

HENRYK HÜBNER i ANNA MORDALSKA

*Zakład Biologii i Genetyki Medycznej*  
*Instytut Nauk Podstawowych*  
*Wojskowa Akademia Medyczna*  
*Plac gen. J. Hallera 1*  
*90-647 Łódź*

### GENOMOWY IMPRINTING U CZŁOWIEKA

Termin „imprinting” — „piętno” jest zapożyczony przez genetykę z etologii, gdzie oznacza wyspecjalizowaną a jednocześnie ograniczoną w czasie formę uczenia się. U wielu kręgowców imprinting jest zachowaniem, dzięki któremu młode zwierzęta nawiązują kontakty społeczne oraz uczą się bezbłędnie rozpoznawać matkę i osobniki swojego gatunku. To wrodzone piętno wywiera wpływ na całe życie zwierzęcia, mimo że może się ono zrealizować jedynie w określonym krótkim czasie po urodzeniu lub wykluciu.

Termin imprinting w znaczeniu genetycznym, a ściślej w cytogenetycznym, został po raz pierwszy użyty na początku lat sześćdziesiątych dla scharakteryzowania zjawiska eliminacji chromosomów u *Sciara* (CROUSE 1960). Pomimo upływu tylu lat od ukazania się tej pierwszej, a następnie licznych innych publikacji (BROWN i BENNETT 1957, BROWN i NELSON-REES 1961, CROUSE i współaut. 1971, KITCHIN 1970) dla wielu biologów i lekarzy ciągle jeszcze jest niespodzianką, że matczyne i ojcowskie chromosomy mogą u ssaków oraz innych grup zwierząt funkcjonować u potomstwa odmiennie. W związku z tym — różnym, zależnym od pochodzenia, funkcjonowaniem materiału genetycznego — genomowy imprinting proponuje się po polsku nazywać „genomowym piętnem rodzicielskim”.

W dziedziczeniu cech u badanego przez Mendla grochu nie ma prawdopodobnie większego znaczenia, czy gen decydujący o czerwonej czy białej barwie kwiatów pochodzi od rośliny matczynej lub ojcowskiej. U ssaków oraz u przedstawicieli innych taksonów nie jest jednak obojętne, od którego z rodziców pochodzi komplet chromosomów albo konkretny chromosom (np. heterochromosom X) lub określony allel. Istnieją niepodważalne dowody na to, że chromosomy lub geny mogą zapamiętać swoje rodzicielskie pochodzenie. U niektórych organizmów konsekwencją genomowego piętna rodzicielskiego jest odwracalna utrata aktywności jednej z dwu homologicznych sekwencji DNA. W genetycznym ujęciu efekt imprintingu jest równoznaczny z hemizygotycznością w określonym locum lub w zespole loci. Genomowe piętno rodzicielskie nie podważa praw Mendla, lecz wyjaśnia obserwowane od nich odstępstwa.

Można zatem stwierdzić, że genomowe piętno rodzicielskie w ogólnym znaczeniu jest zróżnicowaną modyfikacją i/lub ekspresją u potomstwa homologicznych alleli czyli regionów chromosomów dziedziczonych od każdego rodzica. Do tej pory poznane przykłady genomowego imprintingu obejmują eliminację ojcowskich chromosomów u owadów *Sciara coprophila* i *Diaspidid coccidis* (BROWN i BENNETT 1957), heterochromatyzację i inaktywację heterochromosomu X u ssaków (LYON 1961, 1991), wyłączenie zależne od nici ojcowskiego chromosomu w krzyżówkach u drożdży, u myszy zróżnicowaną metylację transgenu (SURANI i współaut. 1988, 1990, WILLISON 1991), która może obejmować przyległe sekwencje w miejscu insercji oraz różne formy allelicznego wyłączenia genów ssaków (HOLLIDAY 1990). Są znane także nieliczne przykłady rodzicielskiego piętna genomowego u roślin.

#### WPLYW GENOMOWEGO IMPRINTINGU NA ROZWÓJ EMBRIONALNY SSAKÓW

Organizmy diploidalne zachowują zdolność do redukcji w mejozie swojego genomu do stanu haploidalnego oraz produkcji gamet męskich i żeńskich. Okazało się także, że u diplontów występują stany, w których potrzebują one tylko haploidalnych zestawów swojego genomu. U ssaków takim dobrze poznany stanem jest mechanizm determinacji płci oparty na zjawisku haploidalności. Chromosom Y warunkujący rozwój płci męskiej jest u niej obecny w pojedynczej kopii. U płci żeńskiej ten sam efekt jest osiąganym przez kompensacyjny mechanizm prowadzący we wczesnym stadium embriogenezy do inaktywacji jednego z dwóch chromosomów X i powstania ciała Barra. W wyniku tego procesu u samic ssaków geny sprzężone z chromosomem X występują także w dawce haploidalnej.

Nieprzypadkowa inaktywacja chromosomu X u ssaków była pierwszym, dla tej gromady, przykładem zróżnicowanej ekspresji zależnej od rodzicielskiego pochodzenia materiału genetycznego. Ojcowski chromosom X jest preferencyjnie inaktywowany we wszystkich komórkach samic torbaczy i w błonach płodowych rozwijających się samic gryzoni. Natura bodźca powodującego tę wybiórczą inaktywację nie jest dotychczas wyjaśniona. W komórkach właściwego embrionu ssaków inaktywacja jest losowa (LYON 1961), a znaczenie fakultatywnej heterochromatyzacji chromosomów X u ssaków i tworzenie ciała Barra jest ogólnie znane i nie wymaga szczegółowego omawiania. Proces inaktywacji chromosomu X zależy w części od metylacji DNA w przylegających do genów regionach bogatych w pary C-G (HOLLIDAY 1990). Funkcja tych genów może być reaktywowana przez 5-azacytydynę powodującą demetylację DNA. Inaktywacja chromosomu X jest analogiczna do poniżej omówionego allelicznego wykluczenia, z tym jednak zastrzeżeniem, że w tym przypadku mechanizm kompensacyjny rozciąga się na cały chromosom X. Wpływ genomowego piętna rodzicielskiego na rozwój embrionalny ssaków nie ogranicza się tylko do tworzenia ciałek Barra. U ssaków komórki rozwijającego się embrionu nie korzystają w jednakowej mierze z obu odziedziczonych genomów i wiedzą prawdopodobnie doskonale, kiedy mają skorzystać z informacji zawartej w maczynym lub ojcowskim homologu. Zatem geny autosomalne, pochodzące od matki i ojca ulegają zróżnicowanej ekspresji



