

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2024.12.44-57>

Мультилокусные нарушения в структуре болезней геномного импринтинга в Российской Федерации

Панченко Е.Г.^{1,2}, Симонова О.А.¹, Решетникова А.А.¹, Ефремова А.В.¹, Чеснокова Г.Г.¹, Сигин В.О.¹, Агеева Ф.А.¹, Володин И.В.¹, Николаева А.Ф.¹, Казакова С.А.¹, Мусатова В.В.¹, Немцова М.В.^{1,3}, Залетаев Д.В.¹, Стрельников В.В.^{1,2}

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

2 – ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова МЗ РФ
117513, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

3 – ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский Университет)
119048, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8/2

Болезни геномного импринтинга (БГИ) являются следствием нарушений механизма геномного импринтинга, регулирующего экспрессию гомологичных аллелей генов различного родительского происхождения в импринтированных районах хромосом. Для отдельно взятой БГИ характерна аномалия метилирования в пределах специфичного для нее импринтированного района. Для мультилокусных нарушений импринтинга (MLID) характерны аномалии метилирования в нескольких импринтированных районах. Для БГИ установлены четыре класса молекулярно-генетических изменений: делеции/дупликации, однородительские дисомии, эпимутации и мутации в импринтированных генах. MLID выявляются чаще среди пациентов с эпимутациями. Причинами MLID являются патогенные варианты в генах, кодирующих ооцитарные и зиготические факторы развития эмбриона, таких как *NLRP2*, *NLRP5*, *NLRP7*, *KHDC3L*, *OOEP*, *PADI6*, *TLE6*, *UHRF1*, *ZFP57*, *ARID4A*, *ZAR1*, *ZFP42*, *ZNF445*, *TRIM28*, участвующих в жизненном цикле импринтинга. Наличие таких вариантов в семье пациента с MLID существенно увеличивает риск репродуктивных потерь и рождения детей с БГИ и MLID в отличие от однолокусной эпимутации в пределах одного импринтированного хромосомного района, что делает важным дообследование на MLID пациентов с однолокусной эпимутацией. В ходе исследования проведена метилчувствительная мультиплексная лигаза-зависимая амплификация зондов районов 6q24.2; 7q32.2; 11p15.5; 14q32.2; 15q11.2; 19q13.43; 20q13.32 (МЧ-MLPA MLID) на 209 образцах ДНК пациентов обоих полов. В выборке пациентов с ранее подтвержденными диагнозами БГИ без CNVs (113 образцов) ранее полученные результаты были подтверждены в 113 случаях, дополнительно удалось выявить MLID в 7 (6,2%) случаях. При сравнении спектра БГИ в выборках пациентов с ранее выявленными БГИ без CNVs и впервые выявленными БГИ показан рост выявляемости синдрома Темпл с 1 (0,9%) до 5 случаев (15,2%) с использованием МЧ-MLPA MLID. В выборке с ранее не подтвержденными диагнозами БГИ (25 образцов) удалось не только молекулярно-генетически подтвердить клинические диагнозы в 6 (24,0%) случаях, но и выявить аномалии метилирования, отличные от предполагаемых клинических диагнозов, в 2 (8,0%) случаях, а также MLID в 4 случаях (16,0%). В группе пациентов, впервые направленных на диагностику БГИ (56 образцов) молекулярно-генетически были подтверждены клинические диагнозы в 17 (30,4%) случаях, выявлены другие молекулярные нарушения в 3 (5,4%) случаях, MLID выявлены в 1 случае (1,8%). По результатам оценки фенотипа пациентов с MLID показано, что фенотипические признаки MLID могут совпадать с признаками известных БГИ, частично перекрываться с признаками отдельных известных БГИ и быть неспецифичными, что затрудняет клиническую диагностику. В ходе полногеномного исследования пациента с ТНСД-MLID был выявлен ранее не описанный гомозиготный вариант NM_001109809.4.8(ZFP57): c.115delG (p.Val39fs), который согласно критериям ACMG был расценен как вероятно патогенный (PVS1+PM2). Родители являются гетерозиготными носителями варианта, что определяет риск повторного деторождения с ТНСД- MLID в 25%. По результатам исследования предложен алгоритм диагностики БГИ, где МЧ-MLPA MLID является тестом первой линии.

Ключевые слова: болезни геномного импринтинга, мультилокусные нарушения импринтинга, ДНК-диагностика, метилчувствительная MLPA.

Для цитирования: Панченко Е.Г., Симонова О.А., Решетникова А.А., Ефремова А.В., Чеснокова Г.Г., Сигин В.О., Агеева Ф.А., Володин И.В., Николаева А.Ф., Казакова С.А., Мусатова В.В., Немцова М.В., Залетаев Д.В., Стрельников В.В. Мультилокусные нарушения в структуре болезней геномного импринтинга в Российской Федерации. *Медицинская генетика* 2024; 23(12): 44-57.

Автор для корреспонденции: Панченко Елизавета Григорьевна; e-mail: rangen1994@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ МГНЦ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 03.12.2024

Multilocus imprinting disturbances in the structure of imprinting disorders in the Russian Federation

Panchenko E.G.^{1,2}, Simonova O.A.¹, Reshetnikova A.A.¹, Efremova A.V.¹, Chesnokova G.G.¹, Sigin V.O.¹, Ageeva F.A.¹, Volodin I.V.¹, Nikolaeva A.F.¹, Kazakova S.A.¹, Musatova V.V.¹, Nemtsova M.V.^{1,3}, Zaletaev D.V.¹, Strelnikov V.V.^{1,2}

1 – Research Centre for Medical Genetics

1, Moskvorechie st., Moscow, 115478, Russian Federation

2 – N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

1, Ostrovityanova st., Moscow, 117513, Russian Federation

3 – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

8/2, Trubetskaya st., Moscow, 119048, Russian Federation

Imprinting disorders (ImpDis) are a consequence of violations of the mechanism of genomic imprinting, which regulates the expression of homologous alleles of genes of different parental origin in imprinted regions of chromosomes. A solitary ImpDis is characterized by a methylation anomaly within its specific imprinted region. Multilocus imprinting disturbances (MLID) are characterized by methylation abnormalities in several imprinted regions. Four classes of molecular anomalies have been established for ImpDis: deletions/duplications, uniparental disomies, epimutations, and mutations in imprinted genes. MLID are detected more often among patients with epimutations. The causes of MLID are pathogenic variants in genes encoding oocytic and zygotic factors of embryo development, such as *NLRP2*, *NLRP5*, *NLRP7*, *KHDC3L*, *OOEP*, *PADI6*, *TLE6*, *UHRF1*, *ZFP57*, *ARID4A*, *ZAR1*, *ZNF445*, *TRIM28*, involved in the life cycle of imprinting. The presence of causative variants in MLID-associated genes in the family of a patient with MLID significantly increases the risk of reproductive losses and the birth of children with ImpDis and MLID, as opposed to single-locus epimutation within one imprinted chromosomal region, which makes it important to follow-up on MLID among patients with single-locus epimutation. In the research, methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification of regions 6q24.2; 7q32.2; 11p15.5; 14q32.2; 15q11.2; 19q13.43; 20q13.32 (MS-MLPA MLID) was applied to 209 DNA samples of patients both sexes. In a group of patients with previously confirmed ImpDis without CNVs (113 samples), previous results were confirmed in 113 cases, and MLID were additionally detected in 7 (6.2%) cases. The comparison of ImpDis's spectrum between samples with previously confirmed ImpDis without CNVs and newly identified diagnosis shows an increase in the detection of the Temple syndrome from 1 (0.9%) case to 5 (15.2%) cases using MS-MLPA MLID. Among group of patients with previously unconfirmed diagnoses (25 samples), not only have we successfully confirmed diagnoses with molecular genetics in 6 (24.0%) cases, but also, we have identified methylation abnormalities different from the expected clinical syndromes in 2 (8.0%) cases, and MLID in 4 cases (16.0%). In the group of patients newly referred for the diagnosis (56 samples), clinical diagnoses were confirmed by molecular genetics in 17 (30.4%) cases, different molecular disorders were detected in 3 (5.4%) cases, MLID were detected in 1 case (1.8%). Based on the results of the assessment of the phenotype of patients with MLID, it is shown, that the phenotypic signs of MLID may coincide with the signs of known ImpDis, partially overlap with the signs of some known ImpDis and can be non-specific, which makes clinical diagnosis difficult. During the whole-genome analysis of patient with TNDM-MLID, previously undescribed homozygous variant NM_001109809.4.8(*ZFP57*): c.115delG (p.Val39fs) has been revealed and assessed as likely pathogenic (PVS1+PM2) according to ACMG criteria. Both parents are heterozygous carriers, which determines the risk of rebirth of a child with TNDM- MLID at 25%. Based on the results of the research, the algorithm for the diagnosis of ImpDis has been proposed, with MS-MLPA MLID as first-line test.

