

ФИЗИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ, БИОФИЗИКА

УДК 577.218

*И. Н. Кабанов, Л. И. Тищенко***ИЗМЕНЕНИЕ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ И ОДНОКОПИЙНЫХ ГЕНОВ ПРИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ И НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЧЕЛОВЕКА**

ДНК позвоночных животных ковалентно модифицируется метилированием цитозина в динуклеотидной последовательности 5'-CpG-3' (где p — фосфат). По последним данным, ДНК из соматических тканей млекопитающих метилирована в 70% всех сайтов CpG. В число высокометилированных последовательностей входят сателлитная ДНК, мобильные элементы, межгенная ДНК и экзоны генов. Однако в геноме позвоночных встречаются CpG-островки, в которых уровень метилирования значительно ниже, чем в геноме в целом. В настоящее время установлено, что CpG-островки находятся в промоторной области и распространяются на первый экзон половины генов. ДНК-метилирование является стабильной эпигенетической модификацией, изменяющей паттерн экспрессии генов. Однако на протяжении жизни особи в профиле метилирования ДНК могут происходить изменения. Эти изменения часто связаны с каким-либо патологическим процессом, например, онкогенной трансформацией, клеточным старением или наследственными заболеваниями. В обзоре рассматриваются изменения в профиле метилирования геномной ДНК при различных патологических состояниях, главным образом, при опухолевых заболеваниях. Приводятся примеры одновременного изменения паттернов метилирования ДНК повторяющихся последовательностей и однокопийных генов. Отмечается, что нарушения в метилировании ДНК, ассоциированные с прогрессией опухоли, связаны с гипометилированием ДНК повторов, гипометилированием промоторов клеточных онкогенов, гиперметилированием генов супрессоров опухолей, мутацией вследствие дезаминирования ДНК. Библиогр. 106 назв. Табл. 2

Ключевые слова: метилирование ДНК, повторяющиеся элементы генома, онкогены, гены-супрессоры опухоли.

CHANGING THE DNA METHYLATION OF REPETITIVE SEQUENCES AND SINGLE-COPY GENES IN CANCER AND OTHER HUMAN DISEASES*I. N. Kabanov, L. I. Tishchenko*

St. Petersburg State University, 7/9, Universitetskaya nab., St. Petersburg, 199034, Russian Federation; ink5@yandex.ru, tishchenko@inbox.ru

The vertebrate DNA is covalently modified by cytosine methylation in dinucleotide sequence 5'-CpG-3' (wherein p — phosphate). According to recent reports, the DNA of mammalian somatic tissues is methylated in 70% of all sites CpG. The highly methylated sequences include satellite DNA, transposable elements, intergenic DNA and genes exons. However, the vertebrate genome contains CpG-islands, which methylation level is much lower than in the whole genome. It is now established that

И. Н. Кабанов (ink5@yandex.ru), Л. И. Тищенко (tishchenko@inbox.ru): Санкт-Петербургский государственный университет, Российская Федерация, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9.

CpG-islands are located in the promoter region and spread over the first exon of 50% of all genes. DNA methylation is a stable epigenetic modification that changes the pattern of gene expression. However, the pattern of methylation may be changed during the individual life. These changes are often associated with any pathological process, such as oncogenic transformation, cell aging or hereditary diseases. Present review considers the changes in genomic DNA methylation profile at various pathological conditions, mainly at the tumor diseases. The review gives examples of simultaneous changes in DNA methylation patterns of repetitive sequences and single-copy genes. It is noted that the disturbances in DNA methylation associated with tumor progression are connected mainly with hypomethylation of DNA repeats, promoter hypomethylation of cellular oncogenes, hypermethylation of tumor suppressor genes, mutation due to deamination of DNA. Refs 106. Tables 2.

Keywords: DNA methylation, transposable elements, oncogenes, tumor suppressor genes.

Введение

Метилирование оснований ДНК было открыто группой Д. Хотчкисса в 1948 г. [1]. ДНК-метилирование является наиболее стабильной эпигенетической модификацией, изменяющей характер экспрессии генов. ДНК позвоночных животных ковалентно модифицируется метилированием цитозина в динуклеотидной последовательности 5'-CpG-3' (где р — фосфат). У млекопитающих «рисунок» метилирования ДНК устанавливается в ходе эмбрионального развития и поддерживается механизмом копирования при делении клеток. Метилирование ДНК катализируется семейством консервативных ДНК-метилтрансфераз. Наследуемость паттернов метилирования ДНК делает эпигенетическую маркировку стабильной в ряду клеточных делений и, следовательно, составляет одну из форм клеточной памяти [2, 3]. Однако паттерны метилирования ДНК не являются постоянными и на протяжении жизни особи могут происходить их изменения. Некоторые из этих изменений могут быть физиологической реакцией клетки на изменения внешней среды, другие же — могут быть связаны с патологическим процессом, например, онкогенной трансформацией или клеточным старением [3]. Метилирование ДНК является важным регуляторным фактором, влияющим на экспрессию генов (как правило, экспрессируются гены со сниженным уровнем метилирования), защищающим от проникновения чужеродной ДНК, а также от распространения ДНК мобильных элементов (МЭ) [4]. Однако внутренние и внешние факторы, инициирующие изменения в метилировании ДНК, остаются малоизученными. Исследование метилирования ДНК представляет собой новую важную область для медицины и, несомненно, внесет свой вклад в понимание влияния эпигенетических факторов на возникновение различных патологий у человека.

Паттерн метилирования ДНК и CpG-островки

ДНК из соматических тканей млекопитающих метилирована в 70% всех сайтов CpG [5]. Ряд исследований показывает, что в число высокометилированных последовательностей входят сателлитные ДНК, МЭ, неповторяющаяся межгенная ДНК и экзоны генов [6, 7]. Сайты CpG в сателлитной ДНК метилируются в той же степени, что и CpG в МЭ или экзонах. Таким образом, большинство последовательностей метилируются в соответствии с частотой находящихся в них динуклеотидов CpG. Основным исключением из этого глобального метилирования являются островки CpG. Островки CpG были выявлены как фракция ДНК позвоночных, которая необычно часто расщепляется рестрикционными ферментами, чувствительными к метилированию ДНК [8].

В CpG-островках неметилированные CpG-динуклеотиды встречаются с существенно большей частотой, чем в геноме в целом.

Другая особенность CpG-островков — это сохранение предсказанной частоты CpG-динуклеотидов. Дело в том, что в процессе эволюции большинство CpG-динуклеотидов в геноме было потеряно в результате дезаминирования метилцитозинов и превращения их в тимины. В геноме человека, например, CpG-динуклеотиды встречаются с частотой в 10–20 раз ниже предсказанной. В отличие от остального генома, небольшие участки ДНК длиной от 0,5 до 4 т.п.н., называемые CpG-островками, сохранили высокую частоту CpG-динуклеотидов [9].

Сегодня чаще всего используется определение «CpG-островков», которое было дано в 1987 г. [9]: CpG-островком называется участок ДНК длиной около 200 п.о. (пар оснований) с содержанием C + G более 50% п.о. и соотношением количество CpG/ожидаемое количество CpG более 0,6. В настоящее время установлено, что CpG-островки находятся в промоторной области и в первом экзоне половины белок-кодирующих генов млекопитающих, включая все гены домашнего хозяйства (англ. — “housekeeping”) и часть тканеспецифичных генов (менее 40%). В геноме человека около 46000 CpG-островков [2].

Общая характеристика изменений метилирования ДНК при онкологических заболеваниях

Первоначально при исследовании изменений метилирования ДНК особое внимание уделялось гипометилированию ДНК (в том числе ДНК промоторов протоонкогенов), которое, как полагали, связано с развитием рака [10]. Однако с середины 1980-х годов большее внимание стали уделять региональному гиперметилированию сайтов промоторов генов, ассоциированных с опухолеобразованием (генов-супрессоров опухоли, ГСО) [11]. Сегодня же неопластические состояния связываются с общим гипометилированием, а также локальным гипо- и гиперметилированием промоторов и других регуляторных элементов протоонкогенов и генов-супрессоров опухоли [12].

Существует несколько способов, с помощью которых метилирование CpG может участвовать в онкогенном фенотипе. Они включают в себя гипометилирование повторов и промоторов онкогенов, гиперметилирование ГСО, а также мутации вследствие дезаминирования CpG-динуклеотидов [13]. Особенно важно, что все эти изменения имеют место одновременно, свидетельствуя о том, что эпигенетические нарушения являются, по-видимому, одними из основных причин возникновения и развития онкологических и некоторых других заболеваний у людей.

Метилированные CpG-динуклеотиды представляют собой горячие точки для мутаций [14]. Это свойство имеет большое значение в случае инактивирующих мутаций ГСО [14]. Анализ ассоциации мутаций ГСО *p53* с сайтами метилирования показал, что в 25% всех проанализированных опухолей мутации в гене *p53* происходят именно в сайтах метилирования (CpG-сайтах и CpG-островках). Что касается колоректального рака, частота подобных мутаций достигает 50% [15]. Как правило, наличие подобных горячих точек возникновения мутаций объясняется предрасположенностью 5-метилцитозина к спонтанному гидролитическому дезаминированию, приводящему к превращению цитозина

в тимин [16]. Мутации могут также происходить из-за нарушений в собственно механизме метилирования, в частности, сбоях в работе ДНК-метилтрансфераз [17], а также дезаминирования цитозина белками семейства АРОВЕС [18].

Общая характеристика метилирования повторяющейся ДНК при онкологических заболеваниях

В 1983 г. впервые было показано, что ДНК опухолевых клеток гипометилирована по сравнению с нормальной ДНК [10, 19]. Хотя индивидуальные гены разнятся по степени гипометилирования, во всех изученных на сегодняшний день типах опухолей, как злокачественных, так и доброкачественных, наблюдается общее снижение метилирования ДНК [10]. Под общим или глобальным метилированием понимается уровень метилирования повторяющейся ДНК [20, 21]. Некоторые ключевые моменты исследований общего уровня метилирования ДНК представлены ниже.

