

Rol de la acetilación y metilación de histonas en una nueva generación de antidepresivos

Role of Histone Acetylation and Methylation in a New Generation of Antidepressants

Dra. María Zorrilla Zubilete

Doctora de la UBA, área Farmacología. Investigadora del CONICET. Docente Autorizada en Farmacología.

Primera Cátedra de Farmacología y CEFyBO-CONICET, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

Fecha de recepción: 23 de mayo de 2014

Fecha de aceptación: 2 de julio de 2014

Resumen

En este trabajo, se discuten los avances recientes en la comprensión de la regulación epigenética por el estrés durante la vida temprana y en la edad adulta, en los circuitos límbicos del cerebro, y cómo esos mecanismos podrían contribuir a la susceptibilidad frente a la capacidad de recuperación de los trastornos relacionados con el estrés y su reversión por tratamientos anti-depresivos. Se describen los últimos avances en la regulación epigenética inducida por estrés y finalmente se desarrolla la acción de la L-carnitina como modulador epigenético.

Palabras clave

Epigenesis – Acetilación de histonas – Metilación de histonas – Depresión.

Abstract

In this work, the author discusses the recent progress on the comprehension of epigenetic regulation by stress during early life and adulthood, in the limbic circuits of the brain, and the way in which those mechanisms may contribute to the susceptibility against the recovery capacity of stress-related disorders and their reversal through antidepressant treatments. There is a description of the latest advances regarding the epigenetic regulation induced by stress, and finally, the action of the L-carnitine as epigenetic modulator is described.

Keywords

Epigenesis – Acetylation of Histones – Methylation of Histones – Depression.

Zorrilla Zubilete María. "Rol de la acetilación y metilación de histonas en una nueva generación de antidepresivos". *Psicofarmacología* 2014;87:15-28.

Puede consultar otros artículos publicados por los autores en la revista *Psicofarmacología* en sciens.com.ar

La importancia de las influencias ambientales en la conformación de la estructura y función cerebral se pone de manifiesto en la naturaleza de la plasticidad del cerebro. De hecho, todos los organismos se enfrentan continuamente a eventos estresantes y cambios en su entorno que pueden afectar su homeostasis. Las respuestas al estrés son reac-

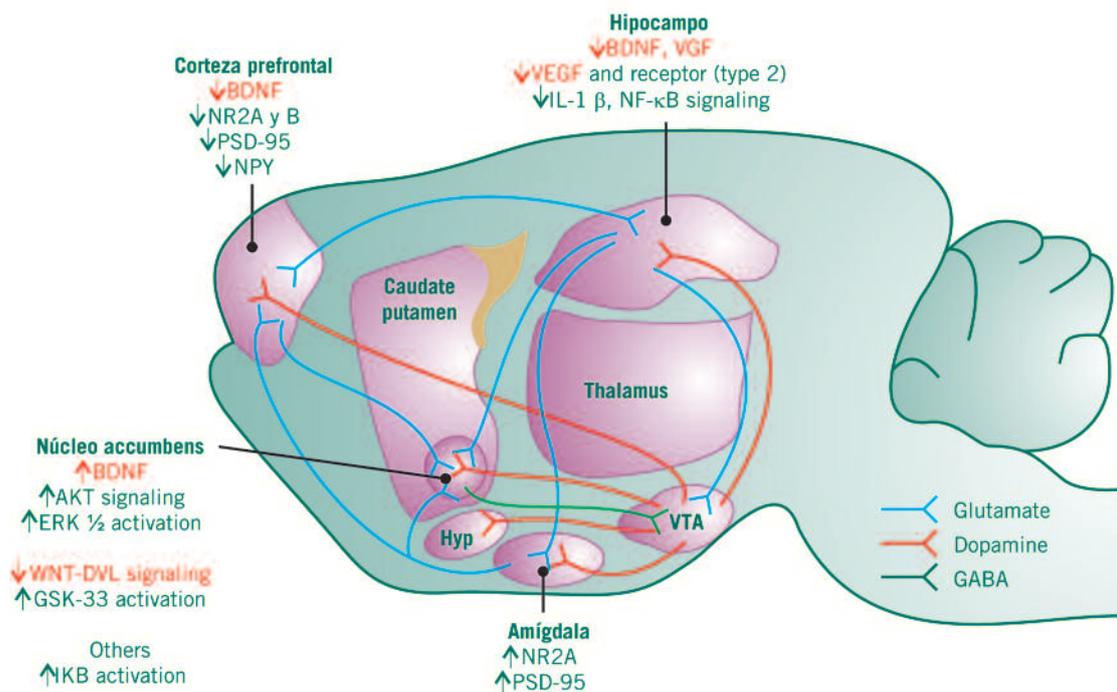
ciones a estos desafíos externos; que incluyen cambios en el sistema nervioso central y en varios órganos periféricos que tienden a restaurar la homeostasis inicial (de Kloet y col., 2005). La percepción de una situación estresante activa un gran número de circuitos neuronales, tales como el hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA), el *locus coeruleus*, y los

