

ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА

СОФРОНОВ Г.А., ПАТКИН Е.Л.

Основные эпигенетические механизмы регуляции активности генов

Эпигенетика изучает митотически или мейотически наследуемые и обратимые изменения, которые влияют на экспрессию генов и стабильность генома, но происходят без изменения в последовательности ДНК. При этом на эпигенетические изменения могут влиять факторы окружающей среды, как, например, металлы, стойкие органические загрязнители или эндокринные нарушения химическими веществами.

Расширение эпигенетики до эпигеномики, как и генетики до геномики, заключается в расширении центра внимания от конкретных локусов к большим или полным наборам эпигенетических признаков, влияющих на фенотип индивида. Аналогичным образом можно перейти от отдельных индивидов к множеству родственных геномов и связанных с ними эпигеномов, которые составляют популяции или виды. Эпигеном состоит из маркированной метилированием ДНК и модификаций гистонов, и участвует в управлении экспрессией генов. Эпигеном точно воспроизводится во время митоза и может передаваться между поколениями.

В эукариотических клетках ДНК упакована в хроматин, а ковалентные модификации гистонов хроматина и изменения самой ДНК могут влиять на экспрессию генов. При наследовании от одного клеточного поколения к другому такие изменения называют эпигенетическими модификациями, которые могут привести к долговременным изменениям в экспрессии генов (Henikoff, Shilatifard, 2011; Law, Jacobsen, 2010). Современная эпигенетика включает в себя ряд механизмов: метилирование ДНК, модификации гистонов, варианты гистонов, микроРНК, пространственную организацию ядра (Allis et al., 2007; Feil, Fraga, 2012). Метилирование ДНК является ковалентной модификацией, наследуемой в ходе делений соматических клеток. 5-метилцитозин (5MeC) представляет 2-5% всех цитозинов в геномах млекопитающих и встречается в основном в CpG динуклеотидах (Паткин, 2008, Millar et al., 2003). Метилирование ДНК участвует в регуляции многих клеточных процессов, в том числе, в структурировании хроматина и его ремоделинге, инактивации X-хромосомы, геномном импринтинге, стабильности хромосом и транскрипции генов (Паткин, 2008; Reik et al., 2001). Обычно, гиперметилирование промотора гена связано со снижением экспрессии гена (Orphanides, Reinberg, 2002). Тем не менее, более 90% всех геномных 5-метилцитозинов непосредственно не связаны с генной функцией, так как они лежат в CpG динуклеотидах, расположенных в транспозабельных повторяющихся элементах, также известных как транспозоны (Yang et al., 2004). Было показано, что общее гипометилирование, а также понижение уровня

метиляции транспозабельных повторяющихся элементов связано с уменьшением хромосомной стабильности и нарушением функции генома (Chénaïs et al., 2012; Slotkin, Martienssen, 2007). МикроРНК (микроРНК) являются одноцепочечной РНК $\approx$ 21-23 нуклеотидов в длину, которые транскрибируются с ДНК, но не транслируются в белки (некодирующие РНК); зрелые микроРНК являются частично комплементарными к одной или нескольким РНК (мРНК) молекулам. Основной функцией микроРНК является понижение экспрессии генов путем взаимодействия с мРНК (Pillai et al., 2007).

Наше понимание молекулярных механизмов эпигеномного регулирования и степени его важности в природе еще далеки от завершения, но, несмотря на такие изъяны, исследования на уровне популяции являются чрезвычайно ценными: эпигеномное регулирование участвует в нескольких процессах, узловых для эволюционной биологии, включая фенотипическую пластичность, процессы развития и посредничество во внутригеномных конфликтах (Johnson. Tricker, 2010).

Большая часть эпигенетических изменений в соматических или вегетативных тканях может влиять на фенотипическую изменчивость и способствовать формированию комплексности наследования признаков. Паттерны альтернативной экспрессии генов у эукариот основываются на различных указанных выше эпигенетических механизмах (Паткин, 2008). Эти эпигенетические маркеры определяют конститутивное транскрипционное глушение (например, транспозабельных элементов) и обратимость такого выключения экспрессии генов, благодаря возможности самоподдержания в процессе митоза.

Эпигенетическое наследование предполагает передачу информации (эпигенетические метки), не кодируемой в последовательности ДНК, от родительских клеток к дочерним клеткам, и от поколения к поколению. Эпигенетическое маркирование, подобно книжным закладкам, маркирует состояние хроматина, как "включено" или "выключено", как "открытое" или "закрытое", так что оно может быть идентифицировано и может поддерживаться в дочерних клетках (Choudhuri, 2009).

Факторы окружающей среды и заболевания человека

Эпигеном, как указывалось выше, состоит из маркированной метилированием ДНК и модификаций гистонов, и участвует в управлении экспрессией генов. Эпигеном точно воспроизводится во время митоза и может передаваться между поколениями. Присущая эпигеному пластичность (в том числе обратимость) делает его достаточно легко перепрограммируемым продуктами питания, химическими и физическими факторами. Импринтированные гены и метастабильные эпиаλληли представляют собой два класса генов, которые особенно восприимчивы к экологическим факторам, так как их регулирование тесно связано с эпигенетическими механизмами.

Для полного понимания этиологии самых разрушительных болезней, от которых страдают люди, в конечном счете, необходимо полностью охарактеризовать человеческий эпигеном. Кроме того, выяснение взаимодействия окружающей среды с эпигеномом позволит разработать новые эпигенетические подходы к диагностике, профилактике и терапевтическим стратегиям лечения человека. При этом, будут появляться новые области охраны окружающей среды.

Новые исследования, касающиеся влияния окружающей среды на здоровье и развитие болезней, формируются в настоящее время с целью понимания механизмов, ответственных за фенотипические различия у генетически идентичных особей. В частности, "эмбриональная основа взрослых болезней", или гипотеза "раннего происхождения" утверждают, что питание и другие факторы окружающей среды во время беременности и раннего развития влияют на клеточную пластичность, тем самым влияя на восприимчивость к сердечно-сосудистым заболеваниям, диабету 2 типа, ожирению и другим хроническим заболеваниям у взрослых людей (Barker et al., 2005; Dolinoy, Jirtle, 2008). С пластичностью развития мы сталкиваемся, когда экологические факторы влияют на клеточные пути во время беременности, что позволяет одному генотипу формировать широкий спектр взрослого фенотипа (Bateson et al., 2004). Такие факторы окружающей среды, как пища, химические и физические воздействия могут изменять экспрессию генов и влиять на взрослый фенотип не только вследствие мутаций промоторов и кодирующих областей генов, но и путем изменения метилирования CpG и других эпигенетических модификаций в эпигенетически значимых лабильных геномных областях (Waterland, Jirtle, 2004).

Исследование рака является, вероятно, наиболее интенсивно изучаемой областью эпигенетики. Паттерн метилирования ДНК существенно меняется, когда клетки становятся злокачественными: опухолевый геном становится глобально гипометилированным, в то время как локальные и дискретные регионы в промоторных областях генов супрессоров опухолей подвергаются интенсивному гиперметилированию (Ropero, Esteller, 2009). Было показано, что негенотоксическое воздействие канцерогенами вызывает изменения метилирования ДНК. Хорошо известным примером является фенотарбидин, который снижает общий уровень метилирования ДНК в печени мышей с опухолями при увеличении метилирования ДНК в GC-богатых регионах ДНК (Watson, Goodman, 2002). Wu et al. (2010) недавно сообщили, что воздействие на матерей негенотоксического канцерогена DENP (Ди-2-(этилгексил) фталат), который широко распространен в окружающей среде в результате использования в качестве пластификатора, вызывал повышение метилирования ДНК в семенниках плода и новорожденных мышей.

Загрязнение воздуха может вызывать изменения в глобальном метилировании ДНК. В сперме мышей, подвергнутых воздействию загрязненного воздуха вблизи сталелитейных заводов и автотрасс, наблюдали увеличение глобального метилирования ДНК (Yauk et al., 2008). Эти авторы также наблюдали разрывы нитей ДНК и предположили, что это вызывало увеличение активности ферментов ДНК-метилтрансфераз. Известно, что увеличение такой активности наблюдается при повреждениях ДНК, и они связываются с высокой афинностью со многими повреждениями ДНК, в результате чего происходит гиперметилирование ДНК. Tarantini et al. (2009) описали уменьшение метилирования ДНК в Alu и LINE-1 повторах в лейкоцитах крови рабочих металлургического завода, которые подверглись воздействию определенных уровней PM10 (твердых частиц с аэродинамическим диаметром <10 мкм). Эти результаты находятся в соответствии с наблюдениями о снижении LINE-1 метилирования в образцах крови человека после воздействия угольными частицами автомобильных выхлопных газов (Baccarelli et al., 2009). Недавно была предложена интересная объединяющая гипотеза для объяснения гипометилирования в результате воздействия как питания, так и химическими факторами окружающей среды (Lee et al., 2009). Эти авторы предположили, что нарушение синтеза S-аденозил-метионина (SAM) может лежать в основе путей снижения метилирования.

