

Мультилокусные нарушения импринтинга

Панченко Е.Г., Симонова О.А., Стрельников В.В.

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

Геномный импринтинг – эпигенетический механизм, определяющий и регулирующий экспрессию гомологичных аллелей генов различного родительского происхождения. Нарушения этого механизма приводят к болезням геномного импринтинга (БГИ). Регуляция импринтинга осуществляется не только в пределах близко расположенных кластеров генов, но и посредством взаимодействий в импринтированных генных сетях (ИГС). Эти взаимодействия могут объяснить некоторые наблюдаемые различия в фенотипах различных БГИ и MLID (multilocus imprinting disturbances – мультилокусных нарушений импринтинга, при которых наблюдаются множественные аномалии метилирования импринтированных районов и генов), корреляции между эпигенотипом и фенотипом которых не всегда очевидна. На сегодняшний день описано не менее 20 БГИ у человека, как с самостоятельными, так и с перекрывающимися клиническими признаками, включая малые аномалии развития, врожденные пороки развития, нарушения метаболизма, особенности интеллектуального, моторного, физического развития. Чаще у пациента с определенной БГИ поражается один специфический импринтированный локус, но появляется все больше сообщений о пациентах с MLID. Причинами MLID являются патогенные варианты в генах, кодирующих ооцитарные и зиготические факторы развития эмбриона, такие как *NLRP2*, *NLRP5*, *NLRP7*, *KHDC3L*, *OOEP*, *PADI6*, *TLE6*, *UHRF1*, *ZFP57*, *ARID4A*, *ZAR1*, *ZNF445*, *TRIM28*. Патогенные варианты этих генов демонстрируют особый способ наследования, поскольку они становятся функционально значимыми только у женщин-носительниц. Они влияют не на здоровье самой носительницы, а на ее репродуктивный прогноз. При генетическом консультировании следует учитывать, что фенотип, обусловленный нарушениями в генах ооцитарных и зиготических факторов развития эмбриона, проявляется только тогда, когда носителями являются женщины. Таким образом, вариант может передаваться по отцовской линии, не вызывая при этом репродуктивных проблем.

MLID являются актуальной и активно изучаемой проблемой клинической и молекулярной генетики. Ввиду возможной схожести клинической картины классических БГИ и MLID, пациентам с подозрением на БГИ целесообразно проводить анализ на MLID для установления дополнительных паттернов метилирования импринтированных дифференциально метилированных районов (ДМР). В семьях пациентов с MLID необходимо проводить поиск генетических вариантов в MLID-ассоциированных генах для установления риска повторного рождения детей с БГИ. Исследование MLID-ассоциированных генов может быть актуально для пациенток с привычным невынашиванием беременности, рецидивирующим пузырным заносом и при исследовании abortивного материала без хромосомных аномалий для определения причин прерывания и планирования последующей беременности.

Ключевые слова: болезни геномного импринтинга, мультилокусные нарушения импринтинга, импринтированная генная сеть, ДНК-диагностика

Для цитирования: Панченко Е.Г., Симонова О.А., Стрельников В.В. Мультилокусные нарушения импринтинга. *Медицинская генетика* 2023; 22(12): 33-44.

Автор для корреспонденции: Стрельников Владимир Викторович; **e-mail:** vstrel@list.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ «МГНЦ» на выполнение НИР в 2023 году.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 30.11.2023

Multilocus imprinting disturbances

Panchenko E.G., Simonova O.A., Strelnikov V.V.

Research Centre for Medical Genetics
1, Moskvorechie st., Moscow, 115478, Russian Federation

Genomic imprinting is an epigenetic mechanism that determines and regulates expression of homologous alleles of genes of different parental origin. Disturbances in this mechanism lead to imprinting disorders (IDs). Imprinting is regulated not only within closely located gene clusters, but also through interactions in imprinted gene networks (IGNs). These interactions may explain some of the observed differences in the phenotypes of various ImpDis and MLID (multilocus imprinting disturbances, in which multiple methylation abnormalities of imprinted regions and genes are observed), where the correlation between the epigenotype and the phenotype is not always obvious. To date, at least 20 IDs have been described in humans, both with independent and with overlapping clinical signs, including minor developmental anomalies, congenital malformations, metabolic disorders, features of intellectual, motor, and physical development. More often, in an individual with a specific ID, one specific imprinted locus is affected, but there are increasing reports of patients with MLID. The causes of MLID are pathogenic variants in genes encoding oocyte and zygotic embryo development factors,

such as *NLRP2*, *NLRP5*, *NLRP7*, *KHDC3L*, *OOEP*, *PADI6*, *TLE6*, *UHRF1*, *ZFP57*, *ARID4A*, *ZAR1*, *ZNF445*, *TRIM28*. Pathogenic variants of these genes exhibit a distinct mode of inheritance in that they become functionally significant only in female carriers. They do not affect the health of the carrier herself, but her reproductive prognosis. When providing genetic counseling, it should be taken into account that the phenotype caused by disturbances in the genes for oocyte and zygotic factors of embryo development appears only when the carriers are women. Thus, the variant can be passed on through the father's side without causing reproductive problems.

MLID is an actively studied problem in clinical and molecular genetics. Due to the possible similarity of the clinical picture of classical ID and MLID, it is advisable for patients with suspected ID to undergo analysis for MLID to establish additional methylation patterns of imprinted DMRs, since in families of patients with MLID it is necessary to conduct medical genetic counseling with a further search for genetic variants in MLID-associated genes, to establish the risk of recurrent birth of children with ID. Also, the study of MLID-associated genes may be relevant for patients with recurrent miscarriage, recurrent hydatidiform mole, and for the study of abortive material, in the absence of chromosomal abnormalities identified in it, to determine the causes of termination and competent planning of a subsequent pregnancy.

Keywords: imprinting disorders, multilocus imprinting disturbances, imprinted gene network, DNA diagnostics.

For citation: Panchenko E.G., Simonova O.A., Strelnikov V.V. Multilocus imprinting disturbances. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2023; 22(12): 33-44. (In Russ.)

Corresponding author: Vladimir V. Strelnikov; **e-mail:** vstrel@list.ru

Funding. The research was carried out within the state assignment and funding of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

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

Accepted: 30.11.2023

Основы геномного импринтинга

Геномный импринтинг — эпигенетический механизм, определяющий и регулирующий экспрессию гомологичных аллелей генов различного родительского происхождения. На протяжении всей жизни импринты должны поддерживаться и оберегаться от эпигенетического перепрограммирования в соматических клетках [1].

Импринтинг (эпигенетическая метка родительского происхождения аллеля) устанавливается во время гаметогенеза до оплодотворения и отмечает определенные гены, как имеющие или материнское, или отцовское происхождение. Оба родителя передают потомкам структурно одинаковые гены, но в гаметогенезе эти гены могут быть по-разному маркированы, вследствие чего экспрессия этих генов будет различаться. Все известные импринтированные гены содержат области различного (дифференциального) метилирования (ДМР — дифференциально метилированные районы) на двух родительских хромосомах, и эти различия обязательны для их моноаллельной экспрессии. Неимпринтированные гены экспрессируются и с аллелей материнского происхождения, и с аллелей отцовского происхождения. Болезни геномного импринтинга (БГИ) развиваются при нарушении нормальных механизмов геномного импринтинга [1, 2].

