

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2024.04.3-15>

Патология генов гистоновых лизин-метилтрансфераз и характерные эписигнатуры

Земляная О.А., Ефремова А.В., Володин И.В., Залетаев Д.В.

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

Согласованная работа эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов (метилирования ДНК, модификаций гистонов, воздействия некодирующих РНК) обеспечивает своевременное и поэтапное развитие тканей и органов. Показано, что повреждение одного звена эпигенетической регуляции приводит к изменению функционирования других ее составляющих. За последние 10 лет было открыто более 60 эпигеномных сигнатур – уникальных паттернов метилирования генома, характерных для наследственных заболеваний, ассоциированных с нарушением эпигенетического аппарата. Эписигнатура может частично обуславливать фенотипические проявления, а также потенциально служить диагностическим инструментом ввиду своей высокой специфичности. В настоящем обзоре предлагается рассмотреть одно из центральных звеньев эпигенетической регуляции – метилирование гистоновых белков, а также наследственные заболевания, развивающиеся при его нарушении, и характерные для данных синдромов эписигнатуры.

Ключевые слова: гистон-лизин-метилтрансферазы, метилирование гистонов, метилирование ДНК, эписигнатура.

Для цитирования: Земляная О.А., Ефремова А.В., Володин И.В., Залетаев Д.В. Патология генов гистоновых лизин-метилтрансфераз и характерные эписигнатуры. *Медицинская генетика* 2024; 23(4): 3-15.

Автор для корреспонденции: Земляная О.А.; **e-mail:** o.zemlyanaya@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ «МГНЦ» на 2024 год.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 27.03.2024

Disruption of histone lysine methyltransferase genes and specific epigenatures

Zemlianaia O.A., Efremova A.V., Volodin I.V., Zaletaev D.V.

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

Time-appropriate, stage-by-stage development of tissues and organs is achieved by coordinated operation of epigenetic mechanisms of gene expression regulation (DNA methylation, histone modifications, effects mediated by non-coding RNAs). It has been established that disruption of one single component of epigenetic regulation leads to changes in the functioning of others. Over the past 10 years there have been discovered more than 60 epigenomic signatures representing unique genome methylation patterns specific for hereditary disorders associated with disruption of the epigenetic machinery. The epigenature can partially determine phenotypic traits and potentially serve as a reliable diagnostic tool due to its high specificity. This review aims to shed light on one of the central links of epigenetic regulation, histone methylation, as well as hereditary diseases that develop when it is disrupted, and the epigenatures specific for these syndromes.

Keywords: Histone lysine methyltransferases, histone methylation, DNA methylation, epigenature.

For citation: Zemlianaia O.A., Efremova A.V., Volodin I.V., Zaletaev D.V. Disruption of histone lysine methyltransferase genes and specific epigenatures. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2024; 23(4): 3-15. (In Russ.)

Corresponding author: Zemlianaia O.A.; **e-mail:** o.zemlyanaya@mail.ru

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

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

Accepted: 27.03.2024

Введение

Регуляция генов является одним из ключевых механизмов, контролирующих внутриклеточные процессы, а также онтогенез. На этапе транскрипции на активность экспрессии могут вли-

ять как транскрипционные факторы, связывающиеся со специальными регуляторными последовательностями (промоторами, энхансерами, сайленсерами, инсуляторами), так и различные эпигенетические факторы.

Во время трансляции подавление генной экспрессии может осуществляться в результате ингибирования продуктами генов (белками, некодирующими РНК, рибонуклеопротеиновым комплексом) или в результате появления определенных мотивов и образования вторичных структур мРНК, препятствующих работе рибосомы.

Эпигенетические механизмы влияния на экспрессию генов включают в себя метилирование ДНК, модификации гистонов и воздействие на транскриптом некодирующих РНК. Эпигенетические изменения потенциально могут выступать в качестве диагностических и предиктивных маркеров. В последние годы активно проводятся полногеномные исследования для выявления закономерностей, характерных для той или иной патологии. Результатом таких исследований стало открытие уникальных паттернов метилирования генома, являющихся функциональным следствием патогенных вариантов в генах, кодирующих элементы эпигенетического аппарата клетки и получивших название эпигеномные сигнатуры (эписигнатуры).

Одним из наиболее изученных эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов является метилирование гистонов, способное как активировать, так и подавлять транскрипцию в зависимости от позиции модификации [1]. При нарушении работы ферментов, контролирующих процесс метилирования гистонов, развиваются наследственные синдромы с частично перекрывающимися клиническими проявлениями. Для некоторых синдромов данной группы описаны характерные эписигнатуры и их потенциальная диагностическая значимость.

Метилирование гистоновых белков

Гистоновые белки подвергаются многочисленным посттрансляционным модификациям (ПТМ), которые регулируют такие биологические процессы, как активация/инактивация транскрипции, упаковка хромосом, митоз, мейоз, апоптоз и повреждение/восстановление первичной структуры ДНК. Значимые ПТМ часто располагаются на N-концевых хвостах гистонов, реже на C-концевых (рис. 1). Кроме того, модификациям подвержены не только коровые гистоны (H2A, H2B, H3, H4), но и линкерный гистон H1 [2].

Модификации гистонов могут и активировать, и подавлять транскрипцию генов в зависимости от местоположения и природы этих модификаций. Описаны два основных механизма воздействия модификаций гистонов на экспрессию генов. Первый подразумевает прямое влияние модификации непосредственно на об-

щую структуру хроматина, что приводит к его открытой конформации и последующей активации транскрипции, либо к закрытой конформации, приводящей к репрессии транскрипции. Так, ацетилирование гистонов нейтрализует положительный заряд гистонового хвоста, за счет чего ослабляется взаимодействие между гистоном и ДНК. Второй механизм является косвенным и осуществляется путем специфического связывания ферментов, использующих энергию гидролиза АТФ для ремоделирования хроматина, с конкретными модификациями гистонов. Взаимодействие между белком и модифицированным гистоном осуществляется благодаря наличию определенного домена. Например, узнавание метильной группы обеспечивается такими доменами, как PHD fingers, WD40-повторы, SW-домен, PWWP-домен, хромодомен и др. [3-5].

На сегодняшний день метилирование гистонов является одной из наиболее изученных модификаций гистонов. Метилирование происходит по аминокислотным остаткам лизина, аргинина и гистидина. Остатки лизина могут быть моно-, ди- или триметилированы (me1, me2 и me3, соответственно), а аргинина – моно- и диметилированы симметрично или несимметрично (me1, me2s, me2a) [1].

Метилирование аргинина вовлечено во множество клеточных процессов, включая процессинг РНК, биосинтез рибосом, репарацию ДНК, передачу сигнала и регуляцию транскрипции [6]. Модификация H3R17me2a ассоциирована с активацией транскрипции и располагается в области выше промоторов генов *TFF1*, *E2F1*, *CCNE1*, *Oct 4* и *Sox2*. Модификация H4R3me2s располагается в регионах, контролируемых импринтинг, и ассоциирована с репрессией транскрипции [1].

Метилирование гистидина является малоизученной посттрансляционной модификацией. На сегодняшний день показано, что метилирование гистидина в гистоновых белках осуществляется в позициях H2AH82 и H3H39, однако функциональное значение данных эпигенетических меток еще предстоит выяснить [7].

Метилирование лизина способствует как активации, так и репрессии транскрипции в зависимости от сайта метилирования [5]. Метилирование остатков лизина 4, 36 и 79 гистона H3 (H3K4me, H3K36me, H3K79me, соответственно) часто связано с транскрипционно активным хроматином (эухроматином), тогда как метилирование H3K9, H3K27 и H4K20 связано с репрессированным хроматином (гетерохроматином) [3]. За процессы метилирования остатков лизина от-

вещают гистоновые лизин-метилтрансферазы (ГЛМТ), являющиеся одной из наиболее полно описанных семейств ферментов с точки зрения ассоциированных генетических заболеваний.

