

Monika Dmitrzak-Węglarz, Joanna Hauser

Zakład Genetyki i Psychiatrii Katedry Psychiatrii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Mechanizmy epigenetyczne w chorobach psychicznych i zaburzeniach funkcji poznawczych

Epigenetic mechanisms in psychiatric disorders and cognitive functions

Abstract

The aim of this paper is presentation of epigenetic mechanisms in non-genomic inheritance of predisposition to psychiatric disorders and cognitive dysfunctions. In the first part of this paper we describe epigenetic term and recent findings on the role and mechanisms of epigenetic codes in mental disorders. In second part of this review we present epigenetic regulation of synaptic plasticity and cognition. Dysfunctions of these processes are thought to be important in psychiatric disorders. *Psychiatria 2009; 6, 2: 51–60*

key words: epigenetic, synaptic plasticity, cognitive functions

Wstęp

Epigenetyka to pojęcie oznaczające badanie dziedziczenia pozagenowego. Termin ten został zaproponowany przez Waddingtona w 1942 roku dla wyjaśnienia mechanizmów oddziaływania pomiędzy genami i ich produktami w powstawaniu fenotypu. Obecnie epigenetyka to nauka zajmująca się dziedzicznymi zmianami ekspresji genów, które nie są związane ze zmianami w sekwencji DNA [1]. Epigenetyczne modyfikacje związane z metylacją DNA oraz potranslacyjnymi modyfikacjami histonów regulują ekspresję genów, różnicowanie i rozwój komórek, a wyrazem tych modyfikacji są indywidualne różnice międzypersonalne dotyczące nawet par bliźniąt monozygotycznych (MZ, *monozygotic*) (ryc. 1). Mimo że „wzór genetyczny” bliźniąt MZ jest niemal identyczny, to mechanizmy epigenetyczne sprawiają, że ekspresja ich genów i poziomy produktów poszczególnych genów są różne. Nawet subtelne zmiany

sprawiają, że tworzy się indywidualny fenotyp, który pogłębia się z wiekiem. Choroby psychiczne zalicza się do chorób złożonych, w których ma się do czynienia z interakcją czynników genetycznych i środowiskowych, a mechanizmy epigenetyczne uważa się za czynnik sprzęgający pomiędzy nimi. Dlatego mechanizmy zjawisk epigenetycznych wydają się mieć ogromne znaczenie w etiologii chorób psychicznych. Istnieją trzy podstawowe mechanizmy regulacji epigenetycznej.

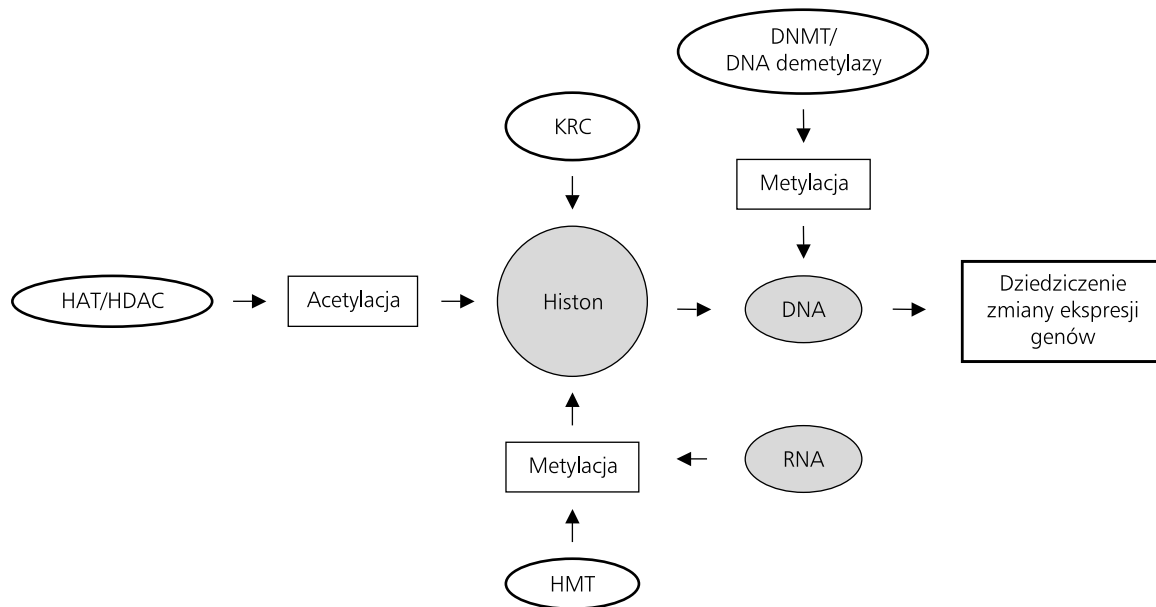
Mechanizmy epigenetyczne a ich związek z chorobami psychicznymi

Epigenetyczne modyfikacje na poziomie DNA

Metylacja DNA jest endogenną modyfikacją polegającą na dodaniu grupy metylowej do węgla 5 cytozyny w reakcji katalizowanej przez metylotransferazę DNA (DNMT, *deoxyribonucleic acid methyltransferase*). Konsekwencją metylacji wysp CpG w obrębie sekwencji 5' genu jest obniżenie lub wyciszenie ekspresji. Metylacja wpływa również na stopień kondensacji chromatyny, co znacznie zmniejsza dostępność DNA dla czynników transkrypcyjnych. Metyla-

Adres do korespondencji:

dr Monika Dmitrzak-Węglarz
Zakład Genetyki w Psychiatrii Katedry Psychiatrii UM
ul. Szpitalna 27/33, 60–572 Poznań
tel.: (0 61) 849 13 11, faks: (0 61) 848 03 92
e-mail: mweglarz@amp.edu.pl



DNMT (*deoxyribonucleic acid methyltransferase*) — metylotransferaza DNA, KRC — kompleks remodelujący chromatynę, HAT (*histone acetyltransferase*) — acetylotransferaza histonowa, HDAC (*histone deacetylase activity*) — deacetylaza histonowa, HMT (*histone methyltransferase*) — metylotransferaza histonowa

Rycina 1. Schemat działania modyfikacji epigenetycznych na dziedziczne zmiany ekspresji genów
Figure 1. Epigenetic inheritance of gene expression

cja DNA decyduje również o prawidłowym procesie piętnowania genomowego (*genetics imprinting*) niezbędnego w utrzymaniu monoallelicznej ekspresji piętnowanego genu. Dzięki temu mechanizmowi zachodzi również inaktywacja chromosomu X, dzięki czemu u płci żeńskiej, tak samo jak i męskiej, aktywna jest tylko jedna kopia genów sprzężonych z płcią. W przypadku chorób psychicznych dotychczasowe wyniki badań sprzężeń oraz asocjacyjnych nie przyniosły jednoznacznych wyników. Coraz częściej postuluje się neurorozwojowe podłoże tych chorób, w co wpisują się również mechanizmy epigenetyczne. We wczesnych fazach rozwoju embrionalnego metylacja DNA podlega dynamicznym zmianom. Po zapłodnieniu DNA genomowe podlega demetylacji, aby następnie po zagnieżdżeniu się blastocysty ulec remetylacji. Proces ten ma podstawowe znaczenie przy reprogramowaniu genów. Badania epigenetyczne mają stosunkowo krótką historię i mimo że niezaprzeczalny wydaje się fakt działania czynników epigenetycznych w predyspozycji do chorób psychicznych, to jest jeszcze niewiele danych literaturowych. Petronis i wsp. badali poziom metylacji 5' regionu regulatorowego genu *DRD2* u par bliźniąt monozygotycznych zgodnych i niezgodnych pod względem zachorowania na schizofrenię. Wyniki wskazały liczne różnice we wzorze metylacji wśród i pomiędzy

parami bliźniąt. Co ciekawe, wzór metylacji chorego z pary bliźniąt niezgodnej pod względem zachorowania był bardziej podobny do chorych z par bliźniąt zgodnych pod względem zachorowania niż do zdrowego brata bliźniaka [2].