Воздействия нескольких металлов, как известно, вызывает эпигенетические изменения. Никель (Ni) является известным канцерогеном, но его генотоксичность является низкой. Механизм действия никеля, связанный с его канцерогенностью и действием на сердце и легкие, пока не ясен. Lee и соавт. (1998) исследовали эффекты никеля на ДНК-метилтрансферазы и геномный уровень метилирования ДНК и показали, что Ni вызывает общее геномное ДНК гиперметилирование. В трансгенной линии клеток хомяка воздействие кристаллических форм Ni, например, при вдыхании небольших частиц, также вело к подобному эффекту (Costa et al., 2005). В нескольких работах было показано, что растворимый NiCl₂ может *in vitro* уменьшать ацетилирование гистонов, увеличивать деметилирование H3K9 и моноубиквитинирование H2A и H2B (Ke et al., 2006). Интересно, что разные металлы могут приводить как к гипометилированию ДНК, так и гиперметилированию. Например для кадмия было показано для разных генов гипометилирование ДНК (Huang et al., 2008). Мышьяк вызывал гиперметилирование ДНК клеток крови (Pilsner et al., 2007). Причем этот эффект зависел от фолатов, что указывает на зависимость индуцируемого фолатами гиперметилирования от доступности источников метильных групп. Токсичность мышьяка, как было недавно показано, связана с изменениями в экспрессии мРНК (Marsit et al., 2006). Что касается хрома, то механизм его множественных генетических и эпигенетических эффектов пока не ясен. Было показано, что воздействие хроматами влияло на гиперметилирование p16 в тканях пораженных раком легких (Kondo et al., 2006). Метилированная ртуть является контаминантом окружающей среды и потенциально нейротоксическим агентом, который может присутствовать в

высоких концентрациях в морской пище. Перинатальная обработка этим агентом вызывает персистирующие изменения в обучении и мотивационном поведении у мышей, индуцируя эпигенетическую супрессию экспрессии гена BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) в гиппокампе и ведя к депрессии (Onishchenko et al., 2008).

Была предложена общая модель для учета влияния различных металлов на метилирование ДНК, а именно, на основе металл-индуцированного окислительного стресса (Baccarelli, Bollati, 2009). Металлы, как известно, ведут к активации и увеличению числа активных форм кислорода, которые, в свою очередь, могут приводить к окислительным повреждениям ДНК. Такие события, в результате, способны ингибировать действие ДНК метилтрансфераз и, тем самым, приводить к гипометилированию. Интересно, что при исследовании воздействия на различные растения смеси никеля, хрома и кадмия наблюдали гипометилирование ДНК (Aina et al., 2004). Однако, гипометилирование в этих растениях не было случайным. Потеря метилирования затрагивала большие специфические последовательности ДНК в различных сериях экспериментов. Эти результаты показали, что эпигенетические ответы на воздействие металлов могут быть более специфичными, чем просто результатом металл-индуцированных активных форм кислорода.

Еще одну группу соединений представляют персистирующие органические поллютанты (POP). Одним из таких агентов является диоксин. Его токсичность опосредована арил-гидрокарбоновым рецептором (Aryl-hydrocarbon Receptor (AhR)) (Позняков и др., 2006; Okey et al., 2007) и, как представляется связана с измененной транскрипцией ряда генов (Bunger et al., 2003; Румак и др., 2012). Было показано, что диоксин может вызывать гиперметилирование промотора гена AhR, тем самым ведя к уменьшению его активности (Mulego-Navarro et al., 2006).

Развивающиеся организмы особенно чувствительны к пертурбациям эндокринной регуляции, вызываемым химикатами с гормон-подобной активностью. В половых клетках млекопитающих и доимплантационных эмбрионах метилирование ДНК претерпевает два цикла деметилирования / реметилирования, в которых происходит широкогеномное репрограммирование, и в результате образуются клетки с разнообразным потенциалом дифференцировки (Patkin, 2002; Reik et al., 2001). Имеющиеся данные указывают, что воздействие ксенобиотиками во время критических периодов развития млекопитающих может вызывать стойкие и наследуемые изменения эпигенетических состояний. К таким агентам относится ряд соединений. Диэтилстильбестрол является специфическим для стадий развития негенотоксическим канцерогеном, который в прошлом использовался для предотвращения выкидышей у беременных женщин (Herbst et al., 1971). На мышинных моделях было показано, что экзогенный эстроген приводит к стойкой экспрессии определенных генов, в том числе генов лактоферрина, эпидермального фактора роста, и протоонкогенов, таких как c-fos, и c-jun (Nelson et al., 1994), ингибируя процесс метилирования (Xie et al., 1999).

Бисфенол А (BPA) представляет собой химикат с эстрогенными свойствами, который присутствует во многих часто используемых изделиях, включая и контейнеры для пищи и напитков, детские бутылочки, и стоматологические композиты. Dolinoy и др. (Dolinoy et al., 2007) показали, что воздействие на беременных самок крысы этим агентом ведет к изменениям метилирования метастабильных локусов Avy и CarbIAP. Интересно, что такое влияние на метилирование ДНК связано с изменением окраски меха животных и может быть предотвращено материнскими пищевыми добавками с источником метильных групп, таких как фолиевая кислота (Dolinoy et al., 2007).

В исследованиях на животных было показано, что ряд химических веществ, включая аллоксан, циклофосфамид, ортоаминоазотолуол, бензопирен, диэтилстильбестрол (DES) и винклозолин (Baccarelli, Bollati, 2009) могут вызывать трансгенерационные фенотипические эффекты. В качестве возможных механизмов этого воздействия были предложены химически индуцированные эпигенетические изменения. Так, Анвей и соавторы (Anway et al., 2005) показали, что воздействие на беременных самок крыс во время определения пола нарушающим эндокринную регуляцию винклозолином, вызывало различные нарушения в потомстве, которые затем передавались по мужской линии в течение, по крайней мере, трех поколений. Высокий уровень дефектов (примерно 90% всех самцов во всех поколениях) и отсутствие нарушений при передаче по женской линии указывают на эпигенетическую наследуемость. В этом исследовании было отмечено изменение метилирования ДНК в двух генах-кандидатах в сперме самцов, подвергшихся воздействию винклозолином, и эти аномальные уровни метилирования были унаследованы. Эти результаты показывают, что воздействие на половые клетки, возможно, в определенной стадии развития, необходимо для формирования наследственных эпигенетических изменений. Кроме того, эпигенетические механизмы могут лежать в основе влияния воздействия эпигенетически активными агентами на здоровье в дальнейшей жизни, даже уже независимо от экологических факторов у взрослых (Gluckman et al., 2008). Как отмечалось выше, большинство исследований эпигенетических эффектов экологических химических веществ, показало изменения в метилировании ДНК, модификации гистонов или микроРНК в соматических клетках взрослых особей. Остается пока не ясным, коррелируют ли эпигенетические изменения, наблюдаемые в соматических клетках с таковыми в линии половых клеток и ранних эмбрионах в период дифференцировки. Решение этой проблемы важно не только теоретически, но и с практической точки зрения для выяснения возможности использования соматических клеток (например клеток периферической крови) для оценки влияния факторов внешней среды на эпигенотип трудно доступных первичных половых клеток и клеток ранних эмбрионов человека.