Keywords: imprinting disorders, multilocus imprinting disturbances, DNA diagnostics, MS-MLPA.

For citation: Panchenko E.G., Simonova O.A., Reshetnikova A.A., Efremova A.V., Chesnokova G.G., Sigin V.O., Ageeva F.A., Volodin I.V., Nikolaeva A.F., Kazakova S.A., Musatova V.V., Nemtsova M.V., Zaletaev D.V., Strelnikov V.V. Multilocus imprinting disturbances in the structure of imprinting disorders in the Russian Federation. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2024; 23(12): 44-57. (In Russian).

Corresponding author: Elizaveta G. Panchenko; **e-mail:** pangen1994@gmail.com

Funding. The study was carried out according to the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for the Research Centre for Medical Genetics.

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

Accepted: 3.12.2024

Введение

На данный момент известно несколько болезней геномного импринтинга (БГИ), которые могут проявляться как самостоятельными, так и перекрывающимися клиническими симптомами, включая малые аномалии развития, врожденные пороки развития, метаболические нарушения, а также особенности ин-

теллектуального, моторного и физического развития. Обычно у пациента с определенной БГИ наблюдается поражение одного специфического дифференциально метилированного района (ДМР), однако все чаще сообщается о пациентах с множественными аномалиями импринтированных районов и генов (MLID). Совре-

менные авторы относят термин MLID к молекулярной характеристике, а для обозначения фенотипа предлагается использовать термин “синдром мультилокусного импринтинга” (MLIS) при неспецифических клинических признаках и ...-MLID при каком-либо преобладающем симптомокомплексе, например, синдром Беквита-Видеманна в рамках MLID (СБВ-MLID) [1].

Причины БГИ включают четыре класса молекулярно-генетических изменений: вариации числа копий генов, однородительские дисомии (ОРД), aberrантное метилирование (эпимутации) и патогенные варианты в импринтированных генах [2]. Для некоторых БГИ основным молекулярным механизмом являются эпимутации. Термин «эпимутация» описывает aberrантный паттерн метилирования ДНК и/или модификации гистонов в центре импринтинга (ЦИ), который влияет на регуляцию импринтированных локусов без нарушения последовательности геномной ДНК в соответствующем ЦИ. MLID чаще всего ассоциированы с эпимутациями. При синдромах Ангельмана (СА) и Прадера-Вилли (СПВ), причинами которых, в подавляющем большинстве случаев, являются нарушения копийности генов и ОРД, MLID встречаются редко. При синдромах Беквита-Видемана (СБВ), Рассела-Сильвера (СРС), транзиторном неонатальном сахарном диабете (ТНСД) и псевдогипопаратиреозе типа 1В (ПГП типа 1В), где эпимутации встречаются чаще, – напротив, MLID обнаруживаются в 10-50% [3, 4].

Эпимутации подразделяются на первичные и вторичные. Первичные эпимутации определяются как изолированные изменения метки импринтинга без какого-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) [5].

Транс-регуляторные варианты ДНК, приводящие к MLID, могут быть выявлены в генах, кодирующих ооцитарные и зиготические факторы развития эмбриона, такие как *NLRP2*, *NLRP5*, *NLRP7*, *KHDC3L*, *OOEP*, *PADI6*, *TLE6*, *UHRF1*, *ZFP57*, *ARID4A*, *ZAR1*, *ZFP42*, *ZNF445*, *TRIM28* [3, 5-8]. 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». Женщины-носительницы вариантов в MLID-ассоциированных

генах имеют риск репродуктивных нарушений, таких как рецидивирующие потери беременности и молярная беременность; кроме того, у них описано рождение детей с генетическими аномалиями, такими как анеуплоидии и MLID. Помимо вариантов в генах подкоркового материнского комплекса, транс-регуляторные варианты при MLID были обнаружены в генах *ZFP57*, *ZNF445*, *ZAR1*, *TRIM28* и *ZFP42*.

MLID являются актуальной 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 ДМР, поскольку в семьях пациентов с MLID необходимо проводить медико-генетическое консультирование с дальнейшим поиском генетических вариантов в MLID-ассоциированных генах, для установления риска повторного рождения детей с БГИ.

Методы

Выделение ДНК

Материалом для исследования служила ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови пациентов. Для анализа использовали 2-3 мл венозной крови, взятой в стерильную пробирку с консервантом ЭДТА. Пробирку с кровью до исследования хранили в холодильнике при +4°C – +8°C не более двух суток, или замораживали до -20°C для более длительного хранения. Выделение ДНК проводили путём фенол-хлороформной экстракции, включающей этапы лизиса клеток, депротенинизации протеиназой, фенолом и хлороформом, центрифугирования для удаления денатурированных белков и фрагментов клеточных органелл, осаждения ДНК из раствора этанолом и растворения осадка в буферном растворе [9].

Метилчувствительная лигаза-зависимая амплификация зондов

Для проведения метилчувствительной мультиплексной лигаза-зависимой амплификации зондов (МЧ-MLPA) использовали 209 образцов ДНК пациентов обоих полов (из них 128 – с ранее подтвержденным диагнозом БГИ, 81 – с впервые выявленными БГИ). МЧ-MLPA – метод, предполагающий анализ числа копий и статуса метилирования импринтированных районов хромосом [10]. Анализ числа копий импринтированных районов 6q24.2; 7q32.2; 11p15.5; 14q32.2; 15q11.2; 19q13.43; 20q13.32 и статуса их метилирования

проводился методом МЧ-MLPA с помощью реактивов «SALSA MLPA Probemix ME034 Multi-locus Imprinting» производителя MRC Holland по стандартному протоколу. Этапы МЧ-MLPA включали денатурацию ДНК, добавление смеси с зондами на участки 6q24.2; 7q32.2; 11p15.5; 14q32.2; 15q11.2; 19q13.43; 20q13.32 с последующей инкубацией длительностью 18 часов, разделение после инкубации смеси на 2 порции, в одну из которых добавляли смесь с лигазой, в другую — с лигазой и метилчувствительной рестриктазой HhaI, далее добавляли смесь для амплификации зондов. По окончании реакции проводили фрагментный анализ числа копий и статуса метилирования, интерпретацию которого осуществляли с помощью программного обеспечения «Coffalyser».

Статистический анализ

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программ Excel 2019 и Statistica 10 (критерии «two tailed p value for Fisher's Exact test» и «p value for Mann-Whitney U test»).

Результаты

Оценка вклада MLID в структуру болезней геномного импринтинга

Методом МЧ-MLPA на MLID исследовано 194 образца ДНК пациентов, из которых 113 — с ранее под-

твержденным диагнозом БГИ без нарушений копийности ДНК (CNVs), 25 — с ранее неподтвержденным диагнозом БГИ, 56 — впервые направленные на диагностику БГИ. Спектр диагнозов БГИ, определенных по результатам молекулярного анализа в каждой из этих групп пациентов, представлен на **рис. 1–3**.

В выборке образцов с ранее подтвержденными диагнозами БГИ без CNVs (113 образцов) методом МЧ-MLPA на MLID удалось молекулярно-генетически валидировать ранее полученные данные в 113 случаях. Подозреваемый клинический диагноз был подтвержден в 105 случаях (92,9%) и были выявлены молекулярно-генетические изменения, характерные для СА при подозреваемом клинически СПВ в 1 случае (0,9%). MLID выявлен в 7 случаях (6,2%): у 5 пациентов с ранее диагностированными СБВ, у 1 пациента с ТНСД и у 1 пациента с СА (**рис. 4**). МЧ-MLPA MLID позволяет проводить в ряде случаев коррекцию диагноза до MLID (6,2%, two tailed p value for Fisher's Exact test = 0,014), что подтверждает целесообразность применения МЧ-MLPA MLID с целью дообследования пациентов с ранее выявленными БГИ.

