41]. И только в последние годы стали появляться работы по изучению метилирования ДНК при БГ [42, 43]. БГ – аутосомно-доминантное заболевание, вызываемое экспансией CAG-повторов в первом экзоне гена *HTT*. В норме число CAG-повторов составляет 6–35, у больных БГ может наблюдаться от 36 до 120 повторов (редко более). Исследования *in vitro* на контрольных клетках и клетках, экспрессирующих мутантный *HTT*, показали эпигенетическую дизрегуляцию множества генов, из которых наиболее часто упоминаются ген *BDNF* и ген аденозинового рецептора *A2A* [44].

Еще одним заболеванием, относящимся к полиглутаминовым патологиям и исследованным на предмет эпигенетических изменений, является *спиноцереbellарная атаксия 2 (СЦА2)*, связанная с мутацией в гене *ATXN2*. Ген *ATXN2*, располагающийся в локусе 12q24.1, состоит из 30 экзонов и кодирует белок атаксин-2. Первый экзон содержит полиглутаминовый тракт (CAG/CAA; полиQ), подверженный экспансии. В норме число tandemных копий CAG-повторов варьирует от 14 до 28. “Полная” экспансия тринуклеотидных повторов (>34 CAG-копий) приводит к развитию классического полиглутаминового заболевания – аутосомно-доминантной СЦА2 [45]. “Промежуточный” интервал 28–33 повтора представляет собой “серую зону”, которая, как было показано в ряде недавних работ, является новым универсальным

фактором риска развития целого ряда нейродегенеративных заболеваний, таких как БП, синдромы атипичного паркинсонизма, БАС, ЛВД [46]. Установлено, что атаксин-2 участвует в процессах клеточного деления, формирования актиновых филаментов, апоптоза, клеточного сигналинга.

В работе по изучению метилирования CpG-динуклеотидов промоторной области *ATXN2* было выявлено, что гиперметилирование ассоциировано с экспансией CAG-повторов у пациентов с СЦА2, что подразумевает эпигенетические механизмы контроля экспрессии мутации. Гиперметилирование промотора “смягчает” фенотипические проявления и отсрочивает развитие заболевания, что было показано на описанных в литературе примерах разных пациентов с одинаковым числом CAG-повторов [47].

**Болезнь Фридрейха (БФ)** – наиболее частая форма наследственных атаксий, распространенность которой составляет около одного случая на 29 000 населения. Данное аутосомно-рецессивное заболевание связано с гомозиготной экспансией GAA-повторов (66–1700 тринуклеотидов) в первом интроне гена *FXN* [48]. Экспандированный участок нарушает созревание первичного транскрипта, препятствуя вырезанию интрона из молекулы зрелой мРНК; это приводит к пропорциональному снижению или даже к полному блоку трансляции гена с недостаточностью в тканях синтеза белка фратаксина – продукта гена *FXN*. Фратаксин участвует в регуляции митохондриального транспорта железа [49]. Показано, что с нарастанием числа копий GAA-повторов в мутантном гене имеют место более ранняя манифестация симптомов и более быстрый темп прогрессирования болезни [50, 51].

Несколькими исследованиями было показано, что GAA-экспансия может приводить к формированию гетерохроматина в этом участке. Анализ также выявил повышенное метилирование в 5'-участке и, наоборот, пониженное в 3'-участке гена. Кроме того, установлена обратная взаимосвязь между возрастом начала заболевания и повышенным метилированием ДНК в двух CpG-участках, располагающихся до области экспансии [52].

Значение эпигенетической регуляции для БФ было подтверждено в другом исследовании. У пациентов в отличие от контроля отмечалось гиперметилирование области, расположенной выше гена *FXN*, и гипометилирование области, расположенной ниже. Выявлена связь между гипометилированием 3'-участка и возрастом начала заболевания. Учитывая ожидаемую обратную связь между уровнем экспрессии *FXN* и тяжестью состояния пациентов, предполагается, что модификация ДНК-метилирования может влиять на прогрессирование заболевания, а также что эпигенетический профиль может служить измеримым и

изменяемым маркером при проведении специфического лечения [53].