Гистоновые лизин-метилтрансферазы: семейства, особенности, механизм действия

Все метилтрансферазы человека используют в качестве донора метильной группы S-аденозил-L-метионин (SAM), а продуктами катализируемой ими реакции являются метилированный субстрат и S-аденозил-L-гомоцистеин. Было показано, что каталитическую активность лизин-метилтрансфераз человека могут обе-

спечивать два типа доменов: 7βS-домен и SET-домен [8]. К числу лизин-метилтрансфераз человека, содержащих 7βS-домен, относят около 150 ферментов, что делает данное суперсемейство лизин-метилтрансфераз самым обширным. Функции этих ферментов на сегодняшний день изучены недостаточно, однако известно, что в большинстве случаев их субстратом выступают компоненты клеточной системы биосинтеза белка, митохондриальные белки и молекулярные шапероны. Единственным ферментом семейства 7βS-лизин-метилтрансфераз, осуществляющим метилирование гистонов, является DOT1L, ответственный за метилирование лизина в положении 79 глобулярной части гистона H3 [9].

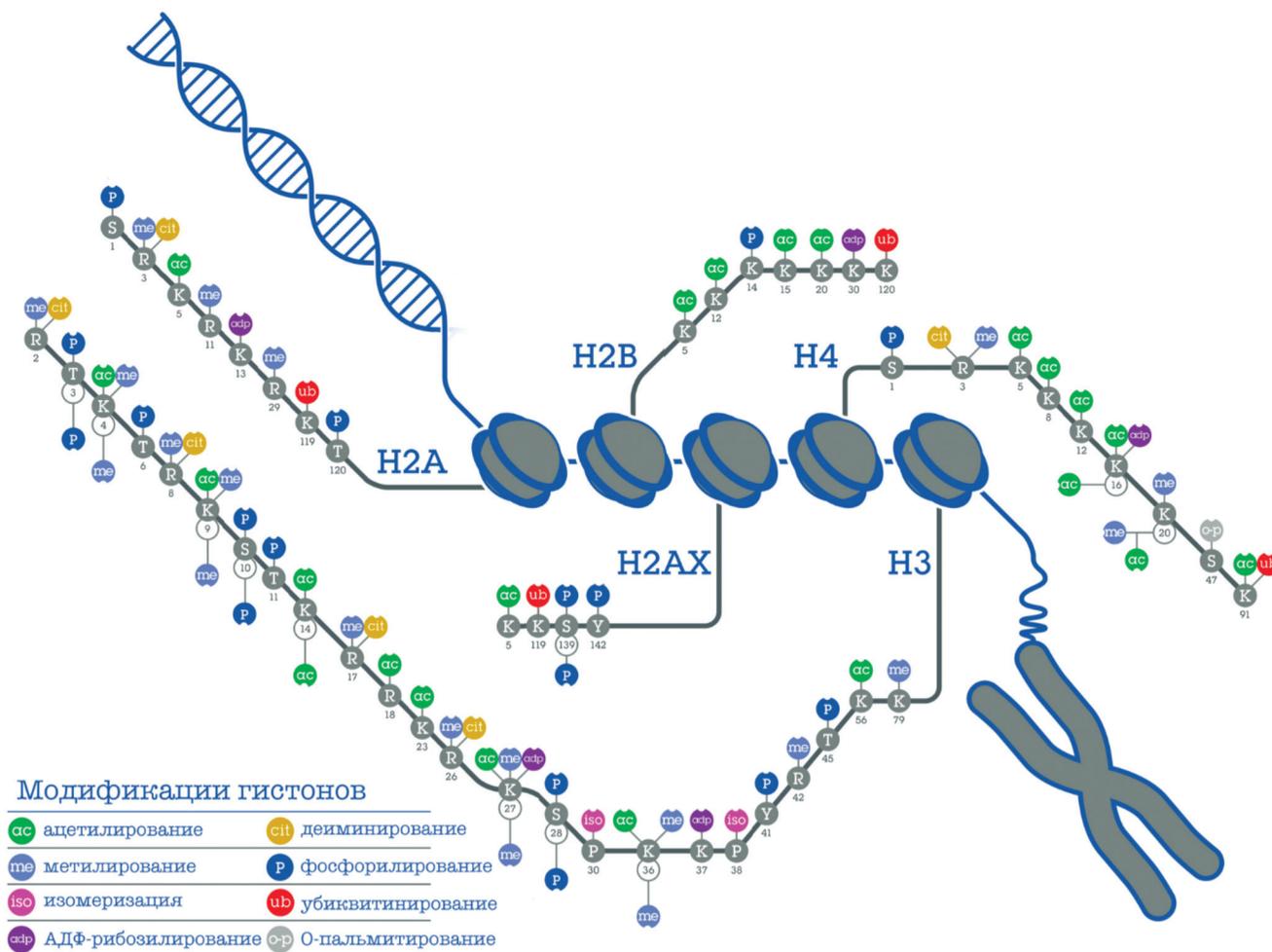


Рис. 1. Модификации гистоновых белков.

Fig. 1. Histone modifications.

Открытие SET-домена, названного в честь трех белков *Drosophila melanogaster*: Su(var)3-9, Enhancer of Zeste и Trithorax, положило начало обнаружению многочисленных метилтрансфераз на основе поиска гомологии SET-домена. Суперсемейство лизин-метилтрансфераз человека, содержащих SET-домен, является вторым по численности и включает свыше 50 ферментов, в том числе большинство известных ГЛМТ.

SET-домен образует β -складку, которая состоит из ряда изогнутых β -цепей, образующих три дискретных листа вокруг псевдоузла. Выравнивание белковых последовательностей некоторых ГЛМТ показало консервативность SET-домена и наличие схожих участков, фланкирующих его последовательностей [10]. Домен SET фланкирован последовательностями preSET (или N-SET) и postSET (или C-SET), необходимыми для работы гистон-метилтрансферазы. PreSET помогает сохранить структурную стабильность за счет взаимодействия с различными поверхностями основной части SET. Домен postSET образует часть активного сайта, предоставляя ароматический остаток для упаковки в основной домен SET, таким образом создавая гидрофобный канал [11, 12]. В узком гидрофобном акцепторном канале оба субстрата попадают в активный центр фермента; боковая цепь целевого лизина и SAM связываются на противоположных сторонах SET-домена так, чтобы целевой азот лизина находился в максимальной близости к донору метильной группы SAM на противоположном конце канала. Такая геометрия обеспечивает нуклеофильную атаку по SN2 механизму [13].

Как уже было сказано, ГЛМТ различаются субстратной специфичностью, локализацией вносимой эпигенетической метки, а также количеством переносимых метильных групп. На основании гомологии аминокислотных последовательностей, окружающих SET-домен, выделяют 7 семейств ГЛМТ: SUV39, SET1, SET2, EZ, RIZ, SMYD и SUV4-20 [11]. Помимо структурного сходства, разделение ГЛМТ на указанные семейства также определяется характерным для каждого из них сайтом метилирования.

В настоящем обзоре рассматриваются наследственные синдромы, развитие которых ассоциировано с патогенными изменениями в генах, кодирующих ГЛМТ и имеющих описанные на данный момент эписигнатуры (рис. 2). Данные о наличии характерных эписигнатур наследственных синдромов могут оказаться полезным инструментом в ряде областей медицинской генетики, одна из которых — изучение на более глубоком уровне особенностей патогенеза наследственных заболеваний и взаимосвязи между двумя фундамен-

тальными механизмами эпигенетической регуляции генной экспрессии: модификациями гистонов и метилированием ДНК.