Сравнение спектра выявленной патологии (**рис. 5**) в группе пациентов с впервые выявленным диагнозом БГИ (ранее не подтвержденные + направленные впервые — 33 образца) и ранее подтвержденным без CNVs (113 образцов) выявило отсутствие статистически значимых отклонений для большинства БГИ за исключе-

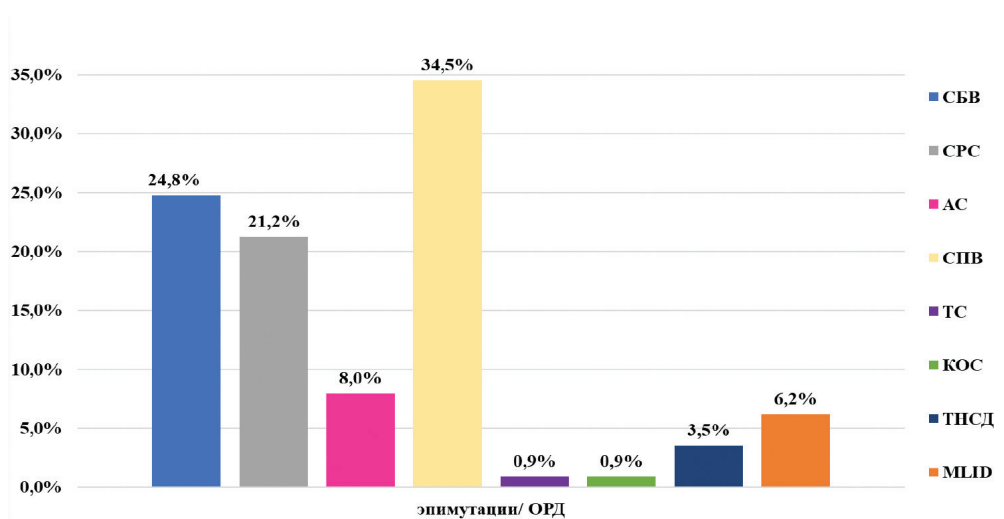


Рис. 1. Спектр БГИ, определенный методом МЧ-MLPA на MLID, в группе пациентов с ранее подтвержденными диагнозами БГИ без CNVs.

Fig. 1. The spectrum of ImpDis has been detected by the MS-MLPA-MLID method among patients with previously confirmed diagnoses of ImpDis without CNVs.

нием синдрома Темпл (ТС) (p value for Mann-Whitney U test = 0,0003). Статистически значимое повышение частоты выявляемости ТС в группе пациентов с впервые выявленными БГИ может быть связано с лучшей клинической выявляемостью с момента внедрения МЧ-MLPA MLID и осведомленностью о возможности

такой диагностики, так как для диагностики ТС, в отличие от других БГИ, ранее не использовались целевые панели MLPA.

В группе с ранее не подтвержденными диагнозами БГИ (25 образцов) методом МЧ-MLPA MLID удалось молекулярно-генетически подтвердить клинические

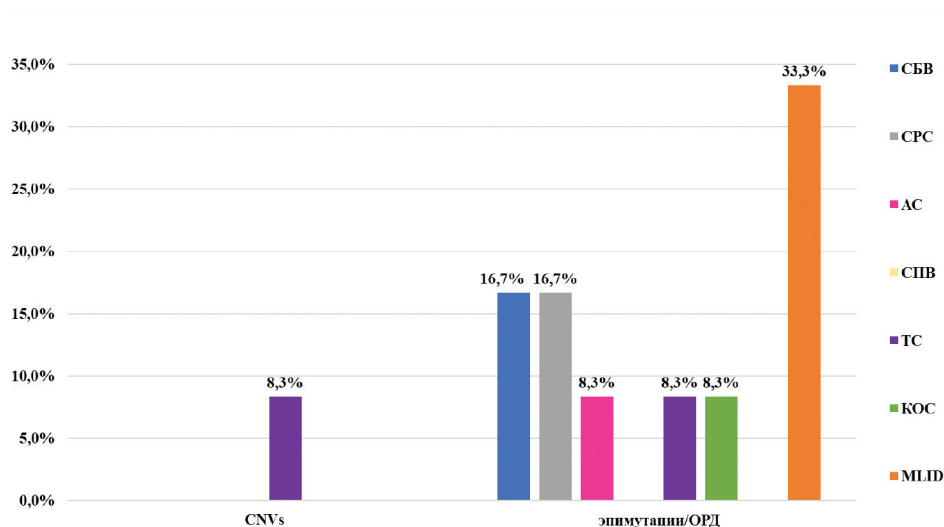


Рис. 2. Результаты исследования в группе пациентов с ранее не подтвержденными диагнозами БГИ.

Fig. 2. Results of the research among patients with previously unconfirmed diagnoses of ImpDis.

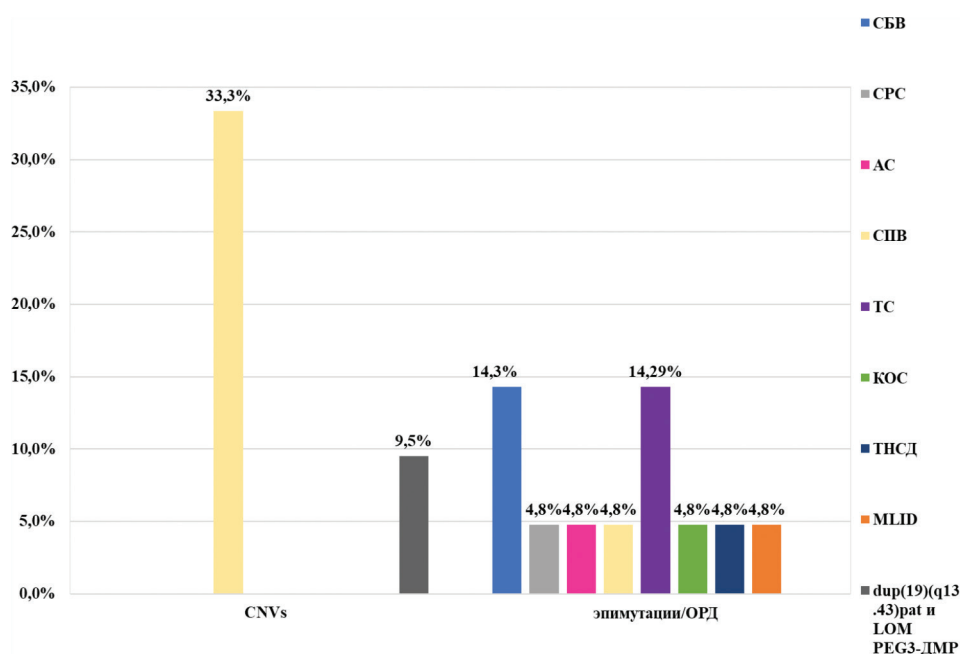


Рис. 3. Результаты исследования в группе пациентов, впервые направленных на диагностику БГИ.

Fig. 3. Results of the research among patients newly referred for analysis of ImpDis.

диагнозы в 6 (24,0%) случаях и выявить другие аномалии метилирования в 2 (8,0%) случаях, а именно, характерные для ТС при подозревается клинически диагнозе СПВ, и гипометилирование (LOM) *MEG8*-ДМР при подозревается клинически диагнозе СРС. MLID выявлены в 4 случаях (16,0%). В 13 случаях (52%) аномалии метилирования выявлены не были (рис. 6).

В группе пациентов, впервые направленных на диагностику БГИ, методом МЧ-MLPA MLID (56 образцов) удалось молекулярно-генетически подтвердить клинические диагнозы в 17 (30,4%) случаях, выявить другие молекулярные нарушения, а именно, дупликацию 19q13.43 и гипометилирование *PEG3*-ДМР (у двух родных сестер при подозревается клинически ТС), а также пограничные изменения метилирования, характерные для ТНСД при подозревается клинически диагнозе СБВ в 3 (5,4%) случаях. MLID были выявлены в 1 случае (1,8%), где клинически проводилась дифференциальная диагностика между СПВ и ТС. В 35 случаях (62,5%) аномалии метилирования выявлены не были (рис. 7).