centros autonómicos noradrenérgicas en el tallo cerebral. Estas y muchas otras respuestas iniciales de estrés se dirigen a numerosas regiones límbicas del cerebro, tales como la corteza prefrontal, el hipocampo, la amígdala, y el cuerpo estriado ventral (también denominado núcleo accumbens o NAc) (ver Figura 1) (Chrousos, 2009 y Shin y col., 2009). Estos cambios en el sistema nervioso central afectan directamente el aprendizaje y la memoria, el estado de alerta, la excitación y la ansiedad quizás basal, y promueven respuestas adaptativas de comportamiento a tensiones posteriores (McEwen, 2008). La incapacidad para regular y terminar estas respuestas al estrés pueden resultar en muchas formas de desregulación, como se ilustra por elevaciones sostenidas de los niveles de glucocorticoides, que afectan profundamente sistemas neuroendócrinos, incluyendo las respuestas inmunes, el metabolismo y la reproducción (von Holst, 1998). En efecto, experiencias estresantes aumentan la prevalencia de una amplia gama de problemas de salud, incluyendo enfermedad arterial coronaria, enfermedad pulmonar crónica y ciertos tipos de cáncer (Hackman y col., 2010). El estrés también puede tener consecuencias negativas sobre las adaptaciones de comportamiento y predisponer a algunas personas a depresión o a trastornos relacionados con la ansiedad (Yehuda y col., 1998). Sin embargo, la susceptibilidad al estrés varía mucho entre individuos, de tal manera que la mayoría son resistentes: pueden mantener su fisiología normal y una adecuada función psicológica a pesar

de ser sometido a estresores terribles (Krishnan y col., 2007). Bajo las condiciones adecuadas, la exposición previa a niveles moderados de estrés podría promover la resiliencia en el futuro, un fenómeno conocido como inoculación de estrés (Lyons y col., 2010). Aunque los trastornos relacionados con el estrés como la depresión, trastorno de estrés post-traumático (PTSD), y otros síndromes de ansiedad son parte hereditaria, aparece una mayor parte del riesgo de ser no genético. La hipótesis central en el campo, por lo tanto, es que la exposición a un rango de estímulos estresantes en combinación con la constitución genética de un individuo determina su estrategia inicial de afrontamiento, mala adaptación frente a las respuestas de comportamiento elástico, y la respuesta definitiva a un tratamiento (Uher, 2011). Los cambios inducidos por el estrés en la expresión génica en los circuitos límbicos del cerebro han sido durante mucho tiempo postulados para mediar esta interacción entre genes y medio ambiente (Hyman y Nestler, 1996). La expresión alterada de varios genes candidatos ha recibido una gran cantidad de atención. La inducción del BDNF (factor neurotrófico derivado del cerebro) en el hipocampo es importante en la eficacia del tratamiento antidepresivo, y su represión puede contribuir a la fisiopatología de la depresión en modelos animales (Duman y col., 2006). En contraste, una sostenida inducción de BDNF en el NAc, que persiste durante al menos 1 mes después de un estrés social crónico, induce anomalías de comportamiento similares a la depre-

