

УДК 575.22

# Синдром Уильямса как модель изучения пути гены–мозг–когнитивные функции: генетика и эпигенетика

Е. А. Никитина<sup>1,2\*</sup>, А. В. Медведева<sup>1,3</sup>, Г. А. Захаров<sup>1,3</sup>, Е. В. Савватеева-Попова<sup>1,3</sup><sup>1</sup> Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6<sup>2</sup> Российский государственный педагогический университет, 191186, Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, 48<sup>3</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9

\*E-mail: 21074@mail.ru

Поступила в редакцию 16.07.2013

**РЕФЕРАТ** Геномные болезни, или синдромы со множественными проявлениями, возникают спонтанно и непредсказуемо в результате протяженных делеций и дупликаций, генерируемых неравной рекомбинацией в хромосомных районах со специфической архитектурой. Одной из самых привлекательных моделей, позволяющих напрямую связать гены, головной мозг, поведение и когнитивные функции, считается синдром Уильямса. Этот синдром возникает в результате делеции протяженностью 1500 т.п.н. в районе 7q11.23. Эта делеция захватывает более 20 генов, а множественные проявления, обусловленные гемизиготностью этих генов, описываются триадой: 1) дефект зрительно-пространственного ориентирования; 2) вербально-лингвистический дефект; 3) гиперсоциализация. Делеция минимальной протяженности приводит к гемизиготности всего двух генов – *eln* и *limk1*, поэтому первый считают ответственным за сердечно-сосудистую, а второй – за когнитивную патологию. Поскольку когнитивная патология сглаживается с возрастом, изначальная убежденность в исключительной роли генов, напрямую определяющих морфологию мозга и поведение, сменилась представлениями о пластичности мозга и необходимости поиска эпигенетических факторов, влияющих на его развитие и функции, преломляемые в меняющемся поведении. В последние годы в качестве таких факторов рассматривают некодирующие микроРНК (miRs). В этой связи в обзоре рассмотрены следующие вопросы: можно ли создать достаточно простые системы, позволяющие анализировать вклад как отдельного гена, так и последствий его эпигенетической регуляции в становление когнитивного профиля при синдроме Уильямса? Можно ли в этих целях использовать дрозофилу?

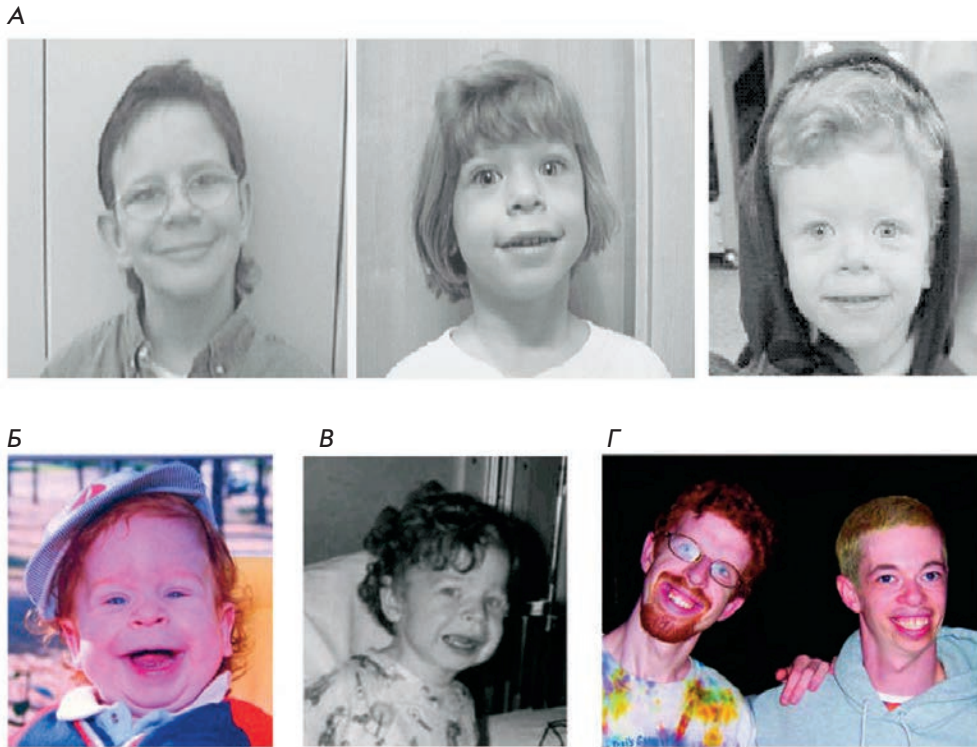
**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** дрозофила, некодирующие РНК, синдром Уильямса, LIMK1.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** WBS (Williams-Beuren syndrome) – синдром Уильямса-Бойрена; LCR (low copy repeat) – низкоповторяющиеся последовательности; NAHR (non allelic homologous recombination) – неаллельная гомологичная рекомбинация; нкРНК – некодирующие РНК.

## СИНДРОМ УИЛЬЯМСА И ВЫЯСНЕНИЕ КОРРЕЛЯЦИЙ ГЕНОТИП–ФЕНОТИП

В 1961 году Дж. Уильямс (J.C.P. Williams), резюмируя свои наблюдения четырех пациентов, предположил, что «одновременная встречаемость суправальвулярного стеноза и типичных физических и ментальных характеристик представляет собой новый, ранее не описанный, синдром» [1]. Вскоре, в 1962 году Бойрен (A.J. Beuren) описал еще 11 подобных пациентов. Все они, наряду с суправальвулярным стенозом аорты, имели специфические черты лица и умственную отсталость [2]. С тех пор за этим набором симптомов прочно закрепился эпоним «синдром Уильямса –

Бойрена» (Williams-Beuren syndrome, WBS), тем не менее чаще называемый «синдром Уильямса». Оказалось, что к возникновению синдрома приводит делеция протяженностью 1500 т.п.н. в районе q11.23 хромосомы 7 человека, специфическая архитектура которого предрасполагает к неравной рекомбинации. Делеция захватывает около 20 генов, гемизиготность которых имеет множественные проявления: специфические, эльфоидные черты лица (рис. 1), нарушения развития, различные сердечно-сосудистые патологии, неврологические аномалии и когнитивные особенности, повышенную общительность и музыкальную одаренность [3]. Эта комбинация необычных

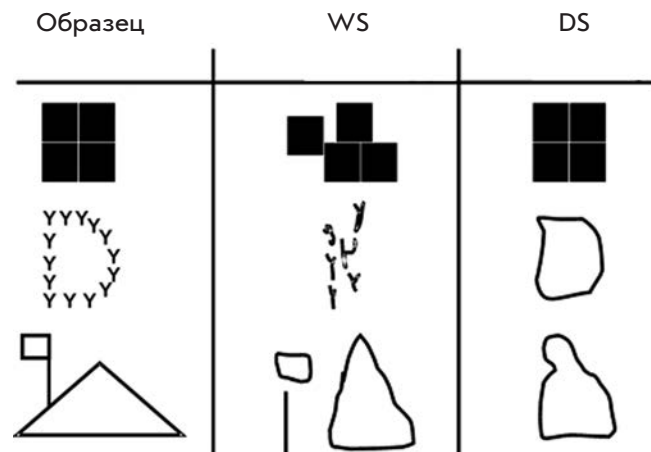


**Рис. 1.** Характерные черты лица у пациентов с синдромом Уильямса (А) [5]. Ребенок в возрасте 15 месяцев (Б) и 3 лет (В) (характерные особенности – широкий рот, полные щеки, маленький нос, длинный подносовой желобок и нежный подбородок), тот же пациент в возрасте 21 года (слева), в возрасте 28 лет (справа) (Г) [3]

свойств интриговала и манила нейробиологов возможностью понять модульный принцип построения умственных способностей и социального поведения, отражающий особенности развития мозга. На протяжении последних 20 лет казалось, что синдром Уильямса является одной из самых привлекательных моделей, позволяющих напрямую связать гены, мозг, поведение и когнитивные функции [4, 5].

К неврологическим аномалиям относят гиперактивность, нарушения моторной координации и походки [6, 7]. Когнитивные проявления весьма своеобразны, поэтому именно они вместе с неврологическими признаками используются для диагностики WBS у маленьких детей. Первое проявление – это ярко выраженный дефект зрительно-пространственного ориентирования, пациенты не могут воспроизвести предлагаемую в стандартных тестах форму объекта, но отражают все его детали (рис. 2) [8].

Зрительно-пространственное конструирование – это способность воспринимать объект или рисунок как набор частей, а затем из этих частей строить реплику – точную копию или репродукцию увиденного. Люди используют зрительно-пространственное конструирование, когда рисуют, застегивают рубашки, застилают постель, создают модели парусников и летательных аппаратов, собирают конструктор LEGO или мебель, приобретенную в разобранном



**Рис. 2.** Дефект зрительно-пространственного конструирования у пациентов с синдромом Уильямса [8]. Левая панель – задания, предлагаемые пациентам с просьбой воспроизвести образец. Центральная панель – WS – пациенты с синдромом Уильямса воспроизводят только детали, не воспринимая общей формы. Правая панель – DS – пациенты с синдромом Дауна того же возраста и сопоставимого IQ воспроизводят только общие контуры форм

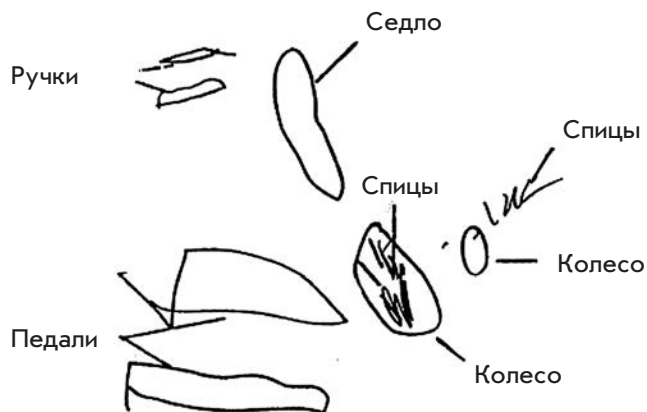


Рис. 3. Изображение велосипеда пациентом с синдромом Уильямса в возрасте 9 лет 7 месяцев [10]

виде в IKEA. Зрительно-пространственное конструирование настолько важно для ежедневной жизни, что по праву считается центральной когнитивной способностью. Поэтому измерение этой способности обязательно является составной частью любого полномасштабного определения умственных способностей.