W badaniach wykonanych *post mortem* wykazano, że poziom DNMT i metylacji DNA jest większy u pacjentów ze schizofrenią niż u osób zdrowych [3, 4]. W innym badaniu analiza pośmiertna tkanki mózgowej pacjentów ze schizofrenią (SCH) i chorobą afektywną dwubiegunową (ChAD) wykazała różnice w poziomie zewnątrzkomórkowego białka reliny związanego z plastycznością synaptyczną. Promotor genu reliny (*RELN*) posiada kilka miejsc metylacji, a inhibitory metylotransferazy zwiększają ekspresję tego białka. Grayson i wsp. wykazali, że u pacjentów ze schizofrenią na skutek hipermetylacji promotora genu *RELN* poziom ekspresji jest znacząco niższy w porównaniu z osobą z grupy kontrolnej [5]. Natomiast w przypadku genu *COMT*, kodującego związaną z błoną formę enzymu degradującego katecholaminy, potwierdzono hipometylację promotora, dzięki czemu enzym ten jest bardziej aktywny w płacie czołowym zarówno u pacjentów z SCH, jak i ChAD w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej [6]. Pierwsze badania na skalę epigenomu (epigenom — wzór metylacji badanego genomu) przeprowadzili Mill

Tabela 1. Zmiany epigenetyczne obserwowane w chorobach psychicznych**Table 1.** Epigenetic regulation of psychiatric disorders

Modyfikacja epigenetyczna	Tkanka	Choroba	Autor
Ogólna hipometylacja DNA, ↑ stężenia homocysteiny	Krew	Autyzm	[37]
Hipermetylacja DNA promotora genu <i>RELN</i>	Mózg	SCH	[5, 38]
Hipermetylacja promotora genu <i>SOX10</i> (sex determining region Y-box 10)	Mózg	SCH	[39]
Hipometylacja DNA promotora genu <i>COMT</i>	Mózg	SCH i ChAD	[40]
Hipometylacja H3L4 promotora genu <i>GAD1</i>	Mózg	SCH	[18, 41]
Hipermetylacja DNA genu <i>WDR18</i>	Mózg	SCH mężczyźni	[7]
Ogólna hipometylacja DNA	Mrew	SCH mężczyźni	[42]
Zwiększona ekspresja DNMT1 i ↑ stężenia SAM	Mózg	SCH i ChAD	[42–44]
Hipometylacja DNA genu <i>PPIEL</i> (peptidylprolyl isomerase E-like)	Krew	ChAD 2	[45]
Hipometylacja genu <i>RPL39</i>	Mózg	ChAD kobiety	[7]
Hipermetylacja genów rytmu okołodobowego: <i>PER1</i> (period homolog 1) i <i>CRY1</i> (cryptochrome 1)	Krew	Demencja	[46]
Hipermetylacja DNA promotora genu <i>SNCA</i> (synuclein, alpha)	Krew	Alkoholizm	[47]
Hipermetylacja DNA promotora genu <i>HERP</i> (homocysteine-induced endoplasmic reticulum protein)	Krew	Alkoholizm	[48]
Hipermetylacja genu <i>DAT</i>	Krew	Alkoholizm	[49]
Hipermetylacja promotora genu rRNA	Mózg	Samobójstwa	[50]

ChAD — choroba afektywna dwubiegunowa, SCH — schizofrenia, DNMT1 — metylotransferaza 1 DNA, SAM — s-adenozynometionina

i wsp. z wykorzystaniem mikromacierzy dla wysp CpG, trawienia enzymem *HpaII* wrażliwym na metylację i pirosekwencjonowania [7]. Wyniki tych badań potwierdziły zmiany w poziomie metylacji wielu loci w DNA pozyskanych *post mortem* z tkanki kory przedczołowej pacjentów z SCH i ChAD w porównaniu z grupą kontrolną. Istotne zmiany dotyczyły regionów promotorowych, między innymi takich genów, jak: *GLRX5* (glutaredoxin 5), *MEK1* (mitogen activated protein kinase 1), *RPL39* (ribosomal protein L39), *DTNBP1* (dysbindin-1), *HCG9* (HLA complex group 9), *PLA2G4B* (phospholipase), *RAI1* (retinoic acid induced 1) czy genów wykazujących metylację zależną od płci: *RPP21* (component of ribonuclease P gene), *KEL* (Kell blood-group glycoprotein gene). Interesujące jest powiązanie układu glutaminergicznego i procesów regulacji epigenetycznej w SCH i ChAD. Potwierdzono hipometylację loci *WDR18* (*WD repeat domain 18*) znajdującego się ~ 10kb od genu *GRIN2B* (podjednostki receptora NMDA) oraz promotora genu *GRIA2* (podjednostki receptora AMPA). Wskazuje się, że dysregulacja zarówno NMDA, jak i AMPA jest istotnym czynnikiem w etiologii SCH i ChAD. Również kilka innych genów układu glutaminergicznego wykazało epigenetyczne zmiany: *GLS2* (glutaminase enzyme), *SCG2* (secretogranin II). Podobnie w ukła-

dzie GABAergicznym zmiany w poziomie metylacji dotyczyły genów: *MARLIN-1* (janus kinase and microtubule interacting protein 1), *KCNJ6* (potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 6), *HELT* (*HES/HEY-like transcription factor*). W genach związanych z rozwojem neuronów zmiany poziomu metylacji dotyczyły genów: *WNT1* (wingless-type MMTV integration site family, member 1), *NR4A2* (nuclear receptor subfamily 4, group A, member 2), *FOSB* (*FBI murine osteosarcoma viral oncogene homolog B*), *LMX1B i 5* (*LIM homeobox transcription factor*) [7]. Uzyskane wyniki potwierdziły po raz kolejny udział zaburzeń neurotransmisji glutaminergicznej i GABAergicznej w etiologii SCH i ChAD oraz neurorozwojowe podłoże tych zaburzeń. W tabeli 1 przedstawiono zmiany epigenetyczne zaobserwowane w chorobach psychicznych.