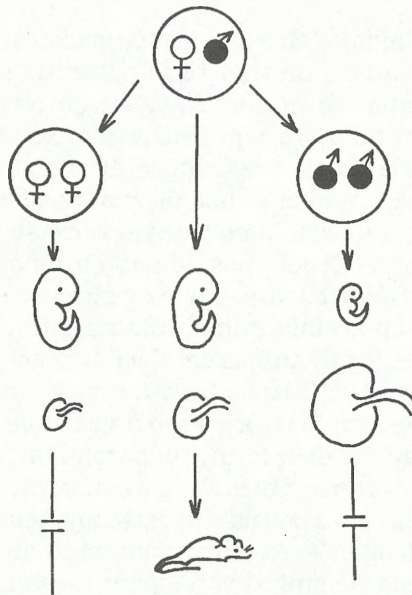
u embrionu. Badano (LAWLER i współaut. 1982) komórki embrionalnego nowotworu — zaśnządu groniastego — rozwijającego się z kosmówki i ustalono, że mają one 46 zupełnie prawidłowych chromosomów, które jednak wszystkie były pochodzenia ojcowskiego. A więc przypadek partenogenezy, która mogła polegać na podwojeniu chromosomów plemnika (całkowite nierozdzielenie się chromosomów) albo na dispermii, przy czym cały matczyzny materiał genetyczny został utracony.

W genetycznie przeciwnym przypadku, kiedy wszystkie chromosomy są pochodzenia matczynego powstaje inny embrionalny nowotwór — potworniak jajnika (MYERS i współaut. 1982). Nowotwory tego rodzaju pochodzą z diploidalnego, partenogenetycznego wzrostu matczynego pochodzenia i dowody cytogenetyczne sugerują, że są one zaburzeniem postmejotycznym.

Potworniak jajnika ma diploidalne, matczyne i partenogenetyczne pochodzenie i powstaje w wyniku nienormalnego rozwoju pierwszego ciała kierunkowego lub z fuzji drugiego ciała kierunkowego z przedjadrzem komórki jajowej. Jeden z dwóch chromosomów X komórek potworniaka jest genetycznie nieaktywny (tworzy ciało Barra), co sugeruje, że mechanizmy genomowego imprintingu i inaktywacji chromosomu X są całkowicie matczyne (CHANDRA i NANJUDIAH 1990).

W celu potwierdzenia tych obserwacji przeprowadzono doświadczenia na komórkach jajowych myszy. Przebieg i wyniki eksperymentów przedstawiono na rycinie 1. Z komórek jajowych każdorazowo usuwano przedjądrza i wprowadzano nowe. Tworzono zatem poniższe kombinacje:

- dwa ojcowskie przedjądrza — androgenetyczne zygoty;
- jedno przedjądrze matczyne, a drugie ojcowskie — prawidłowe zygoty;



Ryc. 1. Konstruowanie androgenetycznych i gynogenetycznych zygot oraz ich dalszy rozwój.

— dwa maczyne przedjądrza — zygoty gynogenetyczne.

Rozwój androgenetycznych zygot nie jest prawidłowy, bowiem dochodzi do nadmiernego rozwoju błon płodowych oraz łożyska, natomiast rozwój embrionu jest niewielki; ciąża kończy się poronieniem. Gynogenetyczne zygoty także nie rozwijają się prawidłowo, i w przeciwieństwie do poprzednich, obserwuje się intensywny rozwój embrionu, a zahamowany jest rozwój tkanek pozazarodkowych i również dochodzi do poronienia (BARTSCH i współaut. 1992).

Wyniki tych doświadczeń są podobne do tego, co w osłabionej formie zaobserwowano u człowieka w przypadku triploidii, a więc w losie zygot z 69 chromosomami. Wykazano, że w przypadku triploidii u człowieka większość zygot ma 2 zestawy chromosomów od ojca; anomalia ta jest zatem wynikiem podwójnego zapłodnienia. U człowieka, jeżeli 2 komplety chromosomów pochodzą od ojca a 1 od matki, tworzy się hipertroficzne łożysko z cystami, często również zaśniad groniasty. Jeżeli 2 komplety chromosomów pochodzą od matki a 1 od ojca, embrion rozwija się początkowo dobrze, ale nie rozwija się łożysko i dochodzi do wczesnego poronienia. Dzieci urodzone z  $3n$  chromosomami mają przeważnie kariotyp mozaikowy, z linią komórek o prawidłowym kariotypie, a fenotypowo stwierdza się duże łożysko z cystami. Dziecko ma bardzo mały tułów z dużą głową i często spotyka się syndaktylię.

Przeprowadzone doświadczenia dowodzą, że u ssaków geny matki odpowiadają za wzrost embrionu, natomiast geny ojcowskie są odpowiedzialne za struktury zewnątrz embrionalne, a więc za łożysko i błony płodowe (BARTSCH i współaut. 1992).

#### CYTOGENETYCZNE DOWODY GENOMOWEGO IMPRINTINGU

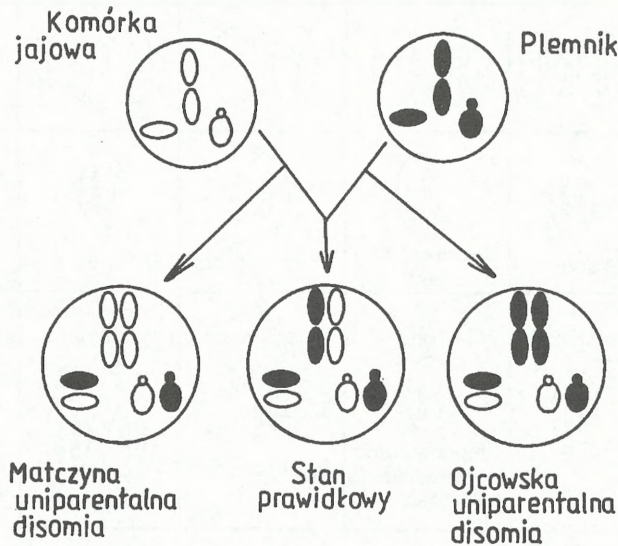
Powstawanie aneuploidalnych zygot jest oczywiste: w przypadku monosomii jedna z gamet nie posiadała danego chromosomu, natomiast w przypadku trisomii jedna z gamet miała dwa homologiczne chromosomy. Przeprowadzono obliczenia, z których wynika, że wprawdzie rzadko, ale jednak z częstością statystycznie istotną zdarza się, że nullisomiczna gameta (bez chromosomu z jednej pary) łączy się z gametą disomiczną (posiadającą dwa chromosomy z jednej pary). Dwa błędy, powstałe po jednym w czasie oogenezy i spermatogenezy, znoszą się wzajemnie. Zygota posiada 46 chromosomów, po dwa chromosomy w każdej parze, jednakże jedna z jej par chromosomów pochodzi tylko od jednego z rodziców, czyli powstała uniparentalna disomia (ENGEL 1980) (ryc. 2).