Импринт контролирует экспрессию генов импринтированного участка хромосомы в соматических тканях эмбриона. Импринтированное состояние сохраняется постнатально, определяя экспрессию генов только материнского или только отцовского происхождения. Импринтинг в половых клетках должен быть обратимым: аллели отцовского происхождения, унаследованные женщиной, должны перепрограммироваться, чтобы затем передаться ее детям уже с материнским полоспецифическим импринтом (отпечатком). Аналогично, импринтированный аллель материнского происхождения, унаследованный мужчиной, должен быть перепрограммирован таким образом, чтобы он мог передать его своим детям с отцовским полоспецифическим импринтом [1, 3].

Большинство импринтированных генов находится в кластерах, называемых импринтированными доменами, которые обеспечивают скоординированную регуляцию с помощью общих регуляторных элементов, таких как длинные некодирующие РНК (lncRNA) и ДМР, то есть в областях, где метилирование ДНК различается между аллелями, полученными по материнской линии, и аллелями, полученными по отцовской линии. Каждый импринтированный домен контролируется независимым центром импринтинга (ЦИ), который обычно

характеризуется дифференцированно метилированной областью зародышевой линии (гДМР), также известной как первичный ДМР. В геноме человека было идентифицировано приблизительно 35 гДМР, ассоциированных с импринтированными хромосомными локусами. гДМР характеризуются различными конфигурациями хроматина на родительских хромосомах с гистоновыми метками, характерными для транскрипционно активного и неактивного хроматина. Метилированные и неметилированные аллели гДМР распознаются различными факторами транскрипции, чья функция заключается в направлении дифференциальной эпигенетической модификации и импринтированной экспрессии локусов. Метилированные по материнской линии гДМР более многочисленны, располагаются внутригеном и часто соответствуют промоторам lncRNA, а гДМР, метилированные по отцовской линии, располагаются межгеном и могут функционировать как инсультаторы или энхансеры [1, 4]. Потеря метилирования (LOM – loss of methylation) и усиление метилирования (GOM – gain of methylation) одного и того же ЦИ могут приводить к «зеркальным» расстройствам, которые характеризуются противоположными клиническими признаками и паттернами экспрессии генов. Импринтированные гены могут демонстрировать моноаллельную экспрессию в большинстве или во всех типах клеток, но для некоторых генов экспрессия ограничена тканеспецифичностью (*UBE3A*) или «окнами» развития (*KCNQ1*) [1, 5-8].

Чтобы контролировать аллель-специфичную экспрессию импринтированных генов в соматических клетках, гДМР направляют установление дополнительных аллель-специфичных эпигенетических составляющих внутри импринтированного домена в процессе развития. К таким составляющим относятся вторичные ДМР, также известные как соматические ДМР, которые соответствуют промоторам генов и сайтам связывания факторов транскрипции, модификации хроматина, структурам хроматина более высокого порядка (например, возникающим в результате взаимодействий CTCF-когезин) и lncRNA, обладающих способностью к сайленсингу. Также импринтированные гДМР регулируют альтернативный сплайсинг, что приводит к формированию аллель-специфических изоформ транскриптов. Некоторые гены, экспрессия которых зависит от родительского происхождения в соматических тканях, не имеют явного ДМР поблизости, и их аллель-специфическая экспрессия может контролироваться эпигенетическими факторами, отличными от метилирования ДНК [1, 5, 9].

Регуляция импринтинга осуществляется не только в пределах близко расположенных кластеров генов, но и посредством взаимодействий в импринтированных генных сетях (ИГС). Например, было показано, что у мышей транскрипционный фактор *PLAGL1* и lncRNA *H19* регулируют независимым от метилирования ДНК образом уровень мРНК нескольких участников ИГС, контролирующих рост. При синдроме Темпл нарушение отцовского импринтинга на хромосоме 14 изменяет экспрессию гена *IGF2*, даже несмотря на сохраненный паттерн отцовского импринтинга на хромосоме 11. Пациенты имеют повышенную экспрессию *MEG3*, *MEG8*, двух экспрессируемых по материнской линии некодирующих длинных РНК, а также повышенное количество микроРНК, которые могут модифицировать экспрессию ИГС и, в частности, *IGF2*. В качестве другого примера, lncRNA *IPW* человека, которая кодируется геном, расположенным в 15q11-13, способна регулировать экспрессию гена *MEG3* в регионе 14q32 путем нацеливания гистон-метилтрансферазы H3K9 на его ЦИ. Эти наблюдения подтверждают быстро распространяющуюся теорию о том, что ИГС определяют клинические особенности БГИ, на что указывают, например, случаи синдрома Темпл, при которых проявляются фенотипы, подобные синдрому Прадера-Вилли [10-12].

Кроме того, многие кластеры импринтированных генов кодируют микроРНК (miRNA) и малые ядерные РНК (snoRNA), которые могут быть вовлечены в посттранскрипционный уровень регуляции импринтированных генов [13].

Эти взаимодействия могут объяснить некоторые наблюдаемые различия в фенотипах различных БГИ и MLID (multilocus imprinting disturbances – многолокусных нарушений импринтинга, при которых наблюдаются множественные аномалии метилирования импринтированных районов и генов), корреляции между эпигенотипом и фенотипом которых не всегда очевидны [4, 14].

Механизмы геномного импринтинга

Механизмы геномного импринтинга с точки зрения считывания эпигенетической метки включают модели инсультаторов, антисмысловой транскрипции РНК генов и регуляторных факторов импринтинга.

Инсультатор – регуляторная последовательность ДНК, обладающая способностью блокировать сигналы, исходящие от комплекса активатор-энхансер; при связывании с белком CTCF становится невозмож-

ным взаимодействием между энхансером и промотором в случае, если инсуляторная последовательность находится между ними. Например, в импринтированном кластере хромосомы 11p15 ЦИ *H19* (располагающийся между белок-кодирующим геном *IGF2* и РНК-кодирующим геном *H19*), содержащий сайты связывания белка CTCF, метилирован на отцовской и неметилирован на материнской хромосоме. Это позволяет белку CTCF связываться с *H19* ICR на материнской хромосоме и ингибировать контакт *IGF2* с его энхансерами, что приводит к репрессии *IGF2* [15].

Регуляторные факторы импринтинга. Одни факторы регулируют установление импринтов (белок CTCF, который является мультифункциональным регулятором импринтинга, POU5F1, SOX2), а другие, например, ZFP57, защищают установленные в ходе предимплантационного развития импринты, как в отдельных, так и в нескольких импринтированных регионах. Описаны пациенты с мутациями в гене *ZFP57*, сопровождающимися LOM генов *PLAGL1*, *GRB10*, *PEG3* [15, 16].

Модель антисмысловой транскрипции РНК генов. Большинство импринтированных доменов используют антисмысловую транскрипцию РНК генов для регуляции специфической экспрессии аллелей различного родительского происхождения. В этом случае ЦИ включает промотор РНК, транскрибирующейся в антисмысловом направлении и обеспечивающей сайленсинг белок-кодирующих генов. Метилирование ЦИ прекращает антисмысловую и разрешает смысловую транскрипцию. Например, в интроне 10 гена *KCNQ1* обнаружен ген lncRNA *KCNQ1OT1*, экспрессирующийся с антисмысловой цепи отцовской хромосомы. *KCNQ1OT1* может специфически инактивировать транскрипцию соседних генов посредством рекрутирования комплексов ремоделирования хроматина и поддерживать такое состояние в течение нескольких клеточных делений [17].