Синдромы, ассоциированные с мутациями в генах ГЛМТ, и характерные для них эписигнатуры

Синдром Клифстры (OMIM:610253)

Синдром Клифстры 1 развивается в результате делеции 9q34.3, затрагивающей часть гена, или при наличии гетерозиготного патогенного варианта в гене *EHMT1*. Клиническими признаками данного синдрома являются умственная отсталость, расстройства аутистического спектра, гипотония в детском возрасте и характерные черты лица (брахицефалия, широкий лоб, дугообразная форма бровей или синофриз, скошенные вверх глазные щели, короткий нос с вывернутыми ноздрями, высунутый язык, прогнатизм).

Клинические проявления при миссенс-, нонсенс-вариантах, а также вариантах со сдвигом рамки считывания и небольших (<1 млн п.н.) делециях и инсерциях сходны. Однако протяженные делеции приводят к более тяжелой клинической картине [14]. Помимо этого, сообщалось о случаях обнаружения у пациентов дупликации 9q34 с сопутствующим увеличением дозы гена *EHMT1*, причем клиническая картина была аналогична наблюдаемой при синдроме Клифстры и включала гипотонию, задержку развития, умственную отсталость, признаки черепно-лицевого дисморфогенеза, а также поведенческие расстройства [15]. Такой характерный набор признаков получил название «фенотипический спектр синдрома Клифстры» (Kleefstra syndrome phenotypic spectrum, KSS) и встречается при нарушении не только гена *EHMT1*, но и некоторых других генов, участвующих в эпигенетической регуляции: *MBD5*, *KMT2C*, *SMARCB1* и *NR113* [16]. В работе Frega с соавт. было показано, что потеря функции любого из генов, ассоциированных с развитием синдромов спектра Клифстры, ведет к формированию гиперактивных нейронных сетей с аномальной организацией и сдвинутым балансом возбуждения-торможения [17].

На сегодняшний день показано, что у пациентов с обнаруженным патогенным вариантом в гене *EHMT1* наблюдается изменение паттерна метилирования ДНК, позволяющее дифференцировать синдром Клифстры 1 от контрольной группы [18]. Механизм изменения паттерна метилирования ДНК у пациентов с синдромом Клифстры может быть обусловлен тем, что

субстратом EHMT1, помимо остатка лизина гистона H3, является также ДНК-лигаза 1 (LIG1), которая в метилированном состоянии легче связывается с белком UHRF1. Это событие привлекает UHRF1 к сайтам репликации, где происходит связывание с гемиметилированной ДНК, что способствует поддержанию метилирования ДНК с помощью DNMT1. На взаимосвязь между патогенными вариантами в гене *EHMT1* и снижением уровня метилирования ДНК также указывает тот факт, что нокаут гена *Uhrf1* в эмбриональных стволовых клетках мышей приводит к потере метилирования ДНК [19].

Для оценки функционального характера изменений в паттерне метилирования ДНК, связанных с гаплонедостаточностью *EHMT1*, в исследовании Goodman с соавт. (2020) было проанализировано 598 дифференциально метилированных CpG-динуклеотидов с применением инструмента GREAT (Genomic Regions Enrichment of Annotations Tool). В общей слож-

ности было выявлено 130 генов, сайт начала транскрипции которых располагается на расстоянии менее 15 т.п.н. ниже/11 т.п.н. выше аномально метилированных сайтов. В их число входят гены, которые потенциально могут играть роль в развитии фенотипа, характерного для синдрома Клифстры. Так, ген *ELAVL4*, в промоторной области которого располагаются 4 CpG-динуклеотида, показавших снижение уровня метилирования на 11,4%, играет важную роль в процессинге нейронспецифической РНК, а именно, стабилизирует мРНК GAP43, ACHE и других нейрональных белков, тем самым способствуя дифференцировке клеток-предшественников, развитию нервной системы, а также участвуя в процессах обучения и памяти. Два других гена, *CHRND1* и *GRIA1*, содержат в промоторной области по два CpG-динуклеотида с аналогичным снижением уровня метилирования. *GRIA1* кодирует глутаматный рецептор 1, лигандом которого является L-глутамат - возбуждающий ней-

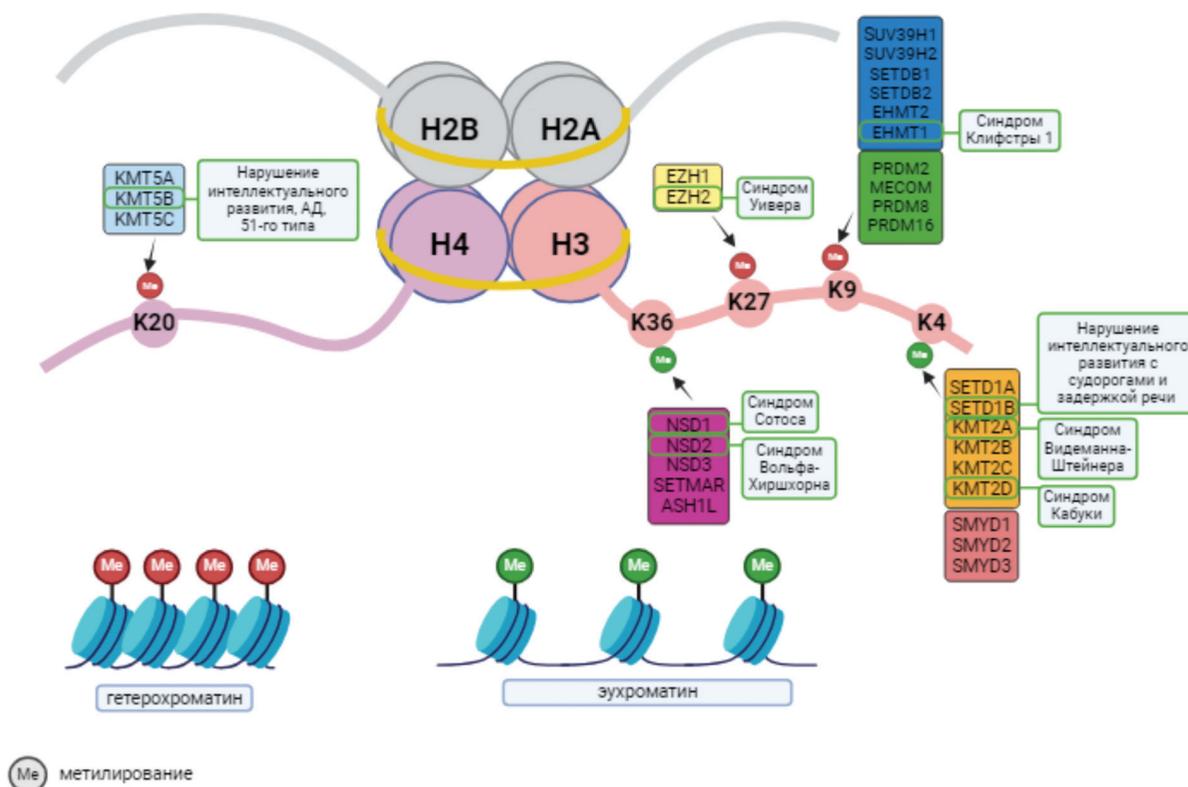


Рис. 2. Позиции модификаций, осуществляемых ГЛМТ, и наследственные синдромы, вызванные патогенными изменениями в генах с описанными эпизигнатурами.

Fig. 2. Histone modification positions carried out by histone lysine methyltransferases and hereditary syndromes caused by pathogenic changes in genes with the described episignatures.

ротрансмиттер. Продуктом гена *CHRNA1* является субъединица рецептора ацетилхолина, который участвует в нервно-мышечной передаче сигнала. Другим геном, регуляция экспрессии которого может быть подвержена изменению в связи со снижением уровня метилирования ДНК, является *PDE4D*. Патогенные варианты данного гена ассоциированы с акродизостозом 2 типа — заболеванием, характеризующимся аномалиями строения костей лица и умственной отсталостью. Кроме того, aberrантное метилирование ДНК наблюдается вблизи генов, кодирующих ряд белков семейства кадгеринов. Эти молекулы, располагаясь на поверхности нейрональных клеток, играют важнейшую роль в развитии синапса [19]. Из приведенных данных следует, что клиническая картина, характерная для синдрома Клифстры, коррелирует с нарушением функции ряда генов, вызванным патогенным вариантом гена *EHMT1*.