Синдром ломкой X-хромосомы является одним из первых заболеваний, для которых были описаны эпигенетические изменения. Экспансия три-нуклеотидных CGG-повторов в 5'-нетранслируемой промоторной области гена *FMRI* (локус Xq27.3) приводит к вариабельным клиническим нарушениям. Существуют четыре основных состояния данного хромосомного участка, характеризующихся различным числом CGG-копий: 1) нормальные аллели содержат <30 повторов; 2) “полная” мутация (>200 CGG-повторов) приводит к синдрому ломкой X-хромосомы (FXS) с манифестацией умственной отсталости в детском возрасте; 3) премутация (от 55 до 200 CGG-повторов) приводит к развитию синдрома атаксии/тремора, ассоциированного с ломкой X-хромосомой (FXTAS), основные клинические особенности которого – мозжечковая атаксия, интенционный тремор, периферическая полиневропатия и паркинсонизм; 4) “промежуточное” состояние (или “серая зона” экспансии, от 39 до 55 CGG-повторов) характеризуется генетической нестабильностью и может быть ассоциировано с риском развития паркинсонизма [54].

Последовательной серией работ было показано, что “полная” мутация, приводящая к репрессии *FMRI*, связана с метилированием самой CGG-экспансии и CpG-динуклеотидных сайтов в промоторном регионе, при этом уровень ДНК-метилирования обратно коррелирует с экспрессией *FMRI*. Предложено по уровню метилирования региона с геном *FMRI* осуществлять скрининг новорожденных на синдром ломкой X-хромосомы [55]. Метилирование CpG-динуклеотидных повторов в первом интроне *FMRI* коррелирует с когнитивными и психиатрическими нарушениями у женщин-носительниц премутации и “полной” мутации [56, 57].

Описаны два редких случая клинически здоровых мужчин с “полной” мутацией *FMRI*, в обоих случаях эпигенетический анализ выявил неметилированную “полную” мутацию и неметилированный промоторный регион, при этом уровень *FMRI* транскрипта был сопоставим с контрольными значениями [58].

Сравнительно давно был предложен интересный эпигенетический механизм, объясняющий как метилируются CGG-повторы *FMRI* с последующей супрессией гена, который позже нашел свое подтверждение [2]. Предполагается, что CGG-повторы в составе РНК на ранних стадиях эмбриогенеза расщепляются комплексом Dicer с образованием некодирующих РНК. Эти РНК с помощью других белков приводят к метилированию CGG-повторов и к репрессии *FMRI* уже в процессе развития. Таким образом, считается,

что первичная генетическая мутация может приводить к “вторичной эпигенетической мутации” [59–61].

В отличие от “полной” мутации при премутации отмечается повышение уровня мРНК *FMRI*, однако уровень соответствующего белка FMRP сохраняется на нормальных значениях или снижен в связи с измененной трансляцией. Повышение транскрипта приводит к патологическим процессам в связи с токсическими свойствами РНК, содержащей повторы. В одном исследовании на модели FXTAS на дрозофиле было показано, что с помощью эпигенетических изменений возможны супрессия аккумуляции патологической мРНК и подавление фенотипических проявлений, характерных для синдрома FXTAS [62].

Эпигенетическая регуляция экспансии гена *FMRI* также изучается на клеточных культурах [63]. Известно, что реактивация транскрипции в данном случае происходит под воздействием 5-аза-2-дезоксцитидина, ингибитора ДНК-метилтрансфераз, но не при добавлении трихостатина А, ингибитора гистоновых деацетилаз. Это подтверждает важность именно ДНК-метилирования в развитии заболевания.

Большое значение имеет работа, опубликованная в 2018 г., в которой показаны перспективы применения разработанной системы таргетного редактирования метилома [64]. С помощью dCas9-Tet1 и направляющей молекулы РНК было осуществлено деметилирование CGG-экспансии гена *FMRI*, при этом гетерохроматин в промоторной области гена был переведен в активный и была восстановлена экспрессия *FMRI* в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках. Нейроны, получаемые из отредактированных стволовых клеток, полностью восстанавливали фенотип до нормального и сохраняли должную экспрессию *FMRI* при трансплантации в мозг мыши.