Из-за нарушения зрительно-пространственного конструирования японским детям трудно дается письмо иероглифами [9]. При просьбе нарисовать велосипед дети представляют картинку из отдельных, четко воспроизведенных и подписанных элементов: ручки, седло, педали, колеса, спицы (рис. 3) [10]. При этом многие пациенты не имеют бинокулярного зрения, нормального восприятия пространства и его глубины, отчего сталкиваются с ежедневными проблемами при ходьбе и играх на неровных поверхностях. Второе проявление – оценочная лексика, необычайно развитая в ущерб грамматике, когда обилие эмоциональных междометий, вздохов и акцентов служит своеобразным «крючком» для привлечения и удержания внимания посторонних. С этим связано третье проявление – гиперсоциализация – потребность установления контактов с любыми, в том числе и с незнакомыми окружающими, необычайно высокая симпатия к ним и стремление осчастливить каждого. В последнее время это проявление когнитивных особенностей рассматривается и как одно из ведущих: вне зависимости от предъявляемого теста пациенты постоянно и пристально рассматривают лица экспериментаторов, не обращая внимания на существование теста [11]. Таким образом, когнитивные нарушения

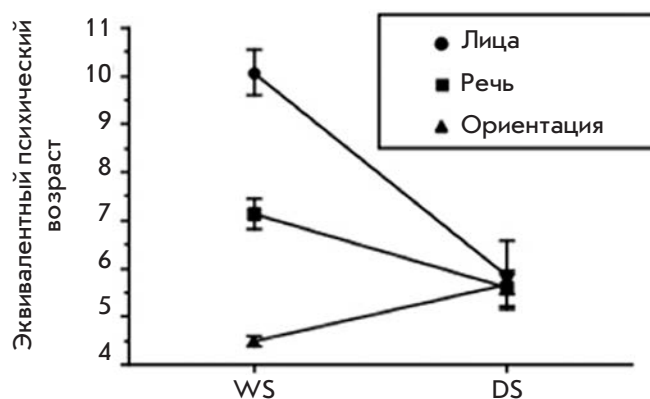
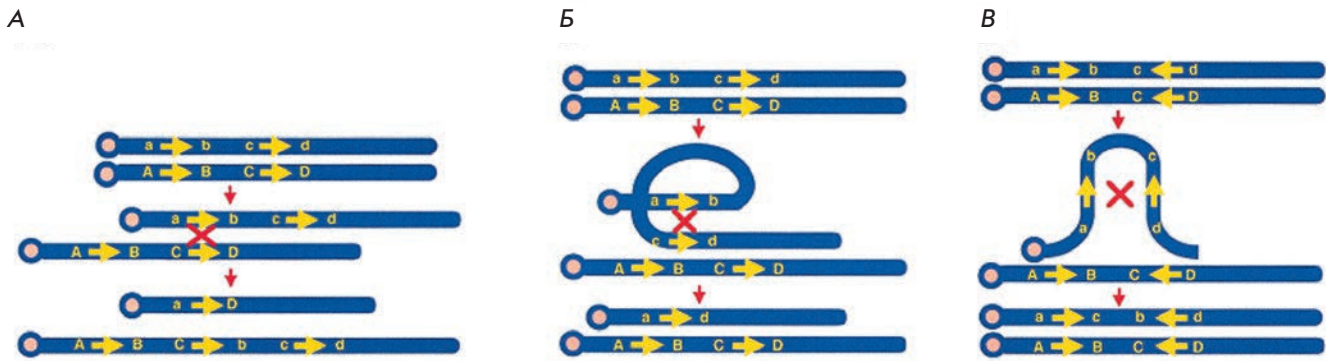


Рис. 4. Триада когнитивных особенностей у пациентов с синдромом Уильямса (WS) и с синдромом Дауна (DS) того же возраста и сопоставимого IQ [5]. Обозначения: ● – фиксация на лицах; ■ – лингвистические способности; ▲ – зрительно-пространственное ориентирование. Пациенты с DS равно неуспешны по всем трем показателям когнитивных способностей и выполняют их так, как и ожидается при умственной отсталости. Пациенты с WBS демонстрируют ярко выраженные дефекты зрительно-пространственного ориентирования, имеют сниженные лингвистические способности и проявляют экстремальную гиперсоциализацию – фиксацию на лицах посторонних

при синдроме Уильямса описываются триадой проявлений: 1) резко выраженный дефект зрительно-пространственного ориентирования; 2) промежуточный, варьирующий в зависимости от сложностей языковой культуры вербально-лингвистический дефект; 3) необычайно высокая пристальность взора – фиксация его на лицах (рис. 4).

Жизненные неудобства, причиняемые проявлениями этой триады, компенсируются высокой музыкальной одаренностью – каждый пациент великолепно играет на каком-либо инструменте или поет. Необычайно высокая тяга к музыке позволяет воспринимать и воспроизводить явления окружающего мира в музыкальных, а не в зрительных образах. Так, функциональная электромагнитная интроскопия (magnetic resonance imaging) мозга показала, что у пациентов с WBS, в отличие от их здоровых ровесников, при предъявлении музыкальных или каких-либо звуковых стимулов происходит активация зрительной коры [12]. С одной стороны, феномен WBS заставляет пересмотреть укоренившиеся стереотипы: действительно ли в человеке все должно быть прекрасно, и так ли нам важно то, как рисовали Паганини, Бетховен и Бах. С другой стороны, четкость и дискретность когнитивных проявлений постоянно побуждает к их



**Рис. 5.** Схема возникновения геномных перестроек при рекомбинации по повторяющимся последовательностям (дупликациям) [17]. А – межхромосомная рекомбинация по прямым повторам, приводящая к генерации делеции и/или дупликации; Б – внутривхромосомная рекомбинация по прямым повторам (рекомбинация в одном гомологе), приводящая к генерации делеции; В – внутривхромосомная рекомбинация по обращенным (инвертированным) повторам, приводящая к генерации инверсии. Повторяющиеся последовательности обозначены стрелками, уникальные фланкирующие последовательности в разных аллельных состояниях обозначены латинскими заглавными и строчными буквами

сопоставлению с определенным геном, попадающим в область делеции критического для WBS района. Напомним механизм возникновения геномных болезней, т.е. делеционно-дупликационных синдромов.

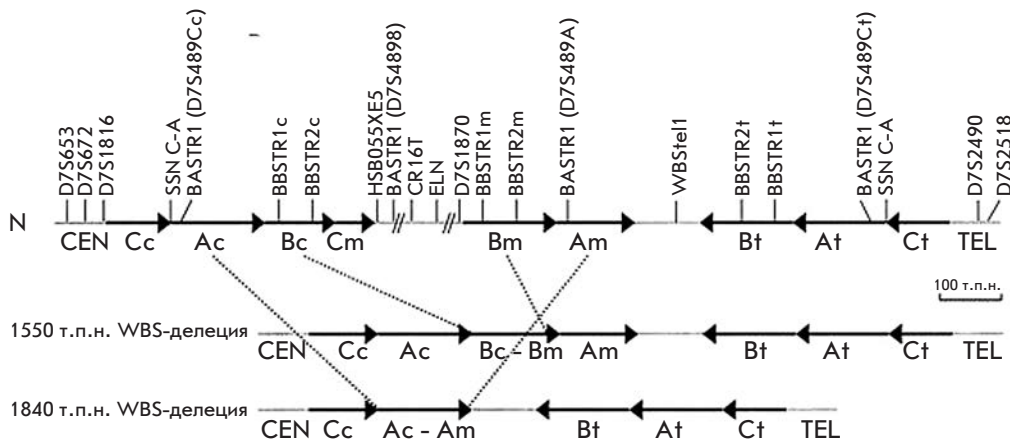
**НЕАЛЛЕЛЬНАЯ РЕКОМБИНАЦИЯ, ПРИВОДЯЩАЯ К ВОЗНИКНОВЕНИЮ СИНДРОМА УИЛЬЯМСА**

Геномные болезни, или синдромы со множественными проявлениями, возникают спонтанно и непредсказуемо (спорадически) в результате протяженных делеций и дупликаций, генерируемых неравной рекомбинацией в хромосомных районах со специфической архитектурой. Это синдромы Уильямса в 7q11.23 [3], Смит–Магениса в 17p11.2 [13], Ди Джорджи в 22q11.2 [14], Прадера–Вилли–Ангельмана в 15q11–q13 [15], дупликационный синдром (17)(p11.2p11.2) и синдромы с делециями Y-хромосомы [16]. Высокая частота таких структурных перестроек генома, значительно превышающая частоты появления болезней из-за мутаций какого-либо одного гена, привлекла внимание клиницистов и привела к формированию концепции «геномных болезней».

В большинстве делеционно-дупликационных синдромов перестроенный хромосомный сегмент фланкируют большие (обычно 10–500 т.п.н.), высокогомологичные низкоповторяющиеся последовательности (low copy repeat – LCR), по которым происходит рекомбинация. В связи с тем, что в данном случае рекомбинируют не аллельные, хотя и гомологичные, последовательности, появился термин неаллельная гомологичная рекомбинация (non allelic homologous recombination – NAHR). В результате NAHR между

прямыми повторами в одной и той же хромосоме возникают дупликации и делеции, в обратной ориентации – инверсии (рис. 5). NAHR между хромосомами приводит к образованию транслокаций [17].