Występują dwie różne formy uniparentalnej disomii: jeżeli od jednego rodzica pochodzą dwa różne homologi (różniące się allelami), to powstaje uniparentalna heterodisomia, a jeżeli ten sam homolog występuje dwukrotnie, to powstaje uniparentalna izodisomia. Powyższe dwie formy uniparentalnej disomii są konsekwencją różnie umiejscowionych zaburzeń mejozy, a mianowicie: jeżeli nierozdzielenie się chromosomów miało miejsce w I podziale mejotycznym to występuje uniparentalna heterodisomia, jeżeli w drugim — to uniparentalna izodisomia (ryc. 3).

Częstość powstawania disomicznych gamet męskich i żeńskich jest jednakowa, jednak aneuploidalne plemniki rzadko zapładniają komórki jajowe. Jest oczywiste, że jeżeli nie rozdzielone chromosomy przechodziły uprzednio proces



crossing-over, to wówczas izodisomia jest częściową heterodisomią lub heterodisomia jest częściową izodisomią.



Ryc. 2. Schemat powstawania uniparentalnej disomii.

Pseudodisomia nie jest, jakby się mogło wydawać, stanem prawidłowym, bowiem dla właściwego rozwoju zygoty ważne jest, aby jeden z chromosomów homologicznej pary pochodził z plemnika, a drugi z komórki jajowej. Przyczyna nieprawidłowości tkwi w tym, że różnie wydają się przebiegać procesy metylacji DNA w mikro- i w makrogametach ssaków i powiązane są z tym różne następstwa (REIK i współaut. 1987, SURANI i współaut. 1984, SWAIN i współaut. 1987).

Monoparentalne disomie kilku regionów chromosomów mogą powodować różnorodne fenotypy od prenatalnie letalnych do zespołów, które cechują się zaburzeniami rozwoju, żywotności i behavioru. U myszy matczyna disomia proksymalnej części chromosomu 11 powoduje, że potomstwo jest mniejsze niż normalnie, podczas gdy myszy z ojcowską disomią tego samego fragmentu chromosomu 11 są większe.

Chromosomowy imprinting dobrze obrazuje tak zwana mysz Cattanacha. W chromosomie nr 7 myszy znajduje się locus dla genu barwy sierści. Inny allel w tym szczepie myszy powoduje powstanie brązowej sierści. Mysz Cattanacha posiada w obu chromosomach 7 geny albinotyczne, warunkujące białą sierść, ale segment o długości 1/3 chromosomu 7 z genem brązowego zabarwienia sierści znajduje się w wyniku translokacji pośrodku jednego chromosomu X. Drugi chromosom X jest normalny. Zgodnie z hipotezą Lyon chromosomy X ulegają losowej inaktywacji. Wszędzie tam, gdzie aktywny jest chromosom X posiadający segment chromosomu 7, myszy mają brunatną sierść. Tam, gdzie aktywny jest normalny chromosom X, myszy mają białą sierść.

Jeżeli genomowy imprinting może obejmować istotną część genomu ssaków, to należy oczekiwać, że zmienna penetracja i zmienna ekspresja niektórych genów może być związana z rodzicielskim pochodzeniem materiału genetycznego.

	Przebieg prawidłowy	Komplementacja gamet	Od monosomii do izodisomii	Błędy powstające po zapłodnieniu	
Gamety					
Zygota	 Disomia	 Uniparentalna disomia	 Monosomia	 Disomia	 Disomia
Komórka somatyczna	Mitozą 	Mitozą  Uniparentalna heterodisomia lub izodisomia	Duplikacją  Izodisomia	Nondysjunkcja i duplikacją  Izodisomia	Miotyczny crossing-over  Częściowa izodisomia

Ryc. 3. Różne sposoby powstawania uniparentalnej disomii.

go. U myszy mamy taki rzadki dowód: mutacja *Thp* jest letalna. Embriony z delecją w T kompleksie giną, jeżeli odziedziczą mutację od swojej matki, ale przeżywają, gdy tę mutację odziedziczą po ojcu.

Zdaniem WILLISONA (1991), dotychczasowe wyniki doświadczeń analizujących skutki uniparentalnej disomii u myszy oraz wpływu genomowego imprintingu na pojedyncze geny wskazują na to, że liczba genów sprzężonych z autosomami i wykazujących efekt rodzicielskiego piętna genomowego jest niewielka; u myszy prawdopodobnie około dziesięciu genów.

#### FENOTYPOWE NASTĘPSTWA IZODISOMII U CZŁOWIEKA

Występowanie uniparentalnej disomii pociąga za sobą określone konsekwencje genetyczne i wyjaśnia przypadki dziedziczenia, które nie są zgodne z prawami Mendla (ENGEL 1980). Zdarza się czasami, że przy całkowicie prawidłowym kariotypie, X — recesywna choroba (cecha sprzężona z płcią) jest przenoszona z ojca na syna, a nie na córkę — nosicielkę. Zjawisko to można wytłumaczyć tym, że chromosomy X i Y zygoty pochodziły od ojca a komórka jajowa nie miała chromosomu płci, co wyjaśniono na rycinie 4.

Jest oczywiste, że uniparentalna disomia może prowadzić do ujawnienia się cech (chorób) autosomalnie recesywnych u potomstwa rodziców, z których tylko jeden jest heterozygotą. Opisano kilkoro dzieci ze zwłóknieniem torbielowatym (mukowiscydoza) i wykazano, że oba chromosomy 7 (w tym chromosomie



znajduje się locus genu zwłóknienia torbielowatego) tych pacjentów pochodziły od jednego rodzica, częściej od matki (SPENCE i współaut. 1988).