FIGURA 1

Circuitos y mecanismos moleculares en la depresión



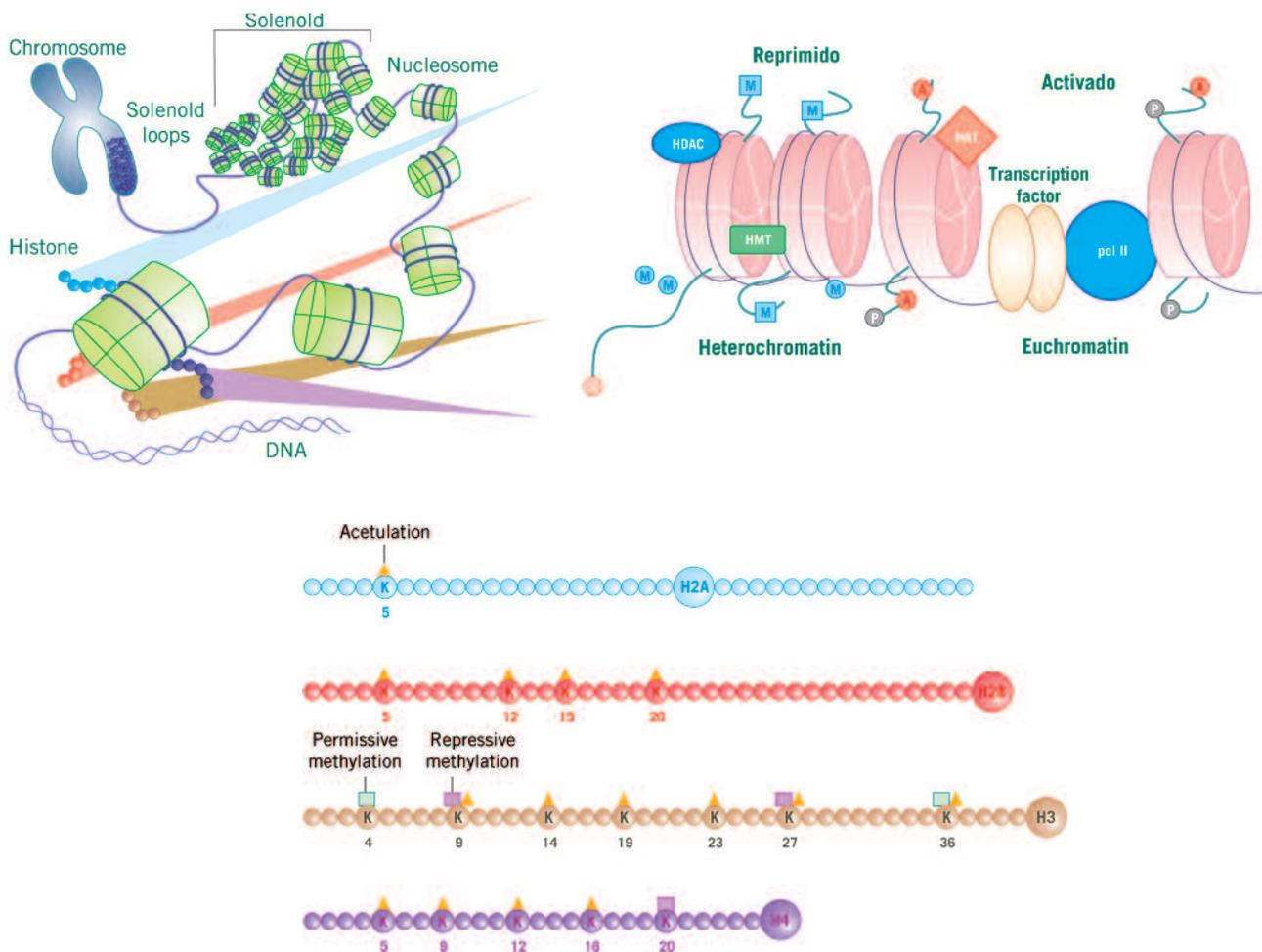
Esquema de las vías glutamatérgica, dopaminérgica y GABAérgica involucradas en la neurobiología de la depresión y consecuencias sobre los mecanismos moleculares.

Adaptado de Sun y col., 2013.

sión en este modelo animal, mientras que la inversión de este efecto induce una respuesta antidepresiva (Berton y col., 2006). Otros ejemplos incluyen la supresión de la cascada WNT- DVL / GSK3 β / β -catenina de señalización en varias regiones cerebrales límbicas en respuesta al estrés crónico, con cambios opuestos observados tras el tratamiento antidepresivo (Gould y col., 2008), y la disminución de expresión a largo plazo de los receptores a glucocorticoides (GR) en el hipocampo como resultado de una deficiencia en la atención materna (Liu y col., 1997). Últimamente, los estudios de genoma ampliado en la expresión de genes se han utilizado para tener una visión más abierta de las alteraciones que se producen en las regiones límbicas después de un estrés crónico o del tratamiento antidepresivo (Andrés y col., 2012). En estos estudios, el hecho de que el estrés crónico o tratamiento antidepresivo pueda inducir una expresión alterada de ciertos genes que persiste durante semanas después de la última exposición, sugiere la participación de

mecanismos epigenéticos (que están implicados en la mediación de los cambios altamente estables en la expresión génica durante el desarrollo y en tejidos adultos). La epigenética, en su sentido más general, es el estudio de la regulación transcripcional de un gen en ausencia de cambios en la secuencia de ADN. La epigenética se refiere a cambios heredables en el potencial de la transcripción, así como el papel de los mecanismos equivalentes en el control de la regulación transcripcional durante el tiempo de vida de un organismo. Numerosos mecanismos se han descrito en la base de la regulación epigenética, incluyendo (a) la modificación directa del ADN por metilación de las bases de citosina y (b) la regulación indirecta del ADN a través de varios tipos de modificaciones químicas de las proteínas implicadas en la estructura de la cromatina, incluyendo histonas y muchas proteínas no histónicas (Gibney y Nolan, 2010). Estos mecanismos determinan la accesibilidad de un gen a la maquinaria transcripcional y en última instancia la capaci-

FIGURA 2



En el panel de arriba a la izquierda se observa la estructura de máxima condensación que adquiere el ADN junto a las histonas formando solenoides y como estructura final un cromosoma. El solenoide es una condensación de varios nucleosomas. Cada nucleosoma está formado por ADN e histonas, estas proteínas se clasifican en histona 2 a (H2a), H2b, H3 y H4. En el panel de arriba a la derecha se observa cómo un gen puede activar o inhibir su transcripción a partir de modificaciones postraduccionales como acetilación o metilación de histonas. En el esquema de abajo podemos observar que son varios los sitios de modificación para regular la transcripción de genes.