Наиболее детально роль LCR в геномных болезнях изучали на примере WBS [18]. Делецию при WBS фланкируют три LCR (центромерный, медиальный и теломерный), каждый из которых состоит из блоков А, В и С [19]. Блоки центромерных и медиальных повторов располагаются в одной и той же ориентации, но в разном порядке, в то время как теломерный сегмент имеет тот же порядок, но противоположную ориентацию (рис. 6). Блок В состоит из трех генов в медиальной локализации (Вm) (*GTF2I*, *NCF1*, *GTF2IRD2*), предполагаемых псевдогенов в центромерном районе (Вс) (*GTF2IP1*, *NCF1P1*, *GTF2IRD2P1*) и в теломерном (Вt) (*GTF2IP2*, *NCF1P2*, *GTF2IRD2P2*). У большинства больных (95%) делеция размером 1550 т.п.н. возникла в результате негомологичного кроссинговера между центромерным (Вс, а в случае инверсии у родителей теломерным Вt) и медиальным блоком повторов. Более протяженная делеция (1840 т.п.н.) обусловлена обмeнами между блоками Ас и Ам, зарегистрированными в 5% случаях. Очевидна предпочтительная локализация обменов в блоке В. Хотя разрывы могут происходить в любом месте повтора, тем не менее заметна тенденция к образованию кластеров разрывов в проксимальном районе блоков Вc/Вm, где, по-видимому, локализуется горячая точка размером 12 т.п.н., что составляет 11.4% всей последовательности блока. Именно на этот район приходится 67% рекомбинации.



**Рис. 6.** Структура района 7q11.23 в нормальных хромосомах (N) и хромосомах с WBS-делецией, приводящей к синдрому Уильямса [18]. Блоки А, В и С центромерных (с), медиальных (m) и теломерных (t) LCRs показаны черными стрелками. Пределы типичной делеции (1550 т.п.н.) и более редкой делеции (1840 т.п.н.) обозначены пунктиром

Полиморфизм в организации LCR, фланкирующих делецию, позволяет предполагать возможность и других геномных перестроек. Действительно, в 30% случаев у родителей детей с WBS находят инверсию, перекрывающую весь WBS-интервал [20]. Считается, что делеция района WBS обусловлена внутрихромосомной или межхромосомной неаллельной рекомбинацией, в этом случае решающее значение имеет идентичность повторов [21]. Однако при наличии инверсии у родителей [18] негомологичный кроссинговер происходит в первом делении мейоза и затрагивает последние 38 т.п.н. блока Bt, которые отсутствуют в блоке Bc. Позиционное предпочтение обменов NAHR может быть обусловлено дополнительными архитектурными особенностями этих районов. В некоторых случаях, что важно для последующего рассмотрения, рядом с горячей точкой находятся палиндромы, способные формировать шпильки [22].

**Гены, локализованные в районе делеции**

В район делеции попадают следующие гены (рис. 6). Большинство из них (две трети) кодируют белки, в какой-то мере организующие пространство в ядре или цитоплазме. Так, часть из них кодирует факторы транскрипции (WBSCR9/WSTF, WS-bHLH, WBSCR11/GTF2IRD1), которые формируют белковые компартменты ядра, а другие участвуют в реорганизации цитоскелетных и мембранно-связанных структур (LIMK1, STX1A, CYLN2, TBL2, CLDN4/CPTER1, CLDN3/CPTER2). Приведем краткую характеристику некоторых генов.

*frizzled-9 (fzd9)* – кодирует белок Frizzled-9, сходный с рецептором wnt дрозофилы. Этот ген участвует в развитии гиппокампа у мышей. Гемизиготное состояние только этого гена ведет к серьезным когнитивным отклонениям, в том числе нарушениям

нейроанатомии гиппокампа и, как следствие, памяти и пространственной ориентации [23], что очень сходно с проявлениями комплексного эффекта делеции при синдроме Уильямса.

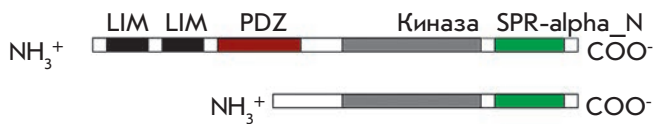
*stx1a* – кодирует STX1A, синтаксин 1A – член семейства синтаксинов, специфичный для головного мозга белок с молекулярной массой 35 кДа, необходимый для высвобождения медиатора из синаптического пузырька. Синтаксин 1A взаимодействует с синаптотагмином и другими белками синапсом [24], поэтому возникает предположение о роли гемизиготности по гену синтаксина в неврологической симптоматике WBS [25].

*eln* – кодирует тропоэластин, компонент эластических волокон. Этот ген расположен в середине делетируемого района и поэтому является маркером делеции. Гемизиготность по гену тропоэластина приводит к формированию стенозов, истончению стенок артерий, недоразвитию мышц. По-видимому, именно с этим связана специфическая альфоидная внешность больных WBS [26].

*cyln2* – кодирует цитоплазматический линкерный белок CLIP-115, который подсоединяет эндосомы к растущим микротрубочкам, специфически связываясь с их концами. Таким образом, CLIP-115 участвует в реорганизации микротрубочек и осуществляет их взаимодействие с различными клеточными структурами. CLIP-115 экспрессируется преимущественно в головном мозге и локализуется в ламеллярном теле дендритов.

*wbscr11/gtf21rd1* – кодирует фактор транскрипции GTF2I, содержащий характерный мотив helix-loop-helix, и регулятор кальциевых каналов TFII-I с высокой и повсеместной экспрессией.

*limk1* – кодирует нерцепторную серинтреониновую протеинкиназу, ключевой фермент ремоделирования актина [22, 27]. Молекула LIMK1



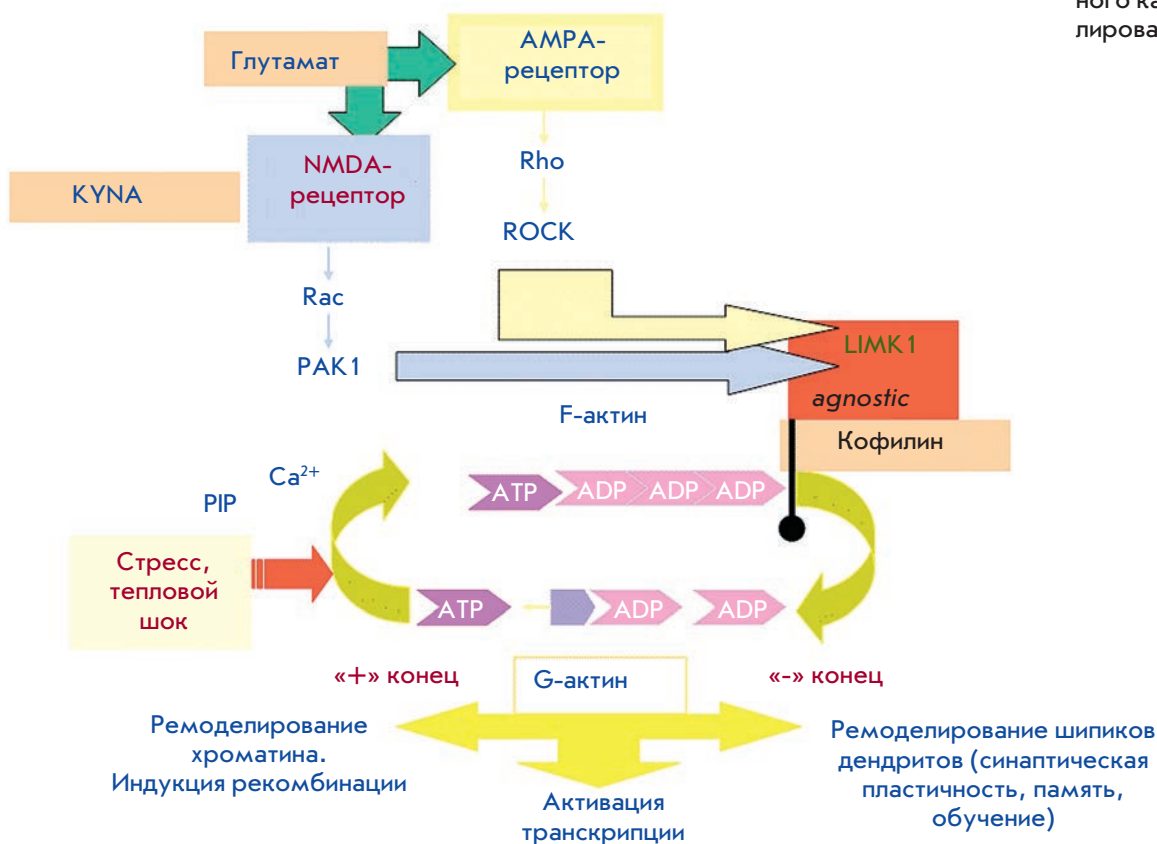
**Рис. 7.** Доменная структура LIMK1. Вверху – изоформа С; внизу – изоформа D, отсутствуют оба LIM-домена и PDZ-домен

состоит из четырех доменов – киназного, двух LIM и одного PDZ (рис. 7). Делеция LIM и PDZ, ответственных за взаимодействие с другими белками, увеличивает киназную активность молекулы, что свидетельствует о регуляторной функции этих доменов [28]. Через LIM-домен LIMK1 взаимодействует с целым рядом белков, включая протеинкиназу С, цитоплазматический домен трансмембранного лиганда нейрегулина [29]. Рис. 8 дает представление о сигнальном пути ремоделирования актина.