Ogólnie rzecz biorąc, uniparentalna disomia jest jednak rzadkim powodem ujawniania się homozygot recesywnych: zdarza się to nie częściej niż w 1 : 10000 przypadków danej genopatii (WARBURTON 1988).

MIKROGAMETY

	O	X	Y	$\overline{XY}$	$\underline{XX}$	$\underline{YY}$
MAKROGAMETY	O	OX	OY	$O\overline{XY}$	$O\underline{XX}$	$O\underline{YY}$
$\overline{X}$	XO	XX	XY	$\overline{X}\overline{XY}$	$\overline{X}\underline{XX}$	$\overline{X}\underline{YY}$
$\overline{XX}$	$\overline{XX}O$	$\overline{XX}X$	$\overline{XX}Y$	$\overline{XX}\overline{XY}$	$\overline{XX}\underline{XX}$	$\overline{XX}\underline{YY}$
$\underline{XX}$	$\underline{XX}O$	$\underline{XX}X$	$\underline{XX}Y$	$\underline{XX}\overline{XY}$	$\underline{XX}\underline{XX}$	$\underline{XX}\underline{YY}$

$\overline{XX}$  – nondysjunkcja w I podziale mejoetycznym

$\underline{XX}$  – nondysjunkcja w II podziale mejoetycznym

Ryc. 4. Nondysjunkcja chromosomów płci i powstawanie uniparentalnej disomii.

Pasjonująca jest historia odkrycia znaczenia izodisomii w patogenezie zespołu Pradera-Willi'ego. U noworodków z tym zespołem występuje wybitna hipotonia mięśniowa, która stopniowo ustępuje. Początkowo duże trudności w odżywianiu zmieniają się w żarłoczność powodującą otyłość z jednoczesnym niedoborem wzrostu. Niedorozwój psychiczny i fizyczny jest połączony z niedorozwojem wewnętrznych i zewnętrznych narządów płciowych. Często pojawia się cukrzyca insulino-oporna. Przeżycie jest skrócone (PRADER i współaut. 1956, CASSIDY 1992).

Od 1981 roku wiadomo, że u połowy pacjentów z zespołem Pradera-Willi'ego występuje częściowa delecja ramienia długiego chromosomu 15, tuż poniżej centromeru, w obszarze prążka 15q11-q13 (CASSIDY 1992). Wykazano, że ta delecja w każdym przypadku dotyczy chromosomu 15 pochodzącego od ojca (BUTLER i współaut. 1986), a parę lat później ukazały się doniesienia oparte o analizę DNA (NICHOLLS i współaut. 1989, OVERHAUSER i współaut. 1989, ROGAN i współaut. 1991), że u tej części pacjentów, u których nie stwierdzono częściowej delecji ramienia długiego chromosomu 15, nie występuje chromosom 15 pochodzący od ojca. Oba chromosomy 15 tych pacjentów pochodzą od matki (BUTLER 1990, CASSIDY 1992). Przyczyną omawianego zespołu jest zatem u części pacjentów uniparentalna disomia.

Znaczenie uniparentalnej disomii w genetycznym uwarunkowaniu powstawania wad rozwojowych znajduje potwierdzenie w innych zespołach wad wrodzonych, na przykład, w zespole Angelmana (ANGELMAN 1965). Anomalia chromosomowa polega również na częściowej delecji regionu 15q11-q13, ale w tym

przypadku brakuje części matczynego chromosomu 15. Powstaje zupełnie inny fenotyp, w części przeciwstawny do zespołu Pradera-Willi'ego: wzrost jest normalny, masa ciała jest również normalna i nie występuje hipotonia mięśniowa. Dla zespołu Angelmana są bardzo charakterystyczne symetryczne ataktyczne ruchy i zaburzenia poruszania się. Dzieci mają duże usta, zaczerwienione policzki, stale się śmieją i z tego powodu zespół Angelmana jest nazywany „syndromem szczęśliwej kukielki” (KNOLL i współaut. 1989, MAGENIS i współaut. 1990, PEMBREY i współaut. 1989).

Jak już wspomniano, u części pacjentów z zespołem Angelmana stwierdza się delecję fragmentu matczynego chromosomu 15. U tych pacjentów, u których delecja nie występuje, można wykazać uniparentalną disomię ojcowskiego chromosomu 15.

### GENOMOWY IMPRINTING I ALLELICZNE WYKLUCZENIE

U organizmów diploidalnych alleliczne wykluczenie, w wyniku którego tylko jeden z dwóch alleli jest aktywny, doprowadza do funkcjonalnej (nie strukturalnej!) haploidalności. Zjawisko allelicznego wykluczenia jest znane w odniesieniu do genów dla immunoglobulin od 1965 roku. Diploidalne komórki produkujące immunoglobuliny nie używają obydwu autosomalnych alleli; dana komórka produkuje jedynie jedną specyficzną immunoglobulinę. Mechanizm odpowiedzialny za to zjawisko został wówczas nazwany allelicznym wykluczeniem (WELLER 1965). Uważano, że mechanizm tego zjawiska polega na specyficznej regulacji funkcji genu, po powstaniu — w wyniku połączenia się różnych (V-D-J) domen DNA — funkcjonalnego genu dla immunoglobuliny. Obecnie wydaje się, że jest możliwa inna interpretacja tego zjawiska (HOLLIDAY 1990), a mianowicie doświadczenia na transgenicznych myszach wykazały, że jeżeli istnieją już funkcjonalne geny dla immunoglobulin, to ukształtowanie następnych genów jest przez nie blokowane.

Są znane również inne przykłady allelicznego wykluczenia. Nowe mutacje mogą być *in vitro* łatwo indukowane w komórkach linii CHO (wyprowadzonej z jajnika chomika chińskiego) przez standardowe silne mutageny, jak na przykład EMS, a liczne rewersje tych mutacji zachodzą niespodziewanie pod wpływem słabego mutagenu jakim jest 5-azacytydyna, posiadająca właściwości demetylujące. Wyniki te sugerują, że komórki wstępnie posiadały allel aktywny i allel nieaktywny (metylowany). Pierwszy allel był wystawiony na działanie mutagenu i zmutował, natomiast drugi uaktywnił się po demetylacji (HOLLIDAY 1990). Powyższy mechanizm został potwierdzony podczas doświadczeń na innych genach (MONK i GRANT 1990, REIK i współaut. 1987).