Эпигенотипы и фенотипы MLID

Суммарно MLID выявлены в 12 (6,18%) случаях. Эпигенотип пациентов с СБВ-MLID включает гипометилирование (LOM) *KCNQ1OT1*, *GRB10*, *MEST*

(пациент №1). Пример положительного результата анализа на MLID представлен на рис. 8. Помимо вышеуказанного примера у пациентов с СБВ-MLID выявлены эпигенотипы, включающие сочетания LOM *KCNQ1OT1* с LOM *PLAGL1*, *GRB10* (пациент №3), *GNASXL* (1 зонд из 2) (пациент №4), гиперметилированием (GOM) *NESP55* и LOM *GRB10*, *MEST*, *GNAS-AS1*, *GNASXL*, *GNAS A/B* (пациенты №7 и 10).

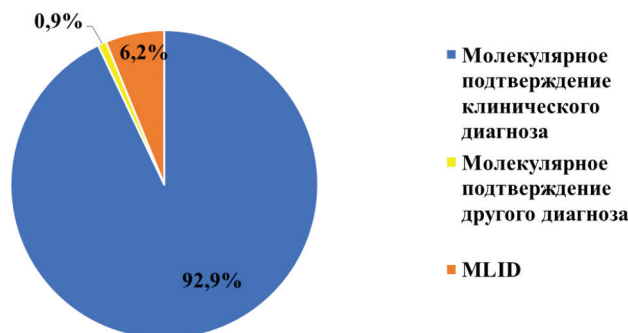


Рис. 4. Результаты исследования в группе пациентов с ранее подтвержденными диагнозами БГИ без CNVs.

Fig. 4. Results of the research among patients with previously confirmed diagnoses of ImpDis without CNVs.

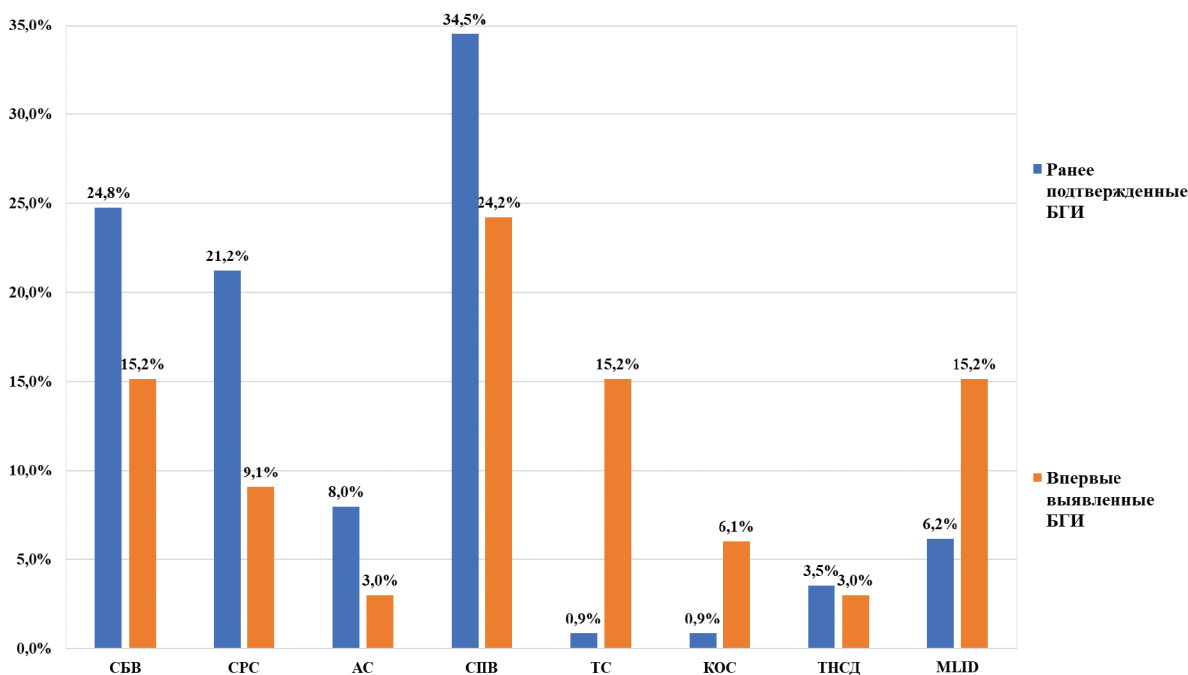


Рис. 5. Сравнение спектра БГИ в группах пациентов с впервые выявленными и ранее подтвержденными БГИ.

Fig. 5. The comparison of ImpDis's spectrum between groups of patients with newly identified and previously confirmed diagnoses.

Сопоставление фенотипов диагностированных нами пациентов №3, №5 и №10 с СБВ-MLID с признаками СБВ согласно консенсусу [11] представлено в табл. 1. Данные о фенотипе пациентов №1 и №4 получить не удалось.

Эпигенотип пациента с СА-MLID включает LOM *SNRPN* и *MEST* (пациент №5). Сопоставление фено-

типа СА-MLID с признаками СА согласно консенсусу [12] представлено в табл. 2.

Эпигенотипы пациентов с CPC-MLID включают LOM *H19* и GOM *SNRPN* (1 зонд из 2) (пациент №2), LOM *MEG3* (1 зонд из 2), *GRB10* (1 зонд из 2), *PEG3* (1 зонд из 3) (пациент №6). Сопоставление фенотипа CPC-MLID с признаками CPC представле-

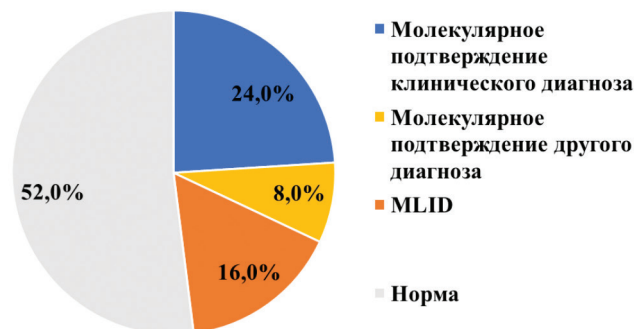


Рис. 6. Результаты исследования в группе пациентов с ранее не подтвержденными диагнозами БГИ.

Fig. 6. Results of the research among patients with previously unconfirmed diagnoses of ImpDis.

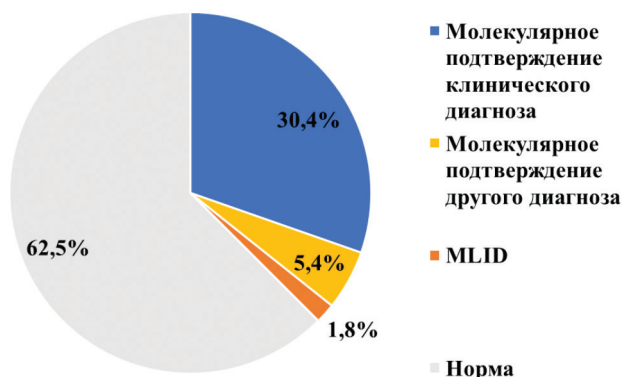


Рис. 7. Результаты исследования группы пациентов, впервые направленных на диагностику БГИ.