Активность LIMK1 регулируется членами семейства Rho GTP-аз – Rho, Rac и Cdc42, через

протеинкиназу ROCK, активируемую p21 киназу (РАК) – РАК1 и РАК4 соответственно. Эти киназы фосфорилируют LIMK1 по Thr508 в петле киназного домена, что приводит к ее активации [30]. Мишенью LIMK1 служит кофилин, который, присоединяясь к острому концу актинового филамента, участвует в деполимеризации актина. При фосфорилировании кофилина LIMK1 происходит его ингибирование и отсоединение от актиновых филаментов. Таким образом, LIMK1, переключая кофилин из активного в неактивное состояние, контролирует динамику актина [31]. Реорганизация актинового цитоскелета вовлечена в процессы перемещения нейронов и роста нейритов. Ремоделирование актина необходимо для появления и модификации шипиков дендритов, которые образуют большинство синаптических связей в гиппокампе и других участках мозга, и таким образом опосредует обучение и сохранение памятного следа. Кроме того, физиологическим субстратом LIMK1 служат факторы транскрипции CREB и Nurr1, а LIMK1 фосфорилирует также основные белки миелина и гистоны *in vitro* [29].

LIMK1 в сигнальном каскаде ремоделирования актина



**Рис. 8.** Схема сигнального каскада ремоделирования актина

К настоящему времени установлены гены-партнеры, белковые продукты которых взаимодействуют с LIMK1 (рис. 9).

Предполагается, что гемизиготность по этому гену является одним из факторов, определяющих дефекты визуально-пространственного поведения при WBS. Список генов, входящих в делецию, продолжает расти и содержит уже 28 генов. Пока же достаточно полно он представлен в обзоре [8], как раз и имеющем целью установление корреляций генотип-фенотип.

Поскольку делеция минимальной протяженности приводит к гемизиготности всего по двум генам – *eln* и *limk1* (рис. 6), то в результате изучения их проявлений первый ген стали рассматривать в качестве ведущего в генезе сердечно-сосудистой, а второй – когнитивной патологии. Это представление основывалось на сравнительной характеристике экспрессии

обоих генов в головном мозге: экспрессия *eln* была весьма незначительной, тогда как уровень экспрессии *limk1* был очень высоким и достигал максимального значения в коре головного мозга [32]. Но если это исследование убедительно доказывало роль гемизиготности по гену *limk1* в становлении дефектов зрительно-пространственной ориентации, то другое не могло подтвердить эту роль [33].

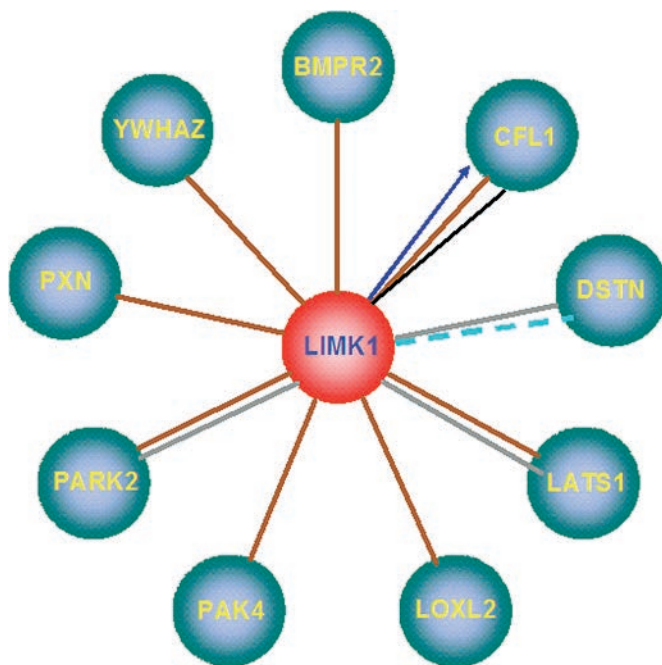
Здесь следует напомнить, что, хотя делеция, приводящая к синдрому Уильямса, и возникает с частотой, превосходящей частоту мутаций единичного гена в силу более высоких частот неравной рекомбинации, тем не менее в каждое исследование попадает не столь большое число пациентов (в данное время в Санкт-Петербурге их пять). Как правило, при подтверждении делеции не устанавливаются ее границы – точки разрывов в хромосоме, а спонтанность и непредсказуемость возникновения делеций исключает внутрисемейный анализ. Однако в редких случаях он возможен, поскольку встречаются семьи с идентичными делециями [34].

Так, в пяти семьях с суправальвулярным стенозом артерии выявлена маленькая делеция, приведшая у всех к синдрому Уильямса и затронувшая ген *limk1*, но не *fkbp6* или *gtf2i*. Поскольку у всех носителей этой делеции наблюдались дефекты зрительно-пространственного ориентирования, но не умственная отсталость, роль в генезе первой оставили за LIMK1, тогда как в генезе умственной отсталости заподозрили участие фактора транскрипции GTF2I [35].

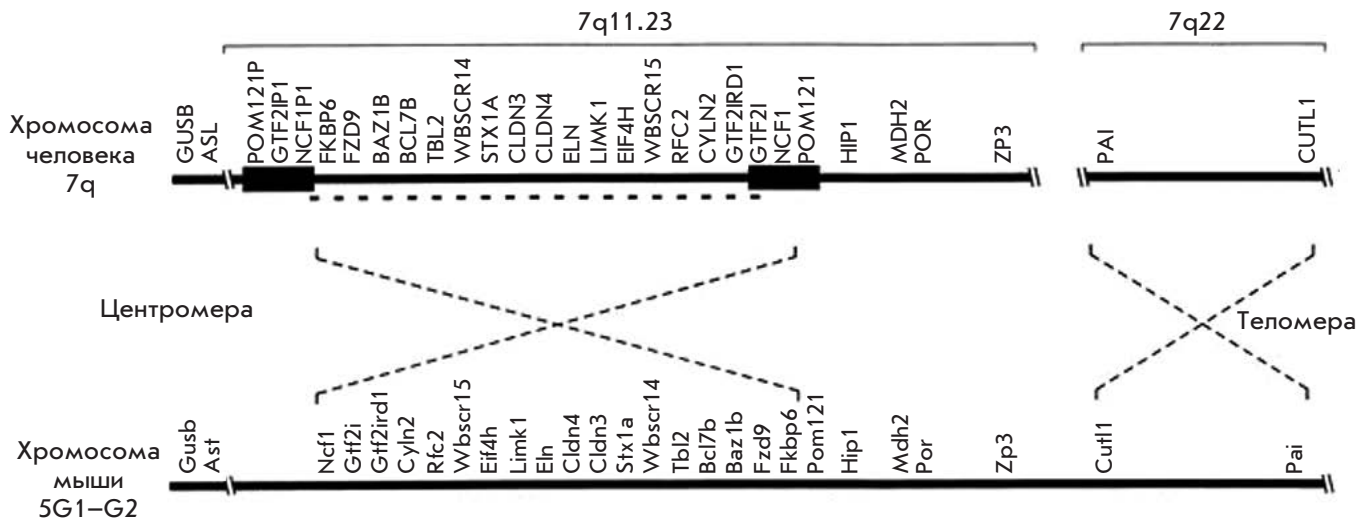
Однако известные ограничения при работе с людьми вызвали необходимость обращения к животным моделям. Естественно, что в первую очередь попытки установления роли конкретного гена в проявлениях синдрома Уильямса были предприняты на мышах. Этот объект обеспечивает легкость получения носителей нуль-мутаций, гипоморфных и точечных мутаций и делеций, включающих многие гены из интересующего района [36]. Кроме того, в отличие от человека, у которого может пострадать только один ребенок, получивший случайным образом хромосому с делецией либо от мамы, либо от папы, у мышей можно получить большое число потомков с одинаковыми генетическими нарушениями.

Следует отметить, что порядок генов, входящих в делецию, эволюционно консервативен – у мышей он такой же, как и у человека (рис. 10). Однако сам район, имея точки разрывов точно в тех же фланкирующих последовательностях, инвертирован по отношению к геномной карте одноименного района у человека и не содержит низкокопийных повторов [18].

Данные, накопленные за последние 10 лет, свидетельствуют, что гемизиготность по аналогичным



**Рис. 9.** Взаимодействие LIMK1 с другими белками. BMPR2 – костный морфогенетический рецептор белка, тип II (серин-треонин киназа); CFL1 – кофилин 1 (немышечный); DSTN – дестрин (фактор деполлимеризации актина); LATS1 – большой опухолевый супрессор, гомолог 1 (*Drosophila*); LOXL2 – лизил-подобная оксидаза (*Drosophila*); PAK4 – p21 белок Cdc42/Rac, активируемый киназой 4; pARK2 – паркин 2 (*Drosophila*); PXN – паксиллин; YWHAZ – белок-активатор тирозин-3-монооксигеназы/триптофан-5-монооксигеназы,  $\alpha$ -полипептид *Drosophila* ген *leonardo* (влияет на ольфакторное обучение)



**Рис. 10.** Порядок генов в пределах WBS-района у человека и мыши. Пунктиром указана инверсия относительно теломеры и центромеры каждого из видов [19]

генам у человека и мыши не всегда приводит к сходным проявлениям. Тем не менее убедительно доказано, что в становлении когнитивных и поведенческих проявлений участвуют, как и у человека, два гена, контролирующих функции цитоскелета за счет регуляции динамики актина (*limk1*) [37] и сети микротрубочек (*clip2*) [38]. Гемизиготность по гену *cyln2* (*clip2*) у мышей приводит к повреждениям, характерным для WBS, умеренным нарушениям развития, моторной координации, морфологии мозга, дисфункции гиппокампа.