Doświadczenia *in vitro* pozwoliły na dość dobre poznanie wpływu procesów metylacji na alleliczne wykluczenie. Do tej pory bardzo niewiele jednak wiadomo o tych mechanizmach zachodzących *in vivo* u ssaków. Genomowy imprinting, powodujący alleliczne wykluczenie, prawdopodobnie może powodować znaczne odchylenie od statystycznie spodziewanych proporcji alleli u potomstwa. Jest przy tym mniej istotne, czy alleliczne wykluczenie jest wynikiem genomowego imprintingu u matki czy u ojca.



## ZMIENNY WIEK WYSTĘPOWANIA DOMINUJĄCYCH GENOPATII

Badania przeprowadzone na transgenicznym myszach dowodzą, że genomowy imprinting działa również na poziomie pojedynczego miejsca genowego. Wykazano, że wzór metylacyjny wokół wstawionego transgenu i jego transkrypcyjna aktywność mogą się w mysim płodzie różnić w zależności od płci rodzica, od którego pochodzi (REIK i współaut. 1987, SAPIENZA i współaut. 1987). Różnice te mogą być tkankowo specyficzne, dlatego też istotne jest badanie wzorów metylacji na poziomie pojedynczego locus, a nie na poziomie genomu oraz w tkance, a nie na poziomie całego organizmu.

U człowieka wśród autosomalno-dominujących genopatii występują takie, w których wiek występowania i/lub ciężkość objawów jest zależna od płci dotkniętego chorobą rodzica. Płasawica Huntingtona wykazuje szeroką zmienność, jeżeli chodzi o wiek występowania pierwszych objawów. Gdy patologiczny gen jest dziedziczony od ojca, objawy chorobowe występują wcześniej (średnio w 33 roku życia), a gdy gen pochodzi od matki objawy występują później (średnio w 42 roku życia) (MYERS i współaut. 1982, 1983). Ta statystycznie istotna różnica może być tłumaczona rodzicielskim piętnem genomowym, które poprzez metylowanie redukuje aktywność normalnego allelu pochodzącego od matki, z pozostawieniem — jako allelu funkcjonującego — allelu płasawicy Huntingtona pochodzącego od ojca (CLARKE 1990).

Powyższa teza nie jest jednak molekularnie udowodniona, tym bardziej, że potrzebny jest dowód, iż istotnie imprinting jest odwracany przy każdym przejściu chromosomu przez linię komórek płciowych. Pośredni dowód na to odwracanie dostarczyły badania wykazujące, że w płasawicy Huntingtona modyfikujący wpływ płci obciążonego rodzica występuje w pojedynczej rodzicielskiej generacji, a nie jest kumulowany przez poszczególne pokolenia (MYERS i współaut. 1985).

Dystrofia miotoniczna jest przykładem choroby, w której występuje zjawisko antycypacji (HOWELER i współaut. 1989) polegającej na tym, że objawy chorobowe u potomstwa są bardziej nasilone i manifestują się wcześniej niż u rodziców. U większości nosicieli mutacji zaniki mięśniowe występują w drugiej, trzeciej lub w czwartej dekadzie życia. Największą osobliwością w tym zespole jest istnienie u potomstwa obciążonych matek ciężkiej miopatii manifestującej się już podczas życia wewnątrzmacicznego. Rodzicielskie piętno genomowe mogłoby być wyjaśnieniem dla takiego wczesnego występowania objawów chorobowych, ale do tej pory brak bezpośrednich dowodów prawdziwości tej tezy.

## RODZINNE WYSTĘPOWANIE NOWOTWORÓW

Interesujące dowody na kliniczne znaczenie genomowego piętna rodzicielskiego dla funkcjonowania pojedynczego genu zostały dostarczone poprzez odkrycia onkologiczne. Dobrym przykładem są tu obserwacje nowotworu kłęбка. Dominujący gen powodujący powstanie tego rzadkiego, łagodnego nowotworu

manifestuje się jedynie u tych osób, które odziedziczyły go po ojcu. Model dziedziczenia jest więc taki, że matczyzny gen jest inaktywowany podczas oogenezy i może być ponownie aktywowany podczas spermatogenezy (MEY i współaut. 1989).

Przed rozwojem recesywnego nowotworu obydwaj allele jego supresorowego genu są tracone; pierwszy przez mutację a drugi często przez somatyczną rekombinację i/lub nondysjunkcję. W nowotworze Wilmsa związanym z delecją 11p, w retinoblastoma i w osteosarcoma, w których utrata następuje w 13q, chromosom matczyzny jest gubiony dużo częściej niż ojcowski.

W rodzinnych przypadkach siatkówczaka muszą ulec mutacji obie homologiczne kopie genu retinoblastoma, których locus znajduje się w chromosomie 13 i dopiero wówczas jest możliwa transformacja nowotworowa. Jeden z allelicznych genów retinoblastoma (*RBI*) ulega często delecji w linii zarodkowej, zwykle w ojcowskim chromosomie 13. Ten ojcowski gen *RBI* jest także często zmutowany w sporadycznych przypadkach osteosarcoma (ale nie w sporadycznych przypadkach retinoblastoma), co powoduje, że przeżywające osoby z rodzinnym retinoblastoma są bardzo podatne na sarcoma. Dla wyjaśnienia preferencyjnego zatrzymywania ojcowskiego chromosomu w osteosarcoma przyjmuje się, iż imprinting powoduje, że chromosomy są różnie podatne na mutacje, a matczyzny allel może być względnie tłumiony przez metylację. Zatem, aby rozwinął się proces nowotworowy allel matczyzny powinien być utracony. W znacznej części recesywnych nowotworów region chromosomowy, który jest uznawany za niosący mutację, pozostaje heterozygotyczny. Zdaje się to dowodzić, że imprinting może czasami uczynić jeden z alleli całkowicie nieaktywny i dlatego nie jest on gubiony.