Innym podejściem metodologicznym jest badanie poziomu ogólnej metylacji genomowego DNA, w którym jako marker wykorzystuje się homocysteinę. Dawcą grupy metylowej jest s-adenozynometionina (SAM), która po demetylacji przekształca się w s-adenozynohomocysteinę (SAH), która po hydrolizie staje się homocysteiną. Wysokie stężenie homocysteiny stwierdzono u pacjentów z SCH [8], natomiast u kobiet w trzecim trymestrze ciąży stanowiło ono

czynnik ryzyka SCH u potomstwa [9]. Hiperholecysteinemia we wczesnym okresie życia może skutkować zmianami epigenetycznymi w całym materiale genetycznym i/lub w specyficznych genach. Bromberg i wsp. badali stężenie homocysteiny w osoczu krwi obwodowej i jej związek z poziomem ogólnej metylacji DNA izolowanego z limfocytów pacjentów ze schizofrenią w porównaniu z osobami zdrowymi. Zespół potwierdził wcześniejsze doniesienia, że stężenie homocysteiny było wyższe u pacjentów ze schizofrenią, natomiast nie stwierdzono różnic w poziomie metylacji u chorych w porównaniu z grupą kontrolną [10]. Problem w wykazaniu powyższego związku może być związany z działaniem enzymu reduktazy metylenotetrahydrofolianu (MTHFR, *metylenotetrahydro folate reductase*), kluczowego w syntezie *de novo* SAM. Wykazano, że allel 677T w genie kodującym MTHFR jest związany z podwyższonym stężeniem homocysteiny w osoczu krwi, które powoduje atrofię tkanki mózgowej, poprzez działanie neurotoksyczne niszczy DNA i przyczynia się do apoptozy komórek [10].

Ograniczeniem w badaniach metylacji DNA jest fakt, że metody badawcze w nich stosowane są relatywnie nowe i dotyczą zwykle ilościowej informacji dotyczącej całego genomu. Odsetek globalnej metylacji DNA dotyczący wysp CpG w promotorach genów wynosi 70%, stąd większość uzyskanej informacji pochodzi z tych regionów. Do badania wykorzystuje się również enzymy wrażliwe na metylację, ale należy wziąć pod uwagę, że część metylowanych miejsc może zostać nierozpoznanych lub mylnie rozpoznanych na skutek mutacji albo polimorfizmu. Ponadto poziom metylacji jest tkankowo specyficzny. Dlatego badanie metylacji DNA z limfocytów może być jedynie pomocnym modelem badawczym tego, co się dzieje w mózgu. Natomiast wyniki badań wykonanych na tkance mózgowej *post mortem* zależą od sposobu i długości jej przechowywania, co pozostaje w związku z kondensacją chromatyny i zmianami, jakie zachodzą w modyfikacji białek histonowych. Ponadto mechanizmy epigenetyczne to procesy dynamiczne, zmieniające się w czasie pod wpływem czynników środowiska, co pozwala na szybką i skuteczniejszą adaptację. Udowodniono, że na metylację DNA wpływają takie czynniki, jak: środowisko prenatalne (w tym dieta matki w trakcie ciąży, wpływ hormonów) [11], dieta (niedobory witamin z grupy B, choliny, metioniny) [12], czynniki stresowe [13], uzależnienia [14] czy niektóre leki [15]. Główny wzór metylacji DNA jest ustalany w trakcie życia płodowego, niemniej w modelach zwierzęcych zaobserwo-

wano postępowanie tego procesu. W kontekście rozwoju mózgu wykazano, że zaburzona opieka rodzicielska, szczególnie we wczesnym okresie życia, wpływała na zmiany w metylacji i ekspresji genów receptorów glukokortykosteroidowych w hipokampie, co przekłada się na trwałe zmiany w odpowiedzi na stres ich potomstwa. Wyżej wymienione ograniczenia sprawiają, że w wielu przypadkach wyniki uzyskane w różnych ośrodkach są sprzeczne, a w innych brak badań replikacyjnych sprawia, że nie można wyciągać ostatecznych wniosków.

Epigenetyczne modyfikacje białek histonowych

Potranslacyjne modyfikacje histonów regulują ekspresję genów na trzy sposoby. Pierwszy to regulacja struktury chromatyny, dzięki czemu *loci* genowe są mniej lub bardziej dostępne dla kompleksu transkrypcyjnego. Drugi sposób to rola sygnałowa dająca odpowiedź na liczne kaskady sygnałów biochemicznych poprzez przyciąganie lub odpychanie maszynierii transkrypcyjnej i remodelowanie chromatyny. Trzecia droga to modyfikacje białek histonowych przyczyniające się do epigenetycznych zmian w ekspresji genów wpływających na funkcje neuronów i zachowanie w odpowiedzi na czynniki środowiska, jak na przykład zdobywanie doświadczenia, proces uczenia się i zapamiętywania. Modyfikacje histonów obejmują acetylację, metylację, fosforylację, ubikwitynację i koniugację z cząsteczkami SUMO (*small ubiquitin-like modifier*), a głównym ich efektem są zmiany struktury i konformacji chromatyny, która również wpływa na metylację dwunukleotydów CpG (tab. 2).

Tabela 2. Efekty modyfikacji histonów
Table 2. Effects of histone modifications

Modyfikacja	Ogólny efekt modyfikacji
Acetylacja	Aktywacja transkrypcji Wyciszenie telomerów Naprawa DNA
Metylacja	Inaktywacja transkrypcji
Fosforylacja	Naprawa DNA Mitoza
Ubikwitynacja	Aktywacja transkrypcji
Koniugacja z cząsteczkami SUMO	Wyciszenie transkrypcji

SUMO — *small ubiquitin-like modifier*

Acetylacja jest prowadzona przez acetylotransferazę histonową (HAT, *histone acetyltransferase*). Acetylacja histonów rdzeniowych rozluźnia strukturę chromatyny. Ponadto HAT wchodzi w interakcję z wieloma czynnikami transkrypcyjnymi, dzięki czemu bierze również udział w integracji wielu kaskad sygnałowych. Proces odwrotny jest prowadzony przez enzym deacetylazę histonową (HDAC, *histone deacetylase activity*), który usuwa grupy acetylowe z lizyny/argininy. Jego działanie prowadzi do kondensacji chromatyny i wyciszenia ekspresji genu. Istnieje kilka klas tego enzymu ulegających ekspresji tkankowo specyficznej, dlatego uważa się, że inhibitory tego enzymu mogą być potencjalnymi lekami w chorobach neurodegeneracyjnych i psychicznych. Jedną z chorób psychicznych, dla których istnieją silne dowody, że acetylacja histonów jest ważnym celem terapeutycznym, jest depresja. Tsankova i wsp. wykazali, że trójpierścieniowy lek antydepresyjny — imipramina — zwiększa acetylację histonów w obrębie promotora genu kodującego *BDNF*, jak również obniża ekspresję HDAC w hipokampie. Przewlekłe stosowanie leku odwraca również hipermetylację histonu H3 w obrębie *loci BDNF* powstałą na skutek czynników stresogennych [16]. Wyniki tych badań potwierdzają, że inhibitory HDAC mogą funkcjonować jako antydepresanty lub efektywnie wzmacniać działanie przyjmowanych leków przeciwdepresyjnych. Wyniki ostatnich badań dotyczących uzależnień udowodniły, że acetylacja histonów jest główną modyfikacją epigenetyczną wpływającą na ekspresję genów na skutek długotrwałego przyjmowania alkoholu czy kokainy. Ostre przyjmowanie kokainy podwyższa poziom acetylacji H4 w rejonie promotorowym genów *c-Fos* i *FosB*; zwiększonemu poziomowi acetylacji podlega również H3 w promotorze *FosB*, jak również *BDNF* i *Cdk5* [17]. Efekt ten jest poprzedzony przez działanie HAT CBP, które wiąże się do promotora genu *FosB* na skutek przyjmowania kokainy.