Fig. 7. Results of the research among patients newly referred for analysis of ImpDis.

ratio overview		statistics	chart statistics	Probe target info		AllSamples		ReferenceSamples							
				1-r-	1-r+	k+1-r-	k+1-r+	k+2-r-	k+2-r+	k+3-r-	k+3-r+				
FRSS (n=7)		n/a		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
CAS (n=5)		n/a		60%	60%	85%	85%	85%	85%	85%	85%	85%	85%	85%	85%
Paternally i...	H19-1 [Hhal]	11-001.975970		1,04	0,61	1,04	0,51	0,97	0,46	0,99	0,53				
	H19-1 [Hhal]	11-001.976110		1,01	0,5	1,08	0,53	0,9	0,58	1,04	0,5				
	H19-1 [Hhal]	11-001.976280		1,03	0,57	1,05	0,59	0,93	0,53	1,03	0,52				
	MEG3-1 [Hhal]	14-100.361810		1,11	0,55	1,03	0,53	0,93	0,58	1,04	0,51				
	MEG3-1a [Hh...]	14-100.362090		1,01	0,49	0,96	0,55	1,01	0,46	1,04	0,52				
	NESP55-1 [H...]	20-056.848340		0,99	0,56	0,95	0,51	1,01	0,54	1,05	0,48				
Maternally i...	PLAGL1-2 [H...]	06-144.370610		1,02	0,46	1,03	0,57	0,95	0,53	1,03	0,51				
	PLAGL1-2 [H...]	06-144.370970		1,23	0,55	1,27	0,55	0,77	0,66	1,09	0,61				
	GRB10-Intr. 1...	07-050.818010		1,11	0,1	1,05	0,59	0,93	0,56	1,03	0,55				
	GRB10-Intr. 1...	07-050.818250		1,1	9%	1	0,53	0,95	0,51	1,05	0,47				
	MEST-1 [Hhal]	07-129.918600		0,94	0,11	0,98	0,53	0,98	0,53	1,04	0,5				
	MEST-1 [Hhal]	07-129.919380		1	8%	1,04	0,51	0,98	0,53	0,99	0,54				
	KCNQ1OT1-1...	11-002.677130		1,02	0,1	1,01	0,57	0,96	0,58	1,03	0,58				
	KCNQ1OT1-1...	11-002.677610		1,14	5%	1,04	0,56	0,87	0,56	1,13	0,52				
	MEG8-6 [Hhal]	14-100.440560		0,99	0,48	1	0,48	1,06	0,45	0,94	0,54				
	MEG8-Intr 5 [H...]	14-100.440680		1,04	0,54	1,02	0,46	1,06	0,46	0,93	0,56				
	SNRPN-Intr. 2...	15-022.751230		1,05	0,5	1,11	0,56	0,89	0,56	1,03	0,53				
	SNRPN-Intr. 2...	15-022.752250		1,02	0,51	1,08	0,51	0,96	0,53	0,97	0,51				
	PEG3-1 [Hhal]	19-062.041790		0,97	0,44	1,06	0,47	0,98	0,54	0,96	0,56				
	PEG3-1 [Hhal]	19-062.043520		1,07	0,5	1,08	0,53	0,91	0,61	1,03	0,55				
	PEG3-1 [Hhal]	19-062.044040		0,93	0,57	1,04	0,5	0,99	0,56	0,97	0,53				
	GNAS-AS1-1...	20-056.859420		1,08	0,54	1,05	0,57	0,91	0,56	1,05	0,52				
	GNASXL-1 [H...]	20-056.863530		1,05	0,59	1,03	0,48	1	0,54	0,97	0,53				
	GNASXL-1 [H...]	20-056.863600		0,99	0,55	1,02	0,43	0,93	0,49	1,05	0,4				
	GNAS A/B-1 [H...]	20-056.897780		1,12	0,54	1,1	0,47	0,91	0,56	1,02	0,54				

Рис. 8. Пример результата анализа пациента с MLID. Выявлены LOM *GRB10*, *MEST*, *KCNQ1OT1*.

Fig. 8. Example of the patient's MLID result. LOM *GRB10*, *MEST*, *KCNQ1OT1* has been detected.

но в **табл. 3**. Данные о фенотипе пациента № 2 получить не удалось.

Эпигенотип пациента с TC-MLID включает LOM *MEG3, GRB10, KCNQ1OT1, PEG3, GNASXL, GNAS A/B*

и GOM NESP55, *MEG8* (пациент №9). Сопоставление фенотипа пациента с TC-MLID с признаками TC [14; 15; 16; 17] представлено в **табл. 4**.

Таблица 1. Сопоставление фенотипов пациентов с СБВ-MLID с признаками СБВ согласно консенсусу [11] (жирным шрифтом выделены симптомы перекрывания).

Table 1. Comparison of phenotypes of patients with BWS-MLID with features of BWS according to consensus [11] (overlapping symptoms are shown bold).

Клинические признаки СБВ согласно консенсусу [11]	Фенотип пациента с СБВ-MLID №3, возраст 5 мес.	Фенотип пациента с СБВ-MLID №7, возраст 1 год и 4 мес.	Фенотип пациента с СБВ-MLID №10, возраст 4 мес.
<p>Основные: макроглоссия; омфалоцеле; асимметрия тела или его частей; множественные и/или двусторонние опухоли Вильмса или нефробластоматоз; гиперинсулинизм (более 1 недели); цитомегалия коры надпочечников, мезенхимальная дисплазия плаценты или аденоматоз поджелудочной железы. Дополнительные: вес при рождении >2 SDS, невус лица, полигидроамнион или плацентомегалия, ушные складки или ямки, транзиторная гипогликемия сроком менее 1 недели, типичные для СБВ опухоли, нефро- и/или гепатомегалия, пупочная грыжа и/или диастаз прямых мышц живота</p>	<p>макроглоссия двусторонний крипторхизм макростомия седловидная переносица с широким кончиком носа уплощение глазниц и экзофтальм полителития</p>	<p>пупочная грыжа гемигипертрофия туловища слева признаки эктазии правой лоханки, пиелоэктазии слева, увеличения левой почки дефект межжелудочковой перегородки, дилатация правых отделов сердца, дилатация ствола легочной артерии задержка психоречевого развития гиперметропия</p>	<p>макроглоссия пупочная грыжа крипторхизм справа гемангиомы на коже лица и затылка дилатация и гипертрофия левого желудочка сердца гепатомегалия мышечная гипотония макрокrania выступающий затылок широкая переносица низкопосаженные роторванные кпереди ушные раковины гипертелоризм сосков</p>

Таблица 2. Сопоставление фенотипа пациента с CA-MLID с признаками CA согласно консенсусу [12] (жирным шрифтом выделены симптомы перекрывания).

Table 2. Comparison of the phenotype of a patient with AS-MLID with the features of AS according to consensus [12] (overlapping symptoms are shown bold).

Клинические признаки CA согласно консенсусу [12]	Фенотип пациента с CA-MLID №5, возраст 6 лет
<p>Основные: тяжелая задержка развития; атаксия походки и/или дрожащие движения конечностей; сочетание частого смеха/улыбки, гипертормозимость, гипертормозивность, стереотипии часто с поднятыми руками или размахивающими движениями; отсутствие речи или малый словарный запас; навыки невербального общения выше, чем вербальные. Частые: микроцефалия к возрасту двух лет; судороги (дебют до 3 лет); аномальная ЭЭГ с характерным паттерном. Реже, чем у 80% пациентов: уплощенный затылок, затылочная бороздка, широкий рот, широко расставленные зубы, выступающий язык, прогнатия; проблемы со вскармливанием и/или гипотония в младенчестве, слюнотечение, чрезмерное жевание/движение ртом; страбизм; гипопигментированная кожа, светлый цвет волос и глаз по сравнению с членами семьи (наблюдается у лиц с делецией 15q11.2-q13), повышенные глубокие сухожильные рефлексы с нижних конечностей, приподнятое, флексорное положение рук, особенно при ходьбе; повышенная чувствительность к теплу; нарушение циклов сна-бодрствования и снижение потребности в сне; увлечение водой и «сморщенными» видами бумаги и пластика; нарушение пищевого поведения; ожирение (у детей старшего возраста; чаще встречается у тех, у кого нет делеции 15q11.2-q13); сколиоз; констипация</p>	<p>задержка психоречевого развития генерализованная эпилепсия микроцефалия высокий лоб благодушное настроение отсутствие речи неустойчивая походка</p>

Эпигенотип пациентов с ТНСД -MLID включает LOM *PLAGL1*, *GRB10*, *PEG3* (1 зонд из 3), *GNASXL* (1 зонд из 2) (пациент №8) и LOM *PLAGL1*, LOM *MEG3*, GOM *MEG8* (пациент №11) У пациента №11 также выявлена

дупликация *H19* при сохранении моноаллельного метилирования гена *H19*. Для дупликаций *H19* отцовского происхождения характерен фенотип СБВ, тогда как для дупликаций *H19* материнского происхождения – СРС

Таблица 3. Сопоставление фенотипа пациента с СРС-MLID с признаками СРС согласно консенсусу [13] (жирным шрифтом выделены симптомы перекрывания).