#### OPÓŹNIENIE UMYSŁOWE ZWIĄZANE Z KRUCHYM CHROMOSOMEM X

Najczęstszą przyczyną genetycznie uwarunkowanego niedorozwoju umysłowego wśród mężczyzn jest zespół MARTINA i BELLA (1943), którego cytogenetyczną cechą jest łamliwość chromosomu X w prążku Xq27.3 (SUTHERLAND i ASHFORTH 1979). Zespół zasługuje na szczególną wagę ze względu na odstępstwa od znanych reguł dziedziczenia. Około 30% nosicielek tego genu wykazuje upośledzenie umysłowe, podczas gdy 20% mężczyzn posiadających ten gen jest umysłowo normalnych. Występują także różnice w spodziewanej częstości tego syndromu u braci obciążonych mężczyzn (SHERMAN i współaut. 1984, 1985). Liczne odmienności w dziedziczeniu tego zespołu spowodowały rozwój badań zmierzających do ich wyjaśnienia (BROWN i współaut. 1987, STEINBACH 1986).

Model dziedziczenia zespołu łamliwego chromosomu X zaproponowany przez Lairda (LAIRD 1987, LAIRD i współaut. 1990) jest oparty na genomowym imprintingu. Ujawnienie lub nieujawnienie się objawów chorobowych sprowadza się do różnic pomiędzy zmutowanym (ale nie poddanym imprintingowi) chromosomem Fra-X i zmutowanym (i poddanym imprintingowi) chromosomem Fra-X. Występowanie cytogenetycznego objawu, jakim jest łamliwość chromosomu X w prążku q27.3 jest, zdaniem Lairda, zależne od imprintingu. Chromosom X z mutacją Fra-X poddany procesowi imprintingu ma być łamliwy, natomiast



chromosom z tą samą mutacją, ale nie poddany procesowi imprintingu ma być niełamliwym.

Mężczyźni z pełnymi objawami zespołu Martina-Bella posiadają zmutowany, aktywny chromosom X nie poddany procesowi imprintingu (LAIRD 1987, LAIRD i współaut. 1990). U mężczyzn, którzy odziedziczyli chromosom Fra-X, a nie są chorzy, występuje miejscowy imprinting mutacji Fra-X. Kobiety-nosicielki przejawiają niektóre cechy tego zespołu w zależności od przypadkowej inaktywacji (lyonizacji) chromosomu X. Mogą one uniknąć objawów chorobowych, jeżeli inaktywacji ulegnie więcej niż 50% komórek z mutacją kruchego chromosomu X. Powyższy model wymaga jednak doświadczalnego potwierdzenia.

#### POSTULOWANE MEJOTYCZNE MECHANIZMY GENOMOWEGO IMPRINTINGU

Dotychczas zebrane dane wskazują, że rodzicielskie piętno genomowe w sposób niezmienny przechodzi przez podział mitotyczny, ale może zostać wymazane podczas podziału mejotycznego. HULTEN i HALL (1990) sugerują istnienie poniższych etapów mechanizmu genomowego imprintingu:

- wymazanie jakiegoś poprzedniego piętna genomowego;
- naniesienie nowej modyfikacji rodzicielskiego genomu;
- tkankowo specyficzna fenotypowa ekspresja rodzicielskiego imprintingu u potomstwa.

Inaktywowany chromosom X samicy ssaka jest całkowicie aktywny u potomstwa. W przypadku zygoty XY pozostaje aktywny we wszystkich komórkach potomnych, a w przypadku zygoty XX może znowu ulec genetycznej inaktywacji. Być może, że ten ogólnie znany proces lyonizacji chromosomu X jest szczególnym przypadkiem, nałożonym na generalne mechanizmy autosomalnego imprintingu. Molekularne mechanizmy piętna genomowego zdają się być powiązane z metylacją CpG. Metylacja związana z rozrodczą linią komórek mogłaby mieć miejsce podczas podziałów mitotycznych poprzedzających mejozę lub podziałów mejotycznych, lub w okresie pomejotycznym. Z badań wynika (MONK 1988), że u myszy zjawisko autosomalnego imprintingu zachodzi w mejozie wraz z metylacją. Metylacja wywiera wpływ na konfigurację chromatyny i raz podczas gametogenezy wprowadzona do chromosomów mogłaby być powielana aż do chwili aktywacji danego genu.

Proces wymazania poprzedniego i naniesienia nowego imprintingu zachodzi w profazie I podziału mejotycznego, w stadiach zygotenu i pachytenu, w których matczyne i ojcowskie homologii są ściśle sparowane (HULTEN i HALL 1990). Zdaniem tych autorów jest również prawdopodobne, że po normalnie przebiegającym procesie pachytenowej koniugacji nie powinno nic pozostać z poprzedniej „chromosomowej pamięci”, zaburzenie procesu koniugacji może prowadzić do zaburzenia zapisu nowego rodzicielskiego piętna genomowego. Krytycznym momentem prawidłowości przebiegu zmiany imprintingu miałyby być stopień kondensacji chromatyny w pachytenie. Im mniej są skondensowane chromosomy mejotyczne, tym łatwiej może przebiegać proces demetylacji lub metylacji i na odwrót. Interesujące jest, że u człowieka występuje zależna od płci różnica w długości chromosomów pachytenowych: żeńskie są w przybliżeniu 50%

dłuższe niż męskie (WALLACE i HULTEN 1985). Ta istotna różnica w długości chromosomów może być morfologicznym wykładnikiem odmienności w genomowym imprintingu pomiędzy płcią męską a żeńską.

#### EWOLUCYJNY ROZWÓJ GENOMOWEGO IMPRINTINGU

CHANDRA i NANJUDIAH (1990) zakładają 3 możliwe drogi ewolucyjnego rozwoju genomowego imprintingu, a mianowicie:

a. Imprinting może być korzystny sam w sobie, gdy wdrukowane i niewdrukowane allele tego samego locus dają inne fenotypy. U pewnych organizmów determinowanie płci może być spowodowane imprintingiem; tym samym matczyzna kontrola płci potomstwa jest możliwą, korzystną konsekwencją imprintingu.

b. Geny odpowiedzialne za imprinting mogą mieć plejotropowe efekty i mogą ulegać selekcji z różnych innych powodów. Nie ma do tej pory dowodów na taką ewolucję genomowego imprintingu.

c. Genomowy imprinting mógłby koewoluować wraz z innymi cechami. Takimi innymi cechami mogłyby być na przykład powodowanie, że androgenetyczne i gynogenetyczne diploidy nie są zdolne do rowoju oraz wzmacnianie znaczenia anizogamii w rozmnażaniu płciowym.