Межгенерационное наследование эпигенетических маркеров

Один из важнейших вопросов, имеющих как общебиологическое значение, так и для медицинской науки и практики, - это вопрос о возможности передачи между поколениями эпигенетических модификаций и их возможных изменений под влиянием экотоксикантов среды или питания. Как следствие такой передачи может появиться повышенная восприимчивость к комплексным заболеваниям (диабет, рак, сердечно-сосудистые патологии и др.) в потомстве людей, подвергшихся эпигенетически значимым воздействиям, часть из которых приведена выше. Если эпигенетическая информация может передаваться между поколениями, становясь частью потока наследственных геномных вариаций, влияющих на фенотипическое разнообразие (Rakyan et al., 2006; Richards, 2006), то становится возможным существование популяционной эпигенетики, то есть различий между этносами, расами и популяциями на эпигенетическом и/или эпигеномном уровнях. То есть подобно хорошо известной связи генетического статуса рас и этносов с восприимчивостью к различным патологиям, скорее всего, существует и подобная связь для эпигеномного и эпигенетического маркирования. Обычно в основе наследования сложных признаков рассматривают исключительно передачу от родителей к потомству многих вариантов последовательности ДНК, которые стабильны и являются причиной таких признаков. Таким образом, один из наиболее важных вопросов, связанных как с проблемами эволюции, так и с вопросами этиологии заболеваний, в том числе, их возможной межпопуляционной изменчивости - это вопрос о том, могут ли индуцированные факторами внешней среды эпигенетические изменения быть унаследованы от одного поколения к другому (Daxinger, Whitelaw, 2010). Накапливающиеся данные свидетельствуют в пользу существования межгенерационной передачи изменений метилирования ДНК и вариантов хроматина. (Bossdorf et al., 2007; Peaston, Whitelaw, 2006; Richards, 2006, 2008). Становится все более ясным, что эпигеном может модулироваться различными факторами окружающей среды, в том числе химическими веществами, питанием, а также при старении (Anway et al., 2005, 2006; Roth et al., 2009; Waterland et al., 2006; Weaver et al., 2004, 2005). Эпигеном, таким образом, обеспечивает важную взаимосвязь между генами и окружающей средой, и может рассматриваться как потенциальный механизм для быстрой, направляемой внешней средой адаптацией (Franklin, Mnsuy, 2010).

Достаточно давно установлено, что паттерны метилирования ДНК передаются в ходе соматических клеточных делений с участием ДНК метилтрансферазы поддержания DNMT1. У организмов, размножающихся половым путем, эпигенетические изменения метилирования ДНК должны сохраняться при сложном процессе мейоза для того, чтобы быть переданными следующему поколению. В многоклеточных организмах они также должны поддерживаться после гаметогенеза и эмбриогенеза, несмотря на значительные перестройки клеток и хроматина во время этих стадий развития. Во время гаметогенеза и раннего эмбриогенеза эпигеном в целом перепрограммируется у млекопитающих, и, в определенной степени, у растений (Kota, Feil, 2010; Sasaki, Matsui, 2008). Этот процесс перепрограммирования делает первичные половые клетки, половые клетки и ранние зародыши особенно уязвимыми к внешним факторам, даже у взрослых (Yaouk et al., 2008). Но, с другой стороны, у млекопитающих некоторые последовательности в геноме относительно устойчивы к глобальному перепрограммированию метилирования ДНК, в том числе IAP ретротранспозонов (Lane et al., 2003), и это может объяснить наблюдаемые трансгенерационные эффекты. В ходе развития млекопитающих ДНК постепенно деметилируется во время доимплантационного развития, после которого происходит реметилирование (Bocock, Aagaard-Tillery, 2009; Patkin, 2002). Имеются доказательства того, что паттерн метилирования ДНК может передаваться между поколениями, несмотря на эти процессы деметилирования в гаметогенезе и раннем эмбриогенезе, но в настоящее время не ясно, каковы механизмы этого (Bonduriansky, Day, 2009). Некоторые авторы утверждают, что гаметическое наследование эпигенетических изменений, вызванное воздействием экологического стресса на беременных самок в поколении F0, может считаться доказанным, если только эти изменения все еще присутствуют в F3 поколениях. Действительно, первичные половые клетки, дающие начало F2 поколения, уже присутствуют в F1 эмбрионах внутри беременной самки F0 (Youngson, Whitelaw, 2008). Но и в случае появления индуцированного только в F0 поколении фенотипа, у F2 потомства, не подвергнутого воздействию, фактически мы также имеем дело с межгенерационной передачей. В контексте экотоксикологии требуются специальные исследования химических веществ, потенциально вызывающих эпигенетические изменения, способные стабильно передаваться в ряду поколений. Это может привести к эпигенетической микроэволюции и локальной адаптации, например, к стрессу, как это было предложено Morgan и др. (2007). То есть, в популяционных исследованиях необходимо, наряду с генетической адаптацией, изучение эпигенетических модификаций (Franklin, Mansuy, 2010; Vandegehuchte, Janssen, 2011).

Была обнаружена связь гиперметилирования промоторов двух опухолевых супрессоров - генов репарации неправильного спаривания нитей ДНК MLH1 и MSH2, с наследственным, неполипозным колоректальным раком (Chan et al., 2006; Hitchins et al., 2007). Гиперметилирование для обоих генов MLH1 и MSH2 наблюдалось и в линии половых клеток, хотя и не во всех (Chan et al., 2006; Suter et al., 2004). Интересно, что эпимутации MLH1, по-видимому, более легко передается по материнской линии, в результате чего вероятность возникновения эпигенетических ошибок выше в оогенезе, чем в сперматогенезе (Fleming et al., 2008). Но нельзя исключать, что различия в наследуемых эпимутациях в линии половых клеток обусловлены генетической неоднородностью в семье, то есть вполне возможно, что ДНК варианты присутствуют в семье (Chong et al., 2007). Действительно, недавно было показано, что делеция в последнем экзоне гена, расположенного непосредственно перед MSH2, коррелирует с эпигенетической инактивацией MSH2 аллеля. Это говорит о том, что, по крайней мере, в случае MSH2, варианты ДНК, а не эпигенетическое наследование могут привести к эпигенетическим изменениям, присутствующим в каждом поколении (Ligtenberg et al., 2009).

Ключевое исследование, демонстрирующее трансгенерационный эффект воздействия токсикантом, было проведено Anway и соавт (2005). Эти авторы подвергали беременных крыс (F0 поколения) воздействию фунгицидом винклозолином или пестицидом метоксихлором, которые вызывают эндокринные нарушения. В мужском F1 потомстве этих крыс наблюдали пониженный сперматогенез. Эти явления наблюдались в трех последующих мужских, не подвергавшихся воздействию поколениях (F2 до F4) и были связаны с аномальным метилированием ДНК в спермиях (Anway et al., 2008). Подобным образом, воздействие винклозолином на беременных самок F0 вызывало повышение частоты опухолеобразования и увеличение частоты других различных заболеваний (например, почек и иммунной системы) в процессе старения самцов поколений от F1 до F4 (Anway et al., 2006; Stouder et al., 2010). Интересно, что в то время как эффекты у самцов были переданы по мужской линии половых клеток, эффекты у самок наблюдались только, если оба родителя были потомками подвергшихся воздействию винклозолином крыс (Nilsson et al., 2008). Надо отметить, что эпигенетические механизмы, хотя и не были изучены у этих самок крыс, но были предложены в качестве причины межгенерационной передачи патологических состояний. При исследовании мышей, трансгенных по некодирующей минисателлитной ДНК, мы также обнаружили наследование повышенной склонности к образованию метастазирующих опухолей молочной железы у потомства самок, но при наследовании исключительно от нормальных трансгенных самцов, то есть с явным эпигенетическим наследованием (Сломинская и др., 2006).

Очевидно, что эпигенетическое транскгенерационное наследование предполагает, что как матери, так и отцы уже несут и передают определенные эпигенетические модификации потомству, клетки которых не подвергались воздействию. У млекопитающих, только эпигенетические изменения, переданные F3 поколению действительно являются транскгенерационными, так как развивающиеся половые клетки, дающие начало F2 поколению уже присутствуют (и, возможно, таким образом, подверглись воздействию) во время эмбрионального развития F1 поколения. Хотя вопрос о межгенерационном наследовании эпигенетических состояний по-прежнему остается в значительной степени не исследованным, такое наследование могло бы объяснить долговременную адаптацию к меняющимся условиям, особенно в растениях (Johannes et al., 2009; Richards, 2011).

Примеры, приведенные выше, показывают, что унаследованные эпигенетические изменения существуют вне лаборатории, однако, таких примеров в природе крайне мало. Важной проблемой, является расширение поиска природной эпигенетической изменчивости и оценка важности такой изменчивости. Необходимы систематические обследования для каталогизации эпигенетических изменений и их распределения в геноме. Надо исследовать распределение таких эпигенетических маркеров, как метилирование цитозина и модификаций гистоновых "хвостов", особенно связанных с изменениями в локальной экспрессии генов. Во-вторых, надо установить относительную роль экологических, генетических и эпигенетических причин изменений эпигенетических маркеров. В-третьих, важно определить в какой степени наблюдаемые эпигенетические изменения могут быть унаследованы или будут ограничены соматическими тканями (Rakyan et al., 2004; Richards, 2008).