FIGURA 3

Gen	Acción	Región	MeADN	Mecanismos	Paradigma de estrés utilizado
BDNF	↓	Hipoc	↑		Estrés por predador
BDNF	↓	CPF	↑		Estrés en etapas tempranas
CRF	↓	PVN	↑		Estrés crónico moderado (hembras)
P11		CPF	↑		Modelo de depresión en ratas FSL
GDNF	↑	NAc	↑	MeCP2/HDAC2	Estrés social
GDNF	↑	NAc	↑	MeCP2/CREB	Estrés social
AVP	↑	PVN	↓	MeCP2	Separación materna
GR	↑	Hip	↓		Alto maternaje

Esquema de la regulación de la expresión de genes claves en la neurobiología de la depresión.

Adaptado de Sun y col., 2013.

dad de producir transcritos de ARNm (ver Figura 2). Un modo adicional de regulación epigenética está mediada por varios tipos de RNAs no codificantes (ncRNAs), incluidos los pequeños RNAs no codificantes (sncRNAs) y largos RNAs no codificantes (lncRNAs), que influyen en la expresión de genes a varios niveles, por ejemplo, por la modificación de la estructura de la cromatina en genes específicos, el empalme de ARN, y la estabilidad del mRNA (Taft y col., 2010).

Los mecanismos epigenéticos controlan la estructura de la cromatina y su función, median cambios en la expresión de genes que ocurren en respuesta a diversos estímulos.

El BDNF es uno de los genes blanco de la regulación epigenética y ha sido implicado en varios modelos de depresión. La terapia electroconvulsiva (ECS) induce acetilación de histonas H3 y H4 en regiones promotoras del BDNF, c-fos y creb en el hipocampo.

Existen otras alteraciones epigenéticas para otros factores neurotróficos. En corteza órbito-frontal disminuye la expresión del receptor TrkB conjuntamente con un aumento de H3K27me3 en su promotor. En el Nac, GDNF disminuye su expresión luego de estrés crónico variable y se revierte con un tratamiento crónico con imipramina. Esto se asocia con un decrecimiento en la acetilación H3, disminución de H3K4me3 e incremento de HDAC2 en el promotor de GDNF. Asimismo, crías con bajo maternaje muestran alta reactividad al estrés y comportamiento tipo ansioso. En el hipocampo poseen una menor expresión de mRNA de receptor de GC que se corresponde con una disminución en la acetilación H3K9 comparado con animales con alto maternaje MS275 y fluoxetina ejercen similares acciones antidepresivas y ambos son capaces de regular la expresión de genes y los cambios inducidos por estrés crónico inducido por desafío social, posiblemente a través de la acetilación de histonas (ver figura 3).

Mucho de lo que sabemos acerca de los mecanismos epigenéticos proviene de la biología del desarrollo: cambios en la cromatina que gobiernan la adquisición y la estabilidad de los fenotipos celulares en la diferenciación (Bird, 2007). Tal diferenciación celular se logra por regulación epigenética compleja de los genes individuales a través de las señales de

las células circundantes y las influencias del medio ambiente sobre el organismo. En contraste, muchos tipos de células en el organismo adulto ya no se dividen, pero su fenotipo, incluyendo su potencial transcripcional, cambia dramáticamente en respuesta a desafíos del medio ambiente. En el cerebro, hay muchos tipos de células que tienen distintos fenotipos que se someten a la experiencia-dependiente de una modificación fenotípica a través de la vida del organismo. Las crecientes evidencias sugieren que los mecanismos epigenéticos juegan un papel clave en esta plasticidad, la mediación de este modo de cambios funcionales estables en el cerebro en respuesta a la exposición ambiental (Jiang y col., 2008). Debido a que de forma estable cambian diversos aspectos de la función neuronal, las modificaciones epigenéticas están implicadas en el aprendizaje y la memoria (Korzus y col., 2004), en comportamientos maternos (Champagne y col., 2006), y en comportamientos patológicos, como la adicción a las drogas (Maze y col., 2010), la depresión (Covington y col., 2009), y el trastorno de estrés postraumático (Chertkow y col., 2010). Tales modificaciones epigenéticas podrían ser la base de las anomalías de comportamiento duraderos que se observan en estos trastornos, así como la extraordinaria variabilidad interindividual en la vulnerabilidad a la adversidad. De hecho, la epigenética podría explicar en parte la dificultad en la identificación de las variaciones genéticas específicas que contribuyen a estos síndromes, la discordancia significativa entre los gemelos monocigóticos, y la susceptibilidad diferencial de género a ciertas enfermedades psiquiátricas (Feinberg, 2007). El estudio de la epigenética así como su regulación abre nuevas puertas a la comprensión de los rasgos de comportamiento normales, así como a las etiologías de las enfermedades en los seres humanos. Aunque lo mejor demostrado es en el cáncer y en la biología de células madre, las marcas patológicas epigenéticas se han observado en los trastornos psiquiátricos, por ejemplo, en el tejido postmortem de pacientes con depresión (Hobara y col., 2009) y en los individuos que se suicidaron (Keller y col., 2010). Sin embargo, se requiere mucho cuidado en la interpretación debido a que estas marcas epigenéticas podrían representar la causa de la

discapacidad o una marca del estado de enfermedad, o ambos.