- (I) Степень снижения метилирования ДНК широко варьирует как в одном типе опухоли, так и между ее различными типами. Интересно, что в незначительной части опухолей не показано значимого уменьшения общего уровня 5 мсС (5-метилцитозина). Снижение метилирования ДНК по сравнению с нормальными тканями часто обнаруживается в солидных опухолях. Среди солидных опухолей гипометилирование наиболее выражено в случае рака молочной железы, при котором уровень 5 мсС снижается на 50% [19]. Кроме того, в данном списке стоит упомянуть колоректальный рак, при котором наблюдается снижение уровня метилирования в среднем на 10–30%; предраковые аденомы также отличаются значимым снижением количества 5 мсС [19]. Среди неоплазий системы крови гипометилирование выявлялось при хроническом лимфоцитарном лейкозе (CLL), тогда как в случае хронического (СМЛ) и острого (АМЛ) миелоцитарного лейкозов и множественной миеломы выявлялись незначительные изменения в уровне метилирования, или метилирование значимо не отличалось от нормальных тканей [22].
- (II) Глобальное гипометилирование, вероятно, является ранним событием в случае рака молочной железы и толстой кишки, а также CLL [19, 22]. Для рака толстой кишки также было показано гипометилирование в примыкающих к опухоли здоровых тканях, что наводит на мысль о его роли в инициации заболевания [23]. В этом контексте стоит вспомнить забытую сегодня теорию опухолевого поля Фулдса: вокруг опухоли существует пул здоровых клеток, способных превращаться в раковые [24]. Для других опухолей, например печеночноклеточной карциномы [25], степень гипометилирования увеличивается со стадией или гистологической градацией (степенью) опухоли. Таким образом, время наступления глобального деметилирования и его роль в становлении и прогрессии рака может отличаться у разных опухолей.
- (III) Показано, что имеется значимое перекрытие уровней метилирования нормальных и опухолевых тканей у разных индивидуумов [19, 26, 27].

Метилирование ДНК повторяющихся последовательностей в норме и в патологии

Все известные повторяющиеся элементы ДНК занимают более 50% генома человека, и их можно разделить на:

- 1) тандемные повторы, такие как ДНК-сателлиты, сосредоточенные преимущественно в перичентромерном и субтеломерном гетерохроматине;
- 2) мобильные элементы (МЭ), которые рассеяны по всему геному. Среди них выделяют ДНК-транспозоны и ретротранспозоны. МЭ способны перемещаться из сайта в сайт либо путем вырезания элемента из одного места в геноме и встраивания в другое, либо путем транскрипции элемента РНК-полимеразой II или III, обратной транскрипции образовавшейся РНК с образованием ДНК-копии и ее внедрения в другое место генома.

В норме все повторяющиеся последовательности ДНК в геноме обычно в значительной степени метилированы [26, 28].

Метилирование тандемных повторов ДНК. Тандемные повторы — короткие последовательности фрагментов ДНК, следующие друг за другом. В зависимости от размера они подразделяются на три класса: сателлиты (более 100 п.н., нередко до 100–1000 т.п.н.), минисателлиты (7–100 п.н.) и микросателлиты (1–6 п.н., например, теломерный повтор TTAGGG). Главные описанные сателлиты ДНК человека (такие как центромерный Sata, прицентромерные Sat2 и Sat3 и субтеломерные повторы) происходят посредством амплификации простых повторяющихся последовательностей [29, 30]. В норме сателлитная ДНК в значительной степени метилирована.

Современные данные свидетельствуют о гипометилировании Sat2- и/или Sata-повторов в случае генетического синдрома ICF (иммунодефицит, нестабильность центромерного региона, аномалии лица) и в случае онкологических заболеваний, включая опухоль Вильмса, рак яичников и молочной железы [29, 30]. Эти работы демонстрируют корреляцию между деметилированием определенных сателлитов и определенной группой заболеваний. Однако связь между гипометилированием повтора и патологическим процессом, а также взаимоотношение между деметилированием различных повторов и данным заболеванием (заболеваниями) изучены недостаточно. До сих пор не ясно, связано ли деметилирование сателлитной ДНК с ранней стадией развития опухоли [29], или является следствием ее развития [30].

К тандемным повторам ДНК также относятся последовательности NBL2 и D4Z4. Длина элемента NBL2 равна 1,4 т.п.н. Данный повтор образует довольно протяженные массивы в коротких плечах акроцентрических хромосом. NBL2-повторы гипометилированы в нейробластомах, печеночноклеточных опухолях, клетках от пациентов с ICF, но их общий уровень метилирования остается высоким в неоплазиях яичника и опухоли Вильмса [31]. Стоит также отметить, что в массивах повторов NBL2 при одних и тех же онкологических заболеваниях (опухоли яичников, опухоль Вильмса) может одновременно наблюдаться и снижение, и увеличение уровня метилирования ДНК в зависимости от участка массива [32].

Единичный элемент D4Z4 имеет длину 3,3 т.п.н. В субтеломерных хромосомных регионах 4q и 10q находятся обширные массивы данных повторов, где последовательность D4Z4 тандемно повторяется 10–100 раз. Показано снижение метилирования повторов D4Z4 при различных вариантах рака, в линиях раковых клеток,

при синдроме ICF, в клетках, обрабатываемых деметилирующими агентами, а также в клетках с дефицитом ДНК-метилтрансферазы [33, 34]. Кроме того, показано разнонаправленное изменение метилирования D4Z4 при некоторых неоплазиях и при лицево-лопаточно-плечевой мышечной дистрофии (FSHD).

FSHD является тяжелым доминантно-наследуемым заболеванием, причем основными изменениями наследственного материала при данной патологии являются эпигенетические. Чаще всего при FSHD наблюдается снижение уровня метилирования ДНК D4Z4, но в некоторых случаях также может наблюдаться увеличение степени метилирования ДНК D4Z4 по сравнению с нормальными тканями. Изменение метилирования D4Z4 при опухолях и при FSHD не распространяется на проксимальный участок массива повторов D4Z4, несмотря на консерватизм повторяющихся единиц на протяжении всего массива [35]. Вероятно, это говорит о различной структуре хроматина в начале массива D4Z4 и в более дистальных его участках, что подтверждается данными работ, где была исследована чувствительность ДНК массива повтора D4Z4 к ДНК-азе I [35]. Интересно, что различные участки массива повторов D4Z4 отличаются по уровню G-C пар: в среднем и дистальном отделах массива D4Z4 уровень G + C равен 73%, тогда как в проксимальном отделе длиной около 1 т.п.н. содержание G + C составляет всего 40%, что также говорит о возможной особой функции проксимального участка данного массива [35]. В проксимальном отделе D4Z4 находится последовательность длиной 0,8 т.п.н., именуемая p13E-11 (функция ее неизвестна), являющаяся мишенью гибридационных зондов, используемых для диагностики FSHD [36]. При FSHD наблюдается делеция этой последовательности, что является одним из маркеров данного заболевания [36].

Показана связь между укорочением массива повторов D4Z4 в хромосомном регионе 4q35 и генезом FSHD [37]. В ДНК 95% пациентов с FSHD имеется только от одного до 10 повторов D4Z4 в одном или двух аллельных массивах, расположенных в регионе 4q35, тогда как у здоровых людей в двух данных массивах наблюдается 11–100 повторов D4Z4 [37]. Считается, что именно в проксимальном участке массива D4Z4 расположены дезоксигуанозины, которые участвуют в образовании G-квадруплекса — особой шпильчатой структуры ДНК, образующейся вследствие Хугстиновских взаимодействий пар оснований остатков G, расположенных по соседству или удаленных друг от друга, на одной, двух или четырех нитях ДНК [35]. В случае полноразмерного массива повторов D4Z4 формируется квадруплекс внутри массива, что препятствует развитию заболевания. Если же массив повторов D4Z4 укорочен, то квадруплекс образуется между повторами D4Z4 и далеко отстоящими от них последовательностями в локусе 4q35 (какими именно генами — неизвестно), а иногда и теломерными повторами TTAGGG [35, 38], что ассоциируется с FSHD.

Как говорилось выше, массивы D4Z4 наблюдаются и в регионах 10q и 4q, но с FSHD связан только массив, расположенный в регионе 4q. Короткий массив D4Z4 в 10q является фенотипически нейтральным, несмотря на 99%-ную гомологию массивов в регионах 4q и 10q [35]. Этот факт можно объяснить следующим образом: в патогенезе FSHD важно взаимодействие укороченного массива D4Z4, расположенного в регионе 4q, с отдаленными последовательностями, которые находятся проксимальнее массива и которые не выявляются в 10q [39]. Однако природа этих последовательностей неизвестна [39]. Таким образом, изменение метилирования

повторов D4Z4 играет большую роль в патогенезе и этиологии FSHD, а также в развитии различных опухолей, но данные факты требуют дополнительного изучения.

Метилирование транспозонов. Вероятно, транспозоны — наиболее эволюционно ранние МЭ в геноме человека, они в наибольшей степени дегенерировали из-за внутренних делеций, обрывов концов или обеих причин [40]. Эти элементы имеют длину приблизительно 1300–2400 п.н., несут ORF (открытую рамку считывания), кодирующую фермент транспозазу, который обычно неактивен вследствие нонсенс-мутации или мутации со сдвигом рамки считывания в гене фермента. Однако некоторые транспозоны все же сохраняют свою активность, и их транспозиция может нести потенциальную угрозу стабильности генома [40]. Что касается изменений в метилировании ДНК-транспозонов в патологии, то они изучены недостаточно.

Характеристика ретротранспозонов. Существует два класса ретротранспозонов: LTR-ретротранспозоны, фланкированные длинными концевыми повторами (LTR), — эндогенные ретровирусы и ретротранспозоны без LTR, заканчивающиеся обычно полиаденилатным хвостом (не-LTR), часто упоминаемые как собственно ретротранспозоны. Оба класса ретротранспозонов способны перемещаться и внедряться в другие области генома посредством механизма «копировать—вставить», который вовлекает РНК-интермедиаты. Хотя многие из них дегенерировали, они по-прежнему обладают сильными промоторами, которые могут запускать транскрипцию. Распределение этих элементов по геномам млекопитающих гетерогенно и варьирует в различных частях хромосомы [41, 42].

Метилирование LTR-ретротранспозонов. Эндогенные ретровирусы человека (HERV) напоминают по структуре провирусную ДНК [42], но они потеряли функциональный ген оболочки. В геноме человека было идентифицировано 22 различных семейства HERV, которые разделяются на основании их первичных сайтов связывания с хозяйской тРНК, которая выступает в качестве праймера при репликации вирусного генома [42]. Длина HERV составляет примерно 3,5–10 т.п.о. ДНК эндогенного вируса человека содержит гомологи генов *gag*, *pol*, фланкированные на 5' и 3' концах длинными концевыми повторами. LTR состоит из трех участков, которые носят названия U3 (3'-уникальный район, содержит промотор РНК полимеразы II, энхансер и сайты связывания транскрипционных факторов), R (повторяющийся участок, в нем расположен сигнал полиаденилирования) и U5 (5'-уникальный район, где находится негативный регуляторный элемент). LTR, в свою очередь, фланкированы в геноме короткими прямыми повторами ДНК клетки-хозяина. Многие из HERV-элементов неактивны вследствие неполных последовательностей или наличия мутаций [43]. Транскрипционная активность тех элементов, которые по-прежнему активны, отчасти регулируется метилированием [43].