Очевидно, как упомянуто выше, что генетическая изменчивость может влиять на эпигенетические изменения (Heijmans et al., 2007; Murrell et al., 2004), напрямую влияя на эпигенотип. Тот факт, что воздействие химическими веществами может вызывать эпигенетические изменения, в сочетании с возникновением транскгенерационных эпигенетических эффектов, заставляет обратить особое внимание на возможные оценки рисков для здоровья человека от воздействия химических веществ (LeBaron, 2010). Но сложность заключается в том, что даже для высоко консервативных импринтированных генов наблюдается высокий уровень различий статуса метилирования между человеком и, например, мышами (Паткин, Сучкова, 2006). Таким образом, эпигенетические эффекты, наблюдаемые у одного вида, не могут считаться таковыми у всех других видов. Следовательно, необходимы исследования с различными дозами воздействия и адекватными мишенями для оценки эффектов на человека. Сейчас стало очевидным, что неправильный эпигенетический код может привести к развитию заболевания, в том числе болезней потери

импринтинга, раку, а также недавно описанным состояниям, ассоциированным с заболеваниями и возникающим в результате эпигенетических изменений в линии половых клеток, называемых "эпимутациями" (Bennett et al., 2010; Dobrovic, Kristensen, 2009; Hitchens, 2010). Более того, все большее число данных указывает на роль внутриутробной среды в будущем здоровье, причем связано такое действие с возможными нарушениями эпигенетического программирования (Tamashiro, Moran, 2010). Показано, что разлучение с матерями потомства мышей на 1-10 дни после рождения ведет к депрессивным состояниям и даже наблюдалось в следующих поколениях. При этом изменялся паттерн метилирования ДНК в промоторах нескольких генов-кандидатов в зародышевой линии самцов, разлученных с матерями (Franklin, Mansuy, 2010). Сопоставимые изменения метилирования ДНК также присутствуют в мозге потомства и связаны с измененной генной экспрессией.

Факторы внешней среды, действующие в период развития плода, могут индуцировать постоянные эпигенетические изменения в линии половых клеток (спермиях), которые далее в последующих поколениях могут индуцировать заболевания во взрослом состоянии уже в отсутствие внешних воздействий.

Межгенерационные эпигенетические эффекты исследовали для таких соединений, как смеси пестицидов, пластиков (бисфенол А и фталаты), диоксина (TCDD) и гидрокарбоновых смесей (ракетное топливо, JP8). Обработку проводили в период половой детерминации во время эмбрионального развития. После временной экспозиции беременных самок F0, получали потомство F1-F3 при отсутствии какого-либо внешнего воздействия. Было обнаружено трансгенерационное влияние пластиков, диоксина и ракетного топлива на более раннее начало полового созревания у самок и апоптоз спермиев у самцов в F3 поколении (Manikkam et al., 2012). Выявили специфичную для каждого из соединений картину метилирования, что указывает на возможность оценки воздействия окружающей среды на предков. Недавние исследования также показали, что ограничения в питании бабушек и дедушек по отцовской линии связаны с риском смертности внуков и внучек, соответственно (Pembrey et al., 2006).

В связи с увеличением случаев ожирения в западных странах, активно исследовали возможное трансгенерационное влияние питания матерей пищей с высоким содержанием жира на последующие поколения. Высокожирная диета ведет к увеличению длины тела и снижению чувствительности к инсулину двух поколений после первоначального воздействия (Dunn, Bale, 2009). Эти нарушения могут быть переданы как по материнской, так и по отцовской линии, и эффект еще более усиливается, когда потомство также имело высокожирную диету (Dunn, Bale, 2009).

Эпигенетическое транскгенерационное наследование представляет собой альтернативный в сравнении с классической генетикой молекулярный механизм передачи в линии половых клеток экологически индуцированных фенотипических изменений (Anway et al., 2005). Большинство факторов внешней среды не могут изменять ДНК последовательности, но такие факторы как питание или различные токсические вещества могут влиять на эпигенетические процессы и менять картину экспрессии генов (Jirtle, Skinner, 2007). Экологическая эпигенетика фокусируется на том, как клетка или организм реагируют на факторы окружающей среды, создавая измененные фенотипы или болезни. При этом эпигенетические модификации могут опосредовать специфичные механизмы токсичности и реакции на определенные химические вещества. В то время как механизм действия некоторых из этих агентов понятен, для других способ действий еще предстоит выяснять (Marsit et al., 2006). Поскольку эти эпигенетические изменения малы, потенциально кумулятивны, а также могут со временем расширяться, становится затруднительным устанавливать причинно-следственные связи между факторами окружающей среды, эпигенетическими изменениями и заболеваниями (Baccarelli, Bollati, 2009). В целом, эти результаты, полученные и для человека, и для грызунов показывают, что эпигенетические факторы и факторы окружающей среды участвуют в передаче эффектов недостаточной или чрезмерной диеты, но эти факторы остаются неизвестными, и степень участия эпигенетических феноменов еще требует дальнейших исследований. Нужны фундаментальные исследования для решения вопросов о (1) возникновении индуцированных эпигенетических модификаций при экологически реальных концентрациях экотоксикантов, (2) фенотипических и популяционных последствиях этих изменений и (3) передаче этих изменений последующим, не подвергавшимся воздействию поколениям. Таким образом, наследование эпигенетических и, тем более, эпигеномных маркеров и их вариантов, возникающих под влиянием факторов внешней среды, служит основанием для заключения о том, что популяционная эпигенетика в ближайшее время будет играть важную роль как в теории эволюции, так и в фундаментальных, и даже прикладных вопросах медицины. То есть при рассмотрении патологических процессов необходимо учитывать популяционно-эпигенетический фактор, в том числе, особенности раннего периода гаметогенеза и эмбриогенеза будущих поколения. Именно возможное наследование эпигенетического и эпигеномного маркирования может обуславливать различия между этносами, расами и популяциями в восприимчивости и характере протекания различных патологий, связанных с экологическими воздействиями.

Эпигенетические и эпигеномные различия между популяциями и их связь с патогенезом

Приведенные выше данные свидетельствуют о наличии влияния различных факторов внешней среды на эпигенетические и эпигеномные модификации генома и возможности межпоколенческого наследования такого маркирования, однако, значение изменчивости эпигенетических состояний на популяционном уровне во многом остается неизученным. Популяционный аспект эпигенетики особенно важен при изучении экологически важных экотоксикактов, так как в данном случае происходит воздействие на целые популяции. Именно с такой ситуацией мы столкнулись во Вьетнаме. В данном контексте необходимо рассмотрение различных аспектов эпигенетики, например, молекулярных мишеней эпигенетических механизмов, межгенерационного наследования эпигенетических модификаций, животных-моделей для исследования эпигенетики, эпигенетических последствий воздействия на млекопитающих неблагоприятных внешних факторов (Bollati, Baccarelli, 2010; Choudhuri et al., 2010; Jablonka, Raz, 2009; LeBaron et al., 2010; Rosenfeld, 2010). Под действием таких факторов происходят соответствующие изменения в генной экспрессии, что часто ведет к измененному фенотипу, в том числе и к развитию патологий. В некоторых случаях эпигенетические изменения могут быть переданы последующим поколениям, даже когда эти поколения уже не подвергаются воздействию внешними факторами, приведшими к исходным эпигенетическим изменениям (см. выше). То есть, популяция (этнос, раса) может сталкиваться с последствиями воздействия химических веществ на их предков (Румак и др., 2000), что важно, как для понимания эволюционных процессов, так и для оценки экологического риска (Vandeghechuchte, Janssen, 2011). Уже первые исследования эпигеномной изменчивости в популяциях указывают на высокий уровень фенотипически важных различий, при которых паттерны эпигенетического регулирования различны между индивидами и участками генома, а также и в связи с различиями окружающей среды. Эпигеном, таким образом, обеспечивает важную взаимосвязь между генами и окружающей средой, и может рассматриваться как потенциальный механизм для быстрой, направляемой внешней средой адаптации.

Необходимо изучение транс-действующих генетических вариаций в генах, кодирующих ферменты эпигенетического маркирования (например, метилтрансфераз ДНК и гистонов), а также полиморфизмов ДНК, способствующих эпигенетическим изменениям (Heijmans et al., 2007; Murrell et al., 2004). Различные факторы внешней среды, включая мутагены и другие агенты (Anway et al., 2005), диета (Cropley et al., 2006) могут влиять на эпигенотип, в том числе и на эпигенотип последующих поколений даже уже при отсутствии таких агентов (Waterland, Jirtle, 2003). К таким факторам среды надо отнести и наличие патогенов (Boyko et al., 2007), физические состояния (например, аномальная температура) и поведение (например материнское питание) (Szyf, 2012; Weaver et al., 2004). Возникающие эпипаллели могут, в свою очередь, индуцировать эпигенетическую изменчивость.