Однако очень мало внимания было уделено анализу участия как этих, так и всех исследованных генов мышей, в контроле зрительно-пространственной ориентации [36]. Этот процесс, называемый также пространственной памятью, за которую отвечает гиппокамп, может быть протестирован у мышей в водном лабиринте Морриса. Помещенные в него мыши учатся быстро и правильно спасаться на невидимой подводной платформе, определяя ее местонахождение при ориентации по «сигналам» окружающей среды – специально нарисованным на стенах комнаты вокруг лабиринта знакам или случайно расположенным предметам (выключатели и т.п.). Нокдаун только одного гена *limk1* приводит к резкому нарушению зрительно-пространственного ориентирования за счет физиологических и морфологических дисфункций гиппокампа [37]. Первые проявляются в нарушениях синаптической пластичности – длительной потенциации, вызываемой дефектностью NMDA-рецепторов, вторые – в изменениях морфологии шипиков дендритов пирамидных клеток гиппо-

кампа, что указывает на непосредственную функцию LIMK1, ключевого фермента ремоделирования актина, определяющего морфологию шипиков.

По-видимому, не только гемизиготность самой LIMK1, но и происходящее в результате гемизиготности нарушение взаимодействия с белками-партнерами LIMK1 (*рис. 9*), например, такими, как продукт аутосомно-рецессивного гена *park2* (*parkin*), может вызывать когнитивные расстройства. Напомним, что этот ген ответствен за раннее начало болезни Паркинсона, его продуктом является убиквитин-Е3-лигаза. Недавно анализ делеции WBS у мышей привел к обнаружению еще неосознанного факта: ген *trim50* кодирует убиквитин-Е3-лигазу [39].

**ОТ ГЕНЕТИКИ К ЭПИГЕНЕТИКЕ**

Казалось бы, что функциональная роль фермента LIMK1 и кодирующего его гена при становлении патологии синдрома Уильямса доказана, если бы не накопившиеся к этому времени данные длительного анализа когнитивных проявлений у одних и тех же пациентов, превратившихся из маленьких детей в подростков и молодых людей. Выяснилось [9, 40], что с возрастом сглаживаются как зрительные дефекты – становится возможным восприятие и отображение не только деталей, но и формы, так и лингвистические – возрастает грамотность и правильность речи при сохранности оценочной и эмоциональной окраски (*рис. 11*). Например, если в возрасте 9 лет, как мы уже видели (*рис. 3*), на просьбу нарисовать велосипед ребенок откликнулся изображением под-



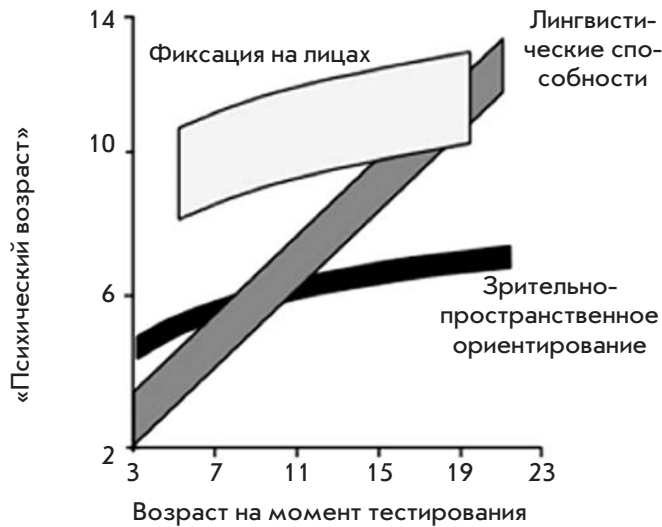


Рис. 11. Изменения трех основных когнитивных особенностей в зависимости от возраста пациентов с WBS [5]

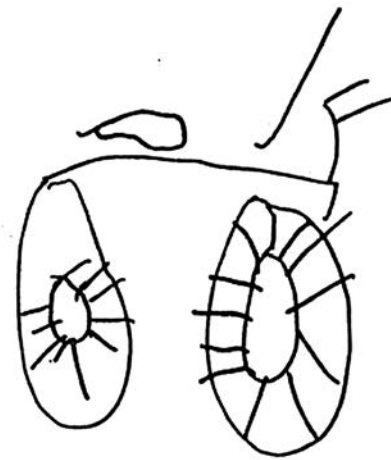


Рис. 12. Изображение велосипеда ребенком с WBS в возрасте 12 лет 11 месяцев [10]

писанных деталей, т.е. вычленил только части целого, то в возрасте 12 лет уже был способен осуществлять синтез целого из частей (рис. 12).

Поэтому изначальная убежденность в исключительной роли генов, напрямую определяющих путь к морфологии мозга и поведению, сменилась представлениями о необходимости поиска эпигенетических факторов пластичности мозга, влияющих на его развитие и функции, преломляемые в меняющемся поведении [40].

Это обстоятельство заставило по-иному относиться и к интерпретации, казалось бы, противоречивых данных. Напомним, что в большинстве случаев анализируют ограниченное число пациентов разного возраста – от начинающих ходить до 14- и 19-летних. Таким образом, четкая картина генетической детерминации начала жизни (один ген – один фермент – поведенческое проявление) накладывается на по-разному сложившиеся эпигенетические изменения действия гена в зависимости от пережитого социального (семейного и школьного) стресса и индивидуального опыта (обучения, условного рефлекса). Поэтому подкрепляемые данными ядерно-магнитного резонанса и современного brain-imaging по выявлению тех или иных зон мозга, активируемых при предъявлении тестовых для поведенческой триады заданий, исследования синдрома Уильямса устремились в русло индивидуального развития ребенка при его взаимодействии со средой [5].

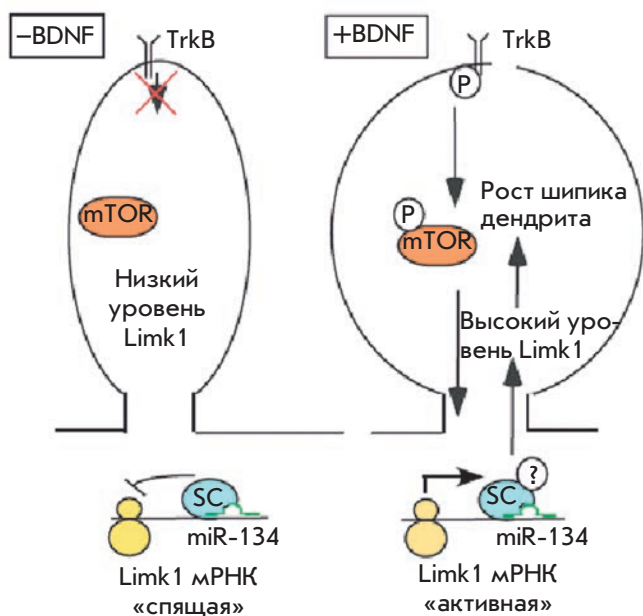
Именно индивидуальное развитие любого организма, в том числе человека [41, 42], рассматрива-

ется в русле транзакционного анализа – транзакций (взаимодействий) между генотипом и средой. Предполагается, что биоповеденческие системы способны к адаптивной самоорганизации и самостабилизации за счет условного рефлекса, вырабатываемого на сигналы среды [43].

По современным представлениям транзакции такого рода и приводят к эпигенетическим изменениям. Своим становлением они обязаны не только уже известным явлениям – метилированию промоторов генов и ацетилованию гистонов, но и новому феномену – регуляции активности генов малыми некодирующими (нк) РНК.

Что касается первого аспекта, то эпигенетика изменений активности генов по мере взросления человека становится самостоятельной областью исследований [44]. Считается, что гены «включены», когда ДНК неметилирована, а гистоны ацетилированы, и, наоборот, гены «выключены», когда ДНК метилирована, а гистоны неацетилированы. Это динамичный процесс, зависящий от возраста, диеты, стресса [45].

Второй аспект непривычен и нов. Так, на наших глазах происходит взрыв исследований в направлении, противоречащем устоявшейся молекулярно-генетической парадигме. Обнаружено, что лишь 1.2% генов млекопитающих кодируют белковые продукты, остальная же часть генома генерирует различные классы нкРНК. Поэтому возникла новая парадигма [46], согласно которой известные классы нкРНК и те, что еще предстоит обнаружить, в норме и патологии



**Рис. 13.** miR-134 в регуляции локальной трансляции LIMK1 [49]. При отсутствии BDNF трансляция LIMK1 блокируется miR-134 опосредованно через сайленсинг-комплекс (SC), что ведет к уменьшению шипиков дендритов. В присутствии BDNF активируется трансляция LIMK1 и рост шипиков дендритов

обеспечивают регуляцию экспрессии генов, кодирующих белки.

Это взаимодействие двух «миров» – РНК и белков – является базой для гибкой взаимосвязи генов с окружающей средой, что очень существенно для функционирования нервной системы. Более того, нкРНК – это устройство для связи между цифровой информацией нуклеиновых кислот ядра и аналоговой информацией клеточных белков [47, 48].