Синдром Кабуки (OMIM:147920)

Молекулярно-генетической причиной синдрома Кабуки является возникновение гетерозиготного патогенного варианта в гене *KMT2D* или гетеро-/гемизиготного патогенного варианта в гене *KDM6A*. Спектр патогенных вариантов включает миссенс-, нонсенс-варианты, варианты сайта сплайсинга и небольшие внутригенные делеции/инсерции [20].

Основу клинической картины синдрома составляют характерные черты лица (длинные глазные щели, широкие изогнутые брови, короткая колумелла с вдавленным кончиком носа, крупные выступающие/чашевидные уши), а также незначительные аномалии скелета, умственная отсталость умеренной или легкой степени и постнатальная задержка роста.

Продуктом гена *KDM6A*, располагающегося на X-хромосоме, является фермент лизин-специфическая деметилаза 6A, функция которого заключается в деметилировании ди- и триметилированного остатка лизина в положении 27 гистона H3, что способствует открытию хроматина и активации транскрипции. Влияя на доступность хроматина для транскрипционных факторов, *KMT2D* и *KDM6A* регулируют дифференцировку мезенхимальных клеточных линий — миобластов и остеобластов [21]. Используя в качестве модельного организма *Danio rerio*, было показано, что варианты с потерей функции как в гене *KMT2D*, так и в гене *KDM6A* приводят к неправильной дифференцировке клеток, что в конечном итоге вызывает характерные признаки дисморфогенеза и задержку развития у пациентов с синдромом Кабуки [22].

Модификация гистона H3, создаваемая *KMT2D*, сама по себе участвует в регуляции метилирования ДНК, блокируя метилирование *de novo* в определенных участках генома. Было показано, что *DNMT3*-ассоциированный белок *DNMT3L* содержит домен *ADD*, который специфически взаимодействует с немодифицированным остатком лизина в положении 4 гистона H3 и не способен связываться с H3K4Me3 [23]. Это свойство позволяет *KMT2D* регулировать экспрессию ряда генов, в том числе генов группы *HOX*, которые необходимы для нормальной сегментации тела и формирования передне-задней оси мозга при развитии. Действительно, в исследовании Aref-Eshghi с соавт. было продемонстрировано, что большое количество аномально метилированных CpG-динуклеотидов у пациентов с синдромом Кабуки наблюдается непосредственно вблизи некоторых генов семейства *HOX*. Самая длинная дифференциально метилированная область перекрывает промоторы генов *HOXA5* и *HOXA-AS3* и включает 20 CpG-динуклеотидов, показывающих повышение уровня метилирования ДНК в среднем на 19%. Поскольку дефекты позвоночного столба, такие как сколиоз и *spina bifida*, наблюдаются в 35% случаев синдрома Кабуки, можно предположить наличие взаимосвязи между нарушением эпигенетической регуляции *HOX*-генов и подобными фенотипическими проявлениями.

Самое значительное изменение уровня метилирования ДНК у пациентов с синдромом Кабуки, а именно снижение на 29%, наблюдается в области экзона 22-23 и интрона 22 гена *MYO1F*. Продуктом данного гена является миозин IF, который играет важную роль во внутриклеточных перемещениях. Идентифицированная область *MYO1F* аннотирована к CpG-островку, который содержит регуляторные элементы, включая энхансер или промотор в различных клеточных линиях. Авторами исследования было ранее показано, что аналогичный паттерн метилирования *MYO1F* наблюдается при еще одном наследственном заболевании, ассоциированном с нарушением ремоделирования хроматина — синдроме Флоттинг-Харбора. Сходство в особенностях метилирования данной области при двух различных по фенотипу синдромах может являться следствием еще не изученных регуляторных механизмов [24].

Синдром Видеманна-Штейнера (OMIM:605130)

Молекулярно-генетической причиной синдрома Видеманна-Штейнера (СВШ) являются патогенные варианты в гене *KMT2A* [25]. СВШ имеет варибельные клинические проявления, основными из которых яв-

ляются задержка развития, интеллектуальный дефицит, гипертрихоз локтей, гипотония и отличительные черты лица (густые брови, узкие глазные щели, гипертелоризм, длинные ресницы, широкая переносица, широкий кончик носа) [26]. Ген *KMT2A* кодирует метилтрансферазу, которая участвует в образовании комплексов, осуществляющих метилирование лизина 4 гистона H3 (H3K4me) и ацетилирование лизина 16 гистона H4 (H4K16ac) (рис.2). Эти модификации положительно регулируют экспрессию генов-мишеней, включая гены группы *HOX* [27]. В одном из недавних исследований Foroutan A. с соавт. определили характерное изменение уровня метилирования, наблюдаемое по всему геному у пациентов с СВШ, а именно гипометилирование 87% проанализированных CpG-динуклеотидов. Аберрантный паттерн метилирования затрагивает гены трех из четырех кластеров *HOX*, включая гены *HOXA2*, *HOXA3*, *HOXA4*, *HOXA10*, *HOXB9*, *HOXC4*, *HOXC5*, *HOXC6*, два гена из семейства *PRDM* (*PRDM14*, *PRDM16*), гены *ALX3* и *ALX4*, *SIX2*, а также гены факторов транскрипции Т-бокса (*TBX1*, *TBX2*, *TBX4*) и ген *WT1*. Ген *PRDM14* является фактором транскрипции, участвующим в эпигенетическом репрограммировании в процессе эмбрионального развития. *PRDM16* проявляет гистон-лизин-метилтрансферазную активность, монометилируя лизин в положении 9 гистона H3. Продукт гена *ALX4* участвует в развитии черепа и конечностей, а также формировании волосных фолликулов; белок *SIX2*, в свою очередь, также отвечает за развитие черепа, дополнительно контролируя развитие ряда органов, включая почки и желудок. *TBX1* регулирует развитие черепно-лицевых мышц, в то время как *TBX2* и *TBX4* контролируют формирование нижних конечностей. Таким образом, наблюдаемые клинические признаки у пациентов с СВШ могут частично объясняться нарушением паттерна метилирования ряда регуляторных генов [28].

Нарушение интеллектуального развития с судорогами и задержкой речи (OMIM:619000)

Синдром нарушения интеллектуального развития с судорогами и задержкой речи ассоциирован с гетерозиготными патогенными вариантами гена *SETD1B* и клинически характеризуется задержкой развития (в основном затрагивающей речь), судорогами с различным началом и типом приступов, расстройствами аутистического спектра, а также особенностями поведения (гиперактивность, агрессивность, тревожность). Метилтрансфераза *SETD1B* входит в состав мультисубъединичного комплекса COMPASS (Complex

Proteins Associated with Set1), который переносит на аминокислотный остаток лизина от одной до трех метильных групп. Модификации H3K4Me1 и H3K4Me2 в основном располагаются в энхансерных областях, а H3K4Me3 – вблизи промоторов и сайтов начала транскрипции, что говорит об активирующем влиянии данных регуляторных меток на экспрессию генов [29]. *SETD1B* является незаменимым участником регуляции эмбрионального развития: нокаут гена *Setd1b* у мышей приводит к гибели после гастрюляции между E10.5 и E11.5 (E – эмбриональные дни у мыши). Было также продемонстрировано, что данный фермент играет важнейшую роль в оогенезе и гематопоэзе [30].