Metylacja histonów jest prowadzona przez metylotransferazy histonów (HMT), a proces odwrotny — przez demetylazy. Metylacja histonów, podobnie jak acetylacja, zwiększa dostępność transkrypcyjną danego regionu. W jednym z badań dotyczącym genu *GAD1* (*glutaminergic acids decarboxylase 1*), kodującego kluczowy enzym w syntezie kwasu gamma aminomasłowego (GABA), zaobserwowano podwyższone stężenie mRNA w korze przedczołowej pacjentów ze schizofrenią. W badaniu wykazano, że podwyższona ekspresja tego genu jest związana ze zmianą struktury chromatyny na skutek metylacji lizyny 4 histonu 3 (H3K4) [18].

Fosforylacja histonów jest generalnie związana z aktywacją transkrypcji. Jest zwykle skorelowana z cyklem komórkowym, a największy stopień tej modyfikacji jest obserwowany podczas mitozy, gdy na jedną cząsteczkę histonu przypada 6–25 grup fosforanowych. Dotychczas najlepiej scharakteryzowane miejsce fosforyzacji to seryna 10 histonu 3 (H3S10). Ponieważ fosforylacja H3S10 angażuje HAT, często sąsiadująca H3K9 ulega acetylacji, stąd współwystępowanie fosfoacetylacji. W modelu zwierzęcym podawanie kokainy indukuje zwiększenie poziomu ogólnej fosfoacetylacji H3 w ciele prążkowanym mózgu szczura. Proces ten jest również obserwowany w promotorze genu *c-fos* podczas aktywacji transkrypcji. Indukowana przez kokainę fosforylacja H3S10 wiąże się z obniżeniem stężenia MSK1 (*mitogen- and stress-activated protein kinase*) [19]. Obecnie uważa się, że fosforylacja histonów, podobnie jak acetylacja, powoduje rozluźnienie struktury chromatyny, a szybka fosforyzacja H3 wiąże się z aktywacją transkrypcyjną genów wczesnej odpowiedzi *c-fos* i *c-jun*. Ustalono, że ufosforylowana forma histonu wiąże się z uaktywnionymi formami tych genów.

Jest znacznie mniej badań dotyczących modyfikacji białek histonowych niż metylacji DNA. Wiąże się to z większą liczbą możliwości modyfikacji potranslacyjnych i przyłączeniem różnych dodatkowych cząsteczek lub grup funkcyjnych. Należy zauważyć, że wpływ modyfikacji histonów na stopień kondensacji chromatyny i ekspresję genów nie zależy tylko od rodzaju modyfikacji (metylacja, acetylacja, fosforylacja), ale także od miejsca wystąpienia takiej modyfikacji na białku histonowym. Metylacja lizyny 9 histonu H3 (H3K9me) może powodować zupełnie inny efekt niż metylacja lizyny 4. Acetylacja lizyny 9 histonu 3 (H3K9ac) oraz metylacja lizyny 4 histonu 3 (H3K4me) występuje w niemetylowanych promotorach genów aktywnych transkrypcyjnych, natomiast odwrotny efekt występuje w przypadku metylacji lizyny 9 histonu 3 (H3K9me) i braku metylacji H3K4, które są związane z metylovanym DNA i powodują inaktywację genu.

Jedna cząsteczka histonu może być modyfikowana w wielu miejscach, co dodatkowo utrudnia próby. Badacze wysunęli hipotezę tak zwanego kodu histonowego, wskazującą na istnienie reguł dotyczących roli konkretnych modyfikacji histonów w regulacji struktury chromatyny i ekspresji genów. Jednak do tej pory nie znaleziono uniwersalnego zespołu zasad, w związku z czym wydaje się, że kod histonowy będzie różny dla różnych organizmów.

Small RNA to trzeci epigenetyczny mechanizm regulacji ekspresji genów opisany po raz pierwszy dopiero w 1998 roku. Small RNA (scRNA) to fragmenty dwuniciowego niekodującego białka dsRNA o długości 21–28 nukleotydów, który zawiera w sobie mikro RNA (miRNA) zwanego również interferencyjnym RNA (siRNA). Small RNA jest odpowiedzialny zarówno za utrzymywanie struktury chromatyny, jak wyciszanie działania genów na poziomie mRNA. W skrócie siRNA ulega hydrolizie do formy jednoniciowej, po czym hybridyzuje z komplementarnym mRNA doprowadzając do hydrolizy przyłączonej cząsteczki mRNA, w związku z czym nie powstaje produkt białkowy genu [20]. Obecnie dużym zainteresowaniem badaczy podłoża genetycznego chorób psychicznych cieszy się gen *DISC*. Białkowy produkt tego genu ma szerokie spektrum działania, wpływając na liczne procesy zachodzące w OUN, takie jak: neurogeneza, funkcjonowanie synaps i ich plastyczność czy integracja neuronalna. Udowodniono, że wewnątrz *locus DISC* na nici antysensownej powstaje transkrypt dla ncRNA (*non coding RNA*), który częściowo pokrywa się z transkrypcją dla *DISC1*, dzięki czemu w skomplikowany sposób, z wykorzystaniem mechanizmów epigenetycznych, reguluje ekspresję tego genu [21]. Do tej pory najwięcej prac nad siRNA dotyczyło roślin i bezkręgowców jako forma obrony przed inwazją wirusową. U ssaków istnieje inny system obrony związany z układem immunologicznym. Niemniej prace prowadzone *in vitro* dają nadzieję na stworzenie nowej grupy wysoce specyficznych leków opartych na syntetycznych siRNA, które już dziś służą do badania funkcji genów jako prostsza i tańsza alternatywa dla metody *knock-out*.