Снижение уровня метилирования HERV определялось в ограниченном числе видов рака, опухолей из зародышевой ткани, опухолей яичников, яичек и мочевого пузыря [44]. В подобных случаях степень метилирования ДНК HERV снижалась в соответствии со стадией развития опухоли, это снижение часто ассоциировалось с экспрессией данного HERV, что позволяет предложить использование уровня метилирования этих элементов в качестве возможного биомаркера прогрессии опухоли относительно данных групп неоплазий. Увеличение экспрессии HERV наблюдалось и при других заболеваниях, включающих рассеянный склероз, шизофрению, а также в различных линиях опухолевых клеток [45–47]. Однако в данных иссле-

дованиях взаимосвязь между прогрессией заболевания и уровнем метилирования не была оценена, поэтому неясно, является ли изменение экспрессии HERV в этих случаях следствием эпигенетических изменений.

Метилирование не LTR-ретротранспозонов. Данные элементы являются наиболее распространенными ретротранспозонами, занимающими около 30% генома человека [48]. Они делятся на 2 типа: автономные (длинные рассеянные элементы, LINE) и неавтономные (короткие рассеянные элементы, SINE).

Элементы LINE составляют примерно 16,9% генома человека [48]. Полная длина элемента LINE равна 6 т.п.н. Представители данного семейства включают в себя 5'-нетранслируемую область (5'-UTR), содержащую внутренний промотор, две открытые рамки считывания (ORF1 и ORF2), 3'-нетранслируемую область (3'-UTR) и сигнал полиаденилирования AATAAA, за которым следует поли-А хвост (An). ORF1 кодирует РНК-связывающий белок с M_r 40 кДа, а ORF2 — белок, обладающий активностями эндонуклеазы, обратной транскриптазы, содержащий цинк-цинк-подобный мотив. Эти элементы имеют сильные внутренние промоторы и способны к ретротранспозиции и интеграции в новые участки генома. LINE1 транскрибируются РНК-полимеразой II, и их транскрипты атипичны для мРНК млекопитающих, так как они бицистронны [48].

В эволюционном плане субсемейства LINE можно разделить на несколько групп. Наиболее древние из них являются дегенерировавшими и неактивными вследствие мутаций. Однако представители более молодых субсемейств (специфические для человека L1 или L1Hs) могут транскрибироваться при активации факторами, вызывающими клеточный стресс или приводящими к апоптозу [48].

Полный диплоидный геном человека содержит 80–100 транспозиционно-активных копий LINE [48]. Инсерции LINE составляют примерно одну на 1200 мутаций в геноме человека [48], в зародышевых клетках или в течение раннего эмбриогенеза инсерции LINE происходят, по крайней мере, у одного из 50 человек. L1-повторы преимущественно располагаются в AT-богатых регионах [48]. По некоторым данным, уровень CpG в регионах длиной 20 т.п.н., которые фланкируют сайты недавних (в филогенетическом отношении) инсерций L1, не отличается от среднегеномного [49]. Однако такое содержание CpG характерно только для тех регионов, в которых инсерции L1 произошли недавно [49]. В остальных случаях последовательности, фланкирующие сайты инсерции L1, имеют сниженный по сравнению со среднегеномным уровень CpG [50].

В норме элементы L1 преимущественно гиперметилированы [28, 50]. Однако в ДНК половых клеток степень их метилирования может отличаться от соматических тканей. L1 в женских половых клетках гипометилированы, в мужских — гиперметилированы [51]. Было показано, что сайт-специфическое метилирование первых семи динуклеотидов CpG в промоторе L1, особенно четырех в позициях +52, +58, +61 и +70, подавляет транспозиционную и инсерционную активность L1 [28].

В ряде опухолевых тканей наблюдали снижение уровня метилирования ДНК LINE по сравнению с нормальными прилежащими тканями [22]. Гипометилирование LINE может происходить на ранних этапах развития опухоли, особенно в случае рака толстой кишки и простаты, где уровень метилирования L1 снижается на начальных этапах канцерогенеза и далее не меняется [19, 22]. В большинстве других изученных неоплазий (лейкозы, опухоли эпителия, выстилающего мочеполовые пути, яичника

и молочной железы) деметилирование LINE возрастает со степенью злокачественности и в некоторых случаях коррелирует с клиническим исходом [19, 22, 44]. Таким образом, в зависимости от типа опухоли, гипометилирование LINE может использоваться как ранний диагностический признак рака или прогностический маркер. Однако пока не ясно, является ли метилирование LINE причинным фактором рака или его следствием, и каков вклад гипометилирования LINE в клинический исход.

К SINE (коротким диспергированным элементам) человека относятся Alu-повторы, а также SVA-элементы. Alu-повторы являются наиболее распространенными МЭ в геноме человека. Они составляют около 13% всего генома. Разнообразие Alu-последовательностей наиболее выражено в геномах африканцев (частота 0,349), а наименее — в геномах европейцев (0,297). Новые инсерции Alu, напротив, наиболее часто наблюдаются у европейцев (частота 0,559), реже у азиатов (0,557) и африканцев (0,463). Вероятно, это может свидетельствовать в пользу африканского происхождения человека [52].

Alu-повтор имеет димерную структуру. Полагают, что древние мономеры Alu («окаменелые» Alu-мономеры, fossil Alu monomers, FAM) произошли от гена 7SL РНК посредством делеции 141 п.н. и появления поли-А-фрагмента на 3'-конце [53]. FAM имели длину примерно 160 п.н. и в геноме приматов были представлены незначительно. Собственно Alu-элементы появились около 55 млн лет назад как результат слияния двух FAM [53].

Длина Alu-повтора около 300 п.о. Alu-элементы получили свое название из-за того, что их ДНК содержит сайт узнавания рестриктазой *AluI*. Alu-повтор состоит из двух похожих, но не идентичных прямых повторов протяженностью около 130 п.о. — левое и правое плечи. Плечи разделяет А-богатый регион, правое плечо закачивается коротким поли-А-хвостом. В левом плече содержатся А- и В-боксы слабого внутреннего промотора РНК-полимеразы III [54]. За инициацию транскрипции отвечает бокс А, а точность инициации определяет бокс В [54]. Alu-повторам для осуществления транспозиции необходима ревертаза, кодируемая LINE [55, 56].

Alu-повторы разделяют на субсемейства в соответствии с их появлением в эволюции. В период дивергенции приматов было активно самое древнее субсемейство Alu J. Максимум транспозиционной активности другого субсемейства Alu S пришелся на появление первых антропоидов (40 млн лет назад). Представители самого молодого субсемейства Alu Y по-прежнему активны в геномах человекообразных приматов и человека [57]. В геноме человека наиболее распространены повторы AluYa5 и AluYb8 — 25% и 38% от всех Alu соответственно [57]. Alu-повторы неравномерно распределены в различных хромосомных участках. В хромосомах 14, 16, 21 последовательности Alu сосредоточены в области центромеры, а в хромосомах 4, 19, 20, X и Y человека выраженных скоплений Alu-повторов не обнаружено [54], хотя известно, что в X-хромосоме Alu играют важную функциональную роль, участвуя в ее инактивации [58].

Alu-повторы в отличие от L1 преимущественно располагаются в CpG-богатых регионах. Отмечается, что Alu и L1 первоначально могут внедряться в регионы, сходные по уровню CpG, но в дальнейшем наблюдается различная селекция L1 и Alu после их инсерции [49]. О сходных инсерционных предпочтениях этих элементов можно сделать вывод из следующих фактов: 1) зависимость ретротранспозиции Alu от ферментов, кодируемых L1, 2) современные L1-элементы первоначально вне-

дряются при помощи инсерций в последовательности с таким же уровнем CpG, что и Alu [49, 55]. Однако далее судьба этих повторов различна. Так, для L1 была показана негативная селекция L1 (уменьшение числа повторов) из регионов, богатых генами и имеющих низкую степень метилирования ДНК [49], а для Alu — позитивная селекция в относительно гипометилированные участки [59].

Несмотря на то что Alu-повторы преимущественно находятся в регионах с большим количеством генов и со сниженной степенью метилирования ДНК, собственно Alu-ДНК в норме, как правило, метилирована в значительной степени по сравнению с окружающей ДНК [60, 61]. Однако степень метилирования, экспрессия и транспозиционная активность Alu широко варьируют в геномах различных людей. Так, при анализе уровня метилирования Alu и некоторых других повторов (L1 и сателлитов Sat-a и Sat-2) в 30 нормальных образцах костного мозга было показано, что все эти повторы метилированы в высокой степени [61]. Однако в небольшом количестве непуховых, нормальных образцов уровень метилирования данных элементов был снижен (для Alu — на 12%) [61]. В норме уровень метилирования CpG Alu в соматических тканях составляет 85,5% для AluY, 24% для AluS и 18,8% для AluJ. Таким образом, степень метилирования Alu в норме тем выше, чем моложе субсемейство Alu [26]. Показано, что метилирование некоторых Alu тканеспецифично [62]. В отличие от соматических клеток, в клетках зародышевого пути уровень метилирования Alu существенно ниже, особенно молодых, недавно интегрировавшихся AluY [63, 64]. Интересно, что наиболее старые в эволюционном плане Alu остаются метилированы в сперматозоидах, тогда как более молодые Alu гипометилированы [64]. Alu (в отличие от LINE) передаются потомкам в гипометилированном состоянии от мужских половых клеток и в метилированном — от женских [63].

Показано уменьшение метилирования Alu при многих опухолевых заболеваниях [26, 27, 65]. Если в здоровых тканях молодые в эволюционном отношении МЭ (в том числе молодые Alu) метилированы сильнее прочих, то в опухолях именно эти МЭ в большей степени гипометилированы. Данная тенденция подтверждается, например, при исследовании рака толстой кишки [65], опухолей головы и шеи [27].