Таким образом, в настоящий момент пришло время практического использования полученных знаний об эпигенетических механизмах регуляции генов, что открывает новые перспективы и стратегии в лечении нейродегенеративных заболеваний.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант 17-75-20211).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бочков Н.П., Гинтер Е.К., Пузырев В.П. Наследственные болезни: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 936 с.
2. Allis C.D., Jenuwein T., Reinberg D., Caparros M.L. Epigenetics. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 2007. 502 p.
3. Landgrave-Gomez J., Mercado-Gomez O., Guevara-Guzman R. Epigenetic mechanisms in neurological and

- neurodegenerative diseases // *Front. Cell Neurosci.* 2015. V. 9. P. 58. doi 10.3389/fncel.2015.00058
4. *Christopher M.A., Kyle S.M., Katz D.J.* Neuroepigenetic mechanisms in disease // *Epigenet. Chromatin.* 2017. V. 10. № 1. P. 47. doi 10.1186/s13072-017-0150-4
  5. *Hwang J.-Y., Aromolaran K.A., Zukin R.S.* The emerging field of epigenetics in neurodegeneration and neuroprotection // *Nat. Rev. Neurosci.* 2017. V. 18. № 6. P. 347–361. doi 10.1038/nrn.2017.46
  6. *Fuso A.* The “golden age” of DNA methylation in neurodegenerative diseases // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013. V. 51. № 3. P. 523–534. doi 10.1515/ccml-2012-0618
  7. *Lardenoije R., Iatrou A., Kenis G. et al.* The epigenetics of aging and neurodegeneration // *Prog. Neurobiol.* 2015. V. 131. P. 21–64. doi 10.1016/j.pneurobio.2015.05.002
  8. *Jang H.S., Shin W.J., Lee J.E., Do J.T.* CpG and non-CpG methylation in epigenetic gene regulation and brain function // *Genes (Basel).* 2017. V. 8. № 6. pii: E148. doi 10.3390/genes8060148
  9. *Qazi T.J., Quan Z., Mir A., Qing H.* Epigenetics in Alzheimer’s disease: Perspective of DNA methylation // *Mol. Neurobiol.* 2018. V. 55. № 2. P. 1026–1044. doi 10.1007/s12035-016-0357-6
  10. *Roubroeks J.A.Y., Smith R.G., van den Hove D.L.A., Lunnon K.* Epigenetics and DNA methylomic profiling in Alzheimer’s disease and other neurodegenerative disease // *J. Neurochem.* 2017. V. 143. № 2. P. 158–170. doi 10.1111/jnc.14148
  11. *Corti O., Lesage S., Brice A.* What genetics tells us about the causes and mechanisms of Parkinson’s disease // *Physiol. Rev.* 2011. V. 91. P. 1161–1218. doi 10.1152/physrev.00022.2010
  12. *Stefanis L.* Synuclein in Parkinson’s disease // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012. P. 1–23.
  13. *Jowaed A., Schmitt I., Kaut O., Wullner U.* Methylation regulates alpha-synuclein expression and is decreased in Parkinson’s disease patients’ brains // *J. Neurosci.* 2010. V. 30. P. 6355–6359. doi 10.1523/JNEUROSCI.6119-09.2010
  14. *Matsumoto L., Takuma H., Tamaoka A. et al.* CpG demethylation enhances alpha-synuclein expression and affects the pathogenesis of Parkinson’s disease // *PLoS One.* 2010. V. 11. P. e15522. doi 10.1371/journal.pone.0015522
  15. *Ai S.-x., Xu Q., Hu Y.-c. et al.* Hypomethylation of SNCA in blood of patients with sporadic Parkinson’s disease // *J. Neurol. Sci.* 2014. V. 337. P. 123–128. doi 10.1016/j.jns.2013.11.033
  16. *Pihlstrom L., Berge V., Rengmark A., Toft M.* Parkinson’s disease correlates with promoter methylation in the  $\alpha$ -synuclein gene // *Mov. Disord.* 2015. V. 30. P. 577–580. doi 10.1002/mds.26073