Болезни геномного импринтинга

Практически все гДМР, присутствующие в соматических тканях, — ооцитарного происхождения. В примордиальных половых зародышевых клетках, предшественниках сперматозоидов и яйцеклеток, спецификация зародышевой линии требует ремоделирования эпигенома, предполагающего стирание и перепрограммирование импринтов. Стирание импринтов осуществляется пассивно в результате снижения уровней белков DNMT3A и UHRF1 — кофактора поддерживающей ДНК-метилтрансферазы DNMT1. Перепро-

граммирование импринтов происходит с помощью активного деметилирования и связано с окислением 5mC до 5-гидроксиметилцитозина (5hmC) посредством TET1 и TET2-опосредованной модификации 5mC, которая перестает распознаваться механизмом поддерживающего метилирования. Установление меток импринтинга начинается в мейотически остановленных (в профазе I) ооцитах и в значительной степени завершается на стадии развития зародышевых пузырьков и с возобновлением мейоза. При созревании яйцеклетка прекращает транскрипцию и трансляцию, которые не возобновляются у человеческого эмбриона до тех пор, пока он не достигнет восьмиклеточной стадии; следовательно, ранний эмбрион в значительной степени зависит от предоставляемых матерью белка и РНК яйцеклетки. С момента оплодотворения материнская РНК постепенно разрушается. Отцовский геном поддерживает раннюю волну транскрипции, которая необходима для активации зиготического генома. После оплодотворения геномы, полученные по материнской и отцовской линии, деметилируются. Отцовский геном активно деметилируется на ранней стадии первого клеточного цикла, тогда как деметилирование материнского происходит преимущественно пассивно. У человека и мышей дифференциальное метилирование между материнскими и отцовскими аллелями ЦИ сохраняется до имплантации и после имплантации, вероятно, благодаря взаимодействию с факторами, экспрессируемыми в яйцеклетке (ооцитарные факторы) и на ранних стадиях развития эмбриона (зиготические факторы). Нарушение стирания и перепрограммирования импринтов во время гаметогенеза и на ранних стадиях развития эмбриона может привести к БГИ [1, 5].

На сегодняшний день описано как минимум 20 БГИ у человека, как с самостоятельными, так и с перекрывающимися клиническими признаками, включая малые аномалии развития, врожденные пороки развития, нарушения метаболизма, особенности интеллектуального, моторного, физического развития. Чаще у индивидуума с определенной БГИ поражается один специфический ДМР, но появляется все больше сообщений о пациентах с MLID. Частота MLID в структуре причин отдельных БГИ представлена в табл. 1 [2, 16-19].

Причины БГИ включают 4 класса молекулярных изменений: вариации числа копий генов, однородительские дисомии (ОРД), aberrантное метилирование (эпимутации) и патогенные варианты в импринтированных генах [20]. Для некоторых нарушений импринтинга основным молекулярным механизмом являются эпимутации — GOM или LOM в ЦИ. Термин «эпиму-

тация» описывает aberrантный паттерн метилирования ДНК или модификации гистонов в ЦИ, которые влияют на регуляцию импринтированных локусов, без нарушения последовательности геномной ДНК в соответствующем ЦИ. MLID чаще ассоциированы с эпимутациями: при синдромах Ангельмана и Прадера-Вилли (СА и СПВ), причинами которых в подавляющем большинстве случаев являются нарушения копийности генов и ОРД, MLID встречаются редко; при синдромах Беквита–Видеманна (СБВ), Рассела–Сильвера (СРС), транзитном неонатальном сахарном диабете (ТНСД) и псевдогипопаратиреозе (ПГП) типа 1В, где эпимутации встречаются чаще, напротив, MLID обнаруживаются в 10-50%. При этом у пациентов с MLID наблюдаются более тяжелые клинические фенотипы [8, 10].

Первичные эпимутации определяются как изолированные изменения метки импринтинга без ка-

кого-либо очевидного связанного с этим изменения последовательности ДНК. Вторичные эпимутации в импринтированном локусе включают как нарушения копийности ДНК, так и генетические варианты в непосредственной близости от ДМР (цис-регуляторные варианты), а также факторы, взаимодействующие с ДМР (транс-регуляторные варианты, влияющие на белки, вовлеченные в импринтинг у раннего эмбриона). Поскольку импринты сохраняются на протяжении всей жизни организма, нарушения импринтинга, возникающие в зародышевой линии в виде первичных или вторичных эпимутаций, аналогичным образом сохраняются в соматических тканях, приводя к БГИ. Первичные или вторичные эпимутации и/или ОРД, которые происходят после оплодотворения, могут привести к соматическому мозаицизму [7, 16].

Таблица 1. Частота MLID среди причин болезней геномного импринтинга

Table 1. Frequency of MLID among the causes of genomic imprinting diseases

	Болезнь геномного импринтинга	OMIM	Хромосомный импринтированный район	Частота MLID
1	Транзитный неонатальный сахарный диабет (ТНСД)	601410	Chr 6q24.2	30 %
2	Синдром Бирка–Барела	612292	Chr 8q24.3	Неизвестна
3	Синдром Рассела–Сильвера (СРС)	180860	Chr 11p15.5	7-10%
4	Синдром Беквита–Видеманна (СБВ)	130650	Chr 11p15.5	25 %
5	Синдром задержки внутриутробного развития, метафизарной дисплазии, врожденной гипоплазии надпочечников и аномалий половых органов (IMAGe)	614732	Chr 11p15.5	Неизвестна
6	Ретинобластома	180200	13q14.3	Неизвестна
7	Синдром Кагами–Огата	608149	Chr 14q32.2	Неизвестна
8	Синдром Темпл (ТС)	616222	Chr 14q32.2	1 случай
9	Синдром Прадера–Вилли (СПВ)	176270	Chr 15q11.2–q13	1 случай
10	Синдром Ангельмана (СА)	105830	Chr 15q11.2–q13	2 случая
11	Синдром центрального преждевременного полового созревания типа 2	615346	Chr 15q11.2	Неизвестна
12	Синдром Шаафа–Янга	615547	Chr 15q11.2	Неизвестна
13	Псевдогипопаратиреоз (ПГП) типа 1А	103580	Chr 20q13.2	Неизвестна
14	Псевдогипопаратиреоз типа 1В	603233	Chr 20q13.2	12,5 %
15	Псевдогипопаратиреоз типа 1С	612462	Chr 20q13.2	Неизвестна
16	Псевдопсевдогипопаратиреоз	612463	Chr 20q13.2	Неизвестна
17	Прогрессирующая костная гетероплазия	166350	Chr 20q13.2	Неизвестна
18	Синдром Мулчандани–Божж–Конлин	617352	Chr 20	Неизвестна
19	Upd(6)mat	ORPHA:96181	Chr 6, 6q16.1qter	Неизвестна
20	Upd(16)mat	ORPHA:96185	Chr 16	Неизвестна

Причины MLID

Транс-регуляторные варианты, приводящие к MLID, могут быть выявлены в генах, кодирующих ооцитарные и зиготические факторы развития эмбриона, таких как *NLRP2*, *NLRP5*, *NLRP7*, *KHDC3L*, *OOEP*, *PADI6*, *TLE6*, *UHRF1*, *ZFP57*, *ARID4A*, *ZAR1*, *ZNF445*, *TRIM28* [7, 8, 16, 17, 21].

Белки *NLRP2*, *NLRP5*, *NLRP7*, *PADI6*, *KHDC3L*, *TLE6*, *OOEP*, *UHRF1* локализованы в подкорковом материнском комплексе (subcortical maternal complex – SCMC), поэтому гены, кодирующие их, называют генами «материнского эффекта». Примерно у 30% матерей детей с MLID в этих генах выявляются патогенные варианты.

