

# МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК КЛЕТКИ И ПАТОЛОГИЯ ОРГАНИЗМА

Козлов В.А.

ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, кафедра клинической иммунологии НГМУ, г. Новосибирск

**Резюме.** Несмотря на устоявшиеся представления о существовании явных различий в патогенезе основных заболеваний (рак, атеросклероз, аутоиммунные и аллергические заболевания), имеются основания думать о существовании неких фундаментальных процессов, лежащих в основе развития всех этих заболеваний, составляющих общую, единую часть их патогенеза. К таким процессам следует отнести процессы метилирования и деметилирования ДНК, ацетилирования и деацетилирования гистонов, процесс укорочения теломер, связанный с активностью теломеразы. Оказывается, что, по крайней мере, рак, атеросклероз, аутоиммунные заболевания характеризуются процессами тотального гипометилирования ДНК в различного рода клеточных элементах на фоне возвратного гиперметилирования отдельных генов. Предполагается, что данные об этих единых механизмах развития различных патологических процессов могут ставить вопрос о разработке единых методов терапии данных заболеваний, естественно, на фоне совершенствования методов лечения, специфических для отдельно взятой патологии.

*Ключевые слова:* метилирование, ДНК, гистоны, ацетилирование, гены.

*Kozlov V.A.*

## METHYLATION OF CELLULAR DNA AND PATHOLOGY OF THE ORGANISM

**Abstract.** In spite of stable opinions concerning clear pathogenetic differences in main disease states (i.e., cancer, atherosclerosis, autoimmune and allergic diseases), there are sufficient reasons to assume some fundamental processes, that are common to development of these diseases, and represent a general factor of their pathogenesis. Such processes include, e.g., DNA methylation and demethylation events, acetylation and deacetylation of histones, the processes of telomere shortening connected with telomerase activity. It proves that, at least, cancer, atherosclerosis, and autoimmune diseases are characterized by total hypomethylation of different cellular elements, against «recurrent» DNA hypermethylation of single specific genes in the background. It is assumed that information about such common developmental mechanisms for different disease states may evoke an issue of a search for some common approaches to treatment of these diseases, along with elaboration of conventional treatment modalities, being specific to individual pathology. (*Med. Immunol., vol. 10, N 4-5, pp 307-318*)

Если признать правильность постулата П.К. Анохина «...что уже начальные процессы формирования самой «управляющей системы» находятся полностью под управлением будущего, необходимого в данный момент организму результата», перенося его на оплодотворенную яйцеклетку, то, возможно, начальными процессами формирования этой системы управления активности генома клетки и будут являться совокупность процессов метилирования ДНК и модификации

гистонов, процессов поддержания длины теломер. Так или иначе, но именно нарушение этих трех основных процессов, если не касаться мутационного, и лежат в основе формирования нестабильности генома со всеми вытекающими отсюда последствиями, включая, например, процесс репликативного старения клетки и заканчивая индукцией того или иного патологического процесса на различных стадиях онтогенеза организма.

«Рак — это болезнь генов», по мнению генетиков, и «рак — это болезнь регуляции генов», по мнению «эпигенетиков». Все это так, но все же рак как заболевание — это болезнь иммунной системы, которая не смогла «справиться» с болезнями генов и нарушениями регуляции генов. В принципе, все это может касаться и других

### Адрес для переписки:

Козлов Владимир Александрович  
630090, г. Новосибирск-91, ул. Ядринцевская, 14.  
Тел.: (383) 222-26-74, 222-67-27.  
Факс: (383) 222-70-28.  
E-mail: v\_kozlov@online.nsk.su

основных заболеваний современного человека (атеросклероз, аутоиммунные и аллергические заболевания, вторичные иммунодефициты). Можно оспаривать правильность данной сентенции, можно и согласиться с ней, но следует подумать о возможности объединения всех этих трех возможных причин в одно изначально целое, в одну объединяющую цепь событий, которая и приводит к развитию того или иного заболевания. По крайней мере, надо четко знать, что там где «болезнь генов», там мутации, там изменение последовательности ДНК, а там где «болезнь регуляции генов», там нет изменений в последовательности ДНК, там имеются изменения в механизмах регуляции экспрессии генов.

Так или иначе, весь процесс онтогенеза организма, начиная с момента оплодотворения яйцеклетки сперматозоидом и заканчивая естественной смертью, все заболевания и *de facto* и *de jure* связаны с нормальным или нарушенным функционированием многочисленных генов в клетках различных тканей и органов индивидуума. Следует напомнить, что человеческий геном содержит 23 000 генов, которые должны быть экспрессированы в клетках разных специфичностей точно в определенное время. Последнее во многом (если не во всем) будет зависеть от структуры хроматина, организованного из нуклеосом ДНК и гистонов: если хроматин конденсирован, то гены находятся в инактивированном состоянии, если хроматин открыт (деконденсирован) и активен, то это определяет активацию экспрессии генов. В свою очередь, динамика состояния хроматина определяется (контролируется) такими обратимыми процессами, как метилирование ДНК и модификация гистонов. Последняя состоит из трех, как бы, субпроцессов: метилирования, ацетилирования и фосфорилирования.

Указанные процессы обеспечиваются рядом ферментов: ДНК метилтрансферазой, гистоновой деацетилазой, гистоновой ацетилазой, гистоновой метилтрансферазой и белками метилсвязывающих доменов. Считается, что изменение активности этих процессов будет обуславливать дерегулирование экспрессии генов и являться индуктором развития многих и многих патологических процессов.

В принципе, регуляция экспрессии гена состоит из двух компонентных систем. К первой можно отнести непосредственный контроль со стороны активаторов и репрессоров транскрипции, которые характеризуются различными ядерными концентрациями, ковалентными модификаторами и ассоциациями субъединиц. Здесь влияние на экспрессию гена осуществляется через процесс транскрипции и стабильность мРНК, связанными с геномной последовательностью ДНК

и с возможными изменениями в ней. Вторая компонента базируется на эпигенетической регуляции экспрессии гена, обусловленной изменениями в структуре хроматина путем ковалентной модификации ДНК и гистонов. Естественно, что метилирование ДНК оказывает существенное влияние на структуру хроматина [47].

Геном клетки испытывает на себе мощное регуляторное влияние со стороны эпигенома. При этом, если первый идентичен в различных типах клеток и на протяжении жизни клетки, то второй, что принципиально важно, является динамичным по своей сути, варьирует от одного клеточного типа к другому и от одной стадии онтогенеза клетки к другой. Именно эпигеном отвечает за формирование сигналов, связанных с развитием клетки, с ее физиологией, с ее реакцией на окружение и с развитием патологических изменений. С активностью эпигенома связаны программы экспрессии генов, действующие в определенных типах клеток в данный конкретный момент времени. Можно сказать, что фенотип является результатом кооперативного взаимодействия генотипа – специфической последовательности ДНК – и эпигенотипа. Предполагается, что в силу значительно большей пластичности именно эпигенотип, а не генотип может быть основным индуктором возникновения болезни.

Главными составляющими эпигенома являются хроматин с его модификациями и ковалентные модификации цитозинового кольца, найденные в динуклеотидных последовательностях CG. N-терминальные хвосты гистонов, являющиеся основным строительным блоком хроматина, активно модифицируются с помощью таких процессов, как метилирование, фосфорилирование, ацетилирование. Специфические факторы и репрессоры транскрипции привлекают гистон-модифицирующие ферменты к специфическим генам, таким образом, определяя профиль модификации гистонов вокруг генов.