  17. *Tan Y.-y., Wu L., Zhao Z.-b. et al.* Methylation of  $\alpha$ -synuclein and leucine-rich repeat kinase 2 in leukocyte DNA of Parkinson’s disease patients // *Parkinsonism Relat. Disord.* 2014. V. 20. P. 308–313. doi 10.1016/j.parkreldis.2013.12.002
  18. *Schmitt I., Kaut O., Khazneh H. et al.* L-dopa increases  $\alpha$ -synuclein DNA methylation in Parkinson’s disease patients *in vivo* and *in vitro* // *Mov. Disord.* 2015. V. 30. № 13. P. 1794–1801. doi 10.1002/mds.26319
  19. *Masliyah E., Dumaop W., Galasko D., Desplats P.* Distinctive patterns of DNA methylation associated with Parkinsons disease // *Epigenetics.* 2013. V. 8. P. 1030–1038. doi 10.4161/epi.25865
  20. *Song Y., Ding H., Yang J. et al.* Pyrosequencing analysis of SNCA methylation levels in leukocytes from Parkinson’s disease patients // *Neurosci. Lett.* 2014. V. 569. P. 85–88. doi 10.1016/j.neulet.2014.03.076
  21. *Wuellner U., Kaut O., deBoni L. et al.* DNA methylation in Parkinson’s disease // *J. Neurochem.* 2016. V. 139. Suppl. 1. P. 108–120. doi 10.1111/jnc.13646
  22. *Miranda-Morales E., Meier K., Sandoval-Carrillo A. et al.* Implication of DNA methylation in Parkinson’s disease // *Front. Mol. Neurosci.* 2017. V. 10. P. 225. doi 10.3389/fnmol.2017.00225
  23. *De Mena L., Cardo L.F., Coto E. et al.* No differential DNA methylation of PARK2 in brain of Parkinson’s disease patients and healthy controls // *Mov. Disord.* 2013. V. 28. P. 2032–2033. doi 10.1111/jnc.13646
  24. *Pieper H.C., Evert B.O., Kaut O. et al.* Different methylation of the TNF-alpha promoter in cortex and substantia nigra: Implications for selective neuronal vulnerability // *Neurobiol. Dis.* 2008. V. 32. P. 521–527. doi 10.1016/j.nbd.2008.09.010
  25. *Simon-Sanchez J., Schulte C., Bras J.M. et al.* Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson’s disease // *Nat. Genet.* 2009. V. 41. P. 1308–1312. doi 10.1038/ng.487
  26. *Baker M., Litvan I., Houlden H. et al.* Association of an extended haplotype in the tau gene with progressive supranuclear palsy // *Hum. Mol. Genet.* 1999. V. 8. P. 711–715.
  27. *Coupland K.G., Mellick G.D., Silburn P.A. et al.* DNA methylation of the MAPT gene in Parkinson’s disease cohort and modulation by vitamin E *in vitro* // *Mov. Disord.* 2014. V. 29. P. 1606–1614. doi 10.1002/mds.25784
  28. *Moore K., McKnight A.J., Craig D., O’Neill F.* Epigenome-wide association study for Parkinson’s disease // *Neuromolec. Med.* 2014. V. 16. № 4. P. 845–855. doi 10.1007/s12017-014-8332-8
  29. *DeJesus-Hernandez M., Mackenzie I.R., Boeve B.F.* Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in non-coding region of C9orf72 causes chromosome 9p-linked frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis // *Neuron.* 2011. V. 72. P. 245–256. doi 10.1016/j.neuron.2011.09.011
  30. *Woollacott I.O.C., Mead S.* The C9orf72 expansion mutation: gene structure, phenotypic and diagnostic issues // *Acta Neuropathol.* 2014. V. 127. P. 319–332. doi 10.1007/s00401-014-1253-7
  31. *Almeida S., Gascon E., Tran H.* Modeling key pathological features of frontotemporal dementia with C9orf72 repeat expansion in iPSC-derived human neurons // *Acta Neuropathol.* 2013. V. 126. P. 385–399. doi 10.1007/s00401-013-1149-y
  32. *Yokoyama J.S., Sirkes D.W., Miller B.L.* C9orf72 hexanucleotide repeats in behavioral and motor neuron disease: clinical heterogeneity and pathological diversity // *Am. J. Neurodegener. Dis.* 2014. V. 3. P. 1–18.
  33. *Liu E.Y., Russ J., Wu K. et al.* C9orf72 hypermethylation protects against repeat expansion-associated pa-