Za genomowy imprinting są odpowiedzialne procesy metylacji DNA, jak to udowodniono metodami biochemicznymi (cięcie enzymami restrykcyjnymi). Jest jednak cały szereg pytań, na które nie ma odpowiedzi, na przykład:

- Czy metylacja poprzedza czy następuje po inaktywacji lub reaktywacji genów sprzężonych z chromosomem X?
- Pewne transgeny są różnie metylowane w plemnikach i w komórkach jajowych. Nie wiadomo jednak, jak dalece jest ten wzór następnie dziedziczny.

Na podstawie szeregu badań wiadomo obecnie, że genom plemników jest bardziej metylowany niż genom jaja, chociaż obydwa są ogólnie niedometylowane w porównaniu z tkankami somatycznymi. Wydaje się ponadto, że po zapłodnieniu następuje proces demetylacji. W zarodku przed implantacją nie ma dla wszystkich sekwencji dużego sygnału procesu metylacji *de novo*. Wykrywalna metylacja *de novo* rozpoczyna się blisko momentu implantacji i wzrasta podczas gastrulacji.

#### GENOMIC IMPRINTING IN MAN

##### S u m m a r y

Problems of genomic imprinting in man are presented. Genomic imprinting in mammals is also analyzed: its influence on sex determination and inheritance of some of X-linked syndromes as well as influence of imprinting on development of embryonic and extraembryonic tissues. Phenotype consequences of uniparental disomy are showed, also in the aspect of genome imprinting. The dependence of phenotypic expression of genetic dominant disorders and familiar cancers on genomic imprinting in man is also discussed.



## LITERATURA

- ANGELMAN H., 1965. „Puppet” children: a report on three cases. *Dev. Med. Child. Neurol.*, 7, 681–683.
- BARTSCH O., HÜBNER H., MORDALSKA A., 1992. Powstawanie i znaczenie uniparentalnej ditsomii. *Post. Biol. Kom.*, 19, 311–322.
- BROWN S. W., BENNETT F. D., 1957. On sex determination in the diaspine scale *Pseudaulacaspis pentagona* (TARG.) (Coccoidea). *Genetics*, 42, 510–523.
- BROWN S. W., NELSON-REES W. A., 1961. Radiation analysis of a lecanoid genetic system. *Genetics*, 46, 983–1007.
- BROWN W. T., SHERMAN S. L., DOBKIN C. S., 1987. Hypothesis regarding the nature of the fragile X mutation. *Hum. Genet.*, 75, 294–295.
- BUTLER M. G., 1990. Prader-Willi Syndrome: Current Understanding of Cause and Diagnosis. *Amer. J. Med. Genet.*, 35, 319–332.
- BUTLER M. G., MEANEY F. J., PALMER C. G., 1986. Clinical and Cytogenetic Survey of 39 Individuals With Prader-Labhart-Willi Syndrome. *Amer. J. Med. Genet.*, 23, 793–809.
- CASSIDY S. B., 1992. Conference Report: First International Scientific Workshop on Prader-Willi Syndrome and other Chromosome 15 Deletion Disorder. *Amer. J. Med. Genet.*, 42, 220–269.
- CHANDRA H. S., NANJUDIAH V., 1990. The evolution of genomic imprinting. *Development*, suppl. 47–53.
- CLARKE A., 1990. Genetic imprinting in clinical genetics. *Development Suppl.* 131–139.
- CROUSE H. V., 1960. The controlling element in sex chromosome behaviour in *Sciara*. *Genetics*, 45, 1425–1443.
- CROUSE H. V., 1966. An inducible change in state on the chromosomes of *Sciara*: Its effects on the genetic components of the X. *Chromosoma*, 18, 230–253.
- CROUSE H. V., BROWN A., MUNFROD B. C., 1971. L-chromosome inheritance and the problem of „imprinting” in *Sciara* (Sciariidae, Diptera). *Chromosoma*, 34, 324–339.
- ENGEL E., 1980. A New Genetic Concept: Uniparental Disomii and Its Potential Effect, Isodisomii. *Am. J. Med. Genet.* 6, 137–143.
- HOLLIDAY R., 1990. Genomic imprinting and allelic exclusion. *Development*, Suppl. 125–129.
- HOWELER C. J., BUSCH H. F. M., GERAEDTS J. P. M., NIERMEIJER M. F., STAAL A., 1989. Anticipation in myotonic dystrophy: Fact or fiction. *Brain*, 112, 779–797.
- HULTEN M. A., HALL J. G., 1990. Proposed meiotic mechanism of genomic imprinting. *Chromosomes Today*, 10, 157–162.
- KITCHIN R. M., 1970. A radiation analysis of a *Comstockiella* chromosome system: destruction of heterochromatic chromosomes during spermatogenesis in *Parlatoria oleae*. *Chromosoma*, 31, 165–197.
- KNOLL J. H. M., NICHOLS R. D., MAGENIS R. E., GRAHAM J. M. JR., LALANDE M., LATT S. A., 1989. Angelman and Prader-Willi syndromes share a common chromosome 15 deletion but different in parental origin of the deletion. *Amer. J. Med. Genet.* 32, 285–290.
- LAIRD C. D., 1987. Proposed mechanism of inheritance and expression of the human fragile-X syndrome of mental retardation. *Genetics*, 117, 587–599.
- LAIRD C. D., SVED J., THORNE J., LAMB M., 1990. The X-inactivation imprinting model of the fragile-X syndrome: annotated references. *Chromosomes Today*, 10, 163–165.
- LAWLER S. D., POVEY S., FISHER R. A., PICKTHAL V. J., 1982. Genetic studies on hydatidiform moles. II. The origin of complete moles. *Ann. Hum. Genet.*, 46, 209–222.
- LYON M. F., 1961. Gene action in the X chromosome of the mouse. *Nature*, 190, 372–373.
- LYON M. F., 1991. The quest for the X-inactivation centre. *Trends Genet.*, 7, 69–70.
- MAGENIS R. E., TOOTH-FEJEL S., ALLEN L. J., BLACK M., BROWN M. G., BUDDEN S., COHEN R., FRIEDMAN J. M., KALOUSEK D., ZONANA J., LACY D., LAFRANCHI S., LAHR M., MAFARLANE J., WILLIAMS C. P. N., 1990. Comparison of the 15q Deletion in Prader-Willi and Angelman Syndromes: Specific Regions, Extent of Deletions, Parental Origin, and Clinical Consequences. *Amer. J. Med. Genet.*, 35, 333–349.
- MARTIN J. P., BELL J., 1943. A pedigree of mental defect showing sex-linkage. *J. Neurol. Psychiatr.*, 6, 154–157.
- MEY VAN DER A. G. L., MAASWINKEL-MOOY P. D., CORNELISSE C. J., SCHMIDT P. H., KAMP VAN DER J. J. P., 1989. Genomic imprinting in hereditary glomus tumours: Evidence for new genetic theory. *Lancet*, ii, 1291–1294.
- MONK M., 1988. Genomic imprinting. *Genes and Development*, 2, 921–925.