Предполагается, что ацетилирование гистонов является ведущим регуляторным сигналом для формирования конфигурации хроматина. Деацетилирование гистонов приводит к инактивации хроматина. Ацетилирование хвостовой части гистона обуславливает повышение чувствительности генов к взаимодействию с факторами транскрипции, в то время как деацетилирование хвостов в значительной степени ограничивает чувствительность ДНК к факторам транскрипции.

Метилирование ДНК, как эпигеномный механизм регуляции гена, повышается факторами, которые отвечают за структуру неактивного хроматина, в то время как деметилирование индуцируется факторами, которые индуцируют активацию хроматина. Метилирование ДНК,

по-видимому, является ведущим событием в индукции состояния молчания экспрессии генов путем инактивации хроматина, и однонаправленное отношение между метиляцией ДНК и подавлением хроматина предполагает, что ДНК метиляция определяет структуру хроматина. Однако становится ясно, что взаимоотношения между хроматином и метиляцией ДНК являются двунаправленными и что хроматин играет существенную роль в определении образца (пути) метиляции ДНК. Показано, что ацетиляция гистонов, индуцированная TSA, ингибитором HDAC (деацетилаза гистонов), обуславливает деметиляцию эктопически помещенных метилированных генов, свидетельствуя о том, что ацетиляция гистонов является критическим событием для процесса деметиляции. Кроме того, белки, ингибирующие ацетиляцию гистонов блокадой НАТ (гистоновая ацетилтрансфераза) к гистоновым хвостам, также ингибируют деметиляцию, индуцированную TSA. Также, например, стабилизирующий настроение препарат valproate, который также ингибирует гистоновую деацетилазу, индуцирует деметиляцию, независимую от активной репликации. Коротко можно обозначить, что конформационно релаксированный хроматин (эухроматин) является критерием потенциально активированных генных регионов и ассоциирован с гипометилированной ДНК и ацетилированными гистонами, в то время как компактный хроматин (гетерохроматин) является транскрипционально безмолвным, гиперметилированным и связанным с неацетилированными гистонами.

Сам процесс метилирования ДНК заключается в добавлении метильной группы к цитозину в положении 5 с образованием 5-метилцитозина в пределах CpG (цитозин/гуанин) пары, изменяя при этом ряд характеристик ДНК в виде увеличения шага спирали ДНК и увеличения ее гидрофобности, что может иметь решающее значение для эффективного взаимодействия белков с соответствующими участками ДНК. В норме эти островки сохраняются, как правило, в неметилированном состоянии и являются мишенями для белков, которые связываются с неметилированными CpG и инициируют транскрипцию гена [37]. Влияние метилирования на транскрипцию осуществляется либо непосредственно через изменение эффективности связывания позитивных и негативных факторов транскрипции, либо опосредованно через формирование участков хромосом, неактивных в отношении процесса транскрипции. Предполагается, что в гаплоидном геноме человека имеется ~45 000 CpG островков в расчете на 23 000 экспрессирующихся генов и что промоторы многих, если не всех, консти-

тутивных генов или генов «домашнего хозяйства» содержат неметилированные CpG островки. По-видимому, есть биологическая целесообразность в активной экспрессии именно этих генов, обеспечивающих функционирование жизненно необходимых для клетки процессов, таких как гликолиз, биосинтез аминокислот и нуклеотидов, катаболизм белков и т.п. Другое дело гены «роскоши», осуществляющие специализированные функции в процессах пролиферации и дифференцировки клеток. Здесь гены просто не могут, не имеют право находиться постоянно в состоянии экспрессии. Они должны отработать «свое» на определенной стадии клеточного цикла в процессах пролиферации и дифференцировки и затем замолчать, т.е. подвергнуться метилированию. Возможно, именно поэтому только 40% из них имеют CpG островки, а у 60% этих генов присутствуют одиночные CpG-динуклеотиды. Можно ожидать, что если ген «домашнего хозяйства» будет инактивирован через механизм метилирования CpG островков (феномен MAGI – methylation-associated gene inactivation), то это вполне может оказаться летальным событием для клетки, без особых последствий для организма. Но если будет инактивирован какой-либо тканево-специфический ген (ген «роскоши»), здесь будет нанесен ущерб дифференцировочному клеточному пути без видимого вреда для общей жизнеспособности отдельной клетки. Пока не понятен феномен разной чувствительности динуклеотидных островков к метилированию, который заключается в том, что, например, в условиях искусственно созданной избыточной экспрессии в клетках ДНК метилтрансферазы одни CpG островки становятся гиперметилированными, а другие, и их большинство, не метилируются вообще [10]. Возможно, это имеет отношение к различиям между клетками разных тканей или разных стадий дифференцировки в эпигеномной регуляции генома клеток.

Предполагается, что процесс метилирования осуществляется в первые минуты после репликации ДНК, т.е. пострепликативно и является по своей сути событием эпигенетическим, т.к. нуклеотидная последовательность ДНК при этом не меняется. Можно думать о том, что метилируются здесь те гены, работа которых была необходима клетке на предыдущей стадии дифференцировки, т.е., очевидно репрессируются отдельные представители семейства генов роскоши. Следует всегда иметь в виду, что метилирование, хотя и является стабильной и наследуемой модификацией, в принципе обратимо под воздействием деметилирующих агентов или ферментов. В этом также заключается одно из принципиальных отличий данного процесса от мутаций в ДНК. По-

видимому, не зря метилирование ДНК определяют как «...the prima donna of epigenetics».

Установлено, что в процессах метилирования участвуют два вида протеинов: ДНК метилтрансферазы (осуществляют перенос метильной группы к цитозину CpG динуклеотидов) и так называемые метил-связывающие белки (по-видимому, превращают сигнал метилирования ДНК в репрессивное состояние хроматина). Если есть процесс метилирования, то естественно работают и процессы деметилиации. Последние реализуются либо через ингибирование активности и снижения уровня фермента ДНК метилтрансферазы, либо путем инактивации протеинов ремодулирующих хроматин. Имеются примеры возможности прямого удаления метиленовых групп из метилированной ДНК, хотя указания на наличие фермента деметилазы отсутствуют [22]. По-видимому, источником метильных групп для ДНК метилтрансферазы являются молекулы S-аденозилметионина, производство которых осуществляется через фолатный и метиониновый пути с использованием метионина, холина, фолиевой кислоты и витамина B<sub>12</sub> из перерабатываемой пищи [45].

В общебиологическом плане феномен метилирования является элементом системы распознавания, выполняя защитную функцию, направленную на предохранение организма от чужеродной ДНК и избытка эндогенных повторяющихся последовательностей. Возможно, здесь мы имеем дело с эволюционным праобразом иммунной системы, с ее механизмами узнавания чужеродного и избавления организма от генетически чужеродного. По крайней мере показано, что генетической инактивации путем метилирования подвержены ДНК из внешней среды вирусного происхождения или введенные в клетку с помощью трансфекции. Получены данные о том, что интеграция ДНК аденовирусов и гепатита В в геном клетки сопровождается их постепенным метилированием [2, 46]. В нормальных клетках ДНК метилирование в основном имеет место в повторяющихся геномных областях, включая сателлитные ДНК и паразитирующие элементы, такие как длинные (LINES) и короткие (SINES) разбросанные транспозиции, а также эндогенные ретровирусы [52]. В глобальном плане метилирование ДНК регулирует фундаментальные биологические феномены, такие как экспрессия генов, геномный импринтинг и инактивация X хромосомы.