- thology in ALS/FTD // *Acta Neuropathol.* 2014. V. 128. P. 525–541. doi 10.1007/s00401-014-1286-y
34. Dolinar A., Ravnik-Glavac M., Glavac D. Epigenetic mechanisms in amyotrophic lateral sclerosis: a short review // *Mech. Ageing Dev.* 2018. pii: S0047-6374(17)30225-7. doi 10.1016/j.mad.2018.03.005
  35. Russ J., Liu E.Y., Wu K. et al. Hypermethylation of repeat expanded C9orf72 is a clinical and molecular disease modifier // *Acta Neuropathol.* 2015. V. 129. P. 39–52.
  36. Mcmillan C.T., Russ J., Wood E.M. et al. C9orf72 promoter hypermethylation is neuroprotective: neuroimaging and neuropathologic evidence // *Neurology.* 2015. V. 84. P. 1–9. doi 10.1212/WNL.0000000000001495
  37. Cohen-Hadad Y., Altarescu G., Eldar-Geva T. et al. Marked differences in C9orf72 methylation status and isoform expression between C9/ALS human embryonic and induced pluripotent stem cells // *Stem Cell Reports.* 2016. V. 7. № 5. P. 927–940. doi 10.1016/j.stemcr.2016.09.011
  38. Belzil V.V., Katzman R.B., Petrucelli L. ALS and FTD: an epigenetic perspective // *Acta Neuropathol.* 2016. V. 132. № 4. P. 487–502. doi 10.1007/s00401-016-1587-4
  39. Delgado-Morales R., Esteller M. Opening up the DNA methylome of dementia // *Mol. Psychiatry.* 2017. V. 22. № 4. P. 485–496. doi 10.1038/mp.2016.242
  40. Evans-Galea M.V., Hannan A.J., Carrodus N. et al. Epigenetic modifications in trinucleotide repeat disease // *Trends Mol. Med.* 2013. V. 11. P. 655–663. doi 10.1016/j.molmed.2013.07.007
  41. Lee J., Hwang Y.J., Kim K.Y. et al. Epigenetic mechanisms of neurodegeneration in Huntington's disease // *Neurotherapeutics.* 2013. V. 4. P. 664–676. doi 10.1007/s13311-013-0206-5
  42. Bai G., Gheung I., Shulha H.P. et al. Epigenetic dysregulation of hairy and enhancer of split 4 (HES4) is associated with striatal degeneration in postmortem Huntington brains // *Hum. Mol. Genet.* 2015. V. 5. P. 1441–1456. doi 10.1093/hmg/ddu561
  43. Thomas E.A. DNA methylation in Huntington's disease: Implications for transgenerational effects // *Neurosci. Lett.* 2016. V. 625. P. 34–39. doi 10.1016/j.neulet.2015.10.060
  44. Nageswaran S., Festenstein R. Epigenetics and triplet-repeat neurological disease // *Front. Neurol.* 2015. V. 6. P. 262. doi 10.3389/fneur.2015.00262
  45. Geschwind D.H., Perlman S., Fifueroa C.P. et al. The prevalence and wide clinical spectrum of the spinocerebellar ataxia type 2 trinucleotide repeat in patients with autosomal dominant cerebellar ataxia // *Am. J. Hum. Genet.* 1997. V. 60. P. 842–850.
  46. Ross O.A., Rutherford N.J., Baker M. et al. Ataxin-2 repeat-length variation and neurodegeneration // *Hum. Mol. Genet.* 2011. V. 20. P. 3207–3212. doi 10.1093/hmg/ddr227
  47. Laffita-Mesa J.M., Bauer P.O., Kouri V. et al. Epigenetics DNA methylation in the core ataxin-2 gene promoter: novel physiological and pathological implications // *Hum. Genet.* 2012. V. 131. P. 625–638. doi 10.1007/s00439-011-1101-y
  48. Schulz J.B., Boesch S., Burk K. et al. Diagnosis and treatment of Friedreich ataxia: a European perspective // *Nat. Rev. Neurol.* 2009. V. 5. P. 222–234. doi 10.1038/nr-neurol.2009.26
  49. Santos R., Lefevre S., Sliwa D. et al. Friedreich ataxia: molecular mechanisms, redox considerations, and therapeutic opportunities // *Antioxid. Redox. Signal.* 2010. V. 13. P. 651–690. doi 10.1089/ars.2009.3015
  50. Filla A., De Michele G., Cavalcanti F. et al. The relationship between trinucleotide (GAA) repeat length and clinical features in Friedreich ataxia // *Am. J. Hum. Genet.* 1996. V. 59. P. 554–560.
  51. Illaroshkin S.N., Bagieva G.Kh., Klyushnikov S.A. et al. Different phenotypes of Friedreich's ataxia within one 'pseudo-dominant' genealogy: relationships between trinucleotide (GAA) repeat lengths and clinical features // *Eur. J. Neurol.* 2000. V. 7. P. 535–540.
  52. Castaldo I., Pinelli M., Monticelli A. et al. DNA methylation in intron 1 of the frataxin gene is related to GAA repeat length and age of onset in Friedreich ataxia patients // *J. Med. Genet.* 2008. V. 45. P. 808–812. doi 10.1136/jmg.2008.058594
  53. Evans-Galea M.V., Carrodus N., Rowley S.M. et al. FXN methylation predicts expression and clinical outcome in Friedreich ataxia // *Ann. Neurol.* 2012. V. 71. P. 487–497. doi 10.1002/ana.22671
  54. Loesch D., Hagerman R. Unstable mutations in the FMR1 gene and the phenotypes // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012. V. 769. P. 78–114.
  55. Godler D.E., Tassone F., Loesch D.Z. et al. Methylation of novel markers of fragile X alleles is inversely correlated with FMRP expression and FMR1 activation ratio // *Hum. Mol. Genet.* 2010. V. 19. P. 1618–1632. doi 10.1093/hmg/ddq037
  56. Godler D.E., Slater H.R., Bui Q.M. et al. Fragile X Mental Retardation 1 (FMR1) intron 1 methylation in blood predicts verbal cognitive impairment in female carriers of expanded FMR1 allele: Evidence from a pilot study // *Clin. Chem.* 2012. V. 58. P. 590–598. doi 10.1373/clinchem.2011.177626
  57. Cornish K.M., Kraan C.M., Bui Q.M. et al. Novel methylation markers of the dysexecutive-psychiatric phenotype in FMR1 premutation women // *Neurology.* 2015. V. 84. P. 1–8. doi 10.1212/WNL.0000000000001496
  58. Tabolacci E., Moscato U., Zalfa F. et al. Epigenetic analysis reveals a euchromatic configuration in the FMR1 unmethylated full mutations // *Eur. J. Hum. Genet.* 2008. V. 16. P. 1487–1498. doi 10.1038/ejhg.2008.130
  59. Jin P., Alisch R.S., Warren S.T. RNA and microRNAs in fragile X mental retardation // *Nat. Cell Biol.* 2004. V. 11. P. 1048–1053.
  60. Godler D.E., Inaba Y., Shi E.Z. et al. Relationships between age and epi-genotype of the FMR1 exon 1/intron 1 boundary are consistent with non-random X-chromosome inactivation in FM individuals, with the selection for the unmethylated state being most significant between birth and puberty // *Hum. Mol. Genet.* 2013. V. 22. P. 1516–1524. doi 10.1093/hmg/ddt002
  61. Colak D., Zaninovic N., Cohen M. et al. Promoter-bound trinucleotide repeat mRNA drives epigenetic silencing in fragile X syndrome // *Science.* 2014. V. 343. P. 1002–1005. doi 10.1126/science.1245831