Было продемонстрировано изменение метилирования генов Alu с возрастом человека, причем наиболее выраженное уменьшение метилирования наблюдалось в интервале 34–68 лет [3]. Интересно, что старение клеток в культуре можно предотвратить и даже повернуть вспять, если снизить транспозиционную активность Alu-элементов в данных клетках (например, посредством увеличения уровня метилирования Alu-ДНК) [66], что приведет к снижению уровня ошибок в геноме [66].

Важно, что метилирование одного сайта внутри Alu может не полностью отражать общий уровень метилирования этого элемента. Секвенирование Alu-повторов из клеток мозжечка показало, что среди наиболее древних Alu, AluJ, где наблюдается в среднем 3 CpG на повтор, более 20% содержат длинные вставки гипометилированных последовательностей, напротив, среди более молодых, AluY семейств, представитель которых содержит в среднем 28 CpG на повтор, лишь 1,6% имеют протяженные участки со сниженной степенью метилирования. Таким образом, хотя в норме общая степень метилирования Alu тем выше, чем моложе повтор, но в молодых Alu-повторах в здоровых соматических клетках также могут определяться сайты со сниженным уровнем метилирования.

Итак, в норме Alu-ДНК преимущественно гиперметилирована (за исключением клеток зародышевых линий и некоторых других редких вариантов), тогда как в опухолях наблюдается снижение метилирования ДНК Alu. Однако из этого правила есть исключения. Существуют опухоли, при которых гиперфункция генов, имеющих Alu-инсерции, ассоциирована с гиперметилированием этих Alu [67]. Так, показано, что экспрессия гена *GNPα* (гена α-субъединицы гликопротеиновых гормонов) усиливается при различных опухолях. Это ассоциировано с гиперметилированием Alu-повторов, которые находятся в 5'-фланкирующем регионе и во втором интроне данного гена, а точнее, гиперметилированием последовательностей 5'-TTGAACCC-GGGAG-3' в данных Alu. Дело в том, что с этими участками связывается белок, тормозящий экспрессию гена *GNPα*, но если данные последовательности метилированы, то репрессор не связывается с ними, и уровень экспрессии гена *GNPα* не уменьшается [67]. Однако подобный механизм, судя по всему, носит скорее частный, чем универсальный характер. Кроме того, гиперметилирование рассеянных повторов (как Alu, так и L1) при неоплазии — явление чрезвычайно редкое, встречающееся еще разве что только при некоторых эндометриозах [27]. Таким образом, в большинстве опухолей ДНК Alu гипометилирована.

Другой подгруппой SINE у человека являются SVA-элементы. SVA значимо метилированы во всех взрослых соматических клетках [68, 69]. Каждый такой элемент имеет сложное строение и состоит из 15–20 tandemных повторов и нескольких Alu-подобных последовательностей [69]. Они эволюционировали в геноме человека относительно недавно, о чем говорит низкая степень их дивергенции. Хотя SVA-элементов в геноме человека меньше, чем LINE и Alu, сообщалось, что их инсерции и изменения их экспрессии связаны, по крайней мере, с такими наследственными заболеваниями, как X-сцепленная агаммаглобулинемия [70] и врожденная мышечная дистрофия типа Фукуяма [71]. При опухолевых заболеваниях степень метилирования SVA ДНК, как правило, ниже, чем в норме [48, 72].

Неоднородность изменений глобального метилирования при онкологических заболеваниях

Как говорилось выше, под глобальным метилированием понимается уровень метилирования ДНК повторов: SINE, LINE и, в меньшей степени, tandemных повторов. Однако при отдельном рассмотрении tandemных повторов могут быть получены иные результаты. Так, показано, что метилирование ДНК L1 и Alu сильнее варьировало при различных опухолевых заболеваниях, тогда как метилирование ДНК tandemных повторов было более переменчивым в нормальных тканях [26]. При раке мочевого пузыря наблюдалось снижение уровня метилирования ДНК AluYb8, L1, sat-a, NBL-2, но увеличение метилирования D4Z4. При лейкемии метилирование AluYb8 и L1 не изменялось, а метилирование ДНК NBL-2 и D4Z4 усиливалось [26]. Интересно, что в здоровых клетках, смежных с клетками рака мочевого пузыря, также наблюдалось снижение уровня метилирования Alu и L1. Уровни метилирования L1 и Alu коррелировали между собой, а также со степенью метилирования Sat-a, но не D4Z4 и NBL-2 при раке [26]. Авторы приходят к выводу, что метилирование tandemных повторов отличается от метилирования рассеянных повторов при раке [26], что следует учитывать, говоря об изменении уровня глобального метилирования в онкологии.

Роль метилирования ДНК в защите генома от распространения мобильных элементов

Гипотеза «защиты хозяйского генома» говорит о том, что метилирование ДНК может подавлять транскрипцию транспозонов и таким образом минимизировать последствия увеличения активности МЭ, их ретротранспозиции [4]. Главный аргумент против этой гипотезы — гипометилированное состояние некоторых МЭ в клетках зародышевых линий [63], в которых, однако, система защиты хозяйской ДНК должна работать наиболее эффективно [73] (так, Alu гипометилированы в мужских половых клетках, а L1 — в женских; кроме того, в таком гипометилированном состоянии эти повторы передаются по наследству [51]).

Согласно гипотезе защиты хозяйского генома, чем больше содержание МЭ в ДНК, тем больше степень ее метилирования. Эта закономерность должна наблюдаться даже в случае герминативных клеток, где ДНК в целом гипометилирована по сравнению с соматическими клетками. Действительно, недавно была показана позитивная корреляция между степенью метилирования ДНК клеток зародышевых линий и уровнем региональной рекомбинации [74], причем известно, что уровень рекомбинации коррелирует с плотностью МЭ [75]. Очень неожиданные в этом отношении данные были получены при изучении корреляции между метилированием ДНК клеток зародышевой линии и долей МЭ в этой ДНК [76]. Позитивная корреляция между содержанием повторов и степенью метилирования ДНК клеток зародышевой линии была обнаружена только для L1 и последовательностей длиной 3–5 т.п.н. Для всех прочих длин фрагментов и МЭ, особенно для Alu, была обнаружена негативная корреляция между метилированием ДНК и долей МЭ [76]. Таким образом, уровни метилирования ДНК различных повторов в клетках зародышевой линии отличались между собой, поэтому метилирование ДНК вряд ли является универсальным глобальным механизмом защиты от всех МЭ. Метилирование ДНК может играть роль в защите от распространения L1, но не Alu-последовательностей [76].

Данное противоречие можно снять, если предположить, что метилирование ДНК — не единственный способ защиты генома от МЭ. Помимо метилирования ДНК, существуют и другие механизмы, защищающие геном клетки от избыточной активности МЭ. Часть таких механизмов базируется на редактировании РНК этих элементов, которое может осуществляться посредством белков семейства APOBEC3 [18]. Некоторые из данных белков специфично связываются с Alu РНК, после чего фермент изменяет свойства Alu-РНК посредством дезаминирования цитозина, а также посредством некоторых других механизмов [77, 78]. Система APOBEC3 может защищать геном от МЭ, в том числе в клетках зародышевой линии [72]. Также к подобным механизмам относится система PIWI, опосредующая защиту от распространения L1-элементов и некоторых других повторов [79, 80]. К этой системе относятся выявляемые в герминативных клетках млекопитающих белки Piwi1, Piwi2, Piwi3, Piwi4, необходимые для биогенеза особого класса коротких РНК, известных как PIWI-взаимодействующие РНК (piRNA) [81]. Показано, что в мужских половых клетках белки Piwi-семейства и piRNA участвуют в посттранскрипционном гашении экспрессии L1 независимо от степени метилирования ДНК L1 [80]. Против распространения LTR-повторов клеткой также могут использоваться метилтрансферазы гистонов. Так, было показано, что белки ESET (метилтрансфераза гистонов)

и TRIM28 (сохраняет родительский паттерн метилирования ДНК) участвуют в гашении экспрессии LTR-повторов в эмбриональных стволовых клетках посредством метилирования гистона H3 по положению K9 в тех хроматиновых регионах, где находятся эндогенные ретровирусы [82].

Гипометилирование ДНК однокопийных генов и повторов при онкологических заболеваниях

При изучении метилирования геномной ДНК, кроме гипометилирования повторов при опухолевых заболеваниях и некоторых других патологических состояниях, было выявлено и геноспецифическое гипометилирование ДНК онкогенов и некоторых других генов. Геноспецифическое гипометилирование часто выявляется при различных неоплазиях [30, 83, 84]. Диапазон генов, уровень метилирования ДНК которых снижается при опухоли, включает в себя гены внутриклеточной сигнализации, гены различных ферментов, гены, критические для развития, и тканеспецифические гены, а также специфичные для клеток зародышевого пути гены: семейства генов *MAGE*, *BAGE*, *LAGE* и *GAGE* (гены раково-тестикулярных антигенов или гены, ассоциированные с меланомой). Экспрессия последних в норме наблюдается лишь в сперматогониях и иногда в некоторых компонентах трофобласта, а аномальная реэкспрессия происходит при злокачественной трансформации, нередко при меланоме [85, 86]. При опухолевых заболеваниях также была продемонстрирована гиперэкспрессия генов, относящихся к группе Ras (кодируют белки внутриклеточной сигнализации — G-белки), вследствие уменьшения метилирования ДНК их промоторов [87]. Показано, что при онкологических и некоторых других заболеваниях уровень метилирования ДНК снижается в промоторах и первых экзонах генов. Для ряда генов было продемонстрировано, что гипометилирование, затрагивающее промотор, зависит от типа и стадии рака (табл. 1).

Таблица 1. Изменение метилирования промоторов определенных генов и различных заболеваний

Ген, в промоторе которого снижается уровень метилирования	Заболевание
<i>CDH3</i>	прогрессия рака молочной железы [88]
<i>циклин D2</i>	III и IV стадии рака желудка [89]
<i>синуклеин γ</i>	прогрессия и метастазирование ряда опухолей [90]
<i>маспин</i>	прогрессия колоректального рака [91]
<i>перфорин</i>	активная системная красная волчанка, но не волчанка в ремиссии [92]

Другая группа генов, активность которых может измениться вследствие изменения метилирования ДНК, это импринтированные гены [93]. Потеря импринтинга (LOI) нередко ассоциируется с развитием опухоли [94], когда гипометилирование импринтированных генов может приводить к экспрессии сразу двух аллелей, что

может поддерживать опухолевый рост [93, 94]. Так, например, в случае колоректального рака происходит LOI с гипометилированием определенного региона в аллели гена *IGF-2* (инсулиноподобного фактора роста 2, фетального ростового фактора) и его гиперэкспрессией при развитии опухоли [93]. Более того, LOI гена *IGF-2* является предшественником колоректального рака [95]. Механизм поддержания импринтинга (МОИ) и его потери (LOI) сложен и до конца не ясен. МОИ в случае гена *IGF-2* ассоциирован с аллель-специфичным дифференцированным метилированием сайта связывания транскрипционного фактора CTCF, находящегося вверх по течению от смежного гена *H19* (продуктом данного гена является нетранслируемая РНК, которая синтезируется только с материнской хромосомы). Данный ген и его 5'-фланкирующая последовательность необходимы для импринтинга гена *IGF-2* и некоторых других генов. Однако механизм LOI различен в разных опухолевых типах и может вовлекать или двухаллельное метилирование, или гипометилирование CTCF-связывающего сайта [93, 96].