Описаны возрастные характеристики процесса метилирования ДНК. После оплодотворения яйцеклетки происходит тотальное деметилирование генома, устраняющее профиль, сформированный в исходных половых клетках. В даль-

нейшем, тотальное деметилирование является одним из основных признаков эмбриональных стволовых клеток, являющихся составной частью внутренней массы бластоциста, обуславливая тотипотентность последних возможной работой генов, ответственных за потенциальную дифференцировку стволовых элементов. После имплантации бластоциста в клетках запускается процесс метилирования *de novo*, профиль которого в целом сохраняется в соматических клетках взрослого индивидуума. В зрелом организме определенный уровень процесса метилиации ДНК в клетках базируется на определенном уровне баланса процессов метилиации и деметилиации. Тотальное гипометилирование генома, по-видимому, является характерной чертой процесса старения организма, как это было показано на примере стареющих в культуре фибробластов человека. Кстати, в стареющих нормальных клетках, как и в опухолевых клетках, CpG островки в промоторных участках некоторых генов гиперметилированы [34]. Наступление старения и истощение пролиферативного потенциала мезенхимальных стволовых клеток человека в процессе культивирования связывают с возрастанием метилирования гена p16INK4A [40]. В целом, феномен тотального гипометилирования ДНК с явлениями гиперметилирования отдельных генов в процессе старения организма, обуславливая возможность хромосомной нестабильности и реарранжировки, уже сам по себе становится причиной повышения риска развития в процессе старения таких патологий, как нейродегенеративные заболевания, атеросклероз и, естественно, рак.

Говоря о феномене тотального гипометилирования, который является важнейшим показателем нестабильности генома, следует отметить, что он определяется достаточно четко в трех остросюжетных состояниях организма: в самом начале эмбрионального развития, на конечных стадиях онтогенеза организма в процессе его старения и, наконец, в процессе опухолевой трансформации. Наверное, во всех трех ситуациях речь может идти, прежде всего, об экспрессии генов «роскоши», а не о генах «домашнего хозяйства», ибо первые в основном связаны с процессами пролиферации и дифференцировки клеток.

Тогда почему в первом случае (ранний эмбриогенез) дело заканчивается нормальной дифференцировкой, когда *step by step* идет формирование многоклеточного организма, а во втором (старение) и третьем (рак) происходит либо более раннее старение клетки и организма, либо трансформация нормальной клетки в опухолевую? С точки зрения процесса метилирования просматриваются два положения: либо под действие

тотального гипометилирования все же попадают частично разные гены, либо гиперметилирование в нормальных стареющих и трансформирующихся клетках обуславливает подавление экспрессии тех генов, которые имеют прямое отношение к нормальному онтогенезу клетки (например, гены супрессоры опухолевого роста).

В этом отношении представляют интерес данные о разной роли ДНК метилтрансфераз в клетках, находящихся на разной стадии дифференцировки. Если отсутствие ДНК метилтрансфераз 3a и 3b в эмбриональных стволовых клетках не влияет на их способность реплицироваться, но ингибирует их дифференцировочную активность, то в стволовых гемопоэтических клетках, наоборот, страдает пролиферативная активность, но сохраняется способность к дифференцировке [43]. Следует предполагать, что на разных стадиях дифференцировки клеток в зрелом организме и в тех же клетках старого организма чувствительность одних и тех же генов (их CpG островков) к эффекту метилтрансферазы изменяется, что, по-видимому, вносит весомый вклад в изменение с возрастом функциональной активности клеточных элементов. Изменение чувствительности к метилированию характерно и для клеток разных опухолей, когда в условиях гиперметилирования на определенной стадии развития опухоли часть генов одинаково метилируются во многих опухолях (например, гены опухолевой супрессии), а по другим генам имеется некая специализация чувствительности к метилированию CpG островков в зависимости от вида опухоли [10]. Более того, условия гипометилиации ДНК могут стать индуктором не только опухолевой трансформации, но и клеточной трансдифференцировки. Было показано, что на фоне блокады метилирования ДНК *zuberline* происходила морфологическая трансформация C2C12 миобластов в гладкомышечные клетки с ингибированием митотической активности [21]. Можно предположить, что трансформация (трансдифференцировка) клетки на фоне тотального гипометилирования ДНК является одним из существенных этапов (фаз, путей, направлений) регенераторных процессов, происходящих в организме в процессе онтогенеза в норме и при действии каких-либо повреждающих факторов. В первую очередь, на роль этих клеток, способных к регенераторной трансформации, будут претендовать стволовые кроветворные клетки, мезенхимальные стволовые клетки, пластичность которых доказана в многочисленных экспериментах *in vivo* и *in vitro*.

Накоплен достаточно большой материал, указывающий на ведущую роль нарушения процесса метилирования в таких биологических феноменах, как инактивация X хромосомы и геномный

импринтинг. Ряд авторов разделяют патологии человека, связанные с нарушениями процесса метилирования, на три класса: 1) дефекты импринтинга; 2) дефекты уровня метилирования ДНК и/или интерпретации; 3) метилиция и рак. К первым относят такие патологии, как синдром Angelman, синдромы Prader–Willi и Beckwith–Wiedemann; ко вторым – синдромы ICF и Rett, синдромы Fragiler X, ATR-X и Facioscapulohumeral dystrophy [37].

Не касаясь здесь заболеваний первых двух классов, проблема которых достаточно детально освещена в нескольких обзорах [33, 47], в отношении связи опухолевых процессов с метилированием ДНК в клетках следует отметить следующие основополагающие моменты. Прежде всего следует подчеркнуть, что туморогенез является мультистадийным процессом, где принимают участие как генетические, так и эпигенетические изменения, которые и индуцируют прогрессивную трансформацию нормальных клеток с приобретением инвазивных свойств. Признано считать правильным утверждение о ведущей роли в опухолевой трансформации клеток тотального гипометилирования ДНК с последующей активацией генов, дерепрессией повторяющихся элементов и нестабильностью хромосом. Показано, что дерепрессии подвергаются целый ряд онкогенов (например, *c-myc*, *h-ras*), генов опухолевых антигенов (*mage*, *sage*, *cage*), функция которых еще не достаточно ясна, гены ретровирусного генома. Крайний интерес представляют данные о том, что на фоне гипометилирования регистрируется гиперметилирование отдельных генов, роль которых в генезе опухолевого роста трудно переоценить. Прежде всего это касается генов онкосупрессоров, отдельных генов, регулирующих клеточный цикл (например, *ink4A*), генов апоптоза [23]. Локальное гиперметилирование распространяется на относительно небольшую часть (20%) динуклеотидов CpG, образующих соответствующие островки [10].