En este trabajo, se discuten los avances recientes en la comprensión de la regulación epigenética por el estrés durante la vida temprana y la edad adulta en los circuitos límbico del cerebro, y cómo esos mecanismos podrían contribuir a la susceptibilidad frente a la capacidad de recuperación de los trastornos relacionados con el estrés y su reversión por tratamientos antidepresivos.

Mecanismos epigenéticos

• Metilación del ADN

Las bases de citosina pueden modificarse covalentemente por metilación en la posición 5, generando un surco mayor en la hebra del ADN (Newell y col., 2000). En los mamíferos, por ejemplo 5-metilcitosina (5mC) predominantemente se produce en la secuencia palindrómica 5'-CpG-3' y no interfiere con la unión normal de hidrógeno con bases de guanina complementarias. Aproximadamente el 3 % de todas las citosinas en el genoma humano están metiladas, y se requieren para la diferenciación celular, para la impronta genética, para la supresión de elementos repetitivos, y para la inactivación del cromosoma X (Bird, 2008). La distribución de las bases de CpG en el ADN de un mamífero es desigual, se produce en altas concentraciones en regiones selectas que se denominan islas CpG. Estas islas CpG presentan una homología de 50-60 % de los genes humanos (Wang, 2004). Aunque las citosinas metiladas pueden tanto prevenir y promover la unión de varias proteínas al ADN (59), la metilación de CpG en regiones promotoras se considera generalmente que reprimen la transcripción de un gen (ver Figura 2). La metilación del ADN es catalizada por metiltransferasas de ADN (DNMTs), una familia de enzimas que incluyen DNMT1, DNMT2, DNMT3a, y DNMT3b (Weber y col., 2007). Estas enzimas desempeñan papeles distintos: DNMT1 mantiene patrones de metilación durante la replicación del ADN, mientras que DNMT3a y DNMT3b parecen catalizar una metilación de novo a ADN previamente metilado de doble cadena (Kim y col., 2009). Las DNMTs pueden interactuar directamente con los factores de transcripción. En un estudio reciente, cerca de 80 factores de transcripción fueron encontrados que interactúan con DNMTs (Hervouet y col., 2009). Esta metilación permite dirigir a genes específicos la represión de la transcripción de genes a través de los complejos correpresores que pueden interferir con la maquinaria transcripcional o regular la estructura de la cromatina directamente (ver a continuación). Existen dominios de metilación en los lugares CpG llamados (MBDs) que son esenciales para el desarrollo normal y crecimiento; por ejemplo, la pérdida de función de las mutaciones de la proteína de unión a CpG MBD metil 2 (MeCP2) están asociados con el síndrome de Rett (Nan y col., 2007). Aunque originalmente se pensó que era una modificación estable, la metilación del ADN parece ser objeto de una regulación dinámica en el cerebro adulto (Millar y Sweatt, 2007). En las célu-

las eucariotas, el ADN está densamente empaquetado en la cromatina a través de interacciones con proteína y grandes complejos llamados nucleosomas. Un núcleo de nucleosoma está compuesto por un octámero que contiene cuatro dímeros de histonas, cada una de las histonas H2A, H2B, H3, y H4- envuelven 147 pb de ADN en aproximadamente dos vueltas helicoidales (36). Modificaciones postraduccionales de las histonas causan cambios en la compactación de la cromatina que se correlaciona con más abierto (eucromatina: transcripcionalmente permisiva) y cerrado (heterocromatina) estados transcripcionalmente represivos (Berger, 2007). Las colas N-terminales de las histonas están expuestas en la superficie del nucleosoma y exhiben múltiples modificaciones covalentes reversibles, que alteran la accesibilidad al ADN a la maquinaria transcripcional de una manera regulada (Figura 2).

• Acetilación de histonas

La acetilación de histonas, repele la carga positiva de los residuos de lisina en la cola de la histona, está asociada con la activación transcripcional. La activación de genes es probablemente debido a un debilitamiento de la interacción con la hebra del ADN que depende de la carga negativa de las lisinas (Cheung y col., 2000). En contraste, la falta de la acetilación de histonas se correlaciona con la represión de genes. Las histonas son acetiladas por la enzima histona acetiltransferasa (HAT), que utilizan acetil coenzima A como co-sustrato, y son desacetiladas por enzimas llamadas deacetilasas de histonas (HDAC). Las HAT comprenden una gran familia de proteínas y múltiples residuos de acetilación en lisina en las colas de H3 y H4. Las HDACs son compuestos formados por múltiples familias de proteínas divididos en tres clases. En el cerebro, las clases I y II parecen regular la desacetilación de histonas en la mayoría de los genes, mientras que las enzimas de la clase III (que comprende las proteínas sirtuinas) desacetilan numerosos sustratos nucleares y citoplasmáticos, además de las histonas y están implicados en numerosas funciones celulares (Nakahata y col., 2009).