62. Todd P.K., Oh S.Y., Krans A. et al. Histone deacetylases suppress CGG repeat-induced neurodegeneration via transcriptional silencing in models of fragile X tremor ataxia syndrome // PLoS Genet. 2010. V. 12. P. e1001240. doi 10.1371/journal.pgen.1001240
63. de Esch C.E., Ghazvini M., Loos F. et al. Epigenetic characterization of the FMR1 promoter in induced pluripotent stem cells from human fibroblasts carrying an unmethylated full mutation // Stem Cell Reports. 2014. V. 3. P. 548–555. doi 10.1016/j.stemcr.2014.07.013
64. Liu X.S., Wu H., Krzisch M. et al. Rescue of fragile X syndrome neurons by DNA methylation editing of the FMR1 gene // Cell. 2018. V. 172. P. 979–992.e6. doi 10.1016/j.cell.2018.01.012

## DNA Methylation in Neurodegenerative Diseases

E. Yu. Fedotova<sup>a,\*</sup> and S. N. Illarioshkin<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Research Center of Neurology, Moscow, 125367 Russia

\*e-mail: ekfedotova@gmail.com

Studies on epigenetic modifications in neurodegenerative diseases have just been emerging in last few years, but growing interest to this phenomenon suggests its great importance in molecular mechanisms of the disorders and their phenotypic characteristics. DNA methylation is one of the key players in the regulation of gene expression. This review covers main types of DNA methylation, mechanisms of DNA methylation and demethylation, and epigenetic regulation in Alzheimer's disease, Parkinson's disease, amyotrophic lateral sclerosis, Huntington's disease and hereditary ataxias. We also discussed possible prospects of targeted epigenetic editing as a new approach to the therapy of neurodegenerative diseases.

**Keywords:** neurodegenerative diseases, epigenetics, regulation of expression, DNA methylation, 5-methylcytosine.