Пока не ясно, какие механизмы задействованы в этой биохимической разбалансировке процессов доставки метильной группы к цитозину и ее отсоединения. Почему для одних генов ДНК метилтрансфераза активируется и идет метилирование гена и подавление его активности, а в других случаях на фоне снижения активности того фермента идет дерепрессия этого же гена? Возможно, что это связано с изменением скорости клеточного цикла трансформирующихся клеток, когда при одной скорости, в начальные периоды трансформации, работают гены, направленные на осуществление процесса гипометилирования, а по мере возрастания скорости начинают работать гены, связанные с активацией ДНК метилтрансферазы. То, что скорость

клеточного цикла может изменяться, нами было показано на примере стволовых кроветворных клеток при действии тестостерона [1]. Не исключено, что чувствительность разных хромосом к геном-дестабилизирующему эффекту гипометилирования ДНК различна и где-то активируются механизмы метилирования, а где-то они ингибируются. По крайней мере предполагается, что метилирование одного и того же гена в разных тканях не носит характер «все или ничего». Например, метилиция CpG подавляет транскрипционную активность гена *syncytin-1* в разных тканях, хотя в плаценте он гиперметилирован. Это же касается генов эндогенных ретровирусов [32]. При всем при этом необходимо иметь в виду, что оценка процесса метилирования ряда генов (например, генов домашнего хозяйства) может стать ранним диагностическим признаком развития опухоли (например, рака легких) [31] или показателем неблагоприятного прогноза, как в случае рака прямой кишки при оценке уровня метилирования генов *MINT1*, *MINT2*, *MINT31* и др. [39]. В одних и тех же опухолевых клетках метилирование может касаться целого ряда генов, имеющих непосредственное отношение к возможному ингибированию роста этих клеток. На примере клеток нейробластомы показано, что метилированию подвергаются такие гены, как ядерный рецептор 112, ген *CRABP1* – кандидат на роль опухолевого супрессора, ген белка теплового шока 47, ген *CD44* и, наконец, ген рецептора 2 простагландина E, подавление экспрессии которого обуславливает потерю чувствительности опухолевых клеток к ингибирующему эффекту лиганд, действующих через данный рецептор [42].

Несомненно, что атеросклероз занимает ведущее место в патологиях современного человека. Если коротко, то атеросклероз характеризуется миграцией и пролиферацией гладкомышечных клеток в артериальных стенках, накоплением липидов, образованием соединительной ткани, наличием воспалительных клеток и кальцификацией. В стенках сосудов отмечается утолщение интимы в ответ на какое-либо повреждение, будь то механическое повреждение или действие какого-нибудь эндогенного фактора, что и обуславливает появление дисфункции эндотелия и усиление миграции и пролиферации гладкомышечных клеток. Интересно, что вследствие пролиферации клеток и моноклональности, по крайней мере, некоторых клеток в участке повреждения атеросклеротические повреждения сравниваются с сосудистыми опухолями [27]. В этом отношении представляют значительный интерес сравнительные данные о метилировании ДНК при развитии атеросклероза и в про-

цессе онкогенеза. Оказалось, что так же, как и при опухолевом росте, гладкомышечные клетки пораженных сосудов характеризуются тотальным гипометилированием ДНК в ходе деления. Это было показано как на примере пораженных участков стенок сосудов у человека, у нокаутированных по гену *ApoE* мышей, так и у кроликов, вскормленных на холестеринной диете [13]. При этом определялась повышенная экспрессия протоонкогенов PDGF (фактор роста В тромбоцитарного происхождения) и *c-myc*. Белок последнего в атеросклеротических каротидных артериях у человека определялся в значимо высоком проценте клеток [26]. По всей вероятности, гипометилиция при атеросклерозе, так же как и при раке, вносит свой вклад в патогенез заболевания, индуцируя хромосомную нестабильность, затрагивая такие специфические гены, имеющие отношение к развитию заболевания, как гены 15-липоксигеназы и внеклеточной супероксиддисмутазы [14]. В экспериментах на мышах было показано, что изменение профиля метилирования предшествует тем видимым изменениям в стенке сосудов, которые характеризуют как развитие атеросклеротического поражения сосудов [24]. Ранее уже говорилось, что на фоне гипометилирования могут проявляться механизмы трансдифференцировки миобластных клеток в гладкомышечные клетки, что в последующем будет способствовать увеличению числа пролиферирующих гладкомышечных клеток [21].

Так же как и при опухолевом росте, при атеросклерозе отмечается гиперметилирование отдельных генов. Это касается такого важного гена для развития атеросклероза и старения в целом, как ген эстрогенового рецептора- $\alpha$  на гладкомышечных клетках [29]. Именно наличие этих рецепторов на клетках позволяет реализовать антипролиферативный эффект эстрогенам на гладкомышечные клетки, тем самым оказывая кардиоваскулярную протекцию, а подавление экспрессии гена рецепторов будет способствовать индукции пролиферации этих клеток, тем самым способствуя развитию атеросклероза [51]. Кроме того, активированные эстрогеновые рецепторы увеличивают экспрессию/активность NO-синтазы, а, следовательно, и продукцию NO самого, который также обладает способностью ингибировать пролиферацию клеток гладких мышц в сосудах. Получается, что гиперметилирование одного гена тянет за собой уже цепочку событий, обладающих антиатеросклеротическим эффектом [8]. Кстати, гиперметилирование гена эстрогенового рецептора может быть одним из ранних событий развития опухоли прямой кишки, быть характеристикой рака грудной железы с отсутствующими рецепторами к эстро-

генам в опухолевой ткани [29]. Возможно, это нельзя не иметь в виду предполагаемой общей, основополагающей причины возникновения таких заболеваний, как атеросклероз и рак.

Не все ясно с экспрессией гена p53, отвечающего за продукцию антипролиферативного белка опухолевой супрессии. Несмотря на имеющиеся несомненные доказательства на нокаутированных мышцах о его роли в развитии атеросклероза и down-регуляции мРНК и самого белка в стенках аорты свиней, предполагались другие механизмы подавления, не связанные с метилированием. Показано, например, что деление гладкомышечных клеток происходило, несмотря на накопление в атеросклеротической ткани человека p53 с его негативным влиянием на деление клеток. Оказалось, что в этих же клетках накапливается белок продукт гена MDM2, который образует комплекс с p53, ингибируя его негативный эффект на прогрессию клеточного цикла [16].

Если изменения в профиле метилирования в клетках сосудов, в ядродержащих клетках периферической крови наступают раньше видимых морфологических изменений, то каков все же механизм первых? В этом отношении выдвигается обоснованное предположение об индуцирующей данный процесс роли холестерина и, в частности, ЛПНП. По крайней мере было показано, что инкубация моноцитарных ТНР-1 клеток человека с липопротеидами низкой плотности обуславливало значительное увеличение метилирования ДНК и инактивацию хроматина. В то же время оказалось, что антиатеросклеротические липопротеиды высокой плотности обуславливали активацию хроматина в культуре клеток [24]. Имеются данные, свидетельствующие об участии в процессах нарушения метилирования ДНК гомоцистеина, аминокислоты, содержащей серу и происходящей из метионина. Как участник метионинового цикла гомоцистеин может быть реметилирован назад в метионин. В этом цикле метионин используется для синтеза S-аденозилметионина (SAM), который превращается в гомоцистеин и S-аденозилгомоцистеин (SAH), потенциальный ингибитор процесса метилирования. Именно SAM является одним из ведущих доноров метильных групп для метилирования ДНК, а SAH – конкурентным ингибитором SAM-зависимой метилтрансферазы. Увеличение уровня последнего (гипергомоцистеинемия) при атеросклерозе, возможно, является одним из механизмов феномена тотального гипометилирования ДНК, характеризующего, по-видимому, как начало, так и прогрессию заболевания. На фоне гипометилирования ДНК, индуцированной гипергомоцистеинемией, наблю-

дается даже сдвиг с моноаллельной экспрессии генов в направлении биаллельной. Более выраженное протекание процесса гипометилирования ДНК на фоне пониженного содержания в организме фолиевой кислоты и витамина B<sub>6</sub> и терапевтический эффект фолиевой кислоты у пациентов с атеросклерозом положительно свидетельствуют о негативной роли гипергомоцистеинемии в развитии атеросклероза [6, 12, 17].