A diferencia de la clara correlación de acetilación de histonas con la activación transcripcional, la metilación de histonas puede estar asociada tanto con la activación transcripcional como con la represión, dependiendo del residuo modificado y en particular la cantidad de metilación (monometilado, dimetilado o trimetilado). Tanto los residuos de lisina como los de arginina pueden ser metilados por diversas histonas metiltransferasas (HMTs), que utilizan S-adenosilmetionina como co-sustrato. Los residuos de arginina metilados se convierten en citrulina por deaminasas, mientras que las lisinas están desmetilados por desmetilasas de lisina (Rice y Allis, 2001). A diferencia de la acetilación, la metilación no altera sustancialmente la carga de los residuos; sin embargo, puede cambiar dramáticamente el perfil estérico y las potenciales interacciones moleculares a través de la adición de mono, di, o tri grupos de metilo. Los ejemplos de los efectos bidirec-

cionales de metilación de las histonas incluyen trimetilación de la lisina 4 de H3 (H3K4me3), que está asociado con la iniciación de la transcripción, y la trimetilación de lisinas 9 y 27 de H3 (H3K9me2 / 3 y H3K27me2 / 3), se asocian con la represión transcripcional (Maze y col., 2010).

Múltiples modificaciones adicionales de colas de las histonas son conocidas, incluyendo la fosforilación, ubiquitinación, sumoilación, y ADP ribosilación. Por ejemplo, la fosforilación de la serina-10 de H3 se asocia con aumento de la transcripción de genes a través de un complejo mecanismo que implica el reclutamiento de HAT y la prevención de la actividad de HMT en la lisina 9 (Maze y col., 2010). La modificación de una histona también puede afectar a la posterior modificación de otras histonas en el nucleosoma, como la ubiquitinación de H2B que parece ser un requisito previo para la metilación H3K4 y la iniciación resultante de la transcripción (Sun y Allis, 2002). El nivel de complejidad en el número casi infinito de posibles combinaciones de diversas modificaciones en múltiples residuos de colas de las histonas, así como la introducción de variantes de subunidades de histonas, ha dado lugar a la propuesta de un "código" de histonas cuya "lectura" por diversos sistemas es esencial para la adecuada regulación de la expresión génica (Jenuwein y col., 2001).

• RNAs no codificantes

Muchos tipos de ARN no codificantes (ncRNAs) son bien conocidos, tales como ARN ribosomal (rRNA) y el ARN de transferencia (ARNt). Más recientemente se han descrito, muchos ncRNAs adicionales. Se dividen entre los largos (lncRNAs) y diversas variedades cortas, incluyendo microRNAs (miRNAs), pequeños RNAs nucleolares (snoRNAs), ARNs Piwi que interactúan (piRNAs), y RNA de inicio de la transcripción (tiRNAs) (33). Los lncRNAs son generalmente más largos que 200 nucleótidos cada uno; que pueden empalmarse para formar estructuras secundarias funcionales y pueden actuar como precursores para varios sncRNAs (Qureshi y col., 2001). Aunque solo un pequeño número de lncRNAs funcionales se han caracterizado, se ha demostrado que participan en los programas de control de la expresión génica en todos los niveles. Los lncRNAs parecen funcionar a través de múltiples mecanismos epigenéticos y pueden modular el estado de los genes codificantes de proteínas a través de la remodelación de la cromatina en regiones específicas del genoma, regulando de este modo la estructura de la cromatina de una única región promotora, un grupo de genes, o un cromosoma entero. Los lncRNAs también pueden servir como potenciadores para regular la transcripción de genes (Nagano, 2011).

Los miRNAs que son los sncRNAs mejor estudiados en el cerebro, son reguladores postranscripcionales que pueden unirse a secuencias complementarias de ARNm diana y dar lugar a la represión de traducción o a su degradación. Los miRNAs parecen tener la capacidad de puente con otros mecanismos epigenéticos para regular la plasticidad neu-

ronal (Im y col., 2010). Además, los sncRNAs pueden influir en la regulación epigenética de la expresión génica. En *Caenorhabditis elegans*, los ARN cortos de interferencia (siRNAs) y RNAi desencadenan silenciamiento génico a largo plazo de manera dominante hereditaria, con múltiples factores de remodelación de la cromatina que se requieren para el mantenimiento del estado de silencio (Djupedal, 2009).