Table 3. Comparison of the phenotype of a patient with SRS-MLID with the features of SRS according to consensus [13] (overlapping symptoms are shown bold).

Клинические признаки СРС согласно консенсусу [13]	Фенотип пациента с СРС-MLID №6, возраст 2 года и 10 мес.
<p>Основные: задержка внутриутробного развития (ЗВУР) ≤ -2 SDS; постнатальная задержка роста (рост в 24 ± 1 месяц ≤ -2 SDS или рост ≤ -2 SDS ниже среднего целевого роста родителей); относительная макроцефалия при рождении (окружность головы при рождении $\geq 1,5$ SDS превышает SDS веса и/или длины при рождении); асимметрия тела (несоответствие длины ног $\geq 0,5$ см или асимметрия рук, или несоответствие длины ног $< 0,5$ см по крайней мере с двумя другими асимметричными частями тела (одна - не затрагивающая лицо); выступающий лоб (в возрасте 1-3 года); проблемы со вскармливанием (ИМТ ≤ -2 SDS в возрасте 24 месяца или зондовое питание, или применения препаратов для стимуляции аппетита) Дополнительные признаки: треугольная форма лица, клиннодактилия пятого пальца, ямочки на плечах, микрогнатия с узким подбородком, низкий вес, чрезмерное потоотделение, низко посаженные и/или ротированные назад ушные раковины, опущенные вниз уголки рта, высокий или «скрипучий» голос, выступающие пяточные кости, позднее закрытие родничка, аномалии гениталий у мальчиков, задержка речевого, моторного развития, неровный или скученный зубной ряд, синдактилия пальцев ног, гипогликемия, сколиоз и/или кифоз</p>	<p>задержка внутриутробного развития мышечная гипотония задержка физического развития задержка психомоторного развития гипотрофия страбизм асимметрия ног клиннодактилия и гипоплазия мизинцев щелевая пиелоктазия</p>

Таблица 4. Сопоставление фенотипа пациента с ТС-MLID и признаками ТС (жирным шрифтом выделены симптомы перекрывания).

Table 4. Comparison of the phenotype of a patient with TS-MLID with the features of TS (overlapping symptoms are shown bold).

Клинические признаки ТС [14-17]	Фенотип пациента с ТС-MLID №9, возраст 9 мес.
<p>Основные: ЗВУР; постнатальная задержка роста; задержка моторного и психоречевого развития; проблемы со вскармливанием в младенчестве; относительная макроцефалия; тригоноцефалия; широкий выступающий лоб; короткий нос с уплощенной глабеллой и широким кончиком; короткий фильтр; опущенные углы рта; высокое небо; микрогнатия; гипермобильность суставов. Дополнительные: туловищное ожирение с детского возраста, преждевременное половое созревание, различные аномалии костно-суставной системы, в том числе контрактуры суставов, асимметрия тела, кифосколиоз, акромикрия, клинодактилия, эпикант, миндалевидный разрез глаз, ротированные назад ушные раковины, расщелина неба, крипторхизм и микроорхизм у мальчиков, высокий голос с носовым оттенком, плохая координация движений, рано дебютирующий сахарный диабет 2 типа, гипотиреоз, гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия.</p>	<p>задержка моторного развития мышечная гипотония зондовое питание 7 дней, далее - слабое сосание брахицефалия битемпоральное сужение антимонголоидный разрез глаз маленькие кисти избыточный вес</p>

[18]. Сопоставление фенотипа пациента с ТНСД-MLID и признаками ТНСД согласно консенсусу [19] представлено в **табл. 5**. Данные о фенотипе и происхождении дубликации *H19* пациента № 11 получить не удалось.

Таким образом, фенотип пациентов с СБВ-, СРС- и СА-MLID сопоставим с классическими признаками СБВ и АС (табл. 1, 2, 3), тогда как у пациента с ТС-MLID имеет место СПВ-подобный фенотип (табл. 4), а у пациента с ТНСД-MLID – СБВ-подобный фенотип при отсутствии характерной для ТНСД гипергликемии (табл. 5). Пациенты с СБВ-подобным фенотипом, включающим макроглоссию, пупочную грыжу, и эпигенотипом, включающим *LOM GNAS*, *PLAGL1*, *GRB10* и *MEST*, ранее описаны в литературе, и причинами MLID в этих случаях были варианты в гене *ZFP57* [5, 20]. В свою очередь, «транзиторность» неонатального сахарного диабета может объяснять имеющиеся описания пациентов без диагностированной гипергликемии, а выявление молекулярных изменений, характерных для ТНСД-MLID требует наблюдения пациента в динамике [21].

Отдельно в связи с невозможностью определения ведущего симптомокомплекса в фенотипе следует рассмотреть эпигенотип пациента № 12: *LOM H19*, *MEG3* (1 зонд из 2), *PLAGL1*, *GRB10*, *MEST*, *SNRPN*, *PEG3* (2 зонда из 3). В его фенотипе имеют место признаки нескольких БГИ, а именно:

– СРС – задержка внутриутробного развития (ЗВУР), проблемы со вскармливанием, треугольная форма лица;

– ТС – ЗВУР, проблемы со вскармливанием, акромикрия, туловищное ожирение, ранний дебют сахарного диабета 2 типа, преждевременное половое развитие, гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия, гипотиреоз, плохая координация движений;

– ТНСД – ЗВУР, ранний дебют сахарного диабета 2 типа;

– СА – проблемы со вскармливанием в младенчестве, задержка психоречевого развития, отсутствие речи, неустойчивая походка, страбизм, нарушение пищевого поведения, ожирение.

Пациенты № 8,9 и 12, могут быть отнесены к MLIS [1].

Патогенные варианты в MLID-ассоциированных генах у пациентов с MLID

Суммарно было исследовано 2 генома трио пациентов с MLID.

В семье пациента № 8 полное секвенирование генома у пробанда выявило ранее не описанный гомозиготный вариант NM_001109809.4.8(*ZFP57*): c.115delG (p.Val39fs), который, согласно критериям ACMG, был расценен как вероятно патогенный (PVS1+PM2). У обоих родителей вариант NM_001109809.4.8(*ZFP57*):c.115delG (p.Val39fs) выявлен в гетерозиготном состоянии (**рис. 9**).

Мутации в гене *ZFP57* ранее описаны у пациентов с аналогичным эпигенотипом, характерным для ТНСД-MLID [5], что подтверждает необходимость дальнейшего полногеномного исследования пациентов с MLID и их семей ввиду увеличения риска повторного рождения больного ребенка до 25%.

В семье пациента № 9 полное секвенирование генома не выявило причин MLID. У пробанда был выявлен ранее не описанный гетерозиготный вариант NM_005664.4(*MKRN3*): c.76G>T, p.(Gly26Cys), который, согласно критериям ACMG, был расценен как вариант неопределенного значения (PM2). Вариант унаследован от матери, которая в анамнезе

Таблица 5. Сопоставление фенотипа пациента с ТНСД-MLID и признаками ТНСД консенсусу [19] (жирным шрифтом выделены симптомы перекрывания).

Table 5. Comparison of the phenotype of a patient with TNDM-MLID with the features of TNDM according to consensus [19] (overlapping symptoms are shown bold).

Клинические признаки ТНСД согласно консенсусу [19]	Фенотип пациента с ТНСД-MLID №8, возраст 1,5 мес.
Основные: ЗВУР; транзиторный неонатальный сахарный диабет (в течение нескольких недель или месяцев после рождения, может рецидивировать позже); гипергликемия без кетоацидоза; дегидратация Дополнительные: макроглоссия , пупочная грыжа	макроглоссия аномалии сердца: открытое овальное окно, открытый артериальный проток ускоренное физическое развитие

имеет преждевременное половое созревание. Ген *MKRN3* ассоциирован с преждевременным половым созреванием при передаче отцовского мутантного аллеля [22] Для уточнения факта родительской передачи варианта проводится дообследование членов семьи.