Предполагается, что гипометилирование ДНК в клетках периферической крови при атеросклерозе, а не только в клетках непосредственно тканевых мишеней заболевания вносит свой вклад в патогенез, учитывая данные об участии иммунной системы в патогенезе атеросклероза [8, 53].

В настоящее время в мире диагностируется более 84 нозологических форм аутоиммунных заболеваний, патогенез которых, так или иначе, связан с реакциями иммунной системы против собственных антигенов, разгадка механизмов которых (реакций) до сих пор остается весьма проблематичной. Интересной представляется одна из гипотез, основанная на увеличенной скорости апоптоза при СКВ циркулирующих лимфоцитов и моноцитов с последующим иммунным узнаванием аутоантигенов, появившихся в циркуляции в результате апоптоза, и индукцией образования ауто-Ат. На мышцах было показано, что с помощью апоптотической ДНК, но не некротической, можно индуцировать развитие СКВ-подобного заболевания, где уровень антител против ДНК четко связан с уровнем введенной апоптотической ДНК. Оказалось, что апоптотическая ДНК характеризуется выраженным гипометилированием, по сравнению с нормальной или некротической ДНК. Метилирование апоптотической ДНК значительно уменьшает ее способность индуцировать образование Ат к ДНК. В то же время деметилирование нормальной или некротической ДНК обуславливает повышение их иммуногенности для индукции СКВ-подобного синдрома [48]. Эти данные говорят об обоснованной возможности участия описанного механизма в патогенезе СКВ. При этом имеющиеся многочисленные данные свидетельствуют о тотальном гипометилировании CD4<sup>+</sup>T-клеток при СКВ у человека, скорее всего, в результате снижения активности ДНК метилтрансферазы-1 [4, 38]. Предполагается, что гипометилированные T-лимфоциты приобретают способность индуцировать развитие аутоиммунных реакций. Здесь возможно участие повышенной экспрессии на T-клетках рецепторов адгезиновых молекул типа LFA-1. Кроме того, с повышенной экспрессией на T-клетках CD70 связывают способность этих клеток обуславливать избыточную стимуляцию B-клеток. Помимо участия ДНК метилтрансферазы в ме-

ханизмах гипометилирования могут играть роль и белки, связывающиеся с CpG, уровень экспрессии которых в Т-клетках больных СКВ был повышен и обратно пропорционально был связан с уровнем метилирования в CD4<sup>+</sup>Т-клетках [3]. Во всяком случае, есть несколько поводов говорить о важной роли в патогенезе СКВ метилирования ДНК, среди которых можно отметить: возможность индукции СКВ-подобного аутоиммунного состояния с помощью гипометилированных CpG мотивов и наличие таких мотивов в сыворотке больных СКВ; доказательство имеется гипометилирования ДНК лимфоцитов (особенно Т-клеток) у больных СКВ на фоне сниженной экспрессии мРНК ДНК метилтрансферазы-1; наличие данных о возможности индукции СКВ-подобного синдрома *in vivo* и *in vitro* с помощью деметилирующих агентов, таких как 5-aza-C; существуют тесные взаимоотношения между метилированием ДНК и волчанкой, индуцированной лекарством; с гипометилированием тесно связана активация ретровирусного генома при СКВ, что имеет существенное отношение к этиологии СКВ [38]. На фоне тотального гипометилирования при аутоиммунных заболеваниях обнаруживается гиперметилирование отдельных генов. Это было показано в отношении  $\alpha$ -гена HLA-DR в В-клетках при СКВ со сниженной экспрессией DR антигена на клеточной поверхности [36], а также в отношении апоптотического гена DR3 в синовиальных клетках при ревматоидном артрите, что может обуславливать резистентность последних к апоптозу [44]. Гиперметилирование, а, следовательно, и «молчание» гена IL-10, мощного противовоспалительного цитокина, было обнаружено в клетках периферической крови больных РА. Выдвигается предположение о значимой роли этого факта в патогенезе РА с его преимущественной активностью Th1-клеток [11]. Сама по себе возможность индукции аутоиммунного процесса в организме реципиента Т-клеток, подвергнутых процедуре гипометилирования ДНК, уже говорит о многом с точки зрения возможных механизмов аутоиммунных заболеваний. По крайней мере, в каком-то роде можно исключить и из этиологии, и из патогенеза индуцирующую роль каких-либо аутоантигенов или антигенов другой природы, поскольку они оставались неизменными до и во время переноса реципиентам Т-клеток. Однако остаются не ясными индукторы этого тотального гипометилирования ДНК или выборочного гиперметилирования, не установлено также, какие клетки отвечают за появление способности к индукции аутоиммунных реакций: либо это Th1- или Th2-клетки, непосредственно участвующие в индукции клеточного или гуморального иммунного

аутоответа, либо это касается популяции регуляторных клеток, типа CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>?

Следует подчеркнуть, что как в процессе онкогенеза, в ходе развития атеросклероза, так и при аутоиммунных заболеваниях имеются общие характеристики ДНК, такие как тотальное гипометилирование ДНК и стойкое метилирование отдельных генов в различных тканях организма, которые проявляются в ходе развития патологического процесса. Следовательно, при всех названных патологиях формируется состояние нестабильности хромосом, нестабильности генома, что, по-видимому, является фундаментальной основой проявления и/или поддержания патологического процесса при канцерогенезе, атеросклерозе, аутоиммунном процессе.

При аллергии, в отличие от канцерогенеза, ведущая роль метилирования ДНК пока еще неоспоримо не доказана. Работы в основном касаются метилирования генов отдельных цитокинов, таких как IL-4 и IFN $\gamma$ , роль которых в патогенезе аллергических заболеваний противоположна по патогенетической значимости. Например, при бронхиальной астме была обнаружена корреляция между степенью гипометилирования ДНК в CD4<sup>+</sup> лимфоцитах и концентрацией IL-4 после стимуляции аллергеном [20]. И все же при оценке уровня мРНК фермента ДНК метилтрансферазы в мононуклеарных клетках периферической крови у больных атопическим дерматитом было выявлено значительное снижение его активности, особенно у пациентов с высоким уровнем IgE [28]. Возможно, это дает основание сделать предположение о тотальном гипометилировании ДНК как о характеристике аллергических заболеваний.