Нередко наблюдается одновременное гипометилирование однокопийных генов и повторов. Однако ассоциация этих двух феноменов исследована недостаточно. Так, деметилирование и экспрессия ДНК генов *MAGE-A1* и маспина обычно хорошо коррелировали с общим гипометилированием в клеточных культурах и первичных опухолях [13, 86, 97]. Аналогичная корреляция была обнаружена для деметилирования и экспрессии, по крайней мере, одного локуса *BAGE* и гипометилирования околоцентральной сателлитной ДНК в хромосомах 9, 13, 18, 21 [85]. Снижение метилирования *Au* в карциноидах и эндокринных опухолях поджелудочной железы коррелировало с уровнем метилирования гена O-метилгуанин метилтрансферазы [98].

Гиперметилирование однокопийных генов и гипометилирование повторов при онкологических заболеваниях

Как говорилось выше, гиперметилирование промоторов ГСО и некоторых других генов — частое явление при неоплазиях. Было показано, что неметилированный в нормальных тканях CpG-островок в промоторе гена кальцитонина, расположенного на коротком плече хромосомы 11 (11p), метилирован в солидных опухолях, лейкомиях и клетках, трансформированных различными вирусами [11]. Кроме того, на этом же участке хромосомы, содержащем несколько потенциальных ГСО, были обнаружены и другие гиперметилированные CpG-островки. На основании этих данных было сделано предположение, что участок хромосомы 11p является горячей точкой метилирования CpG-островков при опухолевых заболеваниях [11, 99].

Гиперметилированные CpG-островки также были обнаружены в промоторе гена ингибитора циклин-зависимых киназ *p16* в различных опухолях [100]. При этом обработка различных клеточных линий 5-аза-2'-деоксицитидином (5-Aza-CdR, ингибитор ДНК-метилтрансферазы, DNMT) приводила к деметилированию промотора гена *p16* и частичному восстановлению экспрессии этого гена [100]. Для гена *APC* (adenomatous polyposis coli, контролирует специфическое сцепление клеток эпителия кишечника) было показано гиперметилирование промотора, ведущее к потере экспрессии этого гена, на различных стадиях опухолей ободочной и прямой кишки [101], что может свидетельствовать о роли этого гена в прогрессии опухоли. При использовании в качестве модели мышей, несущих наследственную мутацию

гена *APC*, было показано, что ингибирование метилирования с помощью 5-Aza-CdR значительно уменьшает вероятность развития опухоли [101].

В опухолевых клетках может быть метилировано до половины CpG-островков генома (сосредоточенных преимущественно в промоторах генов) [102], которые, как упоминалось выше, в норме гипометилированы. На основании этих данных была предложена концепция ассоциированной с метилированием инактивации генов — *MAGI* (methylation-associated gene inactivation) [102]. Обобщая приведенные выше данные можно утверждать, что повышение уровня метилирования в промоторе генов-супрессоров опухоли может приводить к потере их экспрессии и, тем самым, способствовать инициации и прогрессии опухоли.

Перечень генов, связанных с канцерогенезом, к которому, по-видимому, приводит зависимое от метилирования нарушение транскрипции, неуклонно растет. Сюда включаются гены в любых положениях на хромосомах. Однако почти при всех раковых заболеваниях наследуемым нарушениям (и генетическим, и эпигенетическим) подвержено весьма ограниченное число внутриклеточных механизмов. Ключевые процессы, которые нарушаются генетическими и эпигенетическими механизмами при раковых заболеваниях человека, можно сгруппировать следующим образом (в скобках указаны примеры генов, промоторы которых подвержены мутациям или изменениям метилирования): 1) реакции на ростовые сигналы (ген *RAS*), 2) отсутствие ответа на антиростовые сигналы (ген рецептора *TGFb*), 3) тканевая инвазия и метастазирование (ген E-кадгерина), 4) неограниченная репликация (гены *p16* и *Rb*), 5) поддерживаемый ангиогенез (ген тромбоспондина-1), 6) блокирование апоптоза (гены *p53*, DAP-киназа, *ASC/TMS1* и *HIC1*), 7) способность к репарации ДНК (гены *MLH1*, *MSH2*, *MGMT*), 8) геномная стабильность (ген *Chfr*), 9) убиквитинирование белка (ген *Chfr*). Нередко в диагностических исследованиях все гены, подвергаемые гиперметилированию при раке, делят на три группы (в скобках указаны примеры генов): 1) классические гены-супрессоры опухоли, мутирующие в зародышевой линии семей с наследуемыми синдромами рака (*E-cadherin*, *pl6lnk4a*, *MLH1*, *APC*, *Stk4*, *Rb*), 2) кандидаты на роль генов-супрессоров опухоли (*FHIT*, *RASSF1A*, *MGMT*, *Gst-Pi*, *GATAs4* и ген DAP-киназы), 3) гены, обнаруженные в опухолях путем случайного скрининга на гиперметилированные гены (*HIC-1*, *SFRPs 1,2,4,5*, *BMP-3*, *SLC5A8*, *SSI1*) [103]. Это разделение полезно для понимания вклада данных генов в развитие онкологических заболеваний.

В последнее время появились данные, согласно которым в одних и тех же опухолевых клетках обнаруживали гиперметилирование однокопийных генов и гипометилирование повторов. Так, известно, что гиперметилирование CpG-островков, расположенных преимущественно в промоторах генов и их началах, и ассоциированное с ним геномное гипометилирование найдены не только в клетках рака желудка, но и в смежных с ними клетках. Причем гиперметилирование CpG в различных генах и гипометилирование *Alu*, *L1* и *Sat2* при раке желудка и в тканях, смежных с опухолевой тканью, усиливалось в соответствии со стадиями канцерогенеза [104]. Аналогично, при меланоме гиперметилирование промоторов 15 генов-супрессоров опухоли (*ER-a*, *MGMT*, *RAR-b2*, *RIL*, *RASSF1A*, *PAX7*, *PGR-b*, *PAX2*, *NKX2-3*, *OLIG2*, *HAND1*, *ECAD*, *CDH13*, *MLH1* и *p16*) было ассоциировано с общим гипометилированием, оцененным по уровню метилирования *Alu* и *L1* [21]. Сходные данные были получены при исследовании 179 случаев аденокарциномы простаты, 30 случаев доброкачественной

гиперплазии простаты относительно статуса метилирования CpG-островов 22 генов и уровней метилирования Alu и L1 [20]. В CpG-островках, расположенных в промоторах 16 генов-супрессоров опухоли, часто отмечалось гиперметилирование при раке простаты: *RASSF1A*, *GSTP1*, *RARB*, *TNFRSF10C*, *APC*, *BCL2*, *MDR1*, *ASC*, *TIG1*, *RBP1*, *COX2*, *THBS1*, *TNFRSF10D*, *CD44*, *p16*, *RUNX3*. Гиперметилирование CpG-локусов первых 12 генов было ассоциировано с одним или более прогностическим параметром заболевания (предоперационный уровень простатического антигена в сыворотке, клиническая стадия). Клетки аденокарциномы простаты, в которых был гиперметилирован промотор любого из следующих генов: *ASC*, *COX2*, *RARB*, *TNFRSF10C*, *MDR1*, *TIG1*, *RBP1*, *NEUROG1*, *RASSF1A*, *GSTP1*, имели значимо более низкие уровни метилирования Alu и L1, чем клетки данной опухоли без гиперметилированных CpG-островков вышеуказанных генов. Кроме того, гипометилирование Alu и L1 ассоциировалось с одним или более указанным выше прогностическим параметром [20]. Таким образом, при прогрессии опухоли наблюдается тесная связь между локальным гиперметилированием определенных генов (например, ГСО) и гипометилированием МЭ, и оба эти события, по-видимому, вносят вклад в прогрессию заболевания [20].

Иногда в одной опухоли гипометилирование МЭ сочетается с разнонаправленными изменениями метилирования промоторов генов. Так, при меланоме гипометилирование LINE (75%) и Alu (13%) ассоциируется не только с гиперметилированием CpG-островков пятнадцати ГСО, но и с гипометилированием двух онкогенов (*MAGE-A1*, *maspin*) [21]. При исследовании печеночноклеточного рака была обнаружена сходная закономерность [25].

В табл. 2 обобщены данные об одновременных изменениях метилирования повторов и однокопийных генов при онкологических заболеваниях.