Regulacja epigenetyczna w plastyczności synaptycznej

Za uczenie się i zapamiętywanie odpowiadają procesy podobne do tych, które kształtują mózg podczas rozwoju. Do najważniejszych należy plastyczność synaptyczna, czyli sposób, w jaki neurony zmieniają swoją zdolność do porozumiewania się. Uważa się, że zarówno za pamięć krótkotrwałą, jak i długotrwałą, a więc za przekazywanie i wzmacnianie sygnału elektrycznego z synapsy na synapsę, odpowiadają geny, przy czym utrwalenie informacji w pamięci długotrwałej wymaga złożonego systemu regulującego przekazywanie sygnału prowadzącego do zmian na poziomie transkrypcji i translacji. Długo stanowił zagadkę sposób, w jaki gen „otrzymywał informację”, kiedy sygnał musiał być wzmacniony na stałe, tak aby powstał trwały ślad pamięciowy. Interesujący wydaje się

fakt, że możliwe jest przetrwanie śladów pamięciowych z okresu dzieciństwa w układzie nerwowym, gdy praktycznie co dwa miesiące ulega on odnowieniu. Odpowiedzią jest epigenetyka. Raz zróżnicowana komórka nie zapomina swojego fenotypu. Naukowcy wysunęli hipotezę, że regulacja epigenomu zachodzi właśnie podczas indukcji plastyczności synaptycznej. Indukcja plastyczności to kaskada, w której na skutek pobudzenia receptorów NMDA oraz AMPA (uważanych za molekuly pamięci) i zaangażowania kaskady sygnału MEK-ERK MAPK (*MAP kinase-extracellular signal regulated protein kinase*, *MAP kinase*) dochodzi do wytworzenia długotrwałej potencjalizacji (LTP, *long-term potentiation*). Pobudzona synapsa wytwarza cząsteczkę sygnałową, która powoduje aktywowanie czynnika transkrypcyjnego CREB. To dzięki niemu wzmożona zostaje transkrypcja takich genów, jak *c-fos*, *BDNF*, *TPH* i wielu innych. W ten sposób aktywowanie odpowiedniego genu w jądrze komórkowym daje wzmocnienie sygnału i utrwalenie śladu pamięciowego. Bezpośrednia aktywacja kanału NMDA w hipokampie wpływa na acetylację histonu H3 zależną od ERK. Wzmożona aktywność neurotransmisji dopaminergicznej, cholinergicznej czy glutaminergicznej prowadzi również do zwiększenia poziomu fosforylacji histonu H3. Duży zestaw receptorów komórkowych bierze udział w skomplikowanym procesie przekazywania sygnału w komórkach nerwowych hipokampa, uczestnicząc w modulacji działania czynników transkrypcyjnych i struktury chromatyny [22, 23]. W badaniach na modelach zwierzęcych dowiedziono, że jednym z metylowanych genów był odcinek DNA zwany *PP1*, którego aktywność połączono już wcześniej z tłumieniem procesu uczenia się i pamięci. Naukowcy odkryli również niższy poziom ekspresji *PP1*, co jest zgodne z założeniem, że metylacja wycisza geny. Jednocześnie badacze zaobserwowali zmniejszoną metylację i zwiększoną ekspresję genu reliny (*RELN*), pobudzającego powstawanie pamięci [24, 25]. Metylacja zmienia się, w przypadku obu tych genów, promując powstawanie trwałych szlaków pamięciowych. Autorzy wskazują, że połączenie ich wyników badań z dowodami potwierdzającymi modyfikację histonów daje silne poparcie dla teorii mówiącej o istotnej roli procesów epigenetycznych w procesach uczenia się i zapamiętywania. W tabeli 3 przedstawiono dotychczasowe wyniki badań na modelach zwierzęcych dowodzące regulacji epigenetycznej w plastyczności synaptycznej i tworzeniu pamięci.

Tabela 3. Regulacja epigenetyczna w plastyczności synaptycznej i pamięci**Table 3.** Epigenetic mechanisms in synaptic plastic and memory

Modyfikacja epigenetyczna	Związek	Effekt	Obszar mózgu	Organizm modelowy	Autor
Metylacja DNA	Plastyczność synaptyczna	Niedobór MeCP1 redukuje LTP	Hipokamp	Mysz	[51]
		Inhibicja aktywności DNMT1 blokuje LTP	Hipokamp	Mysz	[22]
	Pamięć przestrzenna	Niedobór MeCP1 upośledza pamięć przestrzenna	Hipokamp	Mysz	[51]
		Metylacja DNA <i>loci PP1</i> (gen supresorowy pamięci) jest zwiększona podczas obniżonej metylacji genu reliny (genu promującego pamięć) w trakcie uczenia się	Hipokamp	Szczur	[25]
Acetylacja histonów	Plastyczność synaptyczna	Aktywacji receptora NMDA towarzyszy hiperacetylacja H3K14	Hipokamp	Szczur	[52]
		Niedoborowi MII (białko represorowe z grupy trixG) towarzyszy hipoacetylacja H4	Hipokamp	Mysz	[53]
	Pamięć przestrzenna	Niedobór CBP skutkuje hipoacetylacją H2B i upośledzeniem późnej fazy LTP	Hipokamp	Mysz	[27]
		Tworzenie pamięci przestrzennej wpływa na zwiększenie acetylacji H3K14	Hipokamp	Szczur	[52]
Fosforylacja histonów	Pamięć emocjonalna	Hiperacetylacja H3K14 w promotorze genu <i>BDNF</i>	Kora przedczołowa	Mysz	[54]
	Pamięć emocjonalna	Fosforylacja H3S10 regulowana przez ERK/MAPK podczas indukowanego strachu	Hipokamp	Szczur	[55]

BDNF (*brain derived neurotrophic factor*) — czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego; CBP (*cyclic AMP response element binding protein*) 0151 białko wiążące się z fragmentem reagującym na cykliczny AMP; DNMT1 (*DNA cytosine-5-methyltransferase 1*) — metylaza DNA modyfikująca cytozynę do 5-metylocytozyny; ERK (*extracellular-signal regulated kinase*) — kinaza regulowana przez sygnał pozakomórkowy; MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) — kinaza aktywowana przez czynniki mitogenne; MeCP1 (*methyl-CpG-binding protein*) — białko wiążące się z metylowanymi wyspami CpG; LTP (*long term potentiation*) — długotrwałe pobudzenie; NMDA (*N-metylo-D-asparaginian*) — kwas N-metylo-D-asparaginowy; PP1 (*protein phosphatase 1*) — fosfataza białkowa 1