Гены *NLRP2* и *NLRP7* расположены в регионе 19q13.42, ген *NLRP5* – в регионе 19q13.43. Ген *NLRP2* экспрессируется в нескольких тканях, таких как легкие, плацента, тимус. Мутации *NLRP2* ассоциированы с остановкой созревания ооцитов/зигот/эмбрионов (oocyte/zygote/embryo maturation arrest 18; OMIM#620332). *NLRP5* экспрессируется в нескольких тканях с первичной экспрессией в половых клетках и предимплантационных эмбрионах. В результате генетических вариантов *NLRP5* и материнские, и отцовские импринтированные ЦИ теряют метилирование, что приводит к MLID. Мутации *NLRP5* также ассоциированы с остановкой созревания ооцитов/зигот/эмбрионов (oocyte/zygote/embryo maturation arrest 19; OMIM#620333). Мутации *NLRP7* являются наиболее частыми причинами рецидивирующего пузырного заноса (до 75%). У детей с MLID выявляются гетерозиготные варианты, у их матерей – как гетерозиготные, так и компаунд-гетерозиготные/гомозиготные варианты генов *NLRP2*, *NLRP5* или *NLRP7* [17, 22-25].

Ген *KHDC3L* расположен в регионе 6q13. Материнские гомозиготные или компаунд-гетерозиготные варианты *KHDC3L* обнаруживаются в 5-10% случаев рецидивирующего пузырного заноса, который характеризуется чрезмерным ростом трофобласта и отсутствием развития эмбриона и связан с LOM гДМР и импринтированных генов в материале пузырного заноса. Транскрипты *KHDC3L* экспрессируются в различных тканях человека, включая все стадии ооцитов и предимплантационные эмбрионы. У детей с MLID выявлены гетерозиготные варианты гена *KHDC3L* [17, 26, 27].

Ген *PADI6* расположен в регионе 1p36.13. *PADI6* экспрессируется в яйцеклетках, зрелых сперматозоидах и ранних эмбрионах. *PADI6* необходим для активации эмбрионального генома. Мыши с дефици-

том *Padi6* стерильны из-за задержки эмбрионального развития до 4-клеточной стадии из-за неспособности пройти активацию зиготического генома. Патогенные варианты в гене *PADI6* были описаны у матерей детей с СБВ и MLID. Материнские гомозиготные и компаунд-гетерозиготные варианты гена *PADI6* ассоциированы с остановкой созревания ооцитов/зигот/эмбрионов (oocyte/zygote/embryo maturation arrest 16; OMIM#617234). У детей с MLID выявляются гетерозиготные варианты гена *PADI6* [23 27 28].

Ген *UHRF1* относится к зиготическим факторам и расположен в регионе 6p21.31. У детей с MLID и их матерей выявлены гетерозиготные варианты гена *UHRF1* [1, 17, 23].

Такие гены «материнского эффекта» как *OOEP*, *TLE6*, *ARID4* являются генами-кандидатами для MLID.

Ген *OOEP* расположен в регионе 6p13. *OOEP* в основном экспрессируется в яйцеклетках и ранних эмбрионах. *OOEP*, подобно другим белкам подкоркового материнского комплекса, задействован в обеспечении симметричного деления зиготы и участвует в активации зиготического генома, а также в процессе репарации двухцепочечных разрывов ДНК. Материнские гомозиготные и компаунд-гетерозиготные варианты гена *OOEP* приводят к различным фенотипам, включая раннюю задержку эмбрионального развития и MLID. У детей с MLID выявляются гетерозиготные варианты *OOEP* [22, 23].

Ген *TLE6* расположен в регионе 19p13.3. Функциональное исследование показало, что генетические варианты *TLE6* приводят к нарушению фосфорилирования белка *TLE6* и предотвращают взаимодействие между *TLE6* и другими белками подкоркового материнского комплекса. В мышинных моделях нокаут гена *Tle6* не оказывает влияния на оогенез, но приводит к остановке эмбрионального развития на 2-клеточной стадии, что приводит к бесплодию самок. Материнские гомозиготные и компаунд-гетерозиготные варианты гена *TLE6* ассоциированы с остановкой созревания ооцитов/зигот/эмбрионов (oocyte/zygote/embryo maturation arrest 15; OMIM#616814). [17, 22].

Ген *ARID4A* расположен в регионе 14q23.1. Унаследованный от матери вариант гена *ARID4A* описан у пациента с нарушением импринтинга в 7 локусах, включая 14q32.2. Продукт гена *Arid4a* необходим для поддержания метилирования *Snrpn* у мышей [29].

В то время как описание факторов, поддерживающих отцовские импринты во время оплодотворения и созревания зиготы, редки, в яйцеклетке подкорковый материнский комплекс был идентифицирован

как структура, ключевая для геномного импринтинга, необходимая для правильного созревания ооцитов и раннего эмбрионального развития. Компоненты комплекса обеспечиваются исключительно материнским геномом в ооцитах и на ранних этапах развития эмбриона, а затем инактивируются, когда геном эмбриона начинает функционировать самостоятельно. Функции подкоркового материнского комплекса включают формирование и сборку мейотических и митотических веретен в качестве основы для надлежащей хромосомной сегрегации, перегруппировку компонентов яйцеклетки и зиготы, регуляцию метаболизма РНК, экспрессируемой с материнского генома, активацию генома яйцеклетки и зиготы, а также поддержание импринтинга. Патогенные варианты в генах, кодирующих белки этого комплекса, демонстрируют особый способ наследования, поскольку они становятся функционально значимыми только у женщин-носительниц. Они влияют не на здоровье самой носительницы, а на ее репродуктивный прогноз. При генетическом консультировании следует учитывать, что фенотип, обусловленный нарушениями в генах подкоркового материнского комплекса, проявляется только тогда, когда носителями являются женщины. Таким образом, вариант может передаваться по отцовской линии, не вызывая при этом репродуктивных проблем. Мутации в генах подкоркового материнского комплекса вызывают репродуктивные нарушения, такие как молярная беременность, привычное невынашивание беременности, анеуплоидии (анеуплоидии регистрировались в семьях с вариантами генов *NLRP2*, *NLRP7* и *PADI6*, что может быть объяснено ролью соответствующих белков в формировании и позиционировании аппарата мейотического/митотического веретена деления) и БГИ у детей [20, 30].

Помимо вариантов в генах подкоркового материнского комплекса, транс-регуляторные варианты при MLID были обнаружены в генах *ZFP57*, *ZNF445*, *ZAR1*, *TRIM28* и *ZFP42*.

Ген *ZFP57* относится к зиготическим факторам развития эмбриона. Он расположен в регионе 6p22.1. *ZFP57* способствует стабильному поддержанию меток импринтинга во время развития. Варианты *ZFP57*, приводящие к потере или появлению дефектного белка, нарушают метилирование различных ЦИ, так как сайт связывания *ZFP57* обнаружен в 17 из 31 импринтированного ЦИ. Варианты *ZFP57* ассоциированы с LOM в нескольких импринтированных регионах, например, *PEG3*, *PLAGL1*, *INPPF5*, *NAP1L5* и *GRB10*. Гомозигот-

ные и компаунд-гетерозиготные варианты гена *ZFP57* ассоциированы с ТНСД (OMIM#601410) [1, 17, 31, 32].

Гены *ZNF445*, *ZAR1*, *TRIM28* и *ZFP42* являются генами-кандидатами для MLID.