Наследственные эпигенетические изменения являются промежуточными между относительно медленно накапливающимися мутациями в последовательности ДНК и непродолжительными адаптивными реакциями, тем самым, представляя механизмы для достижения стабильного, но потенциально быстро развивающегося фенотипического разнообразия в ответ на экологические раздражители (Flatscher et al., 2012). В связи с обнаруженной в последнее время ролью процесса активного деметилирования в гаметогенезе и раннем эмбриогенезе, при котором имеют место репарация и рекомбинация нитей ДНК (Schär, Fritsch, 2011), можно предположить, что эпигенетические изменения могут приводить к изменениям в последовательности ДНК, которые будут наследоваться между поколениями. Такой механизм может опосредовать эффекты внешних, например, химических агентов и поллютантов на организм в период гаметогенеза и эмбриогенеза. Изучение эпигенома человека на популяционном уровне показало интригующие различия между CpG-богатыми и бедными CpG областями генома (Bock et al., 2008).

В последнее время многие исследования сосредоточены на выяснении вопроса о том, модулируют ли экологические факторы создание и поддержание эпигенетических модификаций, и могут ли они, тем самым, влиять на экспрессию генов и формирование фенотипов (Feil, Fraga, 2012) подобно тому, как они могут влиять на стабильность генома (Позняков и др., 2006, Румак и др., 2012). Как указано выше, действительно, химические загрязняющие вещества, пищевые компоненты, изменения температуры и других внешних стрессов действительно могут иметь долгосрочные последствия для развития, обмена веществ и здоровья, иногда даже в последующих поколениях. В настоящее время общеприняты три потенциальные эпигенетические мишени для индуцируемых окружающей средой эффектов, а именно, мобильные элементы, промоторные районы генов "домашнего хозяйства" и цис-действующие элементы импринтированных генов (Dolinoy, Jirtle, 2008). Хотя, по нашему мнению, к таким мишеням надо также относить тандемные ДНК повторы, локализованные в нетранслируемых районах генов, включая интроны, которые также подвержены метилированию, причем степень метилирования может колебаться в зависимости от типа ткани, клетки, индивида и от возраста (Паткин, Квинн, 2010). Данные последних лет указывают на необходимость включения в мишени для внешних воздействий и так называемые "тела генов", в том числе интронные последовательности. Это обусловлено тем, что паттерн метилирования CpG островков в промоторах может быть противоположным метилированию "тел генов" при различных физиологических состояниях и болезнях (Hahn et al., 2012; Maunakea et al., 2010; Shenker, Flanagan, 2011). Эти данные также указывают на важность особого рассмотрения локализованных в интронах тандемных ДНК повторов и их эпигенетических модификаций.

Надо учитывать, что в определенные периоды жизни эпигеном особенно восприимчив к дерегулированию, а именно, во время раннего развития, неонатального развития, полового созревания и в пожилом возрасте. Тем не менее, наиболее уязвимым к факторам окружающей среды является период эмбриогенеза, так как высокая скорость синтеза ДНК, и именно в это время происходит установление паттерна метилирования ДНК. Например в период доимплантационного развития наблюдается уникальный феномен дифференциальной организации хроматина (Patkin et al., 1994) и дифференциального метилирования сестринских хроматид (Patkin, 1997). Такая особенность указывает, что внешние факторы, влияющие на метилирование генома в этом периоде развития, могут вести к драматическим нарушениям процесса первичной дифференцировки и, как следствие, к будущим патологиям, включая и нарушения в процессе гаметогенеза. Кроме того, учитывая современные данные о значительных изменениях как в общем, так и ген-специфическом уровнях метилирования ДНК при старении (Bollati et al., 2009; Kim et al., 2009), можно предположить, что при старении организмы также будут особенно чувствительны к внешним воздействиям. Действительно, наблюдается зависимость от возраста дивергенция в генной экспрессии и эпигенетических маркерах между монозиготными близнецами человека (Fraga et al., 2005), и эпигенетическая вариабельность между первичными половыми клетками человека (Flanagan et al., 2006). Подобное разрушение эпигенетической информации с возрастом наблюдали и у мышей (Bennett-Baker et al., 2003). Ключевая проблема связана с дальнейшими поисками межгенерационного наследования эпигенетических маркеров как в природных популяциях, так и в эксперименте. Наконец, необходимо, в первую очередь, экспериментальное изучение влияния различных факторов внешней среды, особенно, поллютантов различной природы, на изменчивость и потенциальную передачу между поколениями эпигеномов и эпигенетических характеристик отдельных генов-кандидатов и их районов.

Заключение

Эпигенетические изменения могут быть приобретены в течение жизни индивида, а затем передаваться потомству. Изменения в эпигенетических путях, как становится все более ясно, связаны с заболеваниями человека, в особенности, при различных типах рака. Эпидемиологические данные, а также исследования *in vitro* и *in vivo* показывают, что воздействие ксенобиотиками часто ассоциировано с различными эпигенетическими изменениями. Однажды установившись, эпигенетические маркеры могут быть переданы потомству, и именно эта трансгенерационная персистентность эпигенетических изменений и ее потенциальное влияние делают изучение воздействия окружающей среды на эпигенетическую регуляцию важным аспектом исследований окружающей среды и молекулярной токсикологии.

Хотя функциональные аспекты метилирования ДНК и различные модификации гистонов хорошо описаны, в контексте воздействия ксенобиотиками большое число наблюдаемых эпигенетических изменений не были связаны с наблюдаемыми функциональными явлениями. Установление причинно-следственной связи между воздействием ксенобиотиками, эпигенетическими изменениями и физиологическими / патологическими последствиями становится еще более трудным в связи с тем, что эпигенетические изменения могут быть приобретены в течение жизни организма. Так, описанные ассоциации между воздействием канцерогенов, метилированием ДНК и началом рака не всегда приводит к пониманию подлежащих механизмов (Issa, 2004).

Таким образом, даже если конкретные эпигенетические изменения могут быть связаны с патологическими состояниями, по-прежнему остается неясным, существует ли временной переключатель, или порог эпигенетических изменений, или определенные комбинации эпигенетических изменений (эпигенетический код), необходимый для запуска явлений, приводящих к конкретным патологическим состояниям (Choudhuri et al., 2010)

Во многих случаях экологические химикаты могут иметь парадоксальные эпигенетические эффекты. Например, мышьяк и никель понижают клеточные уровни SAM, снижают DNMT активность и вызывают общее понижение уровня метилирования, которые могут быть механистически связаны между собой. Однако, в то же время, они также вызывают гиперметилирование промоторов определенных генов. Кроме того, острое воздействие кадмием ведет к гипометилированию ДНК и снижению DNMT активности, в то время как хроническое воздействие кадмием приводит к гиперметилированию ДНК и увеличению активности DNMT (Wang et al., 2012). Молекулярную регуляцию таких парадоксальных эффектов еще предстоит выяснять.

Преобладающая концепция относительно метилирования ДНК как статичной эпигенетической метки хроматина также, как стало ясно, является упрощением. Демонстрация периодического метилирования и деметилирования транскрипционно активных промоторов с периодичностью в десятки минут, выявила непредвиденную динамичную роль метилирования ДНК в регуляции генов в клетках человека (Kangaspeska et al., 2008; Métivier et al., 2008).

Необходимы дальнейшие исследования, предназначенные для решения вопроса о том, могут ли одни и те же заболевания приводить к различным эпигенетическим изменениям под воздействием различных условий среды (в том числе в различных географических точках). То есть, необходимы эпигенетические, эпидемиологические исследования. Это указывает на важную роль эпигенетики популяций для медицины. Например, при изучении 85 образцов опухолей больных гепатоцеллюлярной карциномой из Китая, Египта, Великобритании, Европы и США, Шеен и соавторы (Shen et al., 2002) обнаружили значительную разницу в метилировании гена p16 в опухолях больных из Китая и Египта (34,4%) по сравнению с опухолями из Европы и США (12,2%).

Тем самым, можно подчеркнуть роль исследования эпигенетической "нормы" как на это справедливо указывают Кристинсен и соавторы (Christensen et al., 2009). Скорее всего эта "норма" окажется различной для различных этносов, популяций, возрастов и пола. Такие данные, вероятно, станут первым шагом к пониманию и систематическому анализу роли внешней среды в эпигенетической регуляции и ее потенциальным физиологическим и патологическим последствиям.