Таким образом, паттерны метилирования геномной ДНК в норме и при развитии различных (главным образом, опухолевых) заболеваний существенно различаются. В норме ДНК повторов гиперметилирована, а CpG-островки большей части белок-кодирующих генов гипометилированы. При онкологических заболеваниях, напротив, в большинстве случаев наблюдается снижение уровня глобального метилирования (метилирования повторяющихся последовательностей), а также гипометилирование промоторов онкогенов и гиперметилирование CpG-островков, находящихся в промоторах ГСО. Важно то, что изменения метилирования генов и повторов могут происходить одновременно в одних и тех же опухолевых клетках, что, вероятно, взаимно усиливает эффекты данных эпигенетических изменений при развитии опухоли, способствуя прогрессии заболевания. Этот факт имеет не только фундаментальное, но и прикладное значение. При терапии опухолевых заболеваний деметилирующими агентами (например, 5-аза-2'-деоксицитидином) следует учитывать неоднозначный характер изменений метилирования ДНК, к которым приводят данные препараты. Так, 5-аза-2'-деоксицитидин уменьшает уровень метилирования CpG-островков в промоторах ГСО, что препятствует развитию опухоли, однако одновременно с этим наблюдается дополнительное снижение уровня метилирования онкогенов, что способствует прогрессии заболевания. Кроме того, 5-аза-2'-деоксицитидин дополнительно снижает уровень метилирования повторяющейся ДНК, что также имеет неоднозначные последствия в развитии опухолей. Повреждение ДНК вследствие ретротранспозиции МЭ в нормальных клетках или на ранних стадиях опухолевой трансформации может приводить к апоптозу клеток,

Таблица 2. Одновременные изменения метилирования повторов и однокопийных генов при онкологических заболеваниях

Ген	Изменение статуса метилирования гена	Повторы, уровень метилирования которых снижается при изменении метилирования данного гена	Заболевание
<i>MAGE-A1, маспин</i>	Снижение	Различные повторы, глобальное гипометилирование	Различные первичные опухоли и культуры опухолевых клеток [13, 86, 97]
<i>BAGE</i>	»	Околоцентромерные сателлиты в хромосомах 9, 13, 18, 21	Различные первичные опухоли и культуры опухолевых клеток [85]
Ген О-метилгуанин метилтрансферазы	»	Alu, L1, Sat2	Рак желудка и ткани, смежные с опухолью [104]
<i>MAGE-A1, маспин</i>	»	L1, Alu	Меланома [21]
Различные онкогены	»	»	Печеночноклеточный рак [25]
Различные ГСО	Увеличение	Alu, L1, Sat2	Рак желудка и ткани, смежные с опухолью [104]
<i>ER-a, MGMT, RAR-b2, RIL, RASSF1A, PAX7, PGR-b, PAX2, NKX2-3, OLIG2, HAND1, ECAD, CDH13, MLH1, p16</i>	»	Alu, L1	То же
<i>ASC, COX2, RARB, TNFRSF10C, MDR1, TIG1, RBP1, NEUROG1, RASSF1A, GSTP1</i>	»	L1, Alu	Печеночноклеточный рак [25]

препятствующему канцерогенезу. Но если клетка потеряла способность к аресту клеточного цикла, то активность МЭ может способствовать усилению генетической нестабильности и эволюции опухоли в сторону более агрессивных форм [105, 106]. Таким образом, для лечения опухолевых и некоторых других заболеваний, при которых нарушается паттерн метилирования ДНК, необходимо разработать методы, которые позволят прицельно воздействовать на потенциальные сайты метилирования геномной ДНК, участвующие в онкогенном фенотипе.

Литература

1. *Hotchkiss R. D.* The quantitative separation of purines, pyrimidines, and nucleosides by paper chromatography // *J. Biol. Chem.* 1948. Vol. 175. P.315–332.
2. *Strachan T., Read A. P.* Human molecular genetics. 2nd edition. New York: Wiley-Liss, 1999. 576 p.
3. *Jintaridith P., Mutirangura A.* Distinctive patterns of age-dependent hypomethylation in interspersed repetitive sequences // *Physiol Genomics.* 2010. Vol. 41. P. 194–200.

4. Yoder J.A., Walsh C.P., Bestor T.H. Cytosine methylation and the ecology of intragenomic parasites // *Trends Genet.* 1997. Vol. 13. P.335–340.
5. Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues of cells / Ehrlich M., Gama-Sosa M.A., Huang L.H., Midgett R.M., Kuo K.C., McCune R.A., Gehrke C. // *Nuc. Acids Res.* 1982. Vol. 10. P.2709–2721.
6. Martienssen R. A., Doerge R. W., Colot V. Epigenomic mapping in Arabidopsis using tiling microarrays // *Chromosome Res.* 2005. Vol. 13. P.299–308.
7. Chromosome-wide and promoter-specific analyses identify sites of differential DNA methylation in normal and transformed human cells / Weber M., Davies J.J., Wittig D., Oakeley E.J., Haase M., Lam W.L., Schübeler D. // *Nat. Genet.* 2005. Vol. 37. P.853–862.
8. Cooper D. N. Taggart M. H., Buildings K., Bird A. P. Unmethylated domains in vertebrate DNA // *Nucl. Acids Res.* 1983. Vol. 11. P.647–658.
9. Gardiner-Gardner M., Frommer M. CpG islands in vertebrate genomes // *J. Mol. Biol.* 1987. Vol. 196. P.261–282.
10. Feinberg A. P., Vogelstein B. Hypomethylation of ras oncogenes in primary human cancers // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1983. Vol. 111. P.47–54.
11. The short arm of chromosome 11 is a “hot spot” for hypermethylation in human neoplasia / De Bustros A., Nelkin B.D., Silverman A., Ehrlich G., Poiesz B., Baylin S.B. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1988. Vol. 85. P.5693–5697.
12. Quantitative analysis of associations between DNA hypermethylation, hypomethylation, and DNMT RNA levels in ovarian tumors / Ehrlich M., Woods C.B., Yu M.C., Dubeau L., Yang F., Campan M., Weisenberger D.J., Long T.I., Youn B., Fiala E.S., Laird P.W. // *Oncogene.* 2006. Vol. 25. P.2636–2645.
13. Frequent hypomethylation in multiple promoter CpG islands is associated with global hypomethylation, but not with frequent promoter hypermethylation / Kaneda A., Tsukamoto T., Takamura-Enya T., Watanabe N., Kaminishi M., Sugimura T., Tatamatsu M., Ushijima T. // *Cancer Sci.* 2004. Vol. 95. P.58–64.
14. Rideout W.M., Coetzee G. A., Olumi A. F., Jones P. A. 5-Methylcytosine as an endogenous mutagen in the human LDL receptor and p53 genes // *Science.* 1990. Vol. 249. P.1288–1290.
15. Greenblatt M. S., Bennett W.P., Hollstein M., Harris C. C. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis // *Cancer Res.* 1994. Vol. 54. P.4855–4878.
16. Coulondre C., Miller J.H., Farabaugh P.J., Gilbert W. Molecular basis of base substitution hotspots in *Escherichia coli* // *Nature.* 1978. Vol. 274. P.775–780.
17. Yebra M. J., Bhagwat A. S. A cytosine methyltransferase converts 5-methylcytosine in DNA to thymine // *Biochemistry.* 1995. Vol. 34. P.14752–14757.
18. APOBEC3A and APOBEC3B are potent inhibitors of L1 retrotransposon function in human cells / Bogerd H.P., Wiegand H.L., Doehle B.P., Lueders K.K., Cullen B.R. // *Nucl. Acids Res.* 2006. Vol. 34. P.89–95.
19. Esteller M., Herman J.G. Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours // *J. Pathol.* 2002. Vol. 196. P.1–7.
20. Hypermethylation of CpG island loci and hypomethylation of LINE-1 and Alu repeats in prostate adenocarcinoma and their relationship to clinicopathological features / Cho N.Y., Kim B.H., Choi M., Yoo E.J., Moon K.C., Cho Y.M., Kim D., Kang G.H. // *J. Pathol.* 2007. Vol. 211. P.269–277.
21. CpG island methylation profiling in human melanoma cell lines / Tellez C.S., Shen L., Estéicio M.R., Jelinek J., Gershenwald J.E., Issa J.P. // *Melanoma Res.* 2009. Vol. 19. P.146–155.
22. Promoter hypomethylation of the LINE-1 retrotransposable elements activates sense/antisense transcription and marks the progression of chronic myeloid leukemia / Roman-Gomez J., Jimenez-Velasco A., Agirre X., Cervantes F., Sanchez J., Garate L., Barrios M., Castillejo J.A., Navarro G., Colomer D., Prosper F., Heiniger A., Torres A. // *Oncogene.* 2005. Vol. 24. P.7213–7223.
23. Regional hypermethylation and global hypomethylation are associated with altered chromatin conformation and histone acetylation in colorectal cancer / Deng G., Nguyen A., Tanaka H., Matsuzaki K., Bell I., Mehta K.R., Terdiman J.P., Waldman F.M., Kakar S., Gum J., Crawley S., Sleisenger M.H., Kim Y.S. // *Int. J. Cancer.* 2006. Vol. 118. P.2999–3005.
24. Foulds L. The histologic analysis of mammary tumors of mice. II. The histology of responsiveness and progression. The origins of tumors // *J. Natl Cancer Inst.* 1956. Vol. 17. P.713.
25. Prognostic implications of and relationship between CpG island hypermethylation and repetitive DNA hypomethylation in hepatocellular carcinoma / Lee H.S., Kim B.H., Cho N.Y., Yoo E.J., Choi M., Shin S.H., Jang J.J., Suh K.S., Kim Y.S., Kang G.H. // *Clin. Cancer Res.* 2009. Vol. 15. P.812–820.
26. Changes in DNA methylation of tandem DNA repeats are different from interspersed repeats in cancer / Choi S.H., Worswick S., Byun H.M., Shear T., Soussa J.C., Wolff E.M., Douer D., Garcia-Manero G., Liang G., Yang A.S. // *Int. J. Cancer* 2009. Vol. 125. P.723–729.