Как было описано выше, метилирование остатка лизина в положении H3K4 регулирует *de novo* метилирование ДНК, в связи с чем было выдвинуто предположение о наличии специфического паттерна метилирования ДНК при *SETDB1*-ассоциированном синдроме. В исследовании Krzyzewska с соавт. при анализе ДНК 13 пациентов было идентифицировано 3340 дифференциально метилированных CpG-динуклеотидов, 82% которых продемонстрировали гиперметилирование по сравнению с контрольными образцами. В частности, обнаружено 4 CpG-динуклеотида, располагающихся вблизи генов *KLHL28* и *FAM179B* и демонстрирующих увеличение уровня метилирования в среднем на 40% по сравнению с аналогичными CpG-динуклеотидами в контрольных образцах. Известно, что белки семейства *KLHL* участвуют в процессе убиквитинирования, но конкретная роль каждого члена семейства еще не выяснена [31, 32]. Белок *FAM179B* необходим для ацетилирования и полиглутаминирования микротрубочек, а также для их полимеризации [33]. Помимо этого, 13 CpG-динуклеотидов, демонстрирующих повышение уровня метилирования у пациентов с *SETDB1*-ассоциированным синдромом в среднем на 21%, располагаются вблизи гена *RUNX1*. Его продукт является транскрипционным фактором, регулирующим экспрессию ряда генов, в том числе ответственных за гемопоэз. Также обнаружено 11 CpG-динуклеотидов с повышенным уровнем метилирования, располагающихся вблизи гена *BRD2*. Функция продукта данного гена сводится к регуляции генной экспрессии за счет ремоделирования хроматина. Следовательно, нарушение функции *SETDB1* приводит к изменению уровня экспрессии ряда регуляторных генов [31].

Синдром Уивера (OMIM:277590)

Синдром Уивера (СУ) ассоциирован с гетерозиготными патогенными вариантами гена *EZH2*, вклю-

чающими миссенс-, нонсенс-варианты, варианты сайта сплайсинга и небольшие внутригенные делеции/инсерции. Хотя полный спектр фенотипических проявлений пока не описан, основными критериями постановки клинического диагноза являются избыточный рост, макроцефалия, характерные черты лица (широкий лоб, орбитальный гипертелоризм, миндалевидные глазные щели), костный возраст, опережающий биологический, а также умственная отсталость различной степени тяжести [34]. *EZH2* экспрессируется как в активно делящихся нейтральных стволовых клетках и клетках-предшественниках, так и в зрелых нейронах и, совместно с белками *EZH1*, *SUZ12* и *EED*, образует комплекс *PRC2* (Polycomb repressive complex 2), который метилирует лизин 27 гистона *H3* (*H3K27*). Данный комплекс, осуществляющий сайленсинг генов, играет ключевую роль в процессах самообновления, пролиферации и дифференцировки эмбриональных стволовых клеток [35]. Предполагается, что нарушение работы *PRC2* приводит к снижению пролиферации нейрональных клеток-предшественников, изменению путей дифференцировки и процессов миграция нейронов, что объясняет нарушение интеллектуального развития при синдроме Уивера [36]. Это подтверждается тем фактом, что патогенные варианты гена *EED* приводят к появлению фенотипа, аналогичного таковому при синдроме Уивера [37].

В эксперименте *Vire* с соавт. было показано, что *EZH2* контролирует метилирование CpG посредством прямого физического контакта с ДНК-метилтрансферазами [38]. При широкомасштабном анализе уровня метилирования ДНК в исследовании *Choufani* с соавт. было обнаружено 229 CpG-динуклеотидов, уровень метилирования которых отличался от нормального более чем на 10%, причем в 186 сайтах наблюдается гипометилирование. Выявленные сайты с наибольшей разницей в уровне метилирования перекрываются с 89 генами, большая часть располагается в пределах 5 т.п.н. по отношению к сайтам начала транскрипции.

Результаты анализа обогащения по функциональной принадлежности показывают, что изменение эпигенетической регуляции при синдроме Уивера затрагивает преимущественно гены, участвующие в процессах клеточной дифференцировки, развития скелетной системы и регуляции морфогенеза: гены *HOX*-группы *HOXA5*, *ALX4* и *SIX2*. Эти данные согласуются с описанной ранее ролью *PRC2* в дифференцировке клеточных линий, а также потенциально могут объяснять некоторые фенотипические особенности синдрома Уи-

вера, такие как высокий рост, ускоренное созревание костей, нарушение миграции нейронов и задержку развития [39].

В исследовании *Awamleh* с соавт. был проведен анализ профиля метилирования ДНК пациента с задержкой роста, у которого ранее был обнаружен вариант неизвестного значения в гене *EZH2* (NM_004456.5:c.2212G>A:p.Ala738Thr). В результате была идентифицирована эпигенетическая сигнатура, противоположная таковой при синдроме Уивера. Было выдвинуто предположение о принадлежности данного варианта к типу *gain-of-function*, что впоследствии было подтверждено путем измерения ферментативной активности *EZH2* в клетках пациента и клетках здоровых людей [40]. Этот эксперимент наглядно отражает взаимосвязь aberrантного паттерна метилирования ДНК с фенотипом.

Синдром Сотоса (OMIM:117550)

Синдром Сотоса (СС) представляет собой ауто-сомно-доминантное заболевание, развивающееся в результате возникновения патогенного варианта в гене *NSD1*. Основу клинической картины, наблюдаемой у пациентов с СС, составляют характерный лицевой дисморфизм (широкий выступающий лоб с долихоцефальной формой головы, узкий овал лица, длинный подбородок), нарушение интеллектуального развития от легкой до тяжелой степени тяжести и гигантизм. Как и в случае описанных выше синдромов, спектр мутаций в гене *NSD1* при СС является достаточно широким и включает небольшие внутригенные делеции/вставки, а также миссенс-, нонсенс-варианты и варианты сайта сплайсинга, приводящие к потере функции гена [41].

NSD1 экспрессируется в большинстве тканей разнообразных организмов; более высокие уровни мРНК *NSD1* обнаруживаются в мозге, поджелудочной железе, мужских репродуктивных органах и органах кроветворения [42]. Будучи бифункциональным регулятором транскрипции, *NSD1* способен как подавлять, так и активировать экспрессию генов, что определяет важнейшую роль данного белка в раннем постимплантационном развитии [43].

Сообщалось о редких случаях обнаружения у пациентов микродупликации района 5q35.2–q35.3, включающего локус гена *NSD1*. Данное состояние, получившее название «обратный синдром Сотоса», характеризуется такими клиническими проявлениями, как низкий рост, микроцефалия, неспособность к обучению, легкая или умеренная умственная отсталость,

а также характерные черты лица. Эти наблюдения позволяют предположить, что доза гена *NSD1* определяет фенотип этих синдромальных расстройств развития [44].

ГЛМТ *NSD1* регулирует метилирование ДНК опосредованно. Известно, что ДНК-метилтрансферазы *DNMT3A* и *DNMT3B* содержат в своей структуре PWWP-домен, выполняющий, в числе прочих, функцию «читателя». Было показано, что *DNMT3A*_{PWWP} с наибольшим сродством взаимодействует именно с модификацией H3K36me2. За счет этого *NSD1* способна привлекать *DNMT3A* к межгенным областям [45].

Для СС характерна одна из наиболее выраженных и высокоспецифичных эписиантур. В исследовании Choufani с соавт. в ходе анализа метилома ДНК 19 пациентов было выявлено 7085 CpG-динуклеотидов, продемонстрировавших изменение уровня метилирования более чем на 20% по сравнению с контрольными образцами, причем 7038 из них оказались гипометилированы. Указанные дифференциально метилированные сайты перекрываются с 2167 генами, большинство из которых ответственны за клеточный морфогенез и дифференцировку, а также аксоногенез, клеточную адгезию и внутриклеточную передачу сигнала [46].