Ген *ZNF445* расположен в регионе 3p21.31. Белок *ZNF445* связывается с 13 импринтированными ДМР — *DIRAS3*, *ZDBF2*, *MEST*, *PEG 13*, *H19*, *KCNQ1OT1*, *MEG3-DLK1*, *MEG3*, *NET*, *GNAS-NESP55*, *GNAS-AS1*, *GNAS-XL* и *SNU13*. Белки *ZFP57* и *ZNF445* совместно обеспечивают сохранность установленных в ДМР импринтов во время раннего эмбрионального развития. Опубликован клинический случай MLID при фенотипе синдрома Темпл с выявленным у ребенка гомозиготным нонсенс-вариантом *ZNF445* (родители — гетерозиготные носители варианта) [17, 33].

ZAR1 расположен в регионе 4p11. Сообщалось о наличии варианта гена *ZAR1* у пациента с MLID, сопровождавшимся LOM в *KCNQ1OT1*, *GNAS*, *DIRAS3*, *IGF1R*. У детей с MLID и их матерей выявлены гетерозиготные варианты гена *ZAR1* [23].

Продукт гена *TRIM28 (KAP1)*, расположенного в регионе 19q13.43, действует как каркас инактивирующего комплекса, который включает гистон-лизин-метилтрансферазу (SETDB1), комплекс ремоделирования нуклеосом и деацетилирования (NuRD), гетерохроматиновый белок 1 (HP1), DNMT1 и UHRF1, необходимые для поддерживающего метилирования ДНК. Белки, содержащие мотивы цинковых пальцев и KRAB-домен, действуют как репрессоры транскрипции посредством индукции белком KAP1 гетерохроматина и метилирования ДНК в ранних эмбриональных клетках. Таким образом, этот белковый комплекс играет огромную роль в регуляции и поддержании метилирования ДНК в различных импринтированных ДМР. Гаплонедостаточность *TRIM28* связана с полифенизмом, ожирением и сниженной экспрессией импринтированных генов у мышей и человека [1, 17].

Ген *ZFP42* расположен в регионе 4q35.2. Продукт гена *ZFP42* — белок с мотивом цинкового пальца, являющийся маркером стволовых клеток и активно экспрессирующийся в предимплантационном эмбрионе, выполняет функцию защиты от метилирования обычно неметилированных аллелей импринтированных ДМР, в частности *Peg3* и *Gnas* у мышей [34]. Генетических вариантов с доказанной патогенностью для *ZFP42* не описано. Опубликовано сообщение об унаследованном от отца варианте этого гена у пациента с фенотипом CPC и гипометилированием обоих центров импринтинга в кластере на хромосоме 11p15.5, а также гена *MEST*, свидетельствующем о MLID [35]. Па-

тогенность этого варианта следует считать сомнительной, учитывая его высокую популяционную частоту и несоответствие эпигенетического профиля пациента ожидаемому, исходя из функции *ZFP42*.

Имеются данные в пользу того, что в выборках пациентов с СА и СБВ изолированная LOM локусов *SNRPN* и *KCNQ1OT1* более распространена у пациентов, зачатых после использования вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Несколько исследуемых когорт выявили ассоциации между MLID с фенотипом СБВ и ВРТ, но эти данные требуют дополнительной верификации. Кроме того, имеются противоречивые сообщения о влиянии ВРТ на формирование фенотипа СБВ, при этом в большинстве сообщений не обнаружено существенных корреляций [36].

Фенотипы MLID

Как отмечалось ранее, существует значительное клиническое и молекулярное совпадение между различными БГИ, что может быть объяснено предлагаемой ИГС с участием *PLAGL1*, содержащего мотив цинкового пальца, который коэкспрессируется совместно с сотнями генов, многие из которых импринтированы. К ним относятся *H19*, *IGF2* и *CDKN1C* как у мыши, так и у человека. Незначительные изменения в количестве или активности транскрипционного фактора *PLAGL1* могут привести к изменению экспрессии нижележащих мишеней, включая ассоциированные с БГИ гены *H19* и *CDKN1C*, что опосредует влияние *PLAGL1* на фенотипы CPC и СБВ. Дополнительно, импринтированный транскрипционный фактор *PEG3* также осуществляет транс-активацию множества генов, включая *GRB10*, входящий в область ОРД при CPC.

Регуляция генов не является линейным процессом, а скорее происходит в контексте сложных сетей взаимодействий между множеством генов и механизмов, которые включают факторы транскрипции и посттранскрипционную регуляцию. Это явно демонстрируется на примере ИГС, в которой транскрипционный фактор *PLAGL1* влияет на экспрессию lncRNA *H19*, регулирующей экспрессию собственных мРНК-мишеней. Многочисленные импринтированные гены на различных хромосомах, включая *Gnas*, *Rtl1*, *Dlk2* и *IGF2r*, дерегулируются у мышей, несущих материнские делеции *H19*. Взаимодействия между импринтированными генами и их общий контроль, а также мозаичный характер нарушений импринтинга могут объяснить полифенизм при MLID (табл. 2) [1, 12].

Варианты в генах *NLRP2*, *NLRP5*, *NLRP7* сопровождаются фенотипами СБВ, CPC и ТНСД; в генах *OOEP* – ТНСД, *UHRF1* – CPC, *ZAR1* – СБВ, *ZFP57*, *PADI6* – CPC, СБВ и синдрома Темпл [20, 30].

Транс-регуляторной причиной MLID, связанной с фенотипом ТНСД, также являются идентифицированные у пациентов биаллельные миссенс- и нонсенс-варианты гена *ZFP57*. В этом случае, паттерны метилирования импринтированных ДМР у пациентов могут включать: полное гипометилирование ДМР *PLAGL1* и комбинации мозаичного гипометилирования *GRB10*, *PEG3*, *MEST*, *NAP1L5* и *GNAS* [16, 17].

MLID наиболее часто обнаруживаются у лиц с ТНСД, спектром СБВ, спектром CPC и ППП типа 1В.

Для СБВ-MLID характерны пламенеющий невус, нарушение гликемического контроля, многоводие, макроглоссия. У пациентов с СБВ-MLID чаще встречаются аномалии ушных раковин и дефекты брюшной стенки. Масса тела при рождении у некоторых пациентов с СБВ-MLID ниже, чем в других подгруппах СБВ, и присутствуют признаки, обычно не наблюдаемые при СБВ (например, задержка речи, апноэ, трудности с кормлением). При классическом СБВ одной из первичных эпимутаций является GOM материнского аллеля в ДМР *H19/IGF2:IG* (ЦИ1). Однако при MLID у индивидуума с симптомами СБВ в этом локусе может выявляться LOM, тогда как LOM ЦИ1 обычно ассоциируется с CPC. Неоднозначность фенотипов СБВ и CPC при MLID иллюстрируется опубликованным случаем, когда у пациента с CPC-MLID был клинически ошибочно диагностирован СБВ: первично выявленная гемигиперплазия в свете результатов молекулярного исследования после клинической переоценки была переклассифицирована как гемигипоплазия, также была обнаружена пупочная грыжа, которая не типична для CPC, но является частой находкой при СБВ [8, 16, 17, 19, 35, 43].

При ТНСД-MLID проявления влияния мультилокусного дефекта на особенности фенотипа, не связанные с диабетом, могут включать значительные трудности в обучении, выраженную гипотонию, врожденные пороки развития, глухоту, неврологические расстройства, включая эпилепсию, и аномалии развития почек [16, 43].