Zaburzenia funkcji poznawczych

Procesy poznawcze są bardzo skomplikowane i angażują liczne funkcje mózgu, z których większość nie jest do końca poznana. Pewien wgląd w procesy poznawcze i mechanizmy epigenetyczne nimi rządzące przyniosły wyniki badań klinicznych pacjentów z zaburzeniami funkcji poznawczych. Wydaje się, że w przyszłości kod epigenetyczny może stanowić obiecujący cel terapeutyczny. W przypadku chorób neurologicznych, takich jak choroba Alzheimera, czy genetycznych związanych z różnym stopniem upośledzenia umysłowego udało się nie tylko udowodnić wpływ modyfikacji epigenetycznych, ale również

powiązać je z pierwotnym i dobrze poznany podłożem genetyczno-molekularnym. W przypadku zespołu Rubinsteina-Taybiego (RTS, *Rubinstein-Taybi syndrome*) — mikrodelecja 16p — ma się najczęściej do czynienia z autosomalną recesywną mutacją w genie *CBP* kodującym białko CREBBP (*CREB-binding protein*) lub aberracjami dotyczącymi krótkiego ramienia chromosomu 16. Liczne ze znanych mutacji punktowych wpływają na strukturę białka w taki sposób, że utracona zostaje domena i aktywność acetylotransferazy histonowej (HAT). W wielu przypadkach skutkuje to zaburzeniami transkrypcji genów, które wymagają CBP jako koaktywatora [26]. Modele

zwierzęce również potwierdzają wpływ CBP na deficyty w zakresie pamięci kontekstualnej i przestrzennej oraz upośledzenie funkcji poznawczej obserwowane u pacjentów z RTS [27]. Z kolei w zespole Retta (RS, *Rett syndrome*) mutacje genu *MeCP2* w rejonie Xq28 występują u ponad 96% chorych. Mutacje te skutkują utratą funkcji białka i są stwierdzane również u pacjentów z rozpoznaniem zespołu Angelmana, autyzmu, zaburzeń uczenia się i upośledzenia umysłowego. Białko 2 wiążące metylo-CpG (MeCP2) ma zdolność łączenia się z metylovanym DNA i odgrywa kluczową rolę w powstawaniu kompleksów wygaszających (hamujących) proces transkrypcji. Białko MeCP2 bierze udział w inaktywacji metylowanej chromatyny, rekrutując kompleks deacetylazy histonowej. Jednak w przeciwieństwie do większości znanych dotychczas białkowych represorów transkrypcji, region wiążący białko MeCP2 występuje w wielu miejscach DNA, a do powstania wiązania konieczna jest obecność tylko jednej metylowanej pary zasad CpG. Wyniki badań na modelach zwierzęcych potwierdzają, że niedobór białka MeCP2 w mózgu wywołuje objawy przypominające RS, w tym zmniejszenie wielkości mózgu i upośledzenie zdolności lokomocyjnych. Dowiedziono również, że białko MeCP2 wpływa na funkcje poznawcze. Jego niedobór zwiększa poziom lęku, natomiast zwiększona ekspresją skutkuje pobudzeniem plastyczności synaptycznej w hipokampie i poprawą pamięci przestrzennej. Wykazano też związek fosorylacji MeCP2 ze zróżnicowaną ekspresją genu *BDNF* [28]. Wykazano też zależność pomiędzy niedoborem MeCP2 a zwiększonym poziomem ogólnej acetylacji H3, co wskazuje, że MeCP2 poprzez enzymy modyfikujące histony wywiera wpływ na zwiększenie upakowania chromatyny [29]. Inną chorobą związaną z obniżonymi zdolnościami poznawczymi jest zespół łamliwego chromosomu X (FXS, *fragile X syndrome*). Pacjenci charakteryzują się upośledzeniem umysłowym i obniżoną zdolnością do nauki w różnym stopniu. Przyczyną jest niedobór białka FMRP (*familial mental retardation protein*), niezbędnego do prawidłowego rozwoju synaps. Jego brak powoduje opóźnienie dojrzewania neuronów, wpływając na zaburzenia procesów uczenia się i zapamiętywania. W diagnostyce tego schorzenia wykorzystywana jest mutacja dynamiczna genu *FMR1* białka FMRP. Mutacja polega na powieleniu 3 nukleotydowych segmentów genu o sekwencji CGG na 5' końcu genu; 65–200 powtórzeń to stan permutacji najczęściej niedający objawów choroby, ale z tendencją do ekspansji — zwiększania liczby powtórzeń w kolejnych pokoleniach. Ekspansja ta wpływa na zwiększenie metylacji DNA w obrębie genu i wyciszenie jego ekspresji. Wyciszenie genu *FMR1* przez mety-

lację DNA jest wzmocnione przez epigenetyczne modyfikacje histonów [30]. Traktowanie linii komórek z niedoborem FMRP inhibitorem DNMT obniżyło metylację H3K9, przy jednoczesnym wzroście metylacji H3K9, acetylacji H3K9 i H3K14 oraz ogólnego poziomu acetylacji H4 [31]. W przypadku choroby Alzheimera (AD, *Alzheimer disease*) badania genetyczne wskazały dotychczas na 4 geny zaangażowane w etiologię AD: *βAPP*, *PS1*, *PS2*, *APOE*. Regulację epigenetyczną zaobserwowano w przypadku genu *PS1* kodującego preseilinę 1 (PS1). Białko to stanowi katalityczną podjednostkę kompleksu sekretazy podtrzymującego aktywność HAT dla CBP, co sugeruje, że w AD ma się do czynienia z ogólnym podwyższeniem poziomu acetylacji. Potwierdzają to obserwacje, że w przypadku apatozy komórkowej indukowanej przez kaskadę sygnału APP dochodzi do obniżenia poziomu acetylacji H3 i poziomu CBP [32]. U myszy z *knock-out* genu *PS1* obserwowano zarówno deficyty pamięci, procesy neurodegeneracyjne, jak i obniżoną ekspresję CBP oraz genów CREB/CEB-zależnych, takich jak *c-fos* i *BDNF* [33]. Również poziom metylacji DNA ma znaczenie w etiologii AD. Zaobserwowano bowiem niski poziom metylacji promotora *PS1* powodujący zwiększoną ekspresję i aktywność enzymatyczną PS1, która podnosi poziom produkcji β -amyloidu [34]. Choroba Huntingtona (HD, *Huntington's disease*) to postępująca choroba neurologiczna charakteryzująca się niekontrolowanymi ruchami oraz zaburzeniami emocjonalnymi i deficytami poznawczymi. Za jej wystąpienie odpowiedzialne są mutacje w genie kodującym białko huntingtynę (*htt*). Jest to mutacja dynamiczna dotycząca nadmiernej ekspansji powtórzeń trinukleotydowych CAG tworzących ciągi poliglutaminowe. Powtórzenia te wiążą się z domeną CBP, prowadząc do inhibicji aktywności HAT, co wpływa na zaburzenia transkrypcji [35]. W modelu zwierzęcym HD podawanie inhibitorów HADAC znacząco łagodziło deficyty motoryczne i atrofię neuronów, którym towarzyszył wzrost acetylacji histonów i obniżenie metylacji histonów [36].