Наиболее значительное снижение уровня метилирования, достигающее 66%, наблюдается в области, располагающейся на расстоянии около 1,5 т.п.н. от сайта начала транскрипции гена *KDM5B*. *KDM5B* является лизин-специфичной деметилазой, функция которой заключается в удалении модификации H3K4Me1/2/3, благодаря чему данный белок регулирует ряд важнейших процессов, в том числе дифференцировку эмбриональных стволовых клеток [47]. Другим геном, регуляция экспрессии которого может изменяться в связи со значительным снижением уровня метилирования ДНК вблизи сайта начала транскрипции, является *SMAD3*. Продуктом этого гена является белок, участвующий в сигнальных путях, регулирующих пролиферацию клеток. Множественные aberrантно метилированные CpG-динуклеотиды наблюдаются также в телах и промоторных областях генов *HOX*-группы, в частности, *HOXB7*, *HOXC4*, *RHOX2A*, *HOXD* и *HOXA9*. Локальное снижение уровня метилирования в указанных районах варьирует от 20% до 38%. Из этих данных следует, что нарушение метилирования ряда генов действительно может играть роль в молекулярном патогенезе и формировании характерной клинической картины при СС.

Синдром Вольфа-Хиршхорна (OMIM:194190)

Синдром Вольфа-Хиршхорна (СВХ) — заболевание, причиной которого являются делеции различной протяженности в хромосомной области 4p16.3. Клиническая картина включает задержку роста, отставание в развитии, микроцефалию, судороги, врожденную гипотонию и пороки развития, такие как дефекты сердца, почек и скелета, а также типичный лицевой дисморфизм (высокий лоб, переходящий в широкую переносицу, высокие дугообразные брови, гипертелоризмом и микрогнатия). Показано, что существует зависимость между количеством фенотипических проявлений и размером делеции. Минимальный (коровый) фенотип включает сочетание умственной отсталости, задержки роста, лицевого дисморфизма и судорог и представляет собой минимальный набор диагностических критериев [48, 49]. Впервые наименьшая область перекрытия всех делеций (Wolf-Hirschhorn syndrome critical region, WHSCR), гаплонедостаточность которой вызывает развитие корового фенотипа, была описана в 1997 году и ограничивалась интервалом в 165 т.п.н. на расстоянии около 2 млн п.н. от теломеры 4p. В качестве генов-кандидатов предполагались *NSD2*, две трети которого локализованы в дистальной половине WHSCR, и *NELFA*, полностью попадающий в WHSCR. Позднее была обнаружена область WHSCR-2, которая дистально прилегает к WHSCR и включает, помимо *NSD2*, *LETM1*. Гаплонедостаточность *NSD2* предположительно является причиной задержки роста и лицевого дисморфизма, в то время как *LETM1*, продукт которого функционирует в составе сигнальных путей с участием Ca²⁺, считается геном-кандидатом, ответственным за развитие судорог [50].

Продукт гена *NSD2* осуществляет диметилирование лизина 36 гистона H3, а также триметилирование по указанной позиции в эмбриональных стволовых клетках. По ранее описанному механизму модификация H3K36me2 регулирует процесс метилирования ДНК, что позволяет предполагать существование характерной для СВХ эписиантуры. Широкомасштабный анализ профиля метилирования ДНК 12 пациентов с СВХ подтвердил снижение уровня метилирования ДНК по всему геному в среднем на 20% [51]. На сегодняшний день отсутствуют сведения об анализе геномного обогащения по функциональной принадлежности для выявления генов, экспрессия которых может изменяться в связи с aberrантным уровнем метилирования ДНК.

Данные о наличии характерной эписиантуры при СВХ были успешно применены в клинико- лабора-

торной практике. Пациент с синдромальной умственной отсталостью, задержкой развития, низким ростом и лицевым дисморфизмом был направлен на хромосомный микроматричный анализ и секвенирование экзона, однако обнаружить молекулярно-генетическую причину данными методами не удалось. Было принято решение о проведении анализа профиля метилирования ДНК EpiSign™, в результате чего у пациента была идентифицирована эписигнатура, характерная для СВХ. Повторный анализ данных секвенирования экзона позволил выявить не замеченный ранее вариант гена *NSD2*, приводящий к сдвигу рамки считывания, что дало возможность поставить пациенту диагноз RAUST (OMIM:619695) [52]. Известно, что клиническая картина RAUST частично совпадает с таковой при СВХ, за исключением судорог и типичного лицевого дисморфизма. Идентичность паттернов метилирования ДНК при этих двух синдромах позволяет предполагать общность молекулярных механизмов патогенеза, ключевую роль в которых, вероятно, играет *NSD2*.

Нарушение интеллектуального развития, АД, 51-го типа (OMIM:617788)

При наличии патогенного гетерозиготного варианта гена *KMT5B* может развиваться синдром, наиболее распространенными клиническими проявлениями которого являются задержка развития, расстройства аутистического спектра, нарушение концентрации внимания, фебрильные судороги, гипотония, высокий рост, а также атипичные черты лица. ГЛМТ *KMT5B* осуществляет метилирование моно- и диметилированного остатка лизина 20 гистона H4 (H4K20), что приводит к подавлению транскрипции. Используя в качестве модельных организмов рыб *Danio rerio* и мышей, было показано, что ген *Kmt5b* активно экспрессируется в развивающейся центральной нервной системе. Кроме того, *Kmt5b* участвует в поддержании популяции покоящихся мышечных клеток-сателлитов, обеспечивая развитие мышечной ткани [53].

Известно, что модификация H4K20me непосредственно влияет на процесс метилирования ДНК. ДНК-метилтрансфераза DNMT1 распознает модификацию H4K20me3 с помощью домена VAN1 (bromodomain-adjacent-homology domain 1), за счет чего активность DNMT1 нацеливается на районы гетерохроматина [54].

После проведения широкомасштабного анализа профиля метилирования ДНК 7 пациентов с *KMT5B*-ассоциированным синдромом была установлена закономерность в виде гипометилирования генома [51]. Для данного заболевания характерна неполная

пенетрантность, в связи с чем особый интерес представляет исследование уровня метилирования ДНК индивидов, несущих гетерозиготный вариант *KMT5B*, но не имеющих характерных фенотипических проявлений. В исследовании Erfan Aref-Eshghi с соавт. было показано, что паттерн метилирования ДНК двух здоровых индивидов с гетерозиготным носительством варианта *KMT5B* схож с паттерном метилирования ДНК пациентов с характерной клинической картиной [18].

В таблице представлены гены с наиболее измененным паттерном метилирования ДНК для каждого рассмотренного в настоящей статье синдрома, а также функции продуктов, кодируемых данными генами.

Заключение

ГЛМТ играют основополагающую роль на всех этапах эмбрионального развития, регулируя пролиферацию и дифференцировку различных типов клеток, вследствие чего синдромы, развивающиеся в результате возникновения патогенных вариантов генов ГЛМТ, имеют ряд перекрывающихся фенотипических проявлений. Из анализа эписигнатур указанных синдромов следует, что результатом нарушения работы ГЛМТ является изменение эпигенетической регуляции большого количества генов, что в конечном итоге вносит свой вклад в формирование фенотипа.

Диагностическая ценность эписигнатур была описана в нескольких исследованиях. В частности, при независимой оценке разработанных эписигнатур для таких нозологий, как СС и синдром Кабуки, была продемонстрирована 100% чувствительность анализа профиля метилирования ДНК [46, 51, 55, 56].