Regulación epigenética por estrés y tratamiento antidepresivo en la edad adulta

Existe evidencia considerable que sugiere que la remodelación de la cromatina es un proceso dinámico que se produce durante toda la vida en muchos órganos incluyendo el cerebro (Meaney y col., 2005). Los patrones de metilación del ADN y acetilación de histonas pueden cambiar gradualmente con el tiempo en los gemelos monocigóticos (Fraga y col., 2005). Esta fuerza no se produce al azar y podría representar el efecto del medio ambiente y la acumulación de la experiencia del individuo. Los procesos de remodelación de la cromatina son necesarios para el aprendizaje y la memoria, y la modificación epigenética aberrante puede dar lugar a deficiencias cognitivas (Peleg y col., 2010). Dentro de este contexto, un número creciente de estudios ha demostrado que la exposición al estrés promueve alteraciones en diversas marcas epigenéticas en particular, la acetilación de histonas y la metilación de ADN, así como la metilación en varias regiones límbicas del cerebro (Figuras 1 y 2). Además, la manipulación experimental de la maquinaria epigenética dentro de estas regiones controla potentemente los estados de ánimo y las respuestas al estrés y también los tratamientos antidepresivos.

• Regulación de la metilación del ADN en adultos sometidos a estrés

Dado que la metilación del ADN es una marca epigenética relativamente estable en células postmitóticas, es probable que participe en el cambio duradero de la expresión genética que subyace en el desarrollo de anomalías inducidas por estrés. Recientes investigaciones muestran los cambios en los niveles de metilación CpG en los promotores de genes que están implicados en la reactividad del eje HPA y en el tratamiento antidepresivo. Síntomas similares a la depresión en un modelo de estrés crónico por derrota crónica social van acompañados de la regulación aumentada del factor liberador de corticotropina (CRF), aumento que no se observa en los ratones que son resistentes al estrés (Elliott y col., 2010). El CRF, que se expresa por las neuronas del núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN), controla la actividad del eje HPA, así como varias otras respuestas de estrés en el cerebro. La inducción por estrés del gen *Crf* está acompañada por una disminución en la metilación del ADN en su promotor. Un tratamiento crónico con imipramina es suficiente para reducir los niveles de RNA mensajero de CRF y la metilación en su promotor (*Crf*) solo en ratones socialmente derrotados. Una observación relacionada en un ratón *knockout* condi-

cional de MeCP2 en el PVN, que reduce la represión de ciertos genes metilados, induce una respuesta anormal al estrés (Fyffe y col., 2008). Esta observación demuestra que la regulación epigenética de genes es fundamental para una regulación apropiada de eje HPA.

Curiosamente, las ratas hembras expuestas a estrés crónico leve aumentan la metilación del ADN en el promotor *Crf* en el PVN, lo que sugiere alteraciones específicas al sexo en la actividad del eje HPA (Sterrenburg y col., 2011).

La activación del eje HPA y la posterior liberación de los glucocorticoides tienen un profundo impacto sobre la función del hipocampo porque las neuronas del hipocampo expresan niveles altos del receptor a glucocorticoides (GR). Por lo tanto, el hipocampo ha recibido mucha atención por su rol en el estrés por inducir déficit cognitivo-conductual y su respuesta a antidepresivos. Un mecanismo por el que el estrés afecta la función del hipocampo es a través de la represión de BDNF, como se señaló anteriormente. La exposición crónica al estrés aumenta la metilación del promotor de BDNF en el hipocampo (Roth y col., 2011), posiblemente contribuyendo a los cambios morfológicos y las alteraciones neuronales descritas después de estrés crónico en modelos animales y también en los seres humanos deprimidos (Sapolsky, 1996).

Los antecedentes genéticos influyen en el resultado de la exposición al estrés en los animales y los seres humanos, y tales diferencias de fondo podrían estar mediadas en parte, por diferencias en la secuencia de ADN que contiene modificaciones epigenéticas en respuesta al estrés, una posibilidad que está empezando a ser explorada. Uchida y col. (2011) informan que el estrés crónico leve aumentan comportamientos de tipo ansiosos y depresivos en ratones Balb/C, los efectos no se ven en las mismas condiciones en ratones C57BL/6. La exposición a estrés regula diferencialmente el factor neurotrófico derivado de células gliales (GDNF) en el NAc en dos cepas de ratones (Uchida y col., 2011); en ratones BALB/C disminuye la expresión de GDNF, mientras que los ratones C57BL/6 muestran una mayor expresión. Los autores informan que la metilación del ADN y de unión MeCP2 se incrementaron en el promotor de GDNF en el NAc de ambas cepas después de un estrés crónico y que estos cambios se asociaron con una mayor expresión de DNMT1 y DNMT3a. Sin embargo, las dos cepas se distinguen por los complejos de proteínas que se asocian con MeCP2 en el promotor GDNF. En ratones BALB / C, MeCP2 interactúa con HDAC2 para disminuir acetilación H3 y reprime la transcripción concomitantemente de GDNF en el NAc, mientras que la asociación de MeCP2 con activador transcripcional CREB (proteína de respuesta elemento vinculante cAMP) potencia la expresión de GDNF en el NAc de C57BL / 6 ratones. Los autores proponen que estas diferencias son impulsadas por diferentes patrones de metilación en el promotor GDNF, aunque aún es necesario mucho más trabajo para validar estos resultados, así como comprender su base molecular. Sin embargo, estas observaciones son consistentes con los