Обсуждение

На примере пациентов с СБВ-, СРС- и СА-MLID, выявлена схожесть клинических проявлений с однолокусными аномалиями метилирования при СБВ, СРС и СА, что определяет необходимость дообследования таких пациентов на MLID, так как клинически дифференцировать состояния однолокусного и мультилокусных аномалий метилирования затруднительно и пациент может остаться не дообследованным, что чревато неверным расчетом риска для последующего деторождения в семье.

Также показано, что у пациента с ТС-MLID имеет место СПВ-подобный фенотип, а у пациента с ТНСД-MLID – СБВ-подобный фенотип при отсутствии характерной для ТНСД гипергликемии, что определяет целесообразность исследования на MLID с целью анализа большего количества импринтированных районов при отрицательном результате однолокусного тестирования для конкретного заболевания.

Случай пациента №12 с MLID демонстрирует неспецифичность клинических проявлений и сложность выделения симптомокомплекса, характерного для определенной БГИ, что, наряду с отрицательными результатами ранее проведенных исследований на отдельный класс мутаций при БГИ (методом ХМА проводился поиск CNVs импринтированных районов хромосом дает возможность применения широкого исследования сразу нескольких импринтированных районов на предмет аномалий метилирования.

Резюмируя полученные молекулярно-генетические, статистические и клинические данные можно предложить тестирование на MLID, как скрининговый тест для выявления БГИ и MLID, который позволяет диагностировать различные CNVs и аномалии метилирования одновременно в пределах районов 6q24.2; 7q32.2; 11p15.5; 14q32.2; 15q11.2; 19q13.43; 20q13.32. Применение такой методики, как теста первой линии, позволит быстрее установить диагноз БГИ и MLID при узнаваемом фенотипе БГИ, а при СПВ-подобном и СБВ-подобном фенотипах и при неспецифичном фенотипе с несколькими признаками разных БГИ исключить проблемы недообследования на MLID и неверного расчета риска для последующего деторождения в семье [23]. Схема обследования представлена на рис. 10.

Представленная схема не включает тестирование такого класса аномалий, как мутации в импринтированных генах, так как такое исследование выполняет-

Таблица 6. БГИ, для которых характерны мутации в импринтированных генах (в скобках указано родительское наследование мутантного аллеля).

Table 6. ImpDis caused by mutations in imprinted genes (parental inheritance of the mutant allele is indicated in brackets).

Болезнь геномного импринтинга	ОМIM#	Ген
Синдром Бирка–Барела (БиБарС)	612292	<i>KCNK9</i> (♀)
Синдром Рассела–Сильвера (СРС)	180860	<i>CDKN1C</i> (♀), <i>IGF2</i> (♂ CPC 3), <i>PLAG1</i> (CPC 4), <i>HMG2</i> (CPC 5)
Синдром Беквита–Видеманна (СБВ)	130650	<i>CDKN1C</i> (♀)
Синдром задержки внутриутробного развития, метафизарной дисплазии, врожденной гипоплазии надпочечников и аномалии половых органов (IMAGe)	614732	<i>CDKN1C</i> (♀)
Синдром Ангельмана (СА)	105830	<i>UBE3A</i> (♀)
Синдром центрального преждевременного полового созревания типа 2 (СЦППС2)	615346	<i>MKRN3</i> (♂)
Синдром Шаафа–Янга (СШЯ)	615547	<i>MAGEL2</i> (♂)
Псевдогипопаратиреоз типа 1А (ПГП типа 1А)	103580	<i>GNAS</i> (♀)
Псевдогипопаратиреоз типа 1С (ПГП типа 1С)	612462	<i>GNAS</i> (♀)
Псевдогипопаратиреоз (ППГП)	612463	<i>GNAS</i> (♂)
Прогрессирующая костная гетероплазия (ПКГ)	166350	<i>GNAS</i> (♂)

ся специально при тех БГИ, для которых они наиболее характерны (табл. 6).

Исследование на MLID в настоящий момент осуществляется с использованием панели МЧ-MLPA-MLID, включающей наиболее хорошо описанные импринтированные районы, ассоциированные с БГИ. Однако исследование на MLID может быть расши-

рено за счет включения импринтированных районов, чья связь с заболеваниями на данный момент не установлена, путем анализа генома методом длинных прочтений, по результатам которого можно будет установить аномалии метилирования за пределами ассоциированных с заболеваниями импринтированных районов, что позволит улучшить диагностику MLID и даст воз-

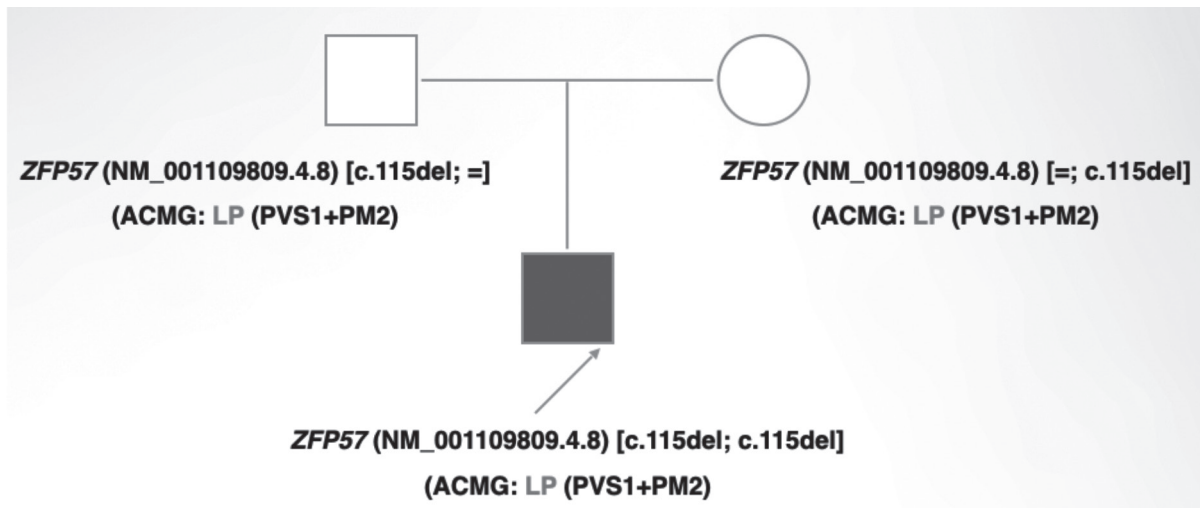


Рис. 9. Родословная пациента № 8 с MLID.

Fig. 9. Pedigree of patient № 8 with MLID.



Рис. 10. Общий алгоритм диагностики БГИ, направленная на поиск CNVs, аномалий метилирования и ОРД, ассоциированных с районами 6q24.2; 7q32.2; 11p15.5; 14q32.2; 15q11.2; 19q13.43; 20q13.32.

Fig. 10. Diagnostic algorithm of ImpDis aimed at searching for CNVs, aberrant methylation and UPDs associated with the regions 6q24.2; 7q32.2; 11p15.5; 14q32.2; 15q11.2; 19q13.43; 20q13.32.

можность получить сведения о фено-эпигенотипических корреляциях с целью определения характеристик неизученных импринтированных районов с точки зрения влияния на фенотип [1].

При исследовании MLID-ассоциированных генов в рамках геномного секвенирования в семьях пациентов с MLID удается обнаружить патологию, однако выявляемость остается невысокой, что соответствует данным литературы, где каузативные варианты в MLID-ассоциированных генах выявляются примерно в 30% семей с MLID [5]. Вероятно, полногеномные исследования трио могут быть полезны для увеличения вероятности диагностических находок и расширения списка MLID-ассоциированных генов.