Несомненно участие метилирования ДНК в регуляции процессов пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток, экспрессии в них генов цитокинов и рецепторов к ним, изменение характера которого может лежать в основе развития самых различных иммунопатологических состояний, или являться основополагающей характеристикой патологического процесса. В литературе имеются данные о прямой зависимости экспрессии генов IFN $\gamma$  и IL-4, с одной стороны, от клеточного цикла, с другой — от эпигенетического регуляторного влияния. Оказалось, что при активировании предшественников Th, в процессе их дифференцировки в Th1- и Th2-клетки, ген IFN $\gamma$  экспрессируется в Т-клетках уже в течение прохождения клеткой первого цикла, в то время как экспрессия гена IL-4 начинается только через три клеточных цикла в результате активного деметилирования гена, который до этого находился в репрессированном состоянии в результате метилирования [5]. По-

видимому, одновременно с гипометилированием гена *IL-4*, в ходе дифференцировки клеток предшественников в Th2-клетки, ген *IFN $\gamma$*  метилируется, и он «замолкает» в этих клетках. Было показано, что обработка клеток Th2 деметилирующим агентом 5-azacytidine обуславливает увеличение в них продукции *IFN $\gamma$*  [50]. Вполне вероятно, что связанная с гипометилированием экспрессия гена *IFN $\gamma$*  обуславливается гипометилированием генов факторов транскрипции T-bet и STAT4 [41]. Возможно, фактор транскрипции ограничивает каким-то образом активность ДНК метилтрансферазы, как это было показано в отношении его эффекта на процесс деметилирования гена рецептора *IL-18 $\alpha$*  в течение дифференцировки Th1-клеток [30]. Предполагается, что избирательная метиляция гена *IFN $\gamma$*  в детском возрасте может стать одной из причин формирования атопии у детей [49]. Создается впечатление, что при любой стимуляции предшественников Th они сначала и всегда будут проходить стадию дифференцировки в Th1. Судьба Th2-клеток будет связана с дозой антигена, с видом антигена и с рядом внутри- и внесистемных регуляторных воздействий, и их дифференцировка будет протекать на фоне гипометилирования гена *IL-4* при участии активно действующих факторов транскрипции GATA-3 и STAT-6 [35]. Было обнаружено, что у мутантных мышей с отсутствующим белком MBD2 (methyl CpG-binding protein 2), опосредованно отвечающим за репрессирование гена с помощью метилирования, формировался стойкий иммунитет к *Leishmania major* на фоне отсутствия одного к *Trichuris muris*. Такая поляризация иммунного ответа (резистентность к первой инфекции связана с активностью Th1-клеток и продукцией *IFN $\gamma$* , а резистентность ко второй инфекции – с Th2-клетками и продукцией *IL-4*) связывается авторами с различным характером дерепрессии генов цитокинов в разных субпопуляциях Т-клеток [15]. Показано, что наличие двух субпопуляций CD8<sup>+</sup>Т-клеток с разной интенсивностью экспрессии гена *IL-7R $\alpha$* , высокой и низкой, базируется на уменьшенной метиляции промотора гена в первом случае, по сравнению со вторым, где уменьшение метилирования с помощью 5-aza-2'-deoxycytidine обуславливало, соответственно, увеличение экспрессии *IL-7R $\alpha$*  [19]. Можно предполагать, что нарушение метилирования гена *IL-7R* в Т-клетках может стать причиной нарушения процесса гомеостатической пролиферации, следующего после различного рода лимфопения-индуцирующих воздействий и обуславливающего восстановление лимфопоэза, учитывая ведущую роль в нем *IL-7*. При этом показано, что при сниженном метилировании ДНК, индуцированном делецией ДНК

метилтрансферазы 1 (Dnmt1), на высоте иммунного ответа к вирусу лимфоцитарного хориоменингита у мышей, значительно уменьшается накопление функционально активных антигенспецифических, эффекторных CD8<sup>+</sup>Т-клеток, хотя накопление клеток памяти CD8<sup>+</sup> было диспропорционально высоким [7]. В то же время у мышей с отсутствием белка MBD2 (methyl-CpG-binding domain protein 2), опосредующего репрессию гена, зависимую от метиляции ДНК, было обнаружено уменьшение накопления Т-клеток памяти CD8 в ответ к инфекции лимфоцитарным хориоменингитом на фоне снижения их функциональной активности. В более поздние сроки после заражения вирусом численность популяции клеток памяти практически восстанавливалась, возможно, за счет механизмов гомеостатической пролиферации [18].

По настоящее время остается неясной природа тотального деметилирования ДНК и, что еще важнее, природа возвратного метилирования определенных генов при разных опухолях, при ряде аутоиммунных и аллергических заболеваний и, более того, у разных индивидов. Пожалуй, четко показано только одно, что имеются гены резистентные и гены склонные к отклоняющемуся от нормы метилированию. Причем наличие этих генов обозначено как в нормальных клетках, так и в клетках с повышенной активностью ДНК метилтрансферазы 1. В последнем случае, даже несмотря на увеличенную экспрессию данного фермента, на возросшее число метилированных генов, большая часть генов оставалась резистентной к метилированию. Это может свидетельствовать о наличии у большинства генов защитных механизмов против aberrантной метиляции. Предполагается, что CpG островки различаются между собой по их внутренней чувствительности к ненормальному метилированию, возможно, основанном на содержании последовательности [10].

И все же, несмотря на недостаточность четких данных по отдельным патологиям, входящих в группу основных заболеваний современного человека (рак, атеросклероз, аутоиммунные и аллергические заболевания), несмотря на ясно обозначенные различия в иммунопатогенезе данных заболеваний и в их этиологии, имеются основания говорить о базисной тождественности их патогенеза. Последняя заключается в нестабильности генома различных клеток при данных патологиях, индуцированных такими механизмами, как метилирование ДНК и деацетилирование гистонов, обуславливающих эпигенетическое «замолкание» генов; тотальное деметилирование ДНК и ацетилирование гистонов. В первом случае хроматин конформационно характеризует-

ся как релаксированный эухроматин, во втором как компактный гетерохроматин. По всей вероятности, тотальное гипометилирование ДНК может быть условием для усиленного влияния генотипа, выражающееся в потенциальном повышении мутационного процесса. Здесь будет проявляться влияние эпигенотипа на генотип. С другой стороны, выявление аллельных вариантов и изоформ ферментов, участвующих в процессах метилирования ДНК и ацетилирования гистонов, возможно, будет свидетельствовать о «вмешательстве» генотипа в «регуляторные потенции» эпигенотипа. Существует понимание формирования фенотипа как динамического процесса, складывающегося под влиянием генотипа, окружающей среды и эпигенотипа. При этом эпигенотип находится под прессом как бы суммарного эффекта генотипа и окружающей среды. Несомненно влияние окружающей среды на возникновение и развитие того или иного заболевания (на формирование фенотипа больного организма). Но как одни и те же условия могут участвовать в развитии разной патологии? Какова специфика ее влияния на генотип и вместе с ним – на эпигенотип? В чем состоит специфичность влияния генотипа на формирование фенотипа через эпигенотип с наличием того или иного у него заболевания в условиях одной и той же окружающей среды? Почему метилирование и деметилирование ДНК, ацетилирование и деацетилирование гистонов оказывают влияние на экспрессию разных генов при разных патологиях? Вопросов много, ответов мало. И все же есть общее у разных фенотипов с различной патологией: имеются процессы тотального деметилирования ДНК и вторичного гиперметилирования отдельных генов. То есть имеются изначально общие биохимические механизмы проявления эпигенотипа, которые хоть и являются участниками формирования «патологической» особенности конкретного фенотипа, но они должны быть мишенью возможной коррекции этих «ненормальных» процессов. Следовательно, терапия должна снижать распространенность по геному тотального гипометилирования, это с одной стороны. С другой стороны, должны быть разработаны средства участвующие в процессах деметилирования «умолкнувших» генов, принимающих позитивное влияние в торможении развития того или иного заболевания.