Остается необходимым изучение того, какие именно и как внешние сигналы индуцируют эпигенетические изменения, которые, в свою очередь редактируют и модифицируют язык ДНК. Для этой цели необходимы модельные экспериментальные исследования на клеточных культурах различных типов и трансгенных животных, подвергающихся различным воздействиям.

Рассмотренная в обзоре проблема приобретает особое значение для медико - биологического обследования населения Южного Вьетнама, пострадавшего от применения "Оранжевого Агента " во время II Индокитайской Войны. Для подтверждения справедливости такого заключения достаточно сослаться на два установленных факта: обнаружение высокого содержания диоксина военного происхождения в плаценте некоторых рожениц, проживающих на загрязненной диоксином территории, а также отклонения в физическом развитии и состоянии здоровья второго и третьего поколений детей-потомков пробандов, подвергнутых действию диоксин-содержащего "Оранжевого Агента" (Румак и соавт., 2012).

Благодарность. Работа поддержана грантами РФФИ №11-04-00254-а и №12-04-00580-а.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

Голиков С.Н., Румак В.С., Софронов Г.А., Умнова Н.В., *Отдаленные эколого-генетические последствия воздействия диоксинсодержащими экотоксикантами*, Вестник РАМН, 1998, №1, С.42-50.

Паткин Е.Л., *Эпигенетические механизмы распространенных заболеваний человека*, СПб.: Нестор-История, 2008, С.200.

Паткин Е.Л., Сучкова И.О., *Регуляторные механизмы импринтинга у млекопитающих*, Цитология, 2006, Т.48, С.578-594.

Паткин Е.Л., Квинн Дж., *Эпигенетические механизмы предрасположенности к комплексным патологиям человека*, Экол. Генетт, 2010, Т.8, С.44-56.

Павлов Д.С., Софронов Г.А., Румак В.С., Позняков С.П., *Концепция индивидуального риска в экологической токсикологии*, Медиц. Аккад. Ж. 2003, Т.3, С.98-111.

Позняков С.П., Румак В.С., Софронов Г.А., Умнова Н.В., *Диоксины и здоровье человека. Научные основы выявления диоксиновой патологии*, СПб.: Наука, 2006, С.256.

Румак В.С., Умнова Н.В., Софронов Г.А., Павлов Д.С., *Молекулярная токсикология диоксинов*, С-Петербург. "Наука" В печати, 2012.

Румак В.С., Софронов Г.А., Хавинсон В.Х., *Прогнозирование индивидуальной и популяционной опасности экотоксикантов - медико-биологическая проблема XXI века*, Вест. Росс. Военно-медиц. Акад., 2000, С.8-17.

Сломинская Н.А., Сучкова И.О., Клинская Т.А., Забежинский М.А. Паткин Е.Л., *Особенности межгенерационной передачи экзогенной сателлитной днк быка у трансгенных мышей*, Цитология., 2006, Т.48, С.522-529.

Aina R., Sgorbati S., Santagostino A., et al., *Specific hypomethylation of DNA is induced by heavy metals in white clover and industrial hemp*, *Physiol. Plant.* 2004, Vol.121, P.472-480.

Allis C.D., Jenuwein T., Reinberg D., *Epigenetics edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 2007.

Ahuja N., Issa J.P., *Aging, methylation and cancer*, *Histol. Histopathol*, 2000, Vol.15, P.835-842.

Anway M.D., Rekow S.S., Skinner M.K., *Transgenerational epigenetic programming of the embryonic testis transcriptome*, *Genomics*, 2008, Vol.91, P.30-40.

Anway M.D., Leathers C., Skinner M.K., *Endocrine disruptor vinclozolin induced epigenetic transgenerational adult-onsetdisease*, *Endocrinology*, 2006, Vol.147, P.5515-5523.

Anway M.D., Cupp A.S., Uzumcu M., Skinner M.K., *Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility*, *Science*, 2005, Vol.308, P.1466-1469.

Baccarelli A., Bollati V., *Epigenetics and environmental chemicals*, *Curr. Opin. Pediatr.*, 2009, Vol.2, P.243-251.

Baccarelli A., Wright R.O., Bollati V., et al., *Rapid DNA methylation changes after exposure to traffic particles*, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2009, Vol.179, P.572-578.

Bocock P.N., Aagaard-Tillery K.M., *Animal models of epigenetic inheritance*, *Semin. Reprod. Med.*, 2009, Vol.27, P.369-379.

Bock C., Walter J., Paulsen M., Lengauer T., *Inter-individual variation of DNA methylation and its implications for largescale epigenome mapping*, *Nucl. Acids. Res.*, 2008, Vol.35, P.e55

Bonduriansky R., Day T., *Nongenetic inheritance and its evolutionary implications*, *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 2009, Vol.40, P.103-125.

Bennett-Baker P.E., Wilkowski J., Burke D.T., *Age-associated activation of epigenetically repressed genes in the mouse*, *Genetics*, 2003, Vol.165, P.2055-2062.

Bollati V., Baccarelli A., *Environmental epigenetics. Epigenetics and its implications for ecotoxicology*, Heredity, 2010, Vol.105, P.105-112.

Bollati V., Schwartz J., Wright R., et al., *Decline in genomic DNA methylation through aging in a cohort of elderly subjects*, Mechan. Ageing Devel., 2009, Vol.130, P.234-239.

Bosssdorf O., Richards C.L., Pigliucci M., *Epigenetics for ecologists*, Ecol. Lett., 2007, Vol.11, P.106-115.

Boyko A., Kathiria P., Zemp F.J., Yao Y., et al., *Transgenerational changes in the genome stability and methylation in pathogen-infected plants: (virus-induced plant genome instability)*, Nucleic Acids Res., 2007, Vol.35, P.1714-1725.

Barker D., Osmond C., Forsen T.J., Kajantie E., Eriksson J.G., *Trajectories of growth among children who gave coronary events as adults*, N. Engl. J. Med. 2005, Vol.353, P.1802-1809.

Bunger M.K., Moran S.M., Glover E., et al., *Resistance to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin toxicity and abnormal liver development in mice carrying a mutation in the nuclear localization sequence of the aryl hydrocarbon receptor*, J. Biol. Chem., 2003, Vol.278, P.17767-17774.

Bateson P., Barker D., Clutton-Brock T., et al., *Developmental plasticity and human health*, Nature, 2004, Vol.430, P.419-421.

Chénais B., Caruso A., Hiard S., Casse N., *The impact of transposable elements on eukaryotic genomes: From genome size increase to genetic adaptation to stressful environments*, Gene., 2012, Vol.509, P.7-15.

Christensen B.C., Houseman E.A., Marsit C.J., et al., *Aging and environmental exposures alter tissue-specific DNA methylation dependent upon CpG island context*, PLoS Genet., 2009, Vol.5, P.e1000602.

Chan T.L., Yuen S.T., Kong C.K., et al., *Heritable germline epimutation of MSH2 in a family with hereditary nonpolyposis colorectal cancer*, Nat. Genet., 2006, Vol.38, P.1178-1183.

Chong S., Youngson N.A., Whitelaw E., *Heritable germline epimutation is not the same as transgenerational epigenetic inheritance*, Nat. Genet., 2007, Vol.39, P.574-575.

Choudhuri S., *Epigenetic regulation of gene and genome expression*, In: Choudhuri S., Carlson, DB., editors. Genomics: Fundamentals and Applications. NY: Informa Healthcare, 2009. p.101-128.

Costa M., Davidson T.L., Chen H., et al., *Nickel carcinogenesis: epigenetics and hypoxia signaling*, Mutat. Res., 2005, Vol.592, P.79-88.

Choudhuri S., Cui Y., Klaassen C.D., *Molecular targets of epigenetic regulation and effectors of environmental influences*, Toxicol. Appl. Pharmacol., 2010, Vol.245, P.378-393.

Cropley J.E., Suter C.M., Beckman K.B., Martin D.I., *Germ-line epigenetic modification of the murine Avy allele by nutritional supplementation*, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 2006, Vol.103, P.17308-17312.

Daxinger L., Whitelaw E., *Transgenerational epigenetic inheritance: more questions than answers*, Genome Res., 2010, Vol.20, P.1623-1628.

Dobrovic A., Kristensen L.S., *DNA methylation, epimutations and cancer predisposition*, Int. J. Biochem. Cell. Biol., 2009, Vol.41, P.34-39.