Литература

- Mackay D.J.G., Gazdag G., Monk D. et al. Multi-locus imprinting disturbance (MLID): interim joint statement for clinical and molecular diagnosis. *Clin Epigenet.* 2024; 16: 99. <https://doi.org/10.1186/s13148-024-01713-y>.
- Elbracht M., Binder G., Hiort O., et al. Clinical spectrum and management of imprinting disorders. *Medizinische Genetik.* 2020;32(4):321-334. <https://doi.org/10.1515/medgen-2020-2044>.
- Khatib H., Zaitoun I., Kim ES. Comparative analysis of sequence characteristics of imprinted genes in human, mouse, and cattle. *Mamm Genome.* 2007; 18: 538–547. <https://doi.org/10.1007/s00335-007-9039-z/>
- Stelzer Y., Sagi I., Yanuka O., et al. 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):551-7. doi: 10.1038/ng.2968.
- Eggermann T., Yapici E., Bliok 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.
- Sazhenova E.A., Lebedev I.N. Epigenetic mosaicism in genomic imprinting disorders. *Russian Journal of Genetics.* 2019;55(10):1196-1207. Doi: 10.1134/S1022795419100119.
- Zaletaev 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.
- 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. <https://doi.org/10.1186/s13148-023-01453-5>.
- Javadi A., Shamaei M., Mohammadi Ziazi L., et al. Qualification study of two genomic DNA extraction methods in different clinical samples. *Tanaffos.* 2014;13(4):41-47.
- Moelans C.B., Atanesyan L., Savola S.P., van Diest P.J. Methylation-Specific Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MS-MLPA). *Methods Mol Biol.* 2018;1708:537-549. doi: 10.1007/978-1-4939-7481-8_27.
- 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. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.166>.
- 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):413-8. doi: 10.1002/ajmg.a.31074.
- Wakeling E.L., Brioude F., Lokulo-Sodipe 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.
- 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.
- Ioannides Y., Lokulo-Sodipe K., Mackay D.J., et al. Temple syndrome: improving the recognition of an underdiagnosed chromosome 14 imprinting disorder: an analysis of 51 published cases. *J Med Genet.* 2014;51(8):495-501. doi: 10.1136/jmedgenet-2014-102396.
- Prasasya R., Grotheer K.V., Siracusa L.D., Bartolomei M.S. Temple syndrome and Kagami-Ogata syndrome: clinical presentations, genotypes, models and mechanisms. *Hum Mol Genet.* 2020;29(R1):R107-R116. doi: 10.1093/hmg/ddaa133.
- Gillissen-Kaesbach G., Albrecht B., Eggermann T., et al. Molecular and clinical studies in 8 patients with Temple syndrome. *Clin Genet.* 2018;93(6):1179-1188. doi: 10.1111/cge.13244.
- Eggermann T., Kraft F., Kloth K., et al. Heterogeneous phenotypes in families with duplications of the paternal allele within the imprinting center 1 (H19/IGF2:TSS-DMR) in 11p15.5. *Clin Genet.* 2020;98(4):418-419. doi: 10.1111/cge.13820.
- 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/peidi.13426 (19).
- Docherty L.E., Kabwama S., Lehmann A., et al. Clinical presentation of 6q24 transient neonatal diabetes mellitus (6q24 TNDM) and genotype-phenotype correlation in an international cohort of patients. *Diabetologia.* 2013;56(4):758-62. doi: 10.1007/s00125-013-2832-1.
- Mackay D.J., Callaway J.L., Marks S.M., et al. Hypomethylation of multiple imprinted loci in individuals with transient neonatal diabetes is associated with mutations in ZFP57. *Nat Genet.* 2008;40(8):949-51. doi: 10.1038/ng.187.
- Зубкова Н.А., Колодкина А.А., Макрецкая Н.А., и др. Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика 3 семейных случаев гонадотропинзависимого преждевременного полового развития, обусловленного мутациями в гене MKRN3. *Проблемы Эндокринологии.* 2021;67(3):55-61. <https://doi.org/10.14341/probl12745>
- Eggermann T. Human Reproduction and Disturbed Genomic Imprinting. *Genes (Basel).* 2024;15(2):163. doi: 10.3390/genes15020163.

References

- Mackay D.J.G., Gazdag G., Monk D. et al. Multi-locus imprinting disturbance (MLID): interim joint statement for clinical and molecular diagnosis. *Clin Epigenet.* 2024; 16: 99. <https://doi.org/10.1186/s13148-024-01713-y>.
- Elbracht M., Binder G., Hiort O., et al. Clinical spectrum and management of imprinting disorders. *Medizinische Genetik.* 2020;32(4):321-334. <https://doi.org/10.1515/medgen-2020-2044>.
- Khatib H., Zaitoun I., Kim ES. Comparative analysis of sequence characteristics of imprinted genes in human, mouse, and cattle. *Mamm Genome.* 2007; 18: 538–547. <https://doi.org/10.1007/s00335-007-9039-z/>

4. Stelzer Y., Sagi I., Yanuka O., et al. 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):551-7. doi: 10.1038/ng.2968.
5. Eggermann T., Yapici E., Bliker 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.
6. Sazhenova E.A., Lebedev I.N. Epigenetic mosaicism in genomic imprinting disorders. *Russian Journal of Genetics.* 2019;55(10):1196-1207. Doi: 10.1134/S1022795419100119.
7. Zaletaev 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.
8. 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. <https://doi.org/10.1186/s13148-023-01453-5>.
9. Javadi A., Shamaei M., Mohammadi Ziazi L., et al. Qualification study of two genomic DNA extraction methods in different clinical samples. *Tanaffos.* 2014;13(4):41-47.
10. Moelans C.B., Atanesyan L., Savola S.P., van Diest P.J. Methylation-Specific Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MS-MLPA). *Methods Mol Biol.* 2018;1708:537-549. doi: 10.1007/978-1-4939-7481-8_27.
11. 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. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.166>.
12. 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):413-8. doi: 10.1002/ajmg.a.31074.
13. Wakeling E.L., Brioude F., Lokulo-Sodipe 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.
14. 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/endo/bnad002.
15. Ioannides Y., Lokulo-Sodipe K., Mackay D.J., et al. Temple syndrome: improving the recognition of an underdiagnosed chromosome 14 imprinting disorder: an analysis of 51 published cases. *J Med Genet.* 2014;51(8):495-501. doi: 10.1136/jmedgenet-2014-102396.
16. Prasasya R., Grotheer K.V., Siracusa L.D., Bartolomei M.S. Temple syndrome and Kagami-Ogata syndrome: clinical presentations, genotypes, models and mechanisms. *Hum Mol Genet.* 2020;29(R1):R107-R116. doi: 10.1093/hmg/ddaa133.
17. Gillissen-Kaesbach G., Albrecht B., Eggermann T., et al. Molecular and clinical studies in 8 patients with Temple syndrome. *Clin Genet.* 2018;93(6):1179-1188. doi: 10.1111/cge.13244.
18. Eggermann T., Kraft F., Kloth K., et al. Heterogeneous phenotypes in families with duplications of the paternal allele within the imprinting center 1 (H19/IGF2:TSS-DMR) in 11p15.5. *Clin Genet.* 2020;98(4):418-419. doi: 10.1111/cge.13820.
19. Greeley S.A.W, Polak M., Njølstad 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 (19).
20. Docherty L.E., Kabwama S., Lehmann A., et al. Clinical presentation of 6q24 transient neonatal diabetes mellitus (6q24 TNDM) and genotype-phenotype correlation in an international cohort of patients. *Diabetologia.* 2013;56(4):758-62. doi: 10.1007/s00125-013-2832-1.
21. Mackay D.J., Callaway J.L., Marks S.M., et al. Hypomethylation of multiple imprinted loci in individuals with transient neonatal diabetes is associated with mutations in ZFP57. *Nat Genet.* 2008;40(8):949-51. doi: 10.1038/ng.187.
22. Zubkova N.A., Kolodkina A.A., Makretskaya N.A., et al. Klinicheskaya i molekulyarno-geneticheskaya kharakteristika 3 semeynykh sluchayev gonadotropinzavisimogo prezhdevremennogo polovogo razvitiya, obuslovlennogo mutatsiyami v gene MKRN3 [Clinical and molecular genetic features of 3 family cases of the central precocious puberty, due to MKRN3 gene defects]. *Problemy Endokrinologii [Problems of Endocrinology].* 2021;67(3):55-61. (In Russ.) <https://doi.org/10.14341/probl12745>
23. Eggermann T. Human Reproduction and Disturbed Genomic Imprinting. *Genes (Basel).* 2024;15(2):163. doi: 10.3390/genes15020163.