27. Epigenomic analysis of Alu repeats in human ependymomas / Xie H., Wang M., Bonaldo M. F., Rajaram V., Stellpflug W., Smith C., Arndt K., Goldman S., Tomita T., Soares M. B. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010. Vol. 107. P. 6952–6957.
28. Hata K., Sakaki Y. Identification of critical CpG sites for repression of L1 transcription by DNA methylation // *Gene*. 1997. Vol. 189. P. 227–234.
29. Satellite 2 methylation patterns in normal and ICF syndrome cells and association of hypomethylation with advanced replication / Hassan K. M., Norwood T., Gimelli G., Gartler S. M., Hansen R. S. // *Hum. Genet*. 2001. Vol. 109. P. 452–462.
30. SATR-1 hypomethylation is a common and early event in breast cancer / Costa F. E., Paixao V. A., Cavalher F. P., Ribeiro K. B., Cunha I. W., Rinck J. A. J., O'Hare M., Mackay A., Soares F. A., Brentani R. R. // *Cancer Genet. Cytogenet*. 2006. Vol. 165. P. 135–143.
31. DNA repeat, NBL2, is hypermethylated in some cancers but hypomethylated in others / Nishiyama R., Qi L., Tsumagari K., Weissbecker K., Dubeau L., Champagne M., Sikka S., Nagai H., Ehrlich M. // *Cancer Biol. Ther*. 2005. Vol. 4. P. 440–448.
32. Nishiyama R., Qi L., Lacey M., Ehrlich M. Both hypomethylation and hypermethylation in a 0,2-kb region of a DNA repeat in cancer // *Molec. Cancer Res*. 2005. Vol. 3. P. 617–626.
33. Continuous zebularine treatment effectively sustains demethylation in human bladder cancer cells / Cheng J. C., Weisenberger D. J., Gonzales F. A., Liang G., Xu G. L., Hu Y. G., Marquez V. E., Jones P. A. // *Mol. Cell. Biol*. 2004. Vol. 24. P. 1270–1278.
34. Cadieux B., Ching T. T., Vandenberg S. R., Costello J. F. Genome-wide hypomethylation in human glioblastomas associated with specific copy number alteration, methylenetetrahydrofolate reductase allele status, and increased proliferation // *Cancer Res*. 2006. Vol. 66. P. 8469–8476.
35. Epigenetics of a tandem DNA repeat: chromatin DNaseI sensitivity and opposite methylation changes in cancers / Tsumagari K., Qi L., Jackson K., Shao C., Lacey M., Sowden J., Tawil R., Vedanarayanan V., Ehrlich M. // *Nucl. Acids Res*. 2008. Vol. 36. P. 2196–2207.
36. Genotype-phenotype study in an FSHD family with a proximal deletion encompassing p13E-11 and D4Z4 / Deak K. L., Lemmers R. J., Stajich J. M., Klooster R., Tawil R., Frants R. R., Speer M. C., van der Maarel S. M., Gilbert J. R. // *Neurology*. 2007. Vol. 68. P. 578–582.
37. Van der Maarel S. M., Frants R. R. The D4Z4 repeat-mediated pathogenesis of facioscapulohumeral muscular dystrophy // *Am. J. Hum. Genet*. 2005. Vol. 76. P. 375–386.
38. Xu Y., Noguchi Y., Sugiyama H. The new models of the human telomere d[AGGG(TTAGGG)]₃ in K+ solution // *Bioorg. Med. Chem*. 2006. Vol. 14. P. 5584–5591.
39. Ehrlich M. FSHD Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy // *Molecular Cell Biology and Clinical Medicine* / ed. by D. N. Cooper, M. Upadhyaya. New York: BIOS Scientific Pub. 2004. P. 253–276.
40. Robertson H. M., Martos R. Molecular evolution of the second ancient human mariner transposon, Hsmar2, illustrates patterns of neutral evolution in the human genome lineage // *Gene*. 1997. Vol. 205. P. 219–228.
41. Gu Z., Wang H., Nekrutenko A., Li W. H. Densities, length proportions, and other distributional features of repetitive sequences in the human genome estimated from 430 megabases of genomic sequence // *Gene*. (2000). Vol. 259. P. 81–88.
42. Khodosevich K., Lebedev Y., Sverdlov E. Endogenous retroviruses and human evolution // *Comp. Funct. Genom*. 2002. Vol. 3. P. 494–498.
43. CpG methylation directly regulates transcriptional activity of the human endogenous retrovirus family HERV-K(HML-2) / Lavie L., Kitova M., Maldener E., Meese E., Mayer J. // *J. Virol*. 2005. Vol. 79. P. 876–883.
44. Menendez L., Benigno B. B., McDonald J. F. L1 and HERV-W retrotransposons are hypomethylated in human ovarian carcinomas // *Mol. Cancer*. 2004. Vol. 3. P. 12.
45. Molecular identification of a novel retrovirus repeatedly isolated from patients with multiple sclerosis. The collaborative research group on multiple sclerosis / Perron H., Garson J. A., Bedin F., Beseme F., Paranhos-Baccala G., Komurian-Pradel F., Mallet F., Tuke P. W., Voisset C., Blond J. L., Lalande B., Seigneurin J. M., Mandrand B. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. Vol. 94. P. 7583–7588.
46. Florl A. R., Lower R., Schmitz-Drager B. J., Schulz W. A. DNA methylation and expression of LINE-1 and HERV-K provirus sequences in urothelial and renal cell carcinomas // *Br. J. Cancer*. 1999. Vol. 80. P. 1312–1321.
47. Retroviral RNA identified in the cerebrospinal fluids and brains of individuals with schizophrenia / Karlsson H., Bachmann S., Schroder J., McArthur J., Torrey E. F., Yolken R. H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001. Vol. 98. P. 4634–4639.
48. Kazazian H. H. Mobile elements: drivers of genome evolution // *Science*. 2004. Vol. 303. P. 1626–1632.
49. Characterization of pre-insertion loci of de novo L1 insertions / Gasior S. L., Preston G., Hedges D. J., Gilbert N., Moran J. V., Deininger P. L. // *Gene*. 2007. Vol. 390. P. 190–198.

50. The insertional history of an active family of L1 retrotransposons in humans / Boissinot S., Entezam A., Young L., Munson P.J., Furano A.V. // *Genome Res.* 2004. Vol. 14. P. 1221–1231.
51. *Sanford J.P., Clark H.J., Chapman V.M., Rossant J.* Differences in DNA methylation during oogenesis and spermatogenesis and their persistence during early embryogenesis in the mouse // *Genes Dev.* 1987. Vol. 1. P. 1039–1046.
52. Genetic variation among world populations: inferences from 100 Alu insertion polymorphisms / Watkins W.S., Rogers A.R., Ostler C.T., Wooding S., Bamshad M.J., Brassington A.-M.E., Carroll M.L., Nguyen S.V., Walker J.A., Prasad B.V.R., Reddy P.G., Das P.K., Batzer M.A., Jorde L.B. // *Genome Res.* 2003. Vol. 13. P. 1607–1618.
53. *Quentin Y.* Origin of the Alu family: a family of Alu-like monomers gave birth to the left and the right arms of the Alu elements // *Nucl. Acids Res.* 1992. Vol. 20. P. 3397–3401.
54. *Hasler J., Strub K.* Alu elements as regulators of gene expression // *Nuc. Acids Res.* 2006. Vol. 34. P. 5491–5497.
55. *Dewannieux M., Esnault C., Heidmann T.* LINE-mediated retrotransposition of marked Alu sequences // *Nat. Genet.* 2003. Vol. 35. P. 41–48.
56. *Nikitina T.V., Tischenko L.I., Schulz W.A.* Recent insights into regulation of transcription by RNA polymerase III and the cellular functions of its transcripts // *Biol. Chem.* 2011. Vol. 392. P. 395–404.
57. Differential Alu mobilization and polymorphism among the human and chimpanzee lineages / Hedges D.J., Callinan P.A., Cordaux R., Barnes E., Batzer M.A. // *Genome Res.* 2006. Vol. 14. P. 1068–1075.
58. *Усманова Н.М., Казаков В.И., Томилин Н.В.* SINE-элементы в геномах млекопитающих могут служить вспомогательными элементами при формировании факультативного гетерохроматина // *Цитология.* 2008. Т. 50, № 3. С. 256–260.
59. Intronic Alus influence alternative splicing / Lev-Maor G., Ram O., Kim E., Sela N., Goren A., Levanon E.Y., Ast G. // *PLoS Genet.* 2008. Vol. 4. P. e1000204.
60. Interindividual variability and parent of origin DNA methylation differences at specific human Alu elements / Sandovici I., Kassovska-Bratinova S., Loredó-Osti J.C., Leppert M., Suarez A., Stewart R., Bautista F.D., Schiraldi M., Sapienza C. // *Human Molecular Genetics.* 2005. Vol. 14. P. 2135–2143.
61. Repetitive DNA hypomethylation in the advanced phase of chronic myeloid leukemia / Roman-Gomez J., Jimenez-Velasco A., Agirre X., Castillejo J.A., Navarro G., San Jose-Eneriz E., Garate L., Cordeu L., Cervantes F., Prosper F., Heiniger A., Torres A. // *Leuk Res.* 2008. Vol. 32. P. 487–490.
62. High-throughput sequence-based epigenomic analysis of Alu repeats in human cerebellum / Xie H., Wang M., Bonaldo M.D., Smith C., Rajaram V., Goldman S., Tomita T., Soares M.B. // *Nucl. Acids Res.* 2009. Vol. 37. P. 4331–4340.
63. *Rubin C.M., VandeVoort C.A., Teplitz R.L., Schmid C.W.* Alu repeated DNAs are differentially methylated in primate germ cells // *Nucl. Acids Res.* 1994. Vol. 22. P. 5121–5127.
64. Loss of epigenetic silencing in tumors preferentially affects primate-specific retroelements / Szpakowski S., Sun X., Lage J.M., Dyer A., Rubinstein J., Kowalski D., Sasaki C., Costa J., Lizardi P.M. // *Gene.* 2009. Vol. 448. P. 151–167.
65. Genome-wide tracking of unmethylated DNA Alu repeats in normal and cancer cells / Rodriguez J., Vives L., Jorda M., Morales C., Muñoz M., Vendrell E., Peinado M.A. // *Nucl. Acids Res.* 2008. Vol. 36. P. 770–784.
66. Inhibition of activated pericentromeric SINE/Alu repeat transcription in senescent human adult stem cells reinstates self-renewal / Wang J., Geesman G.J., Hostikka S.L., Atallah M., Blackwell B., Lee E., Cook P.J., Pasaniuc B., Shariat G., Halperin E., Dobke M., Rosenfeld M.G., Jordan I.K., Lunyak V.V. // *Cell Cycle.* 2011. Vol. 10. P. 3016–3030.
67. *Cox G.S., Gutkin D.W., Haas M.J., Cosgrove D.E.* Isolation of an Alu repetitive DNA binding protein and effect of CpG methylation on binding to its recognition sequence // *Biochimica et Biophysica Acta.* 1998. Vol. 1396. P. 67–87.
68. A genome-wide screen for normally methylated human CpG islands that can identify novel imprinted genes / Strichman-Almashanu L.Z., Lee R.S., Onyango P.O., Perlman E., Flam F., Frieman M.B., Feinberg A.P. // *Genome Res.* 2002. Vol. 12. P. 543–554.
69. Metaanalysis of gross insertions causing human genetic disease: novel mutational mechanisms and the role of replication slippage / Chen J.M., Chuzhanova N., Stenson P.D., Ferec C., Cooper D.N. // *Hum. Mutat.* 2005. Vol. 25. P. 207–221.
70. Unusual mutations in Btk: an insertion, a duplication, an inversion, and four large deletions / Rohrer J., Minegishi Y., Richter D., Eguigueren J., Conley M.E. // *Clin. Immunol.* 1999. Vol. 90. P. 28–37.
71. An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy / Kobayashi K., Nakahori Y., Miyake M., Matsumura K., Kondo-Iida E., Nomura Y., Segawa M., Yoshioka M.,

Saito K., Osawa M., Hamano K., Sakakihara Y., Nonaka I., Nakagome Y., Kanazawa I., Nakamura Y., Tokunaga K., Toda T. // *Nature* 1998. Vol. 394. P. 388–392.