Podsumowanie

Podłoże genetyczne chorób psychicznych nie wyjaśnia ich epizodycznego charakteru i spontanicznej remisji. Wydaje się, że dobrym wyjaśnieniem tego stanu rzeczy jest wpływ okresowo występujących specyficznych czynników środowiska na zmiany ekspresji genów predysponujących. Proces ten zachodzi za pośrednictwem odwracalnie działających mechanizmów epigenetycznych. Jest to oczywiście hipoteza, która wymaga naukowego zweryfikowania, co nie wydaje się łatwe ze względu na niezliczoną liczbę kombina-

cji i nakładających się możliwości modyfikacji epigenetycznych. Intensywne badania genetyczne nie pozwoliły jak dotychczas na odkrycie genów o silnym wpływie na predyspozycję do zachorowania na choroby psychiczne, co tym bardziej potwierdza udział czynników środowiska. Dla zrozumienia podłoża chorób niezbędne jest wykorzystanie wielu strategii badawczych na wielu poziomach, na przykład wyniki badań asocjacyjnych poszczególnych polimorfizmów SNP powinny być łączone ze zmianami na poziomie epigenetycznym. Polimorficzne zmiany w sekwencji DNA mogą wpływać na enzymy i kompleksy remodelujące chromatynę, doprowadzając do zmian w ekspresji danego genu. Należy też pamiętać, że zmiany

epigenetyczne są bardziej różnorodne i intensywne niż te na poziomie DNA. Wszelkie zmiany w otaczającym nas środowisku czy metaboliczne wpływają na epigenom, który jest ściśle związany z replikacją DNA i syntezą RNA tkankowo specyficzną. Fakt ten stwarza możliwości dla nowej gałęzi — farmakoepigentyki, tym bardziej, że w świetle dotychczasowych badań, leki stosowane w psychiatrii w znacznej mierze wpływają na modyfikacje epigenetyczne, zmieniając w ten sposób ekspresję genów docelowych. Oznacza to, że epigenetyka nie tylko uzupełni wiedzę o etiopatologii chorób psychicznych, ale i zrewolucjonizuje leczenie zarówno chorób neuropsychiatrycznych, jak i innych chorób złożonych.

Streszczenie

Celem artykułu jest przedstawienie mechanizmów epigenetycznych wpływających na pozagenowe dziedziczenie predyspozycji do chorób psychicznych oraz zaburzeń funkcji poznawczych. W pierwszej części artykułu przedstawiono pojęcie epigenetyki i mechanizmy z nią związane wraz z dowodami wskazującymi na działanie konkretnych mechanizmów w zaburzeniach psychicznych. Druga część jest poświęcona plastyczności synaptycznej i zaburzeniom funkcji poznawczych, w których od dawna złożone mechanizmy epigenetyczne są postulowane i badane, a które mają związek z zaburzeniami procesów poznawczych występującymi w chorobach psychicznych. *Psychiatria 2009; 6, 2: 51–60*

słowa kluczowe: epigenetyka, plastyczność synaptyczna, funkcje poznawcze

PIŚMIENICTWO

1. Waddington C. Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature* 1942; 150: 563–565.
2. Petronis A., Gottesman I.I., Kan P. i wsp. Monozygotic twins exhibit numerous epigenetic differences: clues to twin discordance? *Schizophr. Bull.* 2003; 29: 169–178.
3. Veldic M., Caruncho H.J., Liu W.S. i wsp. DNA-methyltransferase 1 mRNA is selectively overexpressed in telencephalic GABAergic interneurons of schizophrenia brains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004; 101: 348–353.
4. Veldic M., Kadriu B., Maloku E. i wsp. Epigenetic mechanisms expressed in basal ganglia GABAergic neurons differentiate schizophrenia from bipolar disorder. *Schizophr. Res.* 2007; 91: 51–61.
5. Grayson D.R., Jia X., Chen Y. i wsp. Reelin promoter hypermethylation in schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005; 102: 9341–9346.
6. Abdolmaleky H.M., Smith C.L., Zhou J.R., Thiagalingam S. Epigenetic alterations of the dopaminergic system in major psychiatric disorders. *Methods Mol. Biol.* 2008; 448: 187–212.
7. Mill J., Tang T., Kaminsky Z. i wsp. Epigenomic profiling reveals DNA-methylation changes associated with major psychosis. *Am. J. Hum. Genet.* 2008; 82: 696–711.
8. Muntjewerff J.W., Kahn R.S., Blom H.J., den Heijer M. Homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase and risk of schizophrenia: a meta-analysis. *Mol. Psychiatry*. 2006; 11: 143–149.
9. Brown A.S., Bottiglieri T., Schaefer C.A. i wsp. Elevated prenatal homocysteine levels as a risk factor for schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 2007; 64: 31–39.
10. Bromberg A., Levine J., Nemetz B., Belmaker R.H., Agam G. No association between global leukocyte DNA methylation and homocysteine levels in schizophrenia patients. *Schizophr. Res.* 2008; 101: 50–57.
11. Wu G., Bazer F.W., Cudd T.A., Meininger C.J., Spencer T.E. Maternal nutrition and fetal development. *J. Nutr.* 2004; 134: 2169–2172.
12. Zeisel S.H. Epigenetic mechanisms for nutrition determinants of later health outcomes. *Am. J. Clin. Nutr.* 2009; 89 (5): 1488S–1493S.
13. Szyf M., McGowan P., Meaney M.J. The social environment and the epigenome. *Environ. Mol. Mutagen.* 2008; 49: 46–60.
14. Renthal W., Nestler E.J. Epigenetic mechanisms in drug addiction. *Trends Mol. Med.* 2008; 14: 341–350.
15. Szyf M. Epigenetics, DNA methylation, and chromatin modifying drugs. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2009; 49: 243–263.
16. Tsankova N.M., Bertone O., Renthal W., Kumar A., Neve R.L., Nestler E.J. Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat. Neurosci.* 2006; 9: 519–525.
17. Kumar A., Choi K.H., Renthal W. i wsp. Chromatin remodeling is a key mechanism underlying cocaine-induced plasticity in striatum. *Neuron* 2005; 48: 303–314.
18. Huang H.S., Akbarian S. GAD1 mRNA expression and DNA methylation in prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *PLoS ONE* 2007; 2: e809.
19. Levine A.A., Guan Z., Barco A., Xu S., Kandel E.R., Schwartz J.H. CREB-binding protein controls response to cocaine by acetylating histones at the fosB promoter in the mouse striatum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005; 102: 19 186–19 191.
20. Liu X., Fortin K., Mourelatos Z. MicroRNAs: biogenesis and molecular functions. *Brain Pathol.* 2008; 18: 113–121.
21. Chubb J.E., Bradshaw N.J., Soares D.C., Porteous D.J., Millar J.K. The DISC locus in psychiatric illness. *Mol. Psychiatry*. 2008; 13: 36–64.
22. Levenson J.M., Roth T.L., Lubin F.D. i wsp. Evidence that DNA (cytosine-5) methyltransferase regulates synaptic plasticity in the hippocampus. *J. Biol. Chem.* 2006; 281: 15763–15773.