Именно в нервной системе преимущественно представлены нкРНК, функции которых обеспечивают синаптическую пластичность – молекулярную основу формирования памяти. Если краткосрочная память (до 3 ч), т.е. память о том, что произошло только что, основана на модификации (в основном фосфорилировании) предсуществующих белков, то среднесрочная память (2–8 ч) зависит от нового синтеза белка на предсуществующих матричных РНК (мРНК), т.е. от регулируемой микроРНК локальной трансляции в далеко отстоящих от ядра нервной клетки дендритах и синапсах. Они участвуют в создании «молчащих» комплексов мРНК–микроРНК, удобных для транспорта из ядра в дендрит, для чего требуется аппарат самого транспорта – актин–тубулиновые микротрубочки дендритов. Регуляция дендритного

транспорта многих мРНК может осуществляться взаимодействием PDZ-доменов LIMK1 с тубулином микротрубочек [29]. Здесь уместно напомнить, что в становлении когнитивных и поведенческих проявлений синдрома Уильямса участвуют два гена, контролирующей функции цитоскелета за счет регуляции динамики актина (*limk1*) [37] и сети микротрубочек (*clip2*) [38]. К таким мРНК относятся матрицы для быстрого локального синтеза субъединиц глутаматных рецепторов, в частности NMDA и GluR, белков синаптических уплотнений (PSD), факторов транскрипции и компонентов сигнального каскада ремоделирования актина (LIMK1, кофилин). Широко цитируемый пример [49] – взаимодействие микроРНК miR-134 с мРНК белка LIMK1, ключевого фермента ремоделирования актина, для создания «молчащего» комплекса и локальная трансляция в дендритах мРНК белка LIMK1 в ответ на нейрональную активность (рис. 13). miR-134 частично комплементарна 3'-нетранслируемой области мРНК LIMK1 (3'UTR).

микроРНК – это наиболее интенсивно изучаемый класс нкРНК длиной 20–30 нуклеотидов, действующих по принципу РНК-интерференции. Источником малых РНК является гетерохроматин – ключевой фактор эпигенетической регуляции экспрессии генов, поведения хромосом, функций нервной системы в норме и патологии, а также в эволюционных преобразованиях [50]. Модификации хроматина скоординированы с активацией каскадов транскрипции при синаптической пластичности и связаны непосредственно с CREB-зависимыми сигнальными путями.

Для изучения этого нового феномена требуются и новые модели. В этой связи возникает ряд вопросов.

Возможно ли, абстрагируясь от эпигенетических факторов сложного индивидуального развития мозга от младенчества до юности (применительно к человеку) или постнатального развития (применительно к мышам), найти и создать достаточно простые системы для анализа вклада как отдельного гена, так и последствий его эпигенетической регуляции в становление когнитивного профиля при синдроме Уильямса? Можно ли в этих целях использовать дрозофилу?

### ***Drosophila melanogaster* КАК ВОЗМОЖНАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПУТИ ГЕНЫ–МОЗГ–СОЗНАНИЕ: ГЕНЕТИКА И ЭПИГЕНЕТИКА**

С одной стороны, функции так называемых патологических генов человека часто устанавливают по характеру проявления мутаций в этом же гене дрозофилы, если его последовательность такая же, как и у гена человека. С другой стороны, все гены, в геноме млекопитающих собранные в одном критическом районе (напомним, что ген *frizzled-9*, вхо-

дящий в область делеции при синдроме Уильямса, впервые описан у дрозофилы), у дрозофилы разбросаны по разным хромосомам. Несмотря на другой способ эволюционной организации, т.е. иной локализации генов, которые у млекопитающих оказываются сцепленными, такой подход к анализу действия конкретного гена в генезе синдрома Уильямса возможен при следующих условиях:

1) должны быть известны мутации данного гена, а его гемизиготность приводит к проявлению мутантного фенотипа у дрозофилы;

2) архитектура района хромосомы, в который локализован ген дрозофилы, может predispose к возникновению хромосомных перестроек за счет неравной рекомбинации;

3) в районе локализации гена зарегистрирована повышенная частота рекомбинации, что может приводить к спонтанной генерации делеций или других перестроек;

4) линии дикого типа характеризуются специфичным для данного района полиморфизмом.

Всем этим условиям удовлетворяет обнаруженный и охарактеризованный нами локус *agnostic* *D. melanogaster*, несущий ген белка LIMK1.

### Локус *agnostic*

Локус *agnostic* был обнаружен в районе 11В X-хромосомы *D. melanogaster* при целенаправленном скрининге температурочувствительных (*ts*) мутаций, индуцированных этилметансульфонатом (ЭМС) в линии *Canton-S* (*CS*) и способных нарушать активность ферментов синтеза и распада сАМР [51].

Мутант *agn<sup>ts3</sup>* по этому локусу имеет необычайно высокую активность Ca<sup>2+</sup>/кальмодулинзависимой фосфодигстеразы Pde1 [52].

Молекулярно-генетическое изучение локуса позволило выявить фрагмент ДНК размером 21 т.п.н., который попадает в район, обнажаемый делециями, субклонировать содержащиеся в нем EcoRI-фрагменты размером 7, 5 и 9 т.п.н. и определить их концевые нуклеотидные последовательности.

В ходе этой работы при помощи гибридизации по Саузерну показано, что линии дикого типа *Canton-S* (*CS*), *Berlin* и *Oregon-R* (*OR-R*) характеризуются ярко выраженным полиморфизмом именно по данному району. Результаты биоинформатического анализа позволили расположить эти фрагменты в пределах отрезка AE003489 из района 11В X-хромосомы дрозофилы (рис. 14).

Оказалось, что эта область, попадающая как в известную делецию *Df(1)368*, так и в полученную нами узкую делецию *Df(1)112*, содержит ген белка LIMK1, гомологичный у огромного числа видов, в том числе у человека.

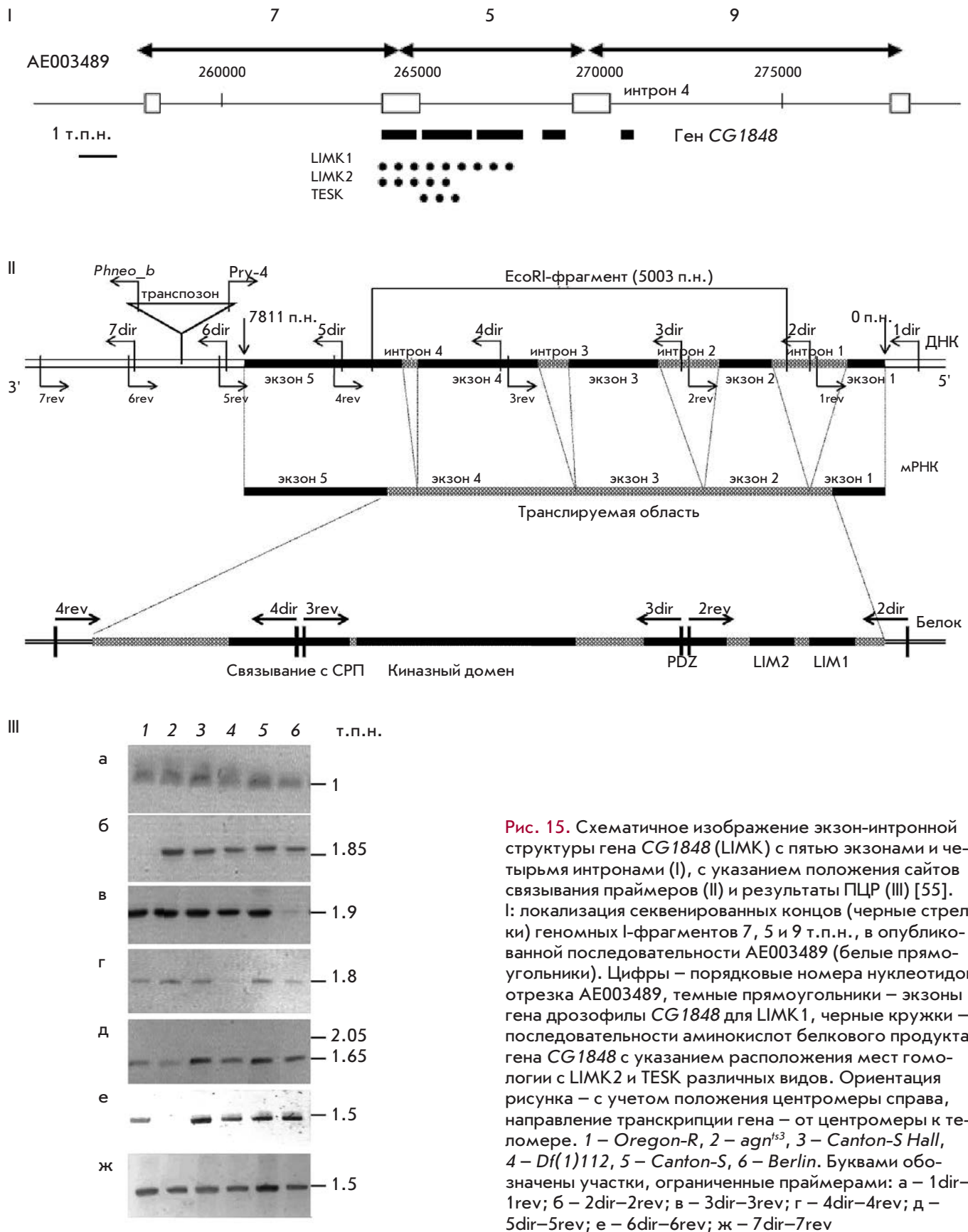


Рис. 14. Локализация локуса *agnostic* в пределах X-хромосомы [54]. А – картирование методом перекрывающихся делеций. Длина прямогольничков (за исключением микроделеции *Df(1)112*, для которой приведены границы рекомбинационного картирования) показывает протяженность в X-хромосоме делеций, обнажающих (1) и не обнажающих (2) проявление мутантных фенотипов (Б) по локусу *agnostic*. В – гибридизация *in situ* ДНК Р-элемента с политенными хромосомами Р-инсерционного мутанта *P40*

Данные нашего биоинформационного анализа выявляют гомологию локуса *agnostic*, преимущественно EcoRI-фрагмента 5 т.п.н., с тремя известными формами LIM-киназ разных видов позвоночных [53, 54].