У пациента с СА-MLID были описаны аномалии импринтинга, затрагивающие ЦИ2 в регионе 11p15, а также генов *PEG3* и *GNAS*, на фоне классической картины нарушений импринтинга в 15q11.2-q13. Клинические проявления значительно отличались от типич-

Таблица 2. Сравнение фенотипов MLID с фенотипами БГИ, обусловленных изолированными нарушениями ДМР.**Table 2.** Comparison of MLID phenotypes with GI phenotypes caused by isolated DMR disturbances.

Основные клинические признаки СБВ согласно консенсусу [37]	Клинические признаки СБВ-MLID
макроглоссия пупочная грыжа асимметрия частей тела за счет гемигиперплазии опухоли гиперинсулинизм (более 1 недели) цитомегалия коры надпочечников, мезенхимальная дисплазия плаценты или аденоматоз поджелудочной железы дополнительно: вес при рождении >2SDS	чаще встречаются такие признаки, как пламенеющий невус, нарушение гликемического контроля, многоводие, макроглоссия, аномалии ушных раковин и дефекты брюшной стенки; реже встречаются: высокая масса тела при рождении и макросомия; дополнительно присутствуют нехарактерные для синдрома признаки, такие как: задержка речи, апноэ, трудности с кормлением
Основные клинические признаки СА согласно консенсуса [38]	Клинические признаки СА-MLID
функционально тяжелая задержка развития атаксия походки и/или дрожание конечностей (в том числе легкое, может проявляться наклоном вперед, неустойчивостью, неуклюжестью или быстрыми, отрывистыми движениями) сочетание частого смеха/улыбки, гипертоническая, гипертоническая, стереотипии часто с поднятыми руками или размахивающими движениями; отсутствие речи или малый словарный запас; навыки невербального общения выше, чем вербальные.	задержка речевого развития с появлением скудной речи (2-3 словосочетания с 4 годам) макроглоссия асимметрия нижних конечностей за счет гемигиперплазии устойчивая походка эпилептиформная ЭЭГ без клинического проявления судорожного синдрома поведенческие нарушения
Основные клинические признаки CPC согласно консенсуса [39]	Клинические признаки CPC-MLID
задержка внутриутробного развития (ЗВУР) постнатальная задержка роста относительная макроцефалия при рождении асимметрия тела выступающий лоб проблемы с кормлением	чаще встречаются такие признаки как ЗВУР и постнатальная и более тяжелая задержка физического развития и дополнительные ВПР, пламенеющий невус, гипогликемия и дефекты брюшной стенки, возможна изолированная гемигипоплазия
Основные клинические признаки синдрома Темпл согласно консенсуса [40]	Клинические признаки синдрома Темпл с MLID
задержка внутриутробного развития постнатальная задержка роста задержка моторного развития проблемы со вскармливанием в младенчестве широкий лоб короткий нос с широким кончиком преждевременное половое созревание акромирия	макроцефалия асимметрия лица пламенеющий невус гемигиперплазия выступающий лоб широкий кончик носа уплощенная переносица полифагия с исходом в повышенный ИМТ легкая задержка речевого развития
Основные клинические признаки ТНСД согласно консенсуса [41]	Клинические признаки ТНСД-MLID
задержка внутриутробного развития транзиторный неонатальный сахарный диабет гипергликемия без кетоацидоза дегидратация	гипотония врожденные пороки сердца эпилепсия врожденные пороки почек
Основные клинические признаки ПГП типа 1В, согласно консенсусу [42]	Клинические признаки ПГП типа 1В с MLID
резистентность к ПТГ и/или эктопическая оссификация и/или раннее начало (в возрасте до 2 лет) ожирения, связанного с резистентностью к ТТГ и/или признаки наследственной остеодистрофии Олбрайта.	макроглоссия низкорослость пупочная грыжа ожирение/нормальный вес наличие/отсутствие гипокальциемии с признаками резистентности к ПТГ

ного СА, и первоначально пациент был направлен на молекулярное тестирование СБВ и СПВ. У второго пациента с СА-MLID имело место гипометилирование в *DIRAS3*, *RBI*, *IGF1R*, *ZNF331* и *GNAS* наряду с гиперметилированием *ZDBF2*. Опубликованы также сообщения о пациентах с признаками СПВ, но молекулярным диагнозом СА (фенотип «Prader-man»). В этих случаях на молекулярном уровне наблюдалась частичная потеря метилирования ДМР *SNRPN* [8, 36, 43, 44, 45].

Описанные в литературе случаи синдрома Темпл с MLID характеризовались, помимо типичной клинической картины с дефектом роста, преждевременным половым созреванием и мышечной гипотонией, аномальной ЭЭГ без судорог и микроаденомой гипофиза. Также описаны СПВ- и СРС-подобные фенотипы. На молекулярном уровне, наряду с характерной для синдрома Темпл картиной нарушения импринтинга, дополнительно было выявлено гипометилирование ЦИ1 в регионе 11p15 [19, 33, 45, 46].

При ПГП типа 1В с MLID у пациентов наблюдаются макроглоссия, ранний дебют туловищного ожирения, низкорослость, пупочная грыжа, интеллектуальный дефицит, гиперхолестеринемия, отсроченный дебют резистентности к паратиреоидному гормону, гипопаратиреизм и гиперфосфатемия [43, 47, 48].

Следует отметить упоминаемые в литературе признаки БГИ и MLID, выявляемые при ультразвуковом исследовании в пренатальном периоде. К ним относятся: задержка внутриутробного развития, макросомия, снижение двигательной активности, макроглоссия, расщелина неба, дефект передней брюшной стенки, деформация ребер и грудной клетки, гиперэхогенность почек, дисплазия поджелудочной железы, укорочение длины бедренных костей, гипогонадизм, гипоспадия. Перечисленные находки могут сопровождаться многоводием/маловодием, плацентомегалией, преэклампсией у беременной [19, 49, 50, 51, 52].

Заключение

MLID являются актуальной и активно изучаемой проблемой клинической и молекулярной генетики. Из-за возможной схожести клинической картины классических БГИ и MLID пациентам с подозрением на БГИ целесообразно проводить анализ на MLID для установления дополнительных паттернов метилирования импринтированных ДМР. В семьях пациентов с MLID необходимо проводить поиск генетических вариантов в MLID-ассоциированных генах для установления ри-

ска повторного рождения детей с БГИ. Исследование MLID-ассоциированных генов может быть актуально для пациенток с привычным невынашиванием беременности, рецидивирующим пузырным заносом и при исследовании абортного материала без хромосомных аномалий для определения причин прерывания и планирования последующей беременности. Анализ современной доступной литературы позволяет сформулировать несколько практических рекомендаций по клинической и молекулярно-генетической диагностике в семьях с MLID, приведенных ниже.

Целесообразно проводить поиск MLID:

— у пациентов:

1) с подтвержденным диагнозом БГИ для дообследования в случае эпимутации, как возможной причины (при отсутствии выявленных нарушений копийности или ОРД);

2) с фенотипом БГИ, но при отрицательном результате молекулярных тестов, проведенных для диагностики определенной БГИ;

3) с синдромальным фенотипом, включающим пересекающиеся клинические признаки нескольких БГИ;

4) с синдромальным фенотипом, включающим недостаточное количество клинических признаков для определенной БГИ;

5) с синдромальным фенотипом, включающим эндокринопатию, в том числе, ожирение, низкорослость, диабет, гиперинсулинизм и др.;

6) в случае подозрения на наследственное заболевание у ребенка и наличия семейного анамнеза, включающего репродуктивные проблемы у матери, такие как молярная беременность, привычное невынашивание беременности, анеуплоидии и БГИ у детей;

— у родителей пренатально в случае, если отсутствует выявленная генетическая причина визуализируемых на УЗИ аномалий и имеет место:

1) у плода задержка внутриутробного развития, макросомия, снижение двигательной активности, макроглоссия, расщелина неба, дефект передней брюшной стенки, деформация ребер и грудной клетки, укорочение длины бедренных костей, гипогонадизм, гипоспадия;

2) наличие у беременной сочетания многоводия/маловодия, плацентомегалии, преэклампсии;

— в абортном материале в случае, если отсутствует выявленная генетическая причина аномалий плода.