23. Levenson J.M., Sweatt J.D. Epigenetic mechanisms: a common theme in vertebrate and invertebrate memory formation. *Cell. Mol. Life Sci.* 2006; 63: 1009–1016.
24. Miller C.A., Campbell S.L., Sweatt J.D. DNA methylation and histone acetylation work in concert to regulate memory formation and synaptic plasticity. *Neurobiol. Learn Mem.* 2008; 89: 599–603.
25. Miller C.A., Sweatt J.D. Covalent modification of DNA regulates memory formation. *Neuron* 2007; 53: 857–869.
26. Roelfsema J.H., White S.J., Ariyurek Y. i wsp. Genetic heterogeneity in Rubinstein-Taybi syndrome: mutations in both the CBP and EP300 genes cause disease. *Am. J. Hum. Genet.* 2005; 76: 572–580.
27. Alarcon J.M., Malleret G., Touzani K., Vronskaya S., Ishii S., Kandel E.R., Barco A. Chromatin acetylation, memory, and LTP are impaired in CBP^{+/-} mice: a model for the cognitive deficit in Rubinstein-Taybi syndrome and its amelioration. *Neuron* 2004; 42: 947–959.
28. Zhou Z., Hong E.J., Cohen S. i wsp. Brain-specific phosphorylation of MeCP2 regulates activity-dependent Bdnf transcription, dendritic growth, and spine maturation. *Neuron* 2006; 52: 255–269.
29. Monteggia L.M., Kavalali E.T. Rett syndrome and the impact of MeCP2 associated transcriptional mechanisms on neurotransmission. *Biol. Psychiatry* 2009; 65: 204–210.
30. Gu Y., Shen Y., Gibbs R.A., Nelson D.L. Identification of FMR2, a novel gene associated with the FRAXE CCG repeat and CpG island. *Nat. Genet.* 1996; 13: 109–113.
31. Tabolacci E., Pietrobono R., Moscato U., Oostra B.A., Chiurazzi P., Neri G. Differential epigenetic modifications in the FMR1 gene of the fragile X syndrome after reactivating pharmacological treatments. *Eur. J. Hum. Genet.* 2005; 13: 641–648.
32. Marambaud P., Wen P.H., Dutt A. i wsp. A CBP binding transcriptional repressor produced by the PS1/epsilon-cleavage of N-cadherin is inhibited by PS1 FAD mutations. *Cell* 2003; 114: 635–645.
33. Saura C.A., Choi S.Y., Beglopoulos V. i wsp. Loss of presenilin function causes impairments of memory and synaptic plasticity followed by age-dependent neurodegeneration. *Neuron* 2004; 42: 23–36.
34. Scarpa S., Fusco A., D'Anselmi F., Cavallaro R.A. Presenilin 1 gene silencing by S-adenosylmethionine: a treatment for Alzheimer disease? *FEBS Lett.* 2003; 541: 145–148.
35. Steffan J.S., Bodai L., Pallos J. i wsp. Histone deacetylase inhibitors arrest polyglutamine-dependent neurodegeneration in *Drosophila*. *Nature* 2001; 413: 739–743.
36. Gardian G., Browne S.E., Choi D.K. i wsp. Neuroprotective effects of phenylbutyrate in the N171-82Q transgenic mouse model of Huntington's disease. *J. Biol. Chem.* 2005; 280: 556–563.
37. Jill James S., Melnyk S., Jernigan S., Hubanks A., Rose S., Gaylor D.W. Abnormal transmethylation/transsulfuration metabolism and DNA hypomethylation among parents of children with autism. *J. Autism Dev. Disord.* 2008; 38: 1966–1975.
38. Abdolmaleky H.M., Cheng K.H., Russo A. i wsp. Hypermethylation of the reelin (RELN) promoter in the brain of schizophrenic patients: a preliminary report. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 2005; 134B: 60–66.
39. Iwamoto K., Bundo M., Yamada K. i wsp. DNA methylation status of SOX10 correlates with its downregulation and oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia. *J. Neurosci.* 2005; 25: 5376–5381.
40. Abdolmaleky H.M., Cheng K.H., Faraone S.V. i wsp. Hypomethylation of MB-COMT promoter is a major risk factor for schizophrenia and bipolar disorder. *Hum. Mol. Genet.* 2006; 15: 3132–3145.
41. Huang H.S., Matevosian A., Whittle C. i wsp. Prefrontal dysfunction in schizophrenia involves mixed-lineage leukemia 1-regulated histone methylation at GABAergic gene promoters. *J. Neurosci.* 2007; 27: 11 254–11 262.
42. Shimabukuro M., Sasaki T., Imamura A. i wsp. Global hypomethylation of peripheral leukocyte DNA in male patients with schizophrenia: a potential link between epigenetics and schizophrenia. *J. Psychiatr. Res.* 2007; 41: 1042–1046.
43. Ruzicka W.B., Zhubi A., Veldic M., Grayson D.R., Costa E., Guidotti A. Selective epigenetic alteration of layer I GABAergic neurons isolated from prefrontal cortex of schizophrenia patients using laser-assisted microdissection. *Mol. Psychiatry* 2007; 12: 385–397.
44. Guidotti A., Ruzicka W., Grayson D.R. i wsp. S-adenosyl methionine and DNA methyltransferase-1 mRNA overexpression in psychosis. *Neuroreport* 2007; 18: 57–60.
45. Kuratomi G., Iwamoto K., Bundo M. i wsp. Aberrant DNA methylation associated with bipolar disorder identified from discordant monozygotic twins. *Mol. Psychiatry* 2008; 13: 429–441.
46. Liu H.C., Hu C.J., Tang Y.C., Chang J.G. A pilot study for circadian gene disturbance in dementia patients. *Neurosci. Lett.* 2008; 435: 229–233.
47. Bonsch D., Lenz B., Kornhuber J., Bleich S. DNA hypermethylation of the alpha synuclein promoter in patients with alcoholism. *Neuroreport* 2005; 16: 167–170.
48. Bleich S., Lenz B., Ziegenbein M. i wsp. Epigenetic DNA hypermethylation of the HERP gene promoter induces down-regulation of its mRNA expression in patients with alcohol dependence. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2006; 30: 587–591.
49. Hillemecher T., Frieling H., Hartl T., Wilhelm J., Kornhuber J., Bleich S. Promoter specific methylation of the dopamine transporter gene is altered in alcohol dependence and associated with craving. *J. Psychiatr Res.* 2009; 43: 388–392.
50. McGowan P.O., Sasaki A., Huang T.C. i wsp. Promoter-wide hypermethylation of the ribosomal RNA gene promoter in the suicide brain. *PLoS ONE.* 2008; 3: e2085.
51. Zhao X., Ueba T., Christie B.R. i wsp. Mice lacking methyl-CpG binding protein 1 have deficits in adult neurogenesis and hippocampal function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003; 100: 6777–6782.
52. Levenson J.M., O'Riordan K.J., Brown K.D., Trinh M.A., Molfese D.L., Sweatt J.D. Regulation of histone acetylation during memory formation in the hippocampus. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 40 545–40 559.
53. Kim S.Y., Levenson J.M., Korsmeyer S., Sweatt J.D., Schumacher A. Developmental regulation of Eed complex composition governs a switch in global histone modification in brain. *J. Biol. Chem.* 2007; 282: 9962–9972.
54. Bredy T.W., Wu H., Crego C., Zellhoefer J., Sun Y.E., Barad M. Histone modifications around individual BDNF gene promoters in prefrontal cortex are associated with extinction of conditioned fear. *Learn Mem.* 2007; 14: 268–276.
55. Chwang W.B., O'Riordan K.J., Levenson J.M., Sweatt J.D. ERK/MAPK regulates hippocampal histone phosphorylation following contextual fear conditioning. *Learn Mem.* 2006; 13: 322–328.