В условиях гемизиготности – *Df(1)112/CS* – наблюдается проявление мутантных фенотипов *agn<sup>ts3</sup>*, например, высокий уровень активности Ca<sup>2+</sup>/кальмодулинзависимой киназы Pde1 и негомологичной конъюгации хромосом. Показано [53, 54], что район гена *agnostic* содержит повторяющиеся последовательности как внутри (повтор из двух LIM-доменов), так и вокруг гена. Ген обрамлен протяженными АТ-богатыми повторами (The National Centre for Biotechnology Information, NCBI), поэтому, возможно, именно негомологичным кроссинговером обусловлен

ОБЗОРЫ



**Рис. 15.** Схематичное изображение экзон-интронной структуры гена CG1848 (LIMK) с пятью экзонами и четырьмя интронами (I), с указанием положения сайтов связывания праймеров (II) и результаты ПЦР (III) [55]. I: локализация секвенированных концов (черные стрелки) геномных I-фрагментов 7, 5 и 9 т.п.н., в опубликованной последовательности AE003489 (белые прямоугольники). Цифры – порядковые номера нуклеотидов отрезка AE003489, темные прямоугольники – экзоны гена дрозофилы CG1848 для LIMK1, черные кружки – последовательности аминокислот белкового продукта гена CG1848 с указанием расположения мест гомологии с LIMK2 и TESK различных видов. Ориентация рисунка – с учетом положения центромеры справа, направление транскрипции гена – от центромеры к теломере. 1 – Oregon-R, 2 – agn<sup>ts3</sup>, 3 – Canton-S Hall, 4 – Df(1)112, 5 – Canton-S, 6 – Berlin. Буквами обозначены участки, ограниченные праймерами: а – 1dir-1rev; б – 2dir-2rev; в – 3dir-3rev; г – 4dir-4rev; д – 5dir-5rev; е – 6dir-6rev; ж – 7dir-7rev

высокий полиморфизм спонтанных и мутантных аллелей этого гена (рис. 15), показанный Д.А. Молотковым методом ПЦР [55].

Таким образом, ген *agnostic* в силу своего строения и окружения может служить генетическим резервом полиморфизма и быть удобной моделью геномных болезней, таких, как синдром Уильямса. В районе локализации гена *agnostic* частота кроссинговера повышена в 3 раза по сравнению с контролем. При этом наибольшие показатели числа двойных обменов, отрицательной интерференции и нерцепрокных комплементарных кроссоверных классов наблюдаются при температурном воздействии (29°C) в конце эмбриональной – начале личиночной стадии развития, а не на стадии премейотического синтеза ДНК (поздняя личинка III-куколка).

Это свидетельствует о том, что мутация влияет не собственно на кроссинговер, а на его предпосылки, изменяя конъюгационные особенности хромосом.

Саузерн-блот-анализ геномной ДНК выявляет у мутантов *agn<sup>ts3</sup>* дополнительный Sall-фрагмент длиной 11 т.п.н. Поэтому возникло предположение об увеличении частоты обменов за счет неравного кроссинговера, вследствие чего Sall-фрагмент появляется у мутанта *agn<sup>ts3</sup>*, предположительно, за счет инсерции или дупликации.

При ПЦР-картировании у мутанта *agn<sup>ts3</sup>* в регуляторной области гена *limk1* действительно обнаружена инсерция 1.7 т.п.н., расположенная на расстоянии приблизительно 1 т.п.н. ниже 3'UTR.

Место встройки этой инсерции хорошо согласуется с определенным по базе данных AT-богатым районом, способным образовывать шпильку в одноцепочечной конформации и структуру трефового креста в двухцепочечной конформации. Мы предполагаем, что эта аномальная структура не только может служить местом предпочтительного встраивания природного транспозона, но и способна образовывать при ее транскрипции микроРНК со сложной вторичной структурой, напоминающие по своим свойствам miR-134. Возможность участия таких микроРНК позволяет объяснить многие аспекты регуляции действия гена [55].

Для гена *agnostic* характерно следующее:

1. Иммунофлуоресцентное изучение распределения в зонах мозга дrosофилы LIMK1, ключевого фермента сигнального каскада ремоделирования актина, выявляет его преимущественную локализацию в центральном комплексе мозга и в зрительной системе. Мутационно обусловленное повреждение гена *limk1* (у *agn<sup>ts</sup>*) приводит к резкому увеличению активности LIMK1 во всех зонах мозга. К такому же эффекту у мух дикого типа *Canton-S* приводит воздействие температуры.

2. Гемизиготное состояние гена *limk1* у дrosофилы, как и при синдроме Уильямса у человека, приводит к изменению распределения LIMK1 в зонах мозга. Фермент локализуется исключительно в зрительной системе и теряет зависимость от температурного воздействия.

3. Иммунофлуоресцентное изучение распределения LIMK1 и фосфорилируемого этим ферментом кофилина (p-кофилина) в клетках слюнных желез личинок дrosофилы выявляет их преимущественно цитоплазматическую локализацию у мух дикого типа. Тепловой шок вызывает перемещение компонентов сигнального каскада ремоделирования актина в ядро и приводит к резкому увеличению активности LIMK1 и p-кофилина. Мутационно обусловленное повреждение гена LIMK1 (мутация *agn<sup>ts</sup>*) увеличивает содержание и активность LIMK1, что снимается воздействием теплового шока.

4. Мутационное повреждение гена *limk1* (ЭМС- и Р-инсерционные мутации по локусу *agnostic*) влияет на конъюгационные свойства хромосом у дrosофилы: резко увеличивается частота формирования эктопических контактов районами интеркалярного гетерохроматина в политенных хромосомах слюнных желез. Гемизиготность по гену, как при синдроме Уильямса у человека, воспроизводит мутантный фенотип.

5. Ген *agnostic* вовлечен в механизмы гомологичного синапсиса хромосом, что выражается в резком снижении частоты асинапсиса в линии *agn<sup>ts3</sup>* и аномалиях распределения длинных и коротких асинапсисов по длине хромосомы. Это указывает на различия локализации в ядре хромосомных плеч относительно друг друга у дикого типа и у *agn<sup>ts3</sup>*, т.е. на разные способы формирования пространственной трехмерной организации ядра.

6. Мутационно обусловленные нарушения сигнального каскада ремоделирования актина приводят к формированию амилоидоподобных агрегатов в мозге имаго и в личиночных тканях всех особей *agn<sup>ts3</sup>*. Частота встречаемости агрегатов снижается до уровня нормы после теплового шока. Это коррелирует со способностью к обучению и формированию памяти. Повышенная экспрессия LIMK1 у мутантов сопровождается значительным снижением обучаемости и среднесрочной памяти, выявляемых при условно-рефлекторном подавлении ухаживания самцов. Метод основан на естественных для полового поведения дrosофилы стимулах [56].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Высокая частота появления делеционно-дупликационных синдромов, к которым относится и синдром Уильямса, привела к формированию концепции

«геномных болезней», позволяющая напрямую связать гены, мозг, поведение и когнитивные функции. Четкость и дискретность когнитивных проявлений способствовали выявлению ключевого гена, ответственного за когнитивную составляющую синдрома, – гена *limk1*. Необходимость изучения внутригеномных резервов появления синдрома – кластеров повторяющихся последовательностей, распределение этих районов по зонам различной конформации в хромосоме и создание определенной организации ядра, в которой достигается пространственное сближение функционально и структурно связанных районов хромосом, – послужила поводом создания животных моделей. В частности, при изучении локуса *agnostic* для LIMK1 дрозофилы выявлено наличие повторяющихся последовательностей в области гена, мутантное проявление которого связано с изменениями в конъюгационных свойствах хромосом и трехмерной организации ядра, что является уже эпигенетической производной мутационного повреждения.

На генетическом языке, при анализе мутантных и спонтанных вариантов локуса *agnostic* вырисовывается следующая цепь событий: внешний сигнал – активация LIMK1 – фосфорилирование кофиллина – состояние актина – нормальные когнитивные

способности или патологическая потеря памяти, сопровождаемая формированием конгофильных (амилоидных) отложений.

Таким образом, можно полагать, что мутантная линия *agn<sup>ts3</sup>* является моделью синдрома Уильямса на дрозофиле. Выявленная связь мутационного повреждения гена *limk1*, изменение экспрессии и активности LIMK1, наличие амилоидоподобных включений и нарушений в когнитивной сфере позволяют применять данную модель для изучения как нейродегенеративных заболеваний, так и геномных болезней. Наличие природных полиморфных вариантов в гене *limk1* дает возможность использовать их как инструмент при изучении нейродегенеративных заболеваний, которые в большинстве случаев возникают спонтанно под действием неблагоприятных факторов окружающей среды. Возможности применения описанного инструментария составляют предмет специальных экспериментальных исследований, проводимых в нашей лаборатории [57]. ●