На данный момент масштабное использование методов определения метилирования ДНК в качестве диагностического инструмента первой линии ограничено отсутствием сведений о степени специфичности каждой эписигнатуры для конкретного патогенного варианта гена. Однако в лабораториях Европы и США широко применяется тест EpiSign™ для идентификации эписигнатур более 60 синдромов, а также выявления нарушений импринтинга и анализа метилирования промотора гена *FMRI*. Анализ эписигнатур рекомендован в качестве теста второй линии (согласно интернет-ресурсу GeneReviews®) в тех случаях, когда молекулярно-генетическое тестирование первой линии не установило молекулярной причины заболевания и/или определило вариант неопределенного значения, а также в тех случаях, когда пациент имеет фенотип, характерный для нескольких

Таблица. Синдромы, ассоциированные с нарушением генов ГЛМТ, и гены, экспрессия которых может быть подвержена изменению в связи с aberrантным метилированием

Table. Syndromes associated with disruption of GLMT genes and genes whose expression may be altered by aberrant methylation

| Синдром | Ген, вблизи/теле которого наблюдается aberrантное метилирование | Функция продукта |
|---|--|--|
| Синдром Клифстры OMIM:610253 | <i>ELAVL4</i> | Участие в стабилизации мРНК нейрональных белков |
| | <i>GRIA1</i> | Рецептор L-глутамата |
| | <i>CHRND1</i> | Субъединица рецептора ацетилхолина |
| | <i>PDE4D</i> | Деградация цАМФ |
| | <i>CHD4</i> | Участие в эпигенетической репрессии транскрипции |
| | <i>CDH5</i> , 7 генов γ -протокадгеринов | Молекулы клеточной адгезии |
| Синдром Кабуки OMIM:47920 | <i>HOXA5</i> | Регуляция экспрессии генов, ответственных за морфогенез и клеточную дифференцировку |
| | <i>HOXA-AS3</i> | Регуляция структуры хроматина, регуляция экспрессии NFkB |
| Синдром Видеманна-Штейнера OMIM:605130 | <i>PRDM14</i> | Участие в эпигенетическом репрограммировании в ходе эмбрионального развития |
| | <i>PRDM16</i> | Монометилирование по позиции H3K9 |
| | <i>ALX4</i> | Регуляция экспрессии генов, ответственных за развитие черепа и конечностей |
| | <i>SIX2</i> | Регуляция экспрессии генов, участвующих в развитии ряда органов, включая почки, череп и желудок. |
| | <i>TBX1</i> | Регуляция экспрессии генов, участвующих в формировании челюстно-лицевых мышц |
| | <i>TBX2</i> , <i>TBX4</i> | Регуляция экспрессии генов, участвующих в формировании нижних конечностей |
| | <i>HOXA2</i> , <i>HOXA3</i> , <i>HOXA4</i> , <i>HOXA10</i> , <i>HOXB9</i> , <i>HOXC4</i> , <i>HOXC5</i> , <i>HOXC6</i> | Регуляция экспрессии генов, ответственных за морфогенез и клеточную дифференцировку |
| Нарушение интеллектуального развития с судорогами и задержкой речи OMIM:619000 | <i>KLHL28</i> | Предположительно, участие в убиквитинировании |
| | <i>FAM179B</i> | Полимеризация, модификация микротрубочек |
| | <i>RUNX1</i> | Регуляция экспрессии генов, ответственных за гемопоэз |
| | <i>BRD2</i> | Ремоделирование хроматина |
| Синдром Уивера OMIM:277590 | <i>HOXA5</i> | Регуляция экспрессии генов, ответственных за морфогенез и клеточную дифференцировку |
| | <i>ALX4</i> | Регуляция экспрессии генов, ответственных за развитие черепа и конечностей |
| | <i>SIX2</i> | Регуляция экспрессии генов, участвующих в развитии ряда органов, включая почки, череп и желудок. |
| Синдром Сотоса OMIM:117550 | <i>KDM5B</i> | Регуляция процессов дифференцировки ЭСК |
| | <i>SMAD3</i> | Трансдукция сигнала, регулирующего пролиферацию клеток |
| | <i>HOXB7</i> , <i>HOXC4</i> , <i>PHOX2A</i> , <i>HOXD</i> , <i>HOXA9</i> | Регуляция экспрессии генов, ответственных за морфогенез и клеточную дифференцировку |

синдромов с описанными эписигнатурами. Так или иначе, ценность эписигнатуры для выяснения функционального, биологического и молекулярного воздействия патогенных вариантов генов ГЛМТ на организм подтверждается рядом исследований, продолжение которых в перспективе может позволить глубже интегрировать детектирование эписигнатур в клиническую практику.

Литература/References

- Albini S., Zakharova V., Ait-Si-Ali S. Epigenetics and Regeneration, chapter 3 - Histone Modifications. [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814879-2.00003-0>.
- Wood C., Snijders A., Williamson J., Reynolds C., Baldwin J., Dickman M. Post-translational modifications of the linker histone variants and their association with cell mechanisms. *The FEBS Journal*. 2009;276(13):3685–3697.
- Millán-Zambrano G., Burton A., Bannister A.J., et al. Histone post-translational modifications — cause and consequence of genome function. *Nat Rev Genet*. 2022;23:563–580.
- Bannister A., Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res*. 2011;21:381–395.
- Greer E., Shi Y. Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance. *Nat Rev Genet*. 2012;13:343–357.
- Litt M., Qiu Y., Huang S. Histone arginine methylations: their roles in chromatin dynamics and transcriptional regulation. *Biosci Rep*. 2009 Apr 1;29(2):131–141.
- Hayashi T., Daitoku H., Uetake T., Kako K., Fukamizu A. Histidine N τ -methylation identified as a new posttranslational modification in histone H2A at His-82 and H3 at His-39. *The Journal of biological chemistry*. 2023;299(9):105131.
- Husmann D., Gozani O. Histone lysine methyltransferases in biology and disease. *Nat Struct Mol Biol*. 2019;26:880–889.
- Falnes P.Ø., Małecki J.M., Herrera M.C., et al. Human seven- β -strand (METTL) methyltransferases - conquering the universe of protein lysine methylation. *J Biol Chem*. 2023;299(6):104661.
- Wilson J.R., Jing C., Walker P.A. et al. Crystal structure and functional analysis of the histone methyltransferase SET7/9. *Cell*. 2002;111(1):105–115.
- Dillon S.C., Zhang X., Triebel R.C., et al. The SET-domain protein superfamily: protein lysine methyltransferases. *Genome Biol*. 2005;(6):227.
- Qian C., Zhou M.M. SET domain protein lysine methyltransferases: Structure, specificity and catalysis. *Cell Mol Life Sci*. 2006;63(23):2755–2763.
- Smith B.C., Denu J.M. Chemical mechanisms of histone lysine and arginine modifications. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1789(1):45–57.
- Kleefstra T., de Leeuw N. Kleefstra Syndrome. 2010 Oct 5 [Updated 2023 Jan 26]. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, et al., editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK47079/>.
- Bonati M.T., Castronovo C., Sironi A., et al. 9q34.3 microduplications lead to neurodevelopmental disorders through EHMT1 overexpression. *Neurogenetics*. 2019;20(3):145–154.
- Kleefstra T., Kramer J.M., Neveling K., et al. Disruption of an EHMT1-associated chromatin-modification module causes intellectual disability. *Am J Hum Genet*. 2012;91(1):73–82.
- Frega M., Selten M., Mossink B., et al. Distinct Pathogenic Genes Causing Intellectual Disability and Autism Exhibit a Common Neuronal Network Hyperactivity Phenotype. *Cell Rep*. 2020;30(1):173–186.e6.
- Aref-Eshghi E., Kerkhof J., Pedro V.P., et al. Evaluation of DNA Methylation Episignatures for Diagnosis and Phenotype Correlations in 42 Mendelian Neurodevelopmental Disorders [published correction appears in *Am J Hum Genet*. 2021 Jun 3;108(6):1161–1163]. *Am J Hum Genet*. 2020;106(3):356–370.
- Goodman S.J., Cytrynbaum C., Chung B.H.Y., et al. EHMT1 pathogenic variants and 9q34. 3 microdeletions share altered DNA methylation patterns in patients with Kleefstra syndrome. *J Transl Genet Genom*. 2020;4:144–58.
- Adam M.P., Hudgins L., Hannibal M. Kabuki Syndrome. 2011 Sep 1 [Updated 2022 Sep 15]. In: Adam M.P., Feldman J., Mirzaa G.M., et al., editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK62111/>
- Boniel S., Szymańska K., Śmigiel R., Szczałuba K. Kabuki Syndrome—Clinical Review with Molecular Aspects. *Genes (Basel)*. 2021;12(4):468.
- Van Laarhoven P.M., Neitzel L.R., Quintana A.M., et al. Kabuki syndrome genes KMT2D and KDM6A: functional analyses demonstrate critical roles in craniofacial, heart and brain development. *Hum Mol Genet*. 2015;24(15):4443–4453.
- Rose N.R., Klose R.J. Understanding the relationship between DNA methylation and histone lysine methylation. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1839(12):1362–1372.
- Aref-Eshghi E., Schenkel L.C., Lin H., et al. The defining DNA methylation signature of Kabuki syndrome enables functional assessment of genetic variants of unknown clinical significance. *Epigenetics*. 2017;12(11):923–933.
- Jones W.D., Dafou D., McEntagart M., et al. De novo mutations in MLL cause Wiedemann-Steiner syndrome. *Am J Hum Genet*. 2012;91(2):358–364.
- Aggarwal A., Rodriguez-Buriticca D.F., Northrup H. Wiedemann-Steiner syndrome: Novel pathogenic variant and review of literature. *Eur J Med Genet*. 2017;60(6):285–288.
- Milne T.A., Briggs S.D., Brock H.W., et al. MLL targets SET domain methyltransferase activity to Hox gene promoters. *Mol Cell*. 2002;10(5):1107–1117.
- Foroutan A., Haghshenas S., Bhai P., et al. Clinical Utility of a Unique Genome-Wide DNA Methylation Signature for KMT2A-Related Syndrome. *Int. J. Mol. Sci*. 2022;23(3):1815.
- Weerts M.J.A., Lanko K., Guzmán-Vega F.J., et al. Delineating the molecular and phenotypic spectrum of the SETD1B-related syndrome. *Genet Med*. 2021;23(11):2122–2137.
- Kranz A., Anastassiadis K. The role of SETD1A and SETD1B in development and disease. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*. 2020;1863(8):194578.
- Krzyżewska I.M., Maas S.M., Henneman P., et al. A genome-wide DNA methylation signature for SETD1B-related syndrome. *Clin Epigenetics*. 2019;11(1):156.
- Dhanoa B.S., Cogliati T., Satish A.G., et al. Update on the Kelch-like (KLHL) gene family. *Hum Genomics*. 2013;7(1):13.
- Latour B.L., Van De Weghe J.C., Rusterholz T.D., et al. Dysfunction of the ciliary ARMC9/TOGARAM1 protein module causes Joubert syndrome. *J Clin Invest*. 2020;130(8):4423–4439.
- Ocansey S., Tatton-Brown K. EZH2-Related Overgrowth. 2013 Jul 18 [Updated 2024 Mar 21]. In: Adam M.P., Feldman J., Mirzaa G.M., et al., editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK148820/>