Следует отметить, что в литературе все чаще упоминается технология ImprintSeq [21], в основе которой лежит NGS и которая является более чувствительной

с точки зрения диагностики MLID по сравнению с традиционными методами анализа метилирования ДНК, поскольку позволяет анализировать большее количество CpG-динуклеотидов в ДМР импринтированных участков генома. В настоящее время молекулярно-генетическое тестирование на MLID предполагает выполнение мультиплексной амплификации лигированных зондов (MLPA) для анализа числа копий и метилирования ДНК регионов 6q24.2; 7q32.2; 11p15.5; 14q32.2; 15q11.2; 19q13.43; 20q13.32; включает исследование по 3 зондам для *H19* и *PEG3*, по 2 зондам для *KCNQ1OT1*, *MEST*, *MEG3*, *MEG8*, *SNRPN*, *PLAGL1*, *GRB10* и *GNASXL* и по 1 зонду для *NESP55*, *GNAS-ASI* и *GNAS A/B* [8]. Мы предполагаем, что пациентам с отрицательным результатом теста на MLID в будущем будет предложена молекулярная диагностика на основе ImprintSeq и других, в том числе и отечественных, разработок на платформе NGS, с дополнительным шансом идентифицировать также и мозаичные эпимутации.

Литература/References

- Monk D., Mackay D.J.G., Eggermann T. et al. Genomic imprinting disorders: lessons on how genome, epigenome and environment interact. *Nat Rev Genet.* 2019;20:235–248. doi: 10.1038/s41576-018-0092-0
- Eggermann T., Perez de Nanclares G., Maher E.R. et al. Imprinting disorders: a group of congenital disorders with overlapping patterns of molecular changes affecting imprinted loci. *Clin Epigenet.* 2015;7:123. doi: 10.1186/s13148-015-0143-8
- Elbracht M., Mackay D., Begemann M., Kagan K.O., Eggermann T. Disturbed genomic imprinting and its relevance for human reproduction: causes and clinical consequences. *Hum Reprod Update.* 2020;26(2):197–213. doi: 10.1093/humupd/dmz045
- Prawitt D., Haaf T. Basics and disturbances of genomic imprinting. *Medizinische Genetik.* 2020;32(4): 297–304. doi: 10.1515/medgen-2020-2042
- Anvar Z., Chakchouk I., Demond H., Sharif M., Kelsey G., Van den Veyver I.B. DNA Methylation Dynamics in the Female Germline and Maternal-Effect Mutations That Disrupt Genomic Imprinting. *Genes (Basel).* 2021;12(8):1214. doi: 10.3390/genes12081214
- Krzyewska I.M., Alders M., Maas S.M. et al. Genome-wide methylation profiling of Beckwith-Wiedemann syndrome patients without molecular confirmation after routine diagnostics. *Clin Epigenetics.* 2019;11(1):53. doi: 10.1186/s13148-019-0649-6
- Sazhenova E.A., Skryabin N.A., Sukhanova N.N., Lebedev I.N. Multilocus epimutations of imprintome in the pathology of human embryo development. *Molecular Biology.* 2012;46:183–191. doi: 10.1134/S0026893312010207
- Sazhenova E.A., Lebedev I.N. Epigenetic mosaicism in genomic imprinting disorders. *Russian Journal of Genetics.* 2019;55:1196–1207. doi: 10.1134/S1022795419100119
- Khatib H., Zaitoun I., Kim E.S. Comparative analysis of sequence characteristics of imprinted genes in human, mouse, and cattle. *Mamm Genome.* 2007;18:538–547. doi: 10.1007/s00335-007-9039-z
- Soellner L., Begemann M., Mackay D.J. et al. Recent Advances in Imprinting Disorders. *Clin Genet.* 2017;91(1):3–13. doi: 10.1111/cge.12827
- Stelzer Y., Sagi I., Yanuka O., Eiges R., Benvenisty N. The noncoding RNA IPW regulates the imprinted DLK1-DIO3 locus in an induced pluripotent stem cell model of Prader-Willi syndrome. *Nat Genet.* 2014;46(6):551–557. doi: 10.1038/ng.2968
- Eggermann T., Davies J.H., Tauber M., van den Akker E., Hokken-Koelega A., Johansson G., Netchine I. Growth Restriction and Genomic Imprinting-Overlapping Phenotypes Support the Concept of an Imprinting Network. *Genes.* 2021;12:585. doi: 10.3390/genes12040585
- Girardot M., Cavallé J., Feil R. Small regulatory RNAs controlled by genomic imprinting and their contribution to human disease. *Epigenetics.* 2012;7(12):1341–1348. doi: 10.4161/epi.22884
- Elbracht M., Binder G., Hiort O., Kiewert C., Kratz C., Eggermann T. Clinical spectrum and management of imprinting disorders. *Medizinische Genetik.* 2020;32(4):321–334. doi: 10.1515/medgen-2020-2044
- Bruce S. Genomic and epigenetic investigations of Silver-Russell syndrome and growth restriction. Doctoral Theses. 2009. <http://hdl.handle.net/10616/38303>
- Eggermann T., Yapici E., Blik J. et al. Trans-acting genetic variants causing multilocus imprinting disturbance (MLID): common mechanisms and consequences. *Clin Epigenet.* 2022;14:41. doi: 10.1186/s13148-022-01259-x
- Zaletov D.V., Nemtsova M.V., Strelnikov V.V. Epigenetic Regulation Disturbances on Gene Expression in Imprinting Diseases. *Molecular Biology.* 2022;56(1):1–28. doi: 10.1134/S0026893321050149
- Mackay D., Blik J., Kagami M. et al. First step towards a consensus strategy for multi-locus diagnostic testing of imprinting disorders. *Clin Epigenetics.* 2022;14(1):143. doi: 10.1186/s13148-022-01358-9
- Soellner L., Monk D., Rezwan F.I., Begemann M., Mackay D., Eggermann T. Congenital imprinting disorders: Application of multilocus and high throughput methods to decipher new pathomechanisms and improve their management. *Mol Cell Probes.* 2015;29(5):282–290. doi: 10.1016/j.mcp.2015.05.003
- Elbracht M., Mackay D., Begemann M., Kagan K.O., Eggermann T. Disturbed genomic imprinting and its relevance for human reproduction: causes and clinical consequences. *Hum Reprod Update.* 2020;26(2):197–213. doi: 10.1093/humupd/dmz045
- Bilo L., Ochoa E., Lee S. et al. Molecular characterisation of 36 multilocus imprinting disturbance (MLID) patients: a comprehensive approach. *Clin Epigenet.* 2023;15:35. doi: 10.1186/s13148-023-01453-5
- Solovova O.A., Chernykh V.B. Genetics of Oocyte Maturation Defects and Early Embryo Development Arrest. *Genes (Basel).* 2022;13(11):1920. doi: 10.3390/genes13111920
- Begemann M., Rezwan F.I., Beygo J. et al. Maternal variants in NLRP and other maternal effect proteins are associated with multilocus imprinting disturbance in offspring. *J Med Genet.* 2018 Jul;55(7):497–504. doi: 10.1136/jmedgenet-2017-105190
- Docherty L., Rezwan F., Poole R. et al. Mutations in NLRP5 are associated with reproductive wastage and multilocus imprinting disorders in humans. *Nat Commun.* 2015;6:8086. doi: 10.1038/ncomms9086
- Monk D., Sanchez-Delgado M., Fisher R. NLRPs, the subcortical maternal complex and genomic imprinting. *Reproduction.* 2017;154(6):R161–R170. doi: 10.1530/REP-17-0465
- Demond H., Anvar Z., Jahromi B.N., Sparago A., Verma A., Davari M., et al.; A KHDC3L mutation resulting in recurrent hydatidiform mole causes genome-wide DNA methylation loss in oocytes and