72. *Belancio V.P., Hedges D.J., Deininger P.* Mammalian non-LTR retrotransposons: for better or worse, in sickness and in health // *Genome Res.* 2008. Vol. 18. P. 343–358.

73. *Bird A.* Does DNA methylation control transposition of selfish elements in the germline? // *Trends Genet.* 1997. Vol. 13. P. 469–472

74. *Sigurdsson M.I., Smith A.V., Bjornsson H.T., Jonsson J.J.* HapMap methylation-associated SNPs, markers of germline DNA methylation, positively correlate with regional levels of human meiotic recombination // *Genome Res.* 2009. Vol. 19. P. 581–589.

75. A fine-scale map of recombination rates and hotspots across the human genome / Myers S., Bottolo L., Freeman C., McVean G., Donnelly P. // *Science.* 2005. Vol. 310. P. 321–324.

76. *Sigurdsson M.I., Smith A.V., Bjornsson H.T., Jonsson J.J.* Distribution of a marker of germline methylation differs between major families of transposon-derived repeats in the human genome // *Gene.* 2012. Vol. 492. P. 104–109.

77. *Hulme A.E., Bogerd H.P., Cullen B.R., Moran J.V.* Selective inhibition of Alu retrotransposition by APOBEC3G // *Gene.* 2007. Vol. 390. P. 199–205.

78. *Khatua A.K., Taylor H.E., Hildreth J.E., Popik W.* Inhibition of LINE-1 and Alu retrotransposition by exosomes encapsidating APOBEC3G and APOBEC3F // *Virology.* 2010. Vol. 400. P. 68–75.

79. *Girard A., Sachidanandam R., Hannon G.J., Carmell M.A.* A germline-specific class of small RNAs binds mammalian Piwi proteins // *Nature.* 2006. Vol. 442. P. 199–202.

80. Multiple epigenetic mechanisms and the piRNA pathway enforce LINE1 silencing during adult spermatogenesis / Di Giacomo M., Comazzetto S., Saini H., De Fazio S., Carrieri C., Morgan M., Vasiliauskaitė L., Benes V., Enright A.J., O'Carroll D. // *Mol. Cell.* 2013. Vol. 50. P. 601–608.

81. *Chen C., Liu J., Xu G.* Overexpression of PIWI proteins in human stage III epithelial ovarian cancer with lymph node metastasis // *Cancer Biomark.* 2013. Vol. 13. P. 315–321.

82. Proviral silencing in embryonic stem cells requires the histone methyltransferase / Matsui T., Leung D., Miyashita H., Maksakova I.A., Miyachi H., Kimura H., Tachibana M., Lorincz M.C., Shinkai Y. // *ESET. Nature.* 2010. Vol. 464. P. 927–931.

83. *Sato N., Fukushima N., Matsubayashi H., Goggins M.* Identification of maspin and S100p as novel hypomethylation targets in pancreatic cancer using global gene expression profiling // *Oncogene.* 2004. Vol. 23. P. 1531–1538.

84. Differential DNA hypermethylation and hypomethylation signatures in colorectal cancer / Frigola J., Sole X., Paz M.F., Moreno V., Esteller M., Capella G., Peinado M.A. // *Hum. Mol. Genet.* 2005. Vol. 14. P. 319–326.

85. Frequent DNA hypomethylation of human juxtacentromeric *BAGE* loci in cancer / Grunau C., Sanchez C., Ehrlich M., van der Bruggen P., Hindermann W., Rodriguez C., Krieger S., Dubeau L., Fiala E., De Sario A. // *Genes Chromosomes Cancer.* 2005. Vol. 43. P. 11–24.

86. Expression of MAGE-A1 mRNA is associated with gene hypomethylation in hepatocarcinoma cell lines / Xiao J., Chen H.S., Fei R., Cong X., Wang L.P., Wang Y., Jiang D., Wei L., Wang Y. // *J. Gastroenterol.* 2005. Vol. 40. P. 716–721.

87. Discovery of aberrant expression of R-RAS by cancer-linked DNA hypomethylation in gastric cancer using microarrays / Nishigaki M., Aoyagi K., Danjoh I., Fukaya M., Yanagihara K., Sakamoto H., Yoshida T., Sasaki H. // *Cancer Res.* 2005. Vol. 65. P. 2115–2124.

88. P-cadherin overexpression is an indicator of clinical outcome in invasive breast carcinomas and is associated with CDH3 promoter hypomethylation / Paredes J., Albergaria A., Oliveira J.T., Jeronimo C., Milanezi F., Schmitt F.C. // *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11. P. 5869–5877.

89. Promoter methylation of cyclin D2 gene in gastric carcinoma / Oshimo Y., Nakayama H., Ito R., Kitadai Y., Yoshida Y., Chayama K., Yasui W. // *Int. J. Oncol.* 2003. Vol. 23. P. 1663–1670.

90. Loss of epigenetic control of synuclein-gamma gene as a molecular indicator of metastasis in a wide range of human cancers / Liu H., Liu W., Wu Y., Zhou Y., Xue R., Luo C., Wang L., Zhao W., Jiang J.D., Liu J. // *Cancer Res.* 2005. Vol. 65. P. 7635–7643.

91. Elevated nuclear maspin expression is associated with microsatellite instability and high tumour grade in colorectal cancer / Bettstetter M., Woenckhaus M., Wild P.J., Rümmele P., Blaszyk H., Hartmann A., Hofstädter F., Dietmaier W. // *J. Pathol.* 2005. Vol. 205. P. 606–614.

92. Demethylation of promoter regulatory elements contributes to perforin overexpression in CD4+ lupus T cells / Kaplan M.J., Lu Q., Wu A., Attwood J., Richardson B. // *J. Immunol.* 2004. Vol. 172. P. 3652–3661.

93. Loss of imprinting in colorectal cancer linked to hypomethylation of H19 and IGF2 / Cui H., Onyango P., Brandenburg S., Wu Y., Hsieh C.L., Feinberg A.P. // *Cancer Res.* 2002. Vol. 62. P. 6442–6446.

94. Global loss of imprinting leads to widespread tumorigenesis in adult mice / Holm T.M., Jackson-Grusby L., Brambrink T., Yamada Y., Rideout W.M. 3rd, Jaenisch R. // *Cancer Cell*. 2005. Vol. 8. P.275–285.
95. Loss of IGF2 imprinting: a potential marker of colorectal cancer risk / Cui H., Cruz-Correa M., Giardiello F.M., Hutcheon D.F., Kafonek D.R., Brandenburg S., Wu Y., He X., Powe N.R., Feinberg A.P. // *Science*. 2003. Vol. 299. P.1753–1755.
96. Frequent IGF2/H19 domain epigenetic alterations and elevated IGF2 expression in epithelial ovarian cancer / Murphy S.K., Huang Z., Wen Y., Spillman M.A., Whitaker R.S., Simel L.R., Nichols T.D., Marks J.R., Berchuck A. // *Mol. Cancer Res.* 2006. Vol. 4. P.283–292.
97. Epigenetic status and aberrant expression of the maspin gene in human hepato-biliary tract carcinomas / Fujisawa K., Maesawa C., Sato R., Wada K., Ogasawara S., Akiyama Y., Takeda M., Fujita T., Otsuka K., Higuchi T., Suzuki K., Saito K., Masuda T. // *Lab. Invest.* 2005. Vol. 85. P.214–224.
98. Hypomethylation of LINE-1 and Alu in well-differentiated neuroendocrine tumors (pancreatic endocrine tumors and carcinoid tumors) / Choi I.S., Estecio M.R., Nagano Y., Kim D.H., White J.A., Yao J.C., Issa J.P., Rashid A. // *Mod Pathol.* 2007. Vol. 20. P.802–810.
99. Hypermethylation of the WT1 and calcitonin gene promoter regions at chromosome 11p in human colorectal cancer / Hiltunen M.O., Koistinaho J., Alhonen L., Myohanen S., Marin S., Kosma V.M., Paakonon M., Janne J. // *Br. J. Cancer.* 1997. Vol. 76. P.1124–1130.
100. The role of DNA methylation in expression of the p19/p16 locus in human bladder cancer cell lines / Gonzalgo M.L., Hayashida T., Bender C.M., Pao M.M., Tsai Y.C., Gonzales F.A., Nguyen H.D., Nguyen T.T., Jones P.A. // *Cancer Res.* 1998. Vol. 58. P.1245–1252.
101. Hypermethylation of the APC (adenomatous polyposis coli) gene promoter region in human colorectal carcinoma / Hiltunen M.O., Koistinaho J., Alhonen L., Myohanen S., Marin S., Kosma V.M., Paakonon M., Janne J. // *Int. J. Cancer.* 1997. Vol. 70. P.644–648.
102. *Antequera E., Boyes J., Bir A.* High levels of de novo methylation and altered chromatin structure at CpG islands in cell lines // *Cell*. 1990. Vol. 62. P.503–514.
103. Эпигенетика / под ред. С. Д. Эллис, Т. Дженювейн, Д. Рейнберг. М.: Техносфера, 2010. 496 с.
104. Comparison of CpG island hypermethylation and repetitive DNA hypomethylation in premalignant stages of gastric cancer, stratified for *Helicobacter pylori* / Park S.Y., Yoo E.J., Cho N.Y., Kim N., Kang G.H. // *J. Pathol.* 2009. Vol. 219. P.410–416.
105. *Belancio V.P., Roy-Engel A.M., Deininger P.L.* All y'all need to know 'bout retroelements in cancer // *Seminars in Cancer Biology*. 2010. Vol. 20. P.200–210.
106. *Кабанов И.Н., Никитина Т.В., Тищенко Л.И.* Экспрессия молодых повторов AluY в клетках эритромиелобластической лейкемии человека K562 при пролиферации и апоптозе // *Вестн. С.-Петерб. ун-та*. 2011. Сер. 3: Биология. Вып. 3. С.43–56.

Статья поступила в редакцию 3 апреля 2014 г.

Сведения об авторах

Кабанов Игорь Николаевич — младший научный сотрудник
Тищенко Людмила Ивановна — кандидат биологических наук, доцент

Kabanov Igor N. — Junior Researcher
Tishchenko Ludmila I. — Ph.D., Associate Professor