Что касается последних, то такой ингибитор метилирования ДНК, как 5-azacytidine, уже утвержден FDA для лечения миелодисплазии (прелейкемический синдром), препарат из этой же серии 5-aza-2'-deoxycytidine проходит стадию III клинических испытаний, а препараты epigallocatechin-3-gallate antisense oligomers –

фазу I. Исследуется терапевтическая эффективность в клинике препаратов, ингибирующих деацетилирование гистонов, таких как phenylbutyric acid, suberoylanilide, depsipeptide и valproic acid [9, 45]. Уже первые клинические исследования предполагают большую эффективность в действии на опухолевые клетки совместного использования ингибиторов ДНК метилтрансферазы и гистоновой деацетилазы [25].

## Список литературы

1. Козлов В.А., Журавкин И.Н., Цырлова И.Г. Стволовая кроветворная клетка и иммунный ответ. – Новосибирск: Наука, 1982. – 221 с.
2. Патрушев Л.И. Экспрессия генов. – М.: Наука, 2000. – 527 с.
3. Balada E., Ordi-Ros J., Serrano-Acedo S., Martinez-Lostano L., Vilardell-Tarres M. Transcript overexpression of the MBD2 and MBD4 genes in CD4<sup>+</sup> T cells from systemic lupus erythematosus patients // J. Leukoc. Biol. – 2007. – Vol. 81, N 6. – P. 1609-1619.
4. Ballestar E., Esteller M., Richardson B.C. The epigenetic face of systemic lupus erythematosus // J. Immunol. – 2006. – Vol. 176. – P. 7143-7147.
5. Bird J.J., Brown D.R., Mullen A.C., Moskowitz N.H., Mahowald M.A., Sider J.R., Gajewski T.F., Wang C-R., Reiner S.L. Helper T cell differentiation is controlled by the cell cycle // Immunity. – 1998. Vol. 9, N 2. – P. 229-237.
6. Castro R., Rivera I., Struys E.A., Jansen E.E., Ravasco P., Camilo M.E., Blom H.J., Jakobs C., Tavares de Almeida I. Increased homocysteine and S-adenosylhomocysteine concentrations and DNA hypomethylation in vascular disease // Clin. Chemistry. – 2003. – Vol. 49, N 8. – P. 1292-1296.
7. Chappell C., Beard C., Altman J., Jaenisch R., Jacob J. DNA methylation by DNA methyltransferase 1 is critical for effector CD8 T Cell expansion // J. Immunol. – 2006. – Vol. 176, N 11. – P. 4562-4572.
8. Dong C., Yoon W., Goldsmidt-Clermont P.J. DNA methylation and atherosclerosis // J. Nutr. – 2002. – Vol. 132. – P. 2406S-2409S.
9. Egger G., Liang G., Aparicio A., Jones P.A. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy // Nature. – 2004. – Vol. 429, N 6990. – P. 457-563.
10. Feltus F.A., Lee E.K., Costello J.F., Plass C., Vertino P.M. Predicting aberrant CpG island methylation // PNAS. – 2003. – Vol. 100, N 21. – P. 12253-12258.
11. Fu L.H., Cong B., Zhen Y.F., Li S.J., Ma C.L., Ni Z.Y., Zhang G.Z., Zuo M., Yao Y.X. Methylation status of the IL-10 gene promoter in the peripheral blood mononuclear cells of rheumatoid arthritis patients // Yi Chuan. – 2007. – Vol. 29, N 11. – P. 1357-1361.

12. Hayden M.R., Tyagi S.C. Homocysteine and reactive oxygen species in metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and atheroscleropathy: the pleiotropic effects of folate supplementation // *Nutrition J.* – 2004. – N 3. – P. 1-23.
13. Hiltunen M.O., Turunen M.P., Häkkinen T.P., Rutanen J., Hedman M., Mäkinen K., Turunen A.M., Aalto-Setälä K., Ylä-Herttua S. DNA hypomethylation and methyltransferase expression in atherosclerotic lesions // *Vasc. Med.* – 2002. – Vol. 7, N 1. – P. 5-11.
14. Hiltunen M.O., Ylä-Herttua S. DNA methylation, smooth muscle cells, and atherogenesis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2003. – Vol. 13. – P. 1750-1753.
15. Hutchins A.S., Artis D., Hendrich B.D., Bird A.P., Scott P., Reiner S.L. Cutting edge: a critical role for gene silencing in preventing excessive type 1 Immunity // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 175, N 10. – P. 5606-5610.
16. Ihling C., Haendeler J., Menzel G., Hess R.D., Fraedrich G., Schaefer H.E., Zeiher A.M. Co-expression of p53 and MDM2 in human atherosclerosis: implications for the regulation of cellularity of atherosclerotic lesions // *J. Pathol.* – 1999. – Vol. 185, N 3. – P. 303-312.
17. Ingrosso D., Cimmino A., Perna A.F., Masella L., De Santo N.G., De Bonis M.L., Vacca M., D'Esposito M., D'Urso M., Galletti P., Zappia V. Folate treatment and unbalanced methylation and changes of allelic expression induced by hyperhomocysteinaemia in patients with uraemia // *The Lancet.* – 2003. – Vol. 361, N 9370. – P. 1693-1699.
18. Kersh E.N., Fitzpatrick D.R., Murali-Krishna K., Shives J., Speck S.H., Boss J.M., Ahmed R. Rapid demethylation of the IFN-gamma gene occurs in memory but not naive D8 T cells // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 176, N 7. – P. 4083-4093.
19. Kim H-R., Hwang K-A., Kim K.C., Kang I. Down-regulation of IL-7R $\alpha$  expression in human T cells via DNA methylation // *J. Immunol.* – 2007. Vol. 178, N 11. – P. 5473-5479.
20. Kwon N.H., Kim J.S., Lee J.Y., Oh M.J., Choi D.C. DNA methylation and the expression of IL-4 and IFN-gamma promoter genes in patients with bronchial asthma // *J. Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 28, N 2. – P. 139-146.
21. Lee W.J., Kim H.J. Inhibition of DNA methylation is involved in transdifferentiation of myoblasts into smooth muscle cells // *Mol. Cells.* – 2007. – Vol. 24, N 3. – P. 441-444.
22. Li E. The mojo of methylation // *Nature Genetics.* – 1999. – Vol. 23, N 1. – P. 5-6.
23. Luczak M.W., Jagodzinski P.P. The role of DNA methylation in cancer development // *Folia Histochemica et Cytobiologica.* – 2006. – Vol. 44, N 3. – P. 143-154.
24. Lund G., Andersson L., Lauria M., Lindholm M., Fraga M.F., Villar-Garea A., Ballestar E., Esteller M., Zaina S. DNA methylation polymorphisms precede any histological sign of atherosclerosis in mice lacking apolipoprotein E // *J. Biol. Chemistry.* – 2004. – Vol. 279, N 28. – P. 29147-29154.
25. Lyko F., Brown R. DNA methyltransferase inhibitor and the development of epigenetics cancer therapies // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2005. – Vol. 97, N 20. – P. 1498-1506.
26. Marin M.L., Gordon R.E., Veith F.J., Tulchin N., Panetta T.F. Distribution of c-myc oncoprotein in healthy and atherosclerotic human carotid arteries // *J. Vasc. Surg.* – 1993. – Vol. 18, N 2. – P. 170-176.
27. Murry C.E., Gipaya C.T., Bartosek T., Benditt E.P., Schwartz S.M. Monoclonality of smooth muscle in human atherosclerosis // *Am. J. Pathol.* – 1997. – Vol. 151. – P. 697-705.
28. Nakamura T., Sekigawa I., Ogasawara H., Mitsuishi K., Hira K., Ikeda S., Ogawa H. Expression of DNMT-1 in patients with atopic dermatitis // *Arch. Dermatol. Res.* – 2006. – Vol. 298, N 5. – P. 253-256.
29. Post W.S., Goldschmidt-Clermont P.J., Wilhide C.C., Heldman A.W., Sussman M.S., Ouyang P., Milliken E.E., Issa J.P. Methylation of the estrogen receptor gene is associated with aging and atherosclerosis in the cardiovascular system // *Cardiovascular Res.* – 1999. – Vol. 43. – P. 985-991.
30. Qing Ya., Thien V.T., Kaplan M.H. Stat4 limits DNA methyltransferase recruitment and DNA methylation of the IL-18R $\alpha$  gene during Th1 differentiation // *EMBO J.* – 2007. – Vol. 26. – P. 2052-2060.
31. Rauch T., Wang Z., Zhang X., Zhong X., Wu X., Lau S.K., Kernstine K.H., Riggs A.D., Pfeifer G.P. Homeobox gene methylation in lung cancer studied by genome-wide analysis with a microarray-based methylated CpG island recovery assay // *PNAS.* – 2007. – Vol. 104, N 13. – P. 5527-5532.
32. Reiss D., Zhang Y., Mager D.L. Widely variable endogenous retroviral methylation levels in human placenta // *Nucleic Acids Res.* – 2007. – Vol. 35, N 14. – P. 4743-4754.
33. Robertson K.D. DNA methylation and human disease // *Nature Reviews. Genetics.* – 2005. – Vol. 6. – P. 597-610.
34. Rodenhiser D., Mann M. Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical application // *CMAJ.* – 2006. – Vol. 174, N 3. – P. 341-348.