- MONK M., GRANT M., 1990. *Preferential X-chromosome inactivation DNA methylation and imprinting*. Development, Suppl. 55-62.
- MYERS R. H., CUPPLES L. A., SCHOENFELD M., D'AGOSTINO R. B., TERRIN N. C., GOLDBAKHER N., WOLF P. A., 1985. *Maternal factors in onset of Huntington Disease*. Am. J. Hum. Genet., 37, 511-521.
- MYERS R. H., GOLDMAN D., BIRD E. D., SAX D. S., MERRILL C. R., SCHOENFELD M., WOLF P. A., 1983. *Maternal transmission in Huntington's disease*. Lancet, i, 208-210.
- MYERS R. H., MADDEN J. J., TEAGUE J. L., FALEK A., 1982. *Factors related to onset age of Huntington disease*. Am. J. Hum. Genet., 34, 481-488.
- NICHOLLS R. D., KNOLL J. H. M., BUTLER M. G., KARAM S., LALANDE M., 1989. *Genetic imprinting suggested by maternal heterodisomy in non-deletion Prader-Willi syndrome*. Nature, 342, 281-285.
- OVERHAUSER J., LEE-CHEN G.-J., McMAHAN J., WASMUTH J., OBERLENDER S., CARLIN M. E., NIEBUHR E., 1989. *Paternal inheritance of the deleted chromosome 5 in most cri du chat syndrome patients*. Amer. J. Hum. Genet., 45, A 330.
- PEMBREY M., FENNEL S. J., BERGHE VAN DER J., FITCHETT M., SUMMERS D., BUTLER L., CLARKE C., GRIFFITHS M., THOMPSON E., SUPER M., BARATISER M., 1989. *The association of Angelman's syndrome with deletions within 15q11-13*. J. Med. Genet., 26, 73-77.
- PRADER A., LABHART A., WILLI H., 1956. *Ein Syndrom von Adipositas, Kleinwuchs, Kryptorchismus und Oligophrenie und myotonieartigen Zustand in Neugeborenenalter*. Schweiz. Med. Wochenschr., 86, 1260-1261.
- REIK W., COLLICK A., NORRIS M. L., BARTON S. C., SURANI M. A., 1987. *Genomic imprinting determines methylation of parental alleles in transgenic mice*. Nature, 328, 248-251.
- ROGAN P. K., MASCARI M. J., LADDA R. L., GOTTLIEB W., NICHOLS R. D., 1991. *The origin of maternal disomy in Prader-Willi Syndrome*. Am. J. Hum. Genet., 49, 287 suppl.
- SAPIENZA C., PETERSON A. C., ROSSANT J., BALLING R., 1987. *Degree of methylation of transgenes is dependent on gamete of origin*. Nature, 328, 251-254.
- SEARLE A. G., BEECHY C. V., 1978. *Complementation studies with mouse translocations*. Cytogenet. Cell Genet., 20, 282-303.
- SHERMAN S. L., JACOBS P. A., MORTON N. E., PROSTER-ISKIENIUS U., HOWARD-PEEBLES P. N., NIELSEN K. B., PARTINGTON M. W., SUTHERLAND G. R., TURNER G., WATSON M., 1985. *Futher segregation analysis of the fragile X syndrome with special reference to transmitting males*. Hum. Genet., 69, 289-299.
- SHERMAN S. L., MORTON N. E., JACOBS P. A., TURNER G., 1984. *The marker (X) syndrome: a cytogenetic and genetic analysis*. Ann. Hum. Genet., 48, 21-37.
- SPENCE J. E., PERCIACCANTE R. G., CREIG G. M., WILLARD H. F., LEDBETTER D. H., HEJTMANCIK J. F., POLLACK M. S., O'BRIEN W. E., BEAUDET A. L., 1988. *Uniparental disomy as a mechanism for human genetic disease*. Am. J. Hum. Genet., 42, 217-226.
- STEINBACH P., 1986. *Mental impairment in Martin-Bell syndrome is probably determined by interaction of several genes: simple explanation of phenotypic differences between unaffected and affected males with the same X chromosomes*. Hum. Genet. 72, 248-252.
- SURANI M. A. H., BARTON S. C., NORRIS M. L., 1984. *Development of reconstituted mouse: heritable differences between parental genomes after activation of the embryonic genome*. Cell, 50, 127-136.
- SURANI M. A. H., KOTHARY R., ALLEN N. D., SINGH P. B., FUNDELE R. F., FERGUSON-SMITH A. C., BARTON S. C., 1990. *Genome imprinting and development in the mouse*. Development, suppl. 89-98.
- SURANI M. A., REIK W., ALLEN N. D., 1988. *Transgenes as molecular probes for genomic imprinting*. Trends Genet., 4, 59-62.
- SUTHERLAND G. R., ASHFORTH P. L. C., 1979. *X-linked mental retardation with macroorchidism and the fragile site at Xq26 or 27*. Hum. Genet., 48, 117-120.
- SWAIN J. L., STEWART T. A., LEDER P., 1987. *Parental legacy determines methylation and expression of an autosomal transgene: a molecular mechanism for parental imprinting*. Cell, 50, 719-727.
- WALLACE B. M. N., HULTEN M. A., 1985. *Meiotic chromosome pairing in the normal human female*. Ann. Hum. Genet., 49, 215-226.
- WARBURTON D., 1988. *Editorial: Uniparental Disomy: A rare consequence of the high rate of aneuploidy in human gametes*. Am. J. Hum. Genet., 42, 1069-1074.
- WEILER E., 1965. *Differential activity of allelic  $\gamma$ -globulin genes in antibody-producing cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 54, 1765-1772.
- WILLISON K., 1991. *Opposite imprinting of the mouse Igf2 and Igf2r genes*. Trends Genet. 7, 107-109.