Dolinoy D.C., Huang D., Jirtle R.L., *Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2007, Vol.104, P.13056-13061.

Dolinoy D.C., Jirtle R.L., *Environmental Epigenomics in Human Health and Disease*, Envir. Mol. Mutag., 2008, Vol.49, P.4-8.

Dunn G.A., Bale T.L., *Maternal high-fat diet promotes body length increases and insulin insensitivity in second-generation mice*, Endocrinology, 2009, Vol.150, P.4999-5009.

Feil R., Fraga M.F., *Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications*, Nat. Rev. Genet., 2012, Vol.13, P.97-106.

Flanagan J.M., Popendikyte V., Pozdniakovaite N., Sobolev M. et al., *Intra- and interindividual epigenetic variation in human germ cells*, Am. J. Hum. Genet., 2006, Vol.79, P.67-84.

Flatscher R., Frajman B., Schonswetter P., Paun O., *Environmental Heterogeneity and Phenotypic Divergence: Can Heritable Epigenetic Variation Aid Speciation?*, Genet. Res. Internat., 2012, Vol.2012, 698421. Epub 2012 Mar 4.

Fleming J.L., Huang T.H., Toland A.E., *The role of parental and grandparental epigenetic alterations in familial cancer risk*, Cancer Res., 2008, Vol.68, P.9116-9121.

Fraga M.F., Ballestar E., Paz M.F., et al., *Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2005, Vol.102, P.10604-10609.

Franklin T.B., Mansuy I.M., *Epigenetic inheritance in mammals: Evidence for the impact of adverse environmental effects*, Neurobiol. Disease, 2010, Vol.39, P.61-65.

Fowler B.A., Whittaker M.H., Lipsky M., Wang G., Chen X.Q., *Oxidative stress induced by lead, cadmium and arsenic mixtures: 30-day, 90-day, and 180-day drinking water studies in rats: an overview*, Biometals, 2004, Vol.17, P.567-568.

Hahn M.A., Wu X., Li A.X., Hahn T., Pfeifer G., *Relationship between gene body DNA methylation and intragenic H3K9me3 and H3K36me3 chromatin marks*, PLoS One, 2011, Vol.6, P.e18844.

Heijmans B.T., Kremer D., Tobi E.W., et al., *Heritable rather than age-related environmental and stochastic factors dominate variation in DNA methylation of the human IGF2/H19 locus*, Hum. Mol. Genet., 2007, Vol.16, P.547-554.

Heijmans B.T., Tobi E.W., Stein A.D. et al., *Persistent epigenetic differences, 2008. Associated with prenatal exposure to famine in humans*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol.105, P.17046-17049.

Henikoff S., Shilatifard A., *Histone modification: cause or cog?*, Trends Genet., 2011, Vol.27, P.389-396.

Hitchins M.P., Wong J.J., Suthers G., et al., *Inheritance of a cancer-associated MLH1 germ-line epimutation*, N. Engl. J. Med., 2007, Vol.356, P.697-705.

Hitchins M.P., *Inheritance of epigenetic aberrations (constitutional pmutations) in cancer susceptibility*, Adv. Genet., 2010, Vol.70, P.201-243.

Herbst A.L., Ulfelder H., Poskanzer D.C., *Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women*, N. Engl. J. Med., 1971, Vol.284, P.878-881.

Huang D., Zhang Y., Qi Y., Chen C., Ji W., *Global DNA hypomethylation, rather than reactive oxygen species (ROS), a potential facilitator of cadmium-stimulated K562 cell proliferation*, Toxicol. Lett., 2008, Vol.179, P.43-47.

Issa J.P., *CpG island methylator phenotype in cancer*, Nat. Rev. Cancer., 2004, Vol.4, P.988-993.

Jablonka E., Raz G., *Transgenerational epigenetic inheritance:prevalence, mechanisms and implications for the study of heredity and evolution*, Q. Rev. Biol., 2009, Vol.84, P.131-176.

Jirtle R.L., Skinner M.K., *Environmental epigenomics and disease susceptibility*, Nat. Rev. Genet., 2007, Vol.8, P.253-262.

Johannes F., Porcher E., Teixeira F.K. et al., *Assessing the Impact of Transgenerational Epigenetic Variation on Complex Traits*, PLoS Genet., 2009, Vol.5, P.e1000530.

Johnson L.J., Tricker P.J., *Epigenomic plasticity within populations:its evolutionary significance and potential*, Heredity., 2010, Vol.105, P.113-121.

Kalisz S., Purugganan M.D., *Epialleles via DNA methylation: consequences for plant evolution*, Trends in Ecol. Evol., 2004, Vol.19, P.309-314.

Kadota M., Yang H.H., Hu N., et al., *Allele-specific chromatin immunoprecipitation studiesshow genetic influence on chromatin state in human genome*, PLoS Gen., 2007, Vol.3, P.e81.

Kangaspeska S., Stride B., Métivier R., et al., *Transient cyclical methylation of promoter DNA*, Nature, 2008, Vol.452, P.112-115.

Ke Q., Davidson T., Chen H., Kluz T., Costa M., *Alterations of histone modifications and transgene silencing by nickel chloride*, Carcinogenesis, 2006, Vol.27, P.1481-1488.

Kondo K., Takahashi Y., Hirose Y., Nagao T., Tsuyuguchi M., Hashimoto M., Ochiai A., Monden Y., Tangoku A., *The reduced expression and aberrant methylation of p16(INK4a) in chromate workers with lung cancer*, Lung Cancer, 2006, Vol.53, P.295-302.

Kouzarides T., *Chromatin modifications and their function*, Cell., 2007, Vol.128, P.693-705.

Kim J., Kim J-Y., Issa J.P., *Aging and DNA Methylation*, Curr. Chem. Biol., 2009, Vol.3, P.321-329.

Kota S., Feil R., *Epigenetic transitions in germ cell development and meiosis*, Dev. Cell., 2010, Vol.19, P.675-686.

Lane N., Dean W., Erhardt S., Hajkova P., Surani A., Walter J., Reik W., *Resistance of IAPs to methylation reprogramming may provide a mechanism for epigenetic inheritance in the mouse*, Genesis, 2003, Vol.35, P.88-93.

Law, J.A., Jacobsen S.E., *Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals*, Nat. Rev. Genet., 2010, Vol.11, P.204-220.

LeBaron M.J., Rasoulpour R.J., Klapacz J., et al., *Epigenetics and chemical safety assessment*, Mutat. Res. Rev. Mutat. Res., 2010, Vol.705, P.83-95.

Lee D.H., Jacobs D.R., Porta M., *Hypothesis: a unifying mechanism for nutrition and chemicals as lifelong modulators of DNA hypomethylation*, Environ. Health Perspect., 2009, Vol.117, P.1799-1802.

Ligtenberg M.J., Kuiper R.P., Chan T.L., et al., *Heritable somatic methylation and inactivation of MSH2 in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3' exons of TACSTD1*, Nat. Genet., 2009, Vol.41, P.112-117.

Maunakea A.K., Nagarajan R.P., Bilenky M., et al., *Conserved role of intragenic DNA methylation in regulating alternative promoters*, Nature, 2010, Vol.466(7303), P.253-257

Marsit C.J., Eddy K., Kelsey K.T., *MicroRNA responses to cellular stress*, Cancer Res., 2006, Vol.66, P.10843-10848.

Métivier R., Gallais R., Tiffocche C., et al., *Cyclical DNA methylation of a transcriptionally active promoter*, Nature, 2008, Vol.452, P.45-50.

Millar D., Holliday R., Grigg G., *Five not four: History and significance of the fifth base*, In: Beck, S.; Olek, A., editors. The Epigenome, Molecular Hide and Seek. Wiley-VCH Verlag GmbH Co. KGaA, 2003, P.3-20

Mulero-Navarro S., Carvajal-Gonzalez J.M., Herranz M., et al., *The dioxin receptor is silenced by promoter hypermethylation in human acute lymphoblastic leukemia through inhibition of Sp1 binding*, Carcinogenesis, 2006, Vol.27, P.1099-1104.

Murrell A., Heeson S., Cooper W.N., et al., *An association between variants in the IGF2 gene and Beckwith-Wiedemann syndrome: interaction between genotype and epigenotype*, Hum. Mol. Genet., 2004, Vol.13, P.247-255.

Nelson K.G., Sakai Y., Eitzman B., Steed T., McLachlan J., *Exposure to diethylstilbestrol during a critical developmental period of the mouse reproductive tract leads to persistent induction of two estrogen-regulated genes*, Cell Growth Differ, 1994, Vol.5, P.595-606.