- persistent imprinting defects post-fertilisation. *Genome Med.* 2019;11(1):84. doi: 10.1186/s13073-019-0694-y
27. Pignata L., Cecere F., Verma A. et al. Novel genetic variants of KHDC3L and other members of the subcortical maternal complex associated with Beckwith-Wiedemann syndrome or Pseudohypoparathyroidism 1B and multi-locus imprinting disturbances. *Clin Epigenetics.* 2022;14(1):71. doi: 10.1186/s13148-022-01292-w
28. Eggermann T., Kadgien G., Begemann M., Elbracht M. Biallelic PADI6 variants cause multilocus imprinting disturbances and miscarriages in the same family. *Eur J Hum Genet.* 2021;29(4):575-580. doi: 10.1038/s41431-020-00762-0
29. Geoffron S., Abi Habib W., Chantot-Bastaraud S. et al. Chromosome 14q32.2 Imprinted Region Disruption as an Alternative Molecular Diagnosis of Silver-Russell Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018;103(7):2436-2446. doi: 10.1210/jc.2017-02152
30. Eggermann T. Maternal Effect Mutations: A Novel Cause for Human Reproductive Failure. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2021;81(7):780-788. doi: 10.1055/a-1396-4390
31. 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;36(3):505-12. doi: 10.2337/dc12-0700
32. Monteagudo-Sánchez A., Hernandez Mora J.R., Simon C. et al. The role of ZFP57 and additional KRAB-zinc finger proteins in the maintenance of human imprinted methylation and multi-locus imprinting disturbances. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(20):11394-11407. doi: 10.1093/nar/gkaa837
33. Kagami M., Hara-Isono K., Matsubara K. et al. ZNF445: a homozygous truncating variant in a patient with Temple syndrome and multilocus imprinting disturbance. *Clin Epigenetics.* 2021;13(1):119. doi: 10.1186/s13148-021-01106-5
34. Kim J.D., Kim H., Ekram M.B., Yu S., Faulk C., Kim J. Rex1/Zfp42 as an epigenetic regulator for genomic imprinting. *Human molecular genetics.* 2011;20(7):1353-1362. doi: 10.1093/hmg/ddr017
35. 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;13(9):897-909. doi: 10.1080/15592294.2018.1514230
36. Sanchez-Delgado M., Riccio A., Eggermann T. et al. Causes and Consequences of Multi-Locus Imprinting Disturbances in Humans. *Trends Genet.* 2016;32(7):444-455. doi: 10.1016/j.tig.2016.05.001
37. Brioude F., Kalish J., Mussa A. et al. Clinical and molecular diagnosis, screening and management of Beckwith-Wiedemann syndrome: an international consensus statement. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14:229-249. doi: 10.1038/nrendo.2017.166
38. Williams C.A., Beaudet A.L., Clayton-Smith J. et al. Angelman syndrome 2005: updated consensus for diagnostic criteria. *Am J Med Genet A.* 2006;140(5):413-418. doi: 10.1002/ajmg.a.31074
39. Wakeling E.L., Brioude F., Lokulo-Sodiye O. et al. Diagnosis and management of Silver-Russell syndrome: first international consensus statement. *Nat Rev Endocrinol.* 2017;13(2):105-124. doi: 10.1038/nrendo.2016.138
40. Hokken-Koelega A.C., van der Steen M., Boguszewski M.C. et al. International consensus guideline on small for gestational age: etiology and management from infancy to early adulthood. *Endocrine Reviews.* 2023;44(3):539-565. doi: 10.1210/edrv/bnad002
41. Greeley S.A.W., Polak M., Njolstad P.R. et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2022: The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes.* 2022;23(8):1188-1211. doi: 10.1111/pedi.13426
42. Mantovani G., Bastepe M., Monk D. et al. Recommendations for Diagnosis and Treatment of Pseudohypoparathyroidism and Related Disorders: An Updated Practical Tool for Physicians and Patients. *Horm Res Paediatr.* 2020;93(3):182-196. doi: 10.1159/000508985
43. Mackay D.J., Eggermann T., Buiting K. et al. Multilocus methylation defects in imprinting disorders. *Biomol Concepts.* 2015;6(1):47-57. doi: 10.1515/bmc-2014-0037
44. Baple E.L., Poole R.L., Mansour S. et al. An atypical case of hypomethylation at multiple imprinted loci. *Eur J Hum Genet.* 2011;19(3):360-362. doi: 10.1038/ejhg.2010.218
45. Bens S., Kolarova J., Beygo J. et al. Phenotypic spectrum and extent of DNA methylation defects associated with multilocus imprinting disturbances. *Epigenomics.* 2016;8(6):801-816. doi: 10.2217/epi-2016-0007
46. Grosvenor S.E., Davies J.H., Lever M., Sillibourne J., Mackay D.J.G., Temple I.K. A patient with multilocus imprinting disturbance involving hypomethylation at 11p15 and 14q32, and phenotypic features of Beckwith-Wiedemann and Temple syndromes. *Am J Med Genet A.* 2022;188(6):1896-1903. doi: 10.1002/ajmg.a.62717
47. Bakker B., Sonneveld L.J., Woltering M.C., Bikker H., Kant S.G. A girl with Beckwith-Wiedemann syndrome and pseudohypoparathyroidism type 1B due to multiple imprinting defects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2015;100(11):3963-3966. doi: 10.1210/jc.2015-2260
48. Sano S., Matsubara K., Nagasaki K. et al. Beckwith-Wiedemann syndrome and pseudohypoparathyroidism type 1b in a patient with multilocus imprinting disturbance: a female-dominant phenomenon? *J Hum Genet.* 2016;61(8):765-769. doi: 10.1038/jhg.2016.45
49. Eggermann T., Brioude F., Russo S. et al. Prenatal molecular testing for Beckwith-Wiedemann and Silver-Russell syndromes: a challenge for molecular analysis and genetic counseling. *European journal of human genetics.* 2016;24(6):784-793. doi: 10.1038/ejhg.2015.224
50. Dufke A., Eggermann T., Kagan K.O., Hoopmann M., Elbracht M.. Prenatal testing for Imprinting Disorders: A clinical perspective. *Prenat Diagn.* 2023;43(8):983-992. doi: 10.1002/pd.6400
51. Eggermann T. Prenatal Detection of Uniparental Disomies (UPD): Intended and Incidental Finding in the Era of Next Generation Genomics. *Genes (Basel).* 2020;11(12):1454. doi: 10.3390/genes11121454
52. Hu J., Zhang Y., Yang Y., Wang L., Sun Y., Dong M. Case report: Prenatal diagnosis of Kagami-Ogata syndrome in a Chinese family. *Front Genet.* 2022;13:959666. doi: 10.3389/fgene.2022.959666