35. Sanders V.M. Epigenetic regulation of Th1 and Th2 cell development // *Brain, Behavior, and Immunity*. – 2006. – Vol. 20. – P. 317-324.
36. Sano H., Compton L.J., Steinberg A.D., Jackson R.A., Sasaki T. Low expression of human histocompatibility leukocyte antigen-DR is associated with hypermethylation of human histocompatibility leukocyte antigen-DR gene regions in B cells from patients with systemic lupus erythematosus // *J. Clin. Invest.* – 1985. – Vol. 76, N 4. – P. 1314-1322.
37. Scarano M.I., Strazzullo M., Matarazzo R., D'Esposito M. DNA methylation 40 years later: its role in human health and disease // *J. Cell. Physiol.* – 2005. – Vol. 204, N 1. – P. 21-35.
38. Sekigawa I., Kawasaki M., Ogasawara H., Kaneda K., Kaneko H., Nakasaki Y., Ogawa H. DNA methylation: its contribution to systemic lupus erythematosus // *Clin. Exp. Med.* – 2006. – Vol. 6, N 3. – P. 99-106.
39. Shen L., Catalano P.J., Benson A.B. 3rd, O'Dwyer P., Hamilton S.R., Issa J-P J. Association between DNA methylation and shortened survival in patients with advanced colorectal cancer treated with 5-fluorouracil-based chemotherapy // *Clin. Cancer Res.* – 2007. – Vol. 13. – P. 6093-6098.
40. Shibata K.R., Aoyama T., Shima Y., Fukiage K., Otsuka S., Furu M., Ito K., Fujibayashi S., Neo M., Nakayama T., Toguchida J. Expression of the p16INK4A gene is associated closely with senescence of human mesenchymal stem cells and is potentially silenced by DNA methylation during *in vitro* expansion // *Stem Cells*. – 2007. – Vol. 25, N 9. – P. 2371-2382.
41. Shin H.J., Jeong S.J., Park H.W., Kim Y.K., Cho S.H., Kim Y.Y., Cho M.L., Kim H.Y., Min K.U., Lee C.W. STAT4 expression in human T cells is regulated by DNA methylation but not by promoter polymorphism // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 175, N 11. – P. 7143-7150.
42. Sugino Y., Misawa A., Inoue J., Kitagawa M., Hosoi H., Sugimoto T., Imoto I., Inazawa J. Epigenetic silencing of prostaglandin E 2 (PTGER2) is associated with progression of neuroblastomas // *Oncogene*. – 2007. – Vol. 26, N 53. – P. 7401-7413.
43. Tadokoro Y., Ema H., Okano M., Li E., Nakauchi H. De novo DNA methyltransferase is essential for self-renewal, but not for differentiation, in hematopoietic stem cells // *J. Exp. Med.* – 2007. – Vol. 204, N 4. – P. 715-722.
44. Takami N., Osawa K., Miura Y., Komani K., Taniguchi M., Shiraishi M., Sato K., Iguchi T., Shiozawa K., Hashiramoto A., Shiozawa S. Hypermethylated promoter region of DR3, the death receptor 3 gene, in rheumatoid arthritis synovial cells // *Arthritis Rheum.* – 2006. – Vol. 54, N 3. – P. 779-787.
45. van Vliet J., Oates N.A., Whitelaw. Epigenetic mechanisms in context in the complex diseases // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2007. – Vol. 64. – P. 1531-1538.
46. Vivekanandan P., Thomas D., Torbenson M. Hepatitis B viral DNA is methylated in liver tissues // *J. Viral. Hepat.* – 2008. – Vol. 15, N 2. – P. 103-107.
47. Waggoner D. Mechanisms of disease: epigenesis // *Semin Pediatr. Neurol.* – 2007. – Vol. 14. – P. 7-14.
48. Wen Z.K., Xu W., Xu L., Cao Q.H., Wang Y., Chu Y.W., Xiong S.D. DNA hypomethylation is crucial for apoptotic DNA to induce systemic lupus erythematosus-like autoimmune disease in SLE-non-susceptible mice // *Rheumatology*. – 2007. – Vol. 46, N 12. – P. 1796-1803.
49. White G.P., Hollams E.M., Yerkovich S.T., Bosco A., Holt B.J., Bassami M.R., Kusel M., Sly P.D., Holt P.G. CpG methylation patterns in the IFN-gamma promoter in naive T cells: variation during Th1 and Th2 differentiation and between atopic and non-atopics // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2006. – Vol. 17, N 8. – P. 557-564.
50. Yano S., Glosch P., Kusaba H., Buchholz M., Longo D.I. Effect of promoter methylation on the regulation of IFN-gamma gene during *in vitro* differentiation of human peripheral blood T cells into a Th2 population // *J. Immunol.* – 2003. – Vol. 171, N 5. – P. 2510-2516.
51. Ying A.K., Hassanain H.H., Roos C.M., Smiraglia D.J., Issa J.J., Michler R.E., Caligiuri M., Plass C., Goldschmidt-Clermont P.J. Methylation of the estrogen receptor- $\alpha$  gene promoter is selectively increased in proliferating human aortic smooth muscle cells // *Cardiovasc. Res.* – 2000. – Vol. 46. – P. 172-179.
52. Yoder J.A., Walsh C.P., Bestor T.H. Cytosine methylation and the ecology of intragenomic parasites // *Trends Genet.* – 1997. – Vol. 13, N 3. – P. 335-340.
53. Zaina S., Lindholm M.W., Lund G. Nutrition and aberrant DNA methylation patterns in atherosclerosis: More than just hyperhomocysteinemia? // *J. Nutr.* – 2005. – Vol. 135, N 1. – P. 5-8.

поступила в редакцию 03.04.2008  
принята к печати 15.04.2008