35. Liu P.P., Xu Y.J., Dai S.K., et al. Polycomb Protein EED Regulates Neuronal Differentiation through Targeting SOX11 in Hippocampal Dentate Gyrus. *Stem Cell Rep.* 2019;13(1):115-131.
36. Kim J.H., Lee J.H., Lee I.S., Lee S.B., Cho K.S. Histone Lysine Methylation and Neurodevelopmental Disorders. *Int J Mol Sci.* 2017;18(7):1404.
37. Cohen A.S., Tuysuz B., Shen Y., et al. A novel mutation in EED associated with overgrowth. *J Hum Genet.* 2015;60(6):339-342.
38. Viré E., Brenner C., Deplus R., et al. The Polycomb group protein EZH2 directly controls DNA methylation [published correction appears in *Nature*. 2007 Apr 12;446(7137):824]. *Nature.* 2006;439(7078):871-874.
39. Choufani S., Gibson W.T., Turinsky A.L., et al. DNA Methylation Signature for EZH2 Functionally Classifies Sequence Variants in Three PRC2 Complex Genes. *Am J Hum Genet.* 2020;106(5):596-610.
40. Awamleh Z., Goodman S., Choufani S., et al. DNA methylation signatures for chromatinopathies: current challenges and future applications. *Hum Genet* (2023).
41. Tatton-Brown K., Cole T.R.P., Rahman N.. Sotos Syndrome. 2004 Dec 17 [Updated 2022 Dec 1]. In: Adam M.P., Feldman J., Mirzaa G.M., et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1479/>
42. Tauchmann S., Schwaller J. NSD1: A Lysine Methyltransferase between Developmental Disorders and Cancer. *Life (Basel).* 2021;11(9):877.
43. Faravelli F. NSD1 mutations in Sotos syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2005;137C(1):24-31.
44. Tauchmann S., Schwaller J. NSD1: A Lysine Methyltransferase between Developmental Disorders and Cancer. *Life (Basel).* 2021;11(9):877.
45. Weinberg D.N., Papillon-Cavanagh S., Chen H., et al. The histone mark H3K36me2 recruits DNMT3A and shapes the intergenic DNA methylation landscape. *Nature.* 2019;573(7773):281-286.
46. Choufani S., Cytrynbaum C., Chung B.H., et al. NSD1 mutations generate a genome-wide DNA methylation signature. *Nat Commun.* 2015;6:10207.
47. Xhabija B., Kidder B.L. KDM5B is a master regulator of the H3K4-methylome in stem cells, development and cancer. *Semin Cancer Biol.* 2019;57:79-85.
48. Wiel L.C., Bruno I., Barbi E., et al. From Wolf-Hirschhorn syndrome to NSD2 haploinsufficiency: a shifting paradigm through the description of a new case and a review of the literature. *Ital J Pediatr.* 2022;48(1):72.
49. Zollino M., Murdolo M., Marangi G., et al. On the nosology and pathogenesis of Wolf-Hirschhorn syndrome: genotype-phenotype correlation analysis of 80 patients and literature review. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2008;148C(4):257-269.
50. Zollino M., Doronzio P.N. Dissecting the Wolf-Hirschhorn syndrome phenotype: WHSC1 is a neurodevelopmental gene contributing to growth delay, intellectual disability, and to the facial dysmorphism. *J Hum Genet.* 2018;(63):859-861
51. Levy M.A., McConkey H., Kerkhof J., et al. Novel diagnostic DNA methylation epesignatures expand and refine the epigenetic landscapes of Mendelian disorders. *HGG Adv.* 2021;3(1):100075.
52. McConkey H., White-Brown A., Kerkhof J., et al. Genetically unresolved case of Rauch-Steindl syndrome diagnosed by its wolf-hirschhorn associated DNA methylation epesignature. *Front Cell Dev Biol.* 2022;10:1022683.
53. Sheppard S.E., Bryant L., Wickramasekara R.N., et al. Mechanism of KMT5B haploinsufficiency in neurodevelopment in humans and mice. *Sci Adv.* 2023;9(10):eade1463.
54. Ren W., Fan H., Grimm S.A. et al. DNMT1 reads heterochromatic H4K20me3 to reinforce LINE-1 DNA methylation. *Nat Commun.* 2021;12:2490.
55. Butcher D.T., Cytrynbaum C., Turinsky A.L., et al. CHARGE and Kabuki Syndromes: Gene-Specific DNA Methylation Signatures Identify Epigenetic Mechanisms Linking These Clinically Overlapping Conditions. *Am J Hum Genet.* 2017;100(5):773-788.
56. Husson T., Lecoquierre F., Nicolas G., et al. Epesignatures in practice: independent evaluation of published epesignatures for the molecular diagnostics of ten neurodevelopmental disorders. *Eur J Hum Genet.* 2024;32:190-199.