Nilsson E.E., Anway M.D., Stanfield J., Skinner M.K., *Transgenerational epigenetic effects of the endocrine disruptor vinclozolin on pregnancies and female adult onset disease*, Reproduction, 2008, Vol.135, P.713-721.

Okey A.B., *An aryl hydrocarbon receptor odyssey to the shores of toxicology: the Deichmann Lecture, International Congress of Toxicology-XI*, Toxicol. Sci., 2007, Vol.98, P.5-38.

Onishchenko N., Karpova N., Sabri F., Castren E., Ceccatelli S., *Long-lasting depression-like behavior and epigenetic changes of BDNF gene expression induced by perinatal exposure to methylmercury*, J.Neurochem, 2008, Vol.106, P.1378-1387.

Orphanides G., Reinberg D., *A unified theory of gene expression*, Cell, 2002, Vol.108, P.439-451.

Patkin E.L., *Epigenetic mechanisms for primary differentiation in mammalian embryos*, Intern. Rev. Cytol., 2002, P.81-130.

Patkin E., Kustova, A.P. Dyban., *Spontaneous sister-chromatids differentiation (SCD) and sister-chromatid exchanges (SCEs) in chromosomes of mouse blastocyst*, Cytogen. Cell Genet., 1994, Vol.66, P.31- 32.

Patkin E.L., *Asymmetry of sister chromatids methylation of preimplantation mouse embryo chromosomes as revealed by nick translation in situ*, Cytogenet. Cell Genet., 1997, Vol.77, P.82.-83.

Pembrey M.E., Bygren L.O., Kaati G., et al., *Sex-specific, male-line transgenerational responses in humans*, Eur. J. Hum. Genet., 2006, Vol.14, P.159-166.

Peters A., *Particulate matter and heart disease: evidence from epidemiological studies*, Toxicol. Appl. Pharmacol., 2005, Vol.207, P.477-482.

Peaston A.E., Whitelaw E., *Epigenetics and phenotypic variation in mammals*, Mamm. Genome., 2006, Vol.17, P.365-374.

Rakyan V.K., Chong S., Champ M.E., et al., *Transgenerational inheritance of epigenetic states at the murine Axin(Fu) allele occurs after maternal and paternal transmission*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2003, Vol.100, P.2538-2543.

Rakyan V.K., Hildmann T., Novik K.L., et al., *DNA methylation profiling of the human major histocompatibility complex: a pilot study for the human epigenome project*, PLoS Biol., 2004, Vol.2, P.e405.

- Rakyan VK., Down T.A., Maslau S., et al., *Human aging-associated DNA hypermethylation occurs preferentially at bivalent chromatin domains*, Genome Res., 2010, Vol.20, P.434-439.
- Rakyan V.K., Down T.A., Balding D.J., Beck S., *Epigenome-wide association studies for common human diseases*, Nat. Rev. Genet., 2011, Vol.12, P.529-41.
- Reik W., Dean W., Walter J., *Epigenetic reprogramming in mammalian development*, Science, 2001, Vol.293, P.1089-1093.
- Roth T.L., Lubin F.D., Funk A.J., Sweatt J.D., et al., *Lasting epigenetic influence of early-life adversity on the BDNF gene*, Biol. Psychiatry, 2009, Vol.65, P.760-769.
- Richards E.J., *Inherited epigenetic variation-revisiting soft inheritance*, Nat. Rev. Genet., 2006, Vol.7, P.395-401.
- Richards E.J., *Population epigenetics*, Curr. Opin. Genet., 2008, Vol.18, P.221-226.
- Richards E.J., *Natural epigenetic variation in plant species: a view from the field*, Curr. Opin. Plant Biol., 2011, Vol.14, P.204-209.
- Ropero S., Esteller M., *Epigenetics and cancer: DNA methylation*, In: Esteller M (ed) Epigenetics in biology and medicine. CRC Press, Boca Raton, FL), 2009.
- Rosenfeld C.S., *Animal models to study environmental epigenetics*, Biol. Reprod., 2010, Vol.82, P.473-488.
- Sasaki H., Matsui Y., *Epigenetic events in mammalian germ-cell development: reprogramming and beyond*, Nat. Rev. Genet., 2008, Vol.9, P.129-140.
- Schär P., Fritsch O., *DNA repair and the control of DNA methylation*, Prog Drug Res., 2011, Vol.67, P.51-68.
- Shenker N., Flanagan J M., *Intragenic DNA methylation: implications of this epigenetic mechanism for cancer research. British Journal of Cancer*, 2012, Vol.106, P.248-253.
- Shen L., Ahuja N., Shen Y., et al., *DNA methylation and environmental exposures in human hepatocellular carcinoma*, J. Natl. Cancer. Inst., 2002, Vol.94, P.755-761.
- Slotkin R.K., Martienssen R., *Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome*, Nat. Rev. Genet., 2007, Vol.8, P.272-285.
- Stouder C., Paoloni-Giacobino A., *Transgenerational effects of the endocrine disruptor vinclozolin on the methylation pattern of imprinted genes in the mouse sperm*, Reproduction, 2010, Vol.139, P.373-379.
- Suter C.M., Martin D.I., Ward R.L., *Germline epimutation of MLH1 in individuals with multiple cancers*, Nat. Genet., 2004, Vol.36, P.497-501.
- Szyf M., *The early-life social environment and DNA methylation*, Clin. Genet., 2012, Vol.81, P.341-349.
- Tamashiro K.L., Moran T.H., *Perinatal environment and its influences on metabolic programming of offspring*, Physiol. Behav., 2010, Vol.100, P.560-566.

Tarantini L., Bonzini M., Apostoli P., et al., *Effects of particulate matter on genomic DNA methylation content and iNOS promoter methylation*, Environ. Health Perspect., 2009, Vol.117, P.217-222.

Vandeghechuchte M.B., Janssen C.R., *Epigenetics and its implications for ecotoxicology*, Ecotoxicology, 2011, Vol.20, P.607-624.

Wang B., Li Y., Shao C., Tan Y., Cai L., *Cadmium and its epigenetic effects*, Curr. Med. Chem., 2012, Vol.19, P.2611-2620.

Weaver I.C., Cervoni N., Champagne F.A., et al., *Epigenetic programming by maternal behavior*, Nat. Neurosci., 2004, Vol.7, P.847-854.

Waterland R.A., Jirtle R.L., *Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation*, Mol. Cell. Biol., 2003, Vol.23, P.5293-5300.

Waterland R.A., Dolinoy D.C., Lin J.R., et al., *Maternal methyl supplements increase offspring DNA methylation at axin fused*, Genesis, 2006, Vol.44, P.401-406.

Watson R.E., Goodman J.I., *Effects of phenobarbital on DNA methylation in GC-rich regions of hepatic DNA from mice that exhibit different levels of susceptibility to liver tumorigenesis*, Toxicol. Sci., 2002, Vol.68, P.51-58.

Weaver I.C., Diorio J., Seckl J.R., Szyf M., Meaney M.J., *Epigenetic programming by maternal behavior*, Ann. NY. Acad. Sci., 2004, Vol.1024, P.182-212.

Weaver I.C., Weaver I.C., Champagne F.A., et al., *Reversal of maternal programming of stress responses in adult offspring through methyl supplementation: altering epigenetic marking later in life*, J. Neurosci., 2005, Vol.25, P.11045-11054.

Wu S.D., Zhu J., Li Y.S., et al., *Dynamic epigenetic changes involved in testicular toxicity induced by di-2-(ethylhexyl) phthalate in mice*, Basic Clin. Pharmacol. Toxicol., 2010, Vol.106, P.118-123.

Xie S., Wang Z., Okano M., Nogami M., Li Y., He W.W., Okumura K., Li E., *Cloning, expression and chromosome locations of the human DNMT3 gene family*, Gene., 1999, Vol.236, P.87-95.

Yang A.S., Estecio M.R., Doshi K., Kondo Y., Tajara E.H., Issa J.P., *A simple method for estimating global DNA methylation using bisulfite PCR of repetitive DNA elements*, Nucl. Acids Res., 2004, Vol.32, P.e38.

Yauk C., Polyzos A., Rowan-Carroll A., Somers C.M., et al., *Germ-line mutations, DNA damage, and global hypermethylation in mice exposed to particulate air pollution in an urban/industrial location*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2008, Vol.105, P.605-610.

Youngson N., Whitelaw E., *Transgenerational epigenetic effects*, Annu. Rev. Genom. Hum. Genet., 2008, Vol.9, P.233-257.