Работа поддержана РФФИ  
(грант № 12-04-01737-а), программами  
Президиума РАН (№ 7 и 30).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Williams J.C., Barratt-Boyes B.G., Lowe J.B. // *Circulation*. 1961. V. 24. P. 1311–1318.
- Beuren A.J., Apitz J., Harmjan D. // *Circulation*. 1962. V. 26. P. 1235–1240.
- Pober B.R., Johnson M., Urban Z. // *J. Clin. Invest.* 2008. V. 118. № 5. P. 1606–1615.
- Bellugi U., Adolphs R., Cassady C., Chiles M. // *Neuroreport*. 1999. V. 10. № 8. P. 1653–1657.
- Järvinen-Pasley A., Bellugi U., Reilly J., Mills D.L., Galaburda A., Reiss A.L., Korenberg J.R. // *Dev. Psychopathol.* 2008. V. 20. № 1. P. 1–35.
- Carrasco X., Castillo S., Aravena T., Rothhammer P., Aboitiz F. // *Pediatr. Neurol.* 2005. V. 32. № 3. P. 166–172.
- Gagliardi C., Martelli S., Burt M.D., Borgatti R. // *Pediatr. Neurol.* 2007. V. 36. № 5. P. 301–306.
- Tassabehji M. // *Hum. Mol. Genet.* 2003. V. 12. P. 229–237.
- Nakamura M., Mizuno S., Douyuu S., Matsumoto A., Kumagai T., Watanabe S., Kakigi R. // *Pediatr. Neurol.* 2009. V. 41. № 2. P. 95–100.
- Mervis C.B., Robinson B.F., Pani J.R. // *Am. J. Hum. Genet.* 1999. V. 65. № 5. P. 1222–1229.
- Doherty-Sneddon G., Riby D.M., Calderwood L., Ainsworth L. // *Cogn. Neuropsychiatry*. 2009. V. 14. № 6. P. 510–523.
- Thorton-Wells T.A., Cannistraci C.J., Anderson A.W., Kim C.Y., Eapen M., Gore J.C., Blake R., Dykens E.M. // *Am. J. Intellect. Dev. Disabil.* 2010. V. 115. № 2. P. 172–189.
- Chen K.S., Mnian P., Koeuth T., Potocki L., Zhao Q., Chinault A.C., Lee C.C., Lupski J.R. // *Nat. Genet.* 1997. V. 17. P. 154–163.
- Shaikh T.H., Kurahashi H., Saitta S.C., O'Hare A.M., Hu P., Roe B.A., Driscoll D.A., McDonald-McGinn D.M., Zackai E.H., Budarf M.L., et al. // *Hum. Mol. Genet.* 2000. V. 9. P. 489–501.
- Amos-Landgraf J.M., Ji Y., Gottlieb W., Depinet T., Wandstrat A.E., Cassidy S.B., Driscoll D.J., Rogan P.K., Schwartz S., Nichllos R.D. // *Am. J. Hum. Genet.* 1999. V. 65. P. 370–386.
- Shaw C.J., Lupski J.R. // *Hum. Mol. Genet.* 2004. V. 13. P. 57–64.
- Lupski J.R. // *Trends Genet.* 1998. V. 14. P. 417–422.
- Bayes M., Magano L.F., Rivera N., Flores R., Perez-Jurado L.A. // *Am. J. Hum. Genet.* 2003. V. 73. P. 131–151.
- Valero M.C., De Lues O., Cruses L., Perez-Jurado L.A. // *Genomics*. 2000. V. 69. P. 1–13.
- Osborne L.R., Li M., Pober B., Chitayat D., Bodurtha J., Mandel A., Costa T., Crebe T., Cox S., Tsui L.C., Scerer S.W. // *Nat. Genet.* 2001. V. 29. P. 321–325.
- Urban Z., Helms C., Fekete G., Csiszar K., Bonnet D., Munnich A., Donis-Keller H., Boyd C.D. // *Am. J. Hum. Genet.* 1996. V. 59. P. 958–962.
- Weber E.J., Levenson J.M., Sweat J.D. // *Mol. Interventions*. 2002. V. 2. P. 376–391.
- Zhao C., Aviles C., Abel R.A., Almlı C.R., McQuillen P., Pleasure S.J. // *Development*. 2005. V. 132. P. 2917–2927.
- Zhang R., Maksymowych A.B., Simpson L.L. // *Gene*. 1995. V. 159. P. 293–294.
- Nakayama T., Matsuoka R., Kimura M., Hirota H., Mikoshiba K., Shimizu Y., Shimizu N., Akagawa K. // *Cytogenet. Cell Genet.* 1998. V. 82. P. 49–51.
- Francke U. // *Hum. Mol. Genet.* 1999. V. 8. P. 1947–1954.
- Tassabehji M., Metcalfe K., Fergusson W.D., Carette M.J.A., Dore J.K., Donnai D., Read A.P., Proschel C., Gutowski N.J., Mao X., Sheer D. // *Nat. Genet.* 1996. V. 13. P. 272–273.
- Arber S., Barbayannis F.A., Hansen H., Schneider C., Stanyon C.A., Bernard O., Caroni P. // *Nature*. 1998. V. 393. P. 805–809.

29. Scott R.W., Olson M.F. // *J. Mol. Med.* 2007. V. 85. P. 555–568.
30. Gorovoy M., Niu J., Bernard O., Profirovic J., Minshall R., Neamu R., Voyno-Yasenetskaya T. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 28. P. 26533–26542.
31. Yang H., Higuchi O., Ohashi K., Nagata K., Wada A., Kangawa K., Nishida E., Mizuno K. // *Nature.* 1998. V. 393. P. 809–812.
32. Frangiskakis J.M., Ewart A.K., Morris C.A., Mervis C.B., Bertrand J., Robinson B.F., Klein B.P., Ensing G.J., Everett L.A., Green E.D., et al. // *Cell.* 1996. V. 86. № 1. P. 59–69.
33. Tassabehji M., Metcalfe K., Karmiloff-Smith A., Carette M.J., Grant J., Dennis N., Reardon W., Splitt M., Read A.P., Donnai D. // *Am. J. Hum. Genet.* 1999. V. 64. № 1. P. 118–125.
34. Morris C.A., Mervis C.B., Hobart H.H., Gregg R.G., Bertrand J., Ensing G.J., Sommer A., Moore C.A., Hopkin R.J., Spallone P.A., et al. // *Am. J. Med. Genet. A.* 2003. V. 123A. № 1. P. 45–59.
35. Sakurai T., Dorr N.P., Takahashi N., McInnes L.A., Elder G.A., Buxbaum J.D. // *Autism Res.* 2011. V. 4. № 1. P. 28–39.
36. Osborne L.R. // *Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet.* 2010. V. 154C. № 2. P. 209–219.
37. Meng Y., Zhang Y., Tregoubov V., Janus C., Cruz L., Jackson M., Lu W.-Y., MacDonald J.F., Wang J.Y., Falls D.L., et al. // *Neuron.* 2002. V. 35. P. 121–133.
38. Hoogenraad C.C., Koekkoek B., Akhmanova A., Krugers H., Dortland B., Miedema M., van Alphen A., Kistler W.M., Jaegle M., Koutsourakis M., et al. // *Nat. Genet.* 2002. V. 32. P. 16–27.
39. Micale L., Fusco C., Augello B., Napolitano L.M.R., Dermitzakis E.T., Meroni G., Merla G., Raymond A. // *Eur. J. Hum. Genet.* 2008. V. 16. № 9. P. 1038–1049.
40. Karmiloff-Smith A. // *Curr. Biol.* 2007. V. 17. № 24. P. 1035–1036.
41. Germana J. // *Integr. Physiol. Behav. Sci.* 1996. V. 31. № 3. P. 210–218.
42. Scarr S., McCartney K. // *Child. Dev.* 1983. V. 54. № 2. P. 424–435.
43. Лобашев М.Е. Исследования по генетике. Вып. 1. Л.: Изд-во ЛГУ, 1961. С. 3–11.
44. Fraga M.F., Esteller M. // *Trends Genet.* 2007. V. 23. № 8. P. 413–418.
45. Poulsen P., Esteller M., Vaag A., Fraga M.F. // *Pediatr. Res.* 2007. V. 61. P. 38–42.
46. Mattick J.S. // *J. Exp. Biol.* 2007. V. 210. P. 1526–1547.
47. Mercer T.R., Dinger M.E., Mariani J., Kosik K.S., Mehler M.F., Mattick J.S. // *Neuroscientist.* 2008. V. 14. № 5. P. 434–445.
48. Savvateeva-Popova E., Popov A., Grossman A., Nikitina E., Medvedeva A., Molotkov D., Kamyshev N., Pyatkov K., Zatsepina O., Schostak N., et al. // *J. Neural. Transm.* 2008. V. 115. № 12. P. 1629–1642.
49. Schratz G.M., Tuebing F., Nigh E.A., Kane C.G., Sabatini M.E., Kiebler M., Greenberg M.E. // *Nature.* 2006. V. 439. № 7074. P. 283–289.
50. Lippman Z., Martienssen R. // *Nature.* 2004. V. 431. № 7006. P. 364–370.
51. Савватеева Е.В., Камышев Н.Г., Розенблюм С.Р. // ДАН СССР. 1978. Т. 240. С. 1443–1445.
52. Savvateeva E.V., Kamyshev N.G. // *Pharmacol. Biochem. Behavior.* 1981. V. 14. P. 603–611.
53. Савватеева-Попова Е.В., Переслени А.И., Шарагина Л.М., Токмачева Е.В., Медведева А.В., Камышев Н.Г., Попов А.В., Озерский П.В., Баричева Е.М., Карагодин Д. и др. // Журн. эвол. биохим. физиол. 2002. Т. 38. № 6. С. 557–577.
54. Савватеева-Попова Е.В., Переслени А.И., Шарагина Л.М., Медведева А.В., Корочкина С.Е., Григорьева И.В., Дюжикова Н.А., Попов А.В., Баричева Е.М., Карагодин Д. и др. // Генетика. 2004. Т. 40. № 6. С. 749–769.
55. Медведева А.В., Молотков Д.А., Никитина Е.А., Попов А.А., Карагодин Д.А., Баричева Е.М., Савватеева-Попова Е.В. // Генетика. 2008. Т. 44. № 6. С. 669–681.
56. Kamyshev N.G., Iliadi K.G., Bragina J.V. // *Learn. & Mem.* 1999. V. 6. P. 1–20.
57. Medvedeva A.V., Zhuravlev A.V., Savvateeva-Popova E.V. // *Horizons in Neurosci. Resh.* 2010. V. 1. Ch. 4. P. 161–193.