informes que MeCP2 puede actuar como un represor o como un activador de la transcripción génica (Chahrour y col., 2008). En la línea genética Flinders sugerida como un modelo en roedores sensible a generar comportamientos tipo depresivos las elevaciones en la metilación del ADN en el promotor P11 se redujeron con la administración crónica de escitalopram, lo que lleva a un aumento de P11 y una disminución en DNMTs en la corteza prefrontal (Melas y col., 2011). P11 interactúa con la serotonina y quizás con otros receptores y regula su función, y se ha observado en pacientes deprimidos postmortem que han disminuido los niveles de P11. Por último, la disminución de la metilación del ADN en el promotor del gen expresado en suero de interleucina-6 (IL-6) en células mononucleares de sangre periférica se asoció con mayores niveles de IL-6 en los adultos que tenían un historial de depresión (Uddin y col., 2011). IL-6 es parte del sistema de respuesta inflamatoria que se desregula en algunos individuos deprimidos (Schmidt y col., 2011). Como se ha señalado, la inducción de DNMTs se produce en el NAc después de un estrés crónico de derrota social (LaPlant y col., 2010), y la evidencia reciente demuestra directamente que esta adaptación contribuye al desarrollo de conductas similares a la depresión. La sobreexpresión de DNMT3a en el NAc facilita la vulnerabilidad a los efectos deletéreos gatillados postestrés. Este mecanismo parece crítico para el establecimiento de un comportamiento maladaptativo porque infusiones intra-NAc de dos inhibidores de DNMT, como son RG108 y zebularine, revierten los déficits de comportamiento inducidos por el estrés crónico (LaPlant y col., 2010). Debido a que los DNMTs en general reprimen la transcripción génica, estos datos sugieren que el desarrollo de las anomalías en el comportamiento inducidas por el estrés están acompañadas en el NAc por la regulación de los genes implicados en la recompensa y en la motivación. En contraste, la metilación del ADN en otras regiones del cerebro, tales como el eje HPA (discutido anteriormente), reprime constitutivamente genes que participan en las respuestas al estrés. Por lo tanto, los fármacos que afectan a nivel general la metilación del ADN son poco probable que sean viables como enfoques terapéuticos, aunque la orientación de la metilación ADN específica de sitio pueden ser una valiosa vía para el desarrollo de futuras terapias.

Regulación de la acetilación de histona en adultos sometidos a estrés

Aunque se considera más débil, algunas modificaciones postraduccionales de las histonas pueden contribuir a las anomalías persistentes en la psicopatología relacionada con el estrés. Después de la derrota social, crónica en ratones, el NAc muestra una disminución transitoria en los niveles celulares totales de la acetilación H3 seguida de un mayor aumento persistente que dura por lo menos 10 días después de la última sesión de estrés (Covington y col., 2009). Este aumento duradero puede ser mediado a través de la represión de la expresión de HDAC2 sostenido en esta región del cere-

bro. Curiosamente, el aumento de la acetilación H3 y la disminución de los niveles de HDAC2 se observan en el NAc de humanos deprimidos. Sin embargo, estos cambios parecen ser adaptativos porque una infusión local de los inhibidores de HDAC en el NAc, o la inhibición local de la HDAC2 a través de la sobreexpresión de un mutante dominante negativo de la enzima, ejercen potentes acciones de tipo antidepresivo en varios ensayos de comportamiento. Además, la administración local de un inhibidor de HDAC produce un patrón de cambios de expresión génica en el NAc que era algo similar a la observada con el tratamiento con fluoxetina sistémico. El estrés crónico por derrota social induce aumentos más transitorios en los niveles de acetilación H3 general en otras regiones cerebrales, como el hipocampo, la amígdala y la corteza prefrontal medial, y estos efectos también pueden ser adaptativo porque los inhibidores de HDAC se comportan como los antidepresivos cuando se administran en estas regiones (Covington y col., 2011). Sin embargo, otros grupos han observado disminución de los niveles de acetilación H3 en el hipocampo después de estrés crónico y la reversión de estos efectos por un tratamiento con imipramina (Hollis y col., 2010).

Sin embargo, varios grupos han demostrado efectos de tipo antidepresivo de los inhibidores de HDAC tras la administración sistémica (Tsankova y col., 2006); tales inhibidores no tienen ningún efecto sobre las conductas similares a la depresión en ratones no estresados (Schroeder y col., 2007). Por consiguiente, estos estudios sugieren que los inhibidores de HDAC muestran algún potencial como agentes antidepresivos nuevos. Sin embargo, la falta de especificidad de los inhibidores utilizados, y su capacidad limitada para penetrar en el cerebro, son las principales advertencias que deben ser consideradas. Dada la falta de isoformas de HDAC-específicas del cerebro, parece poco probable que los inhibidores de HDAC tengan una aceptable seguridad y especificidad para ser desarrollados para el tratamiento de la depresión.

Actualmente, se sabe poco sobre los genes específicos en los que los cambios inducidos por el estrés en la acetilación de histona puedan mediar dicha regulación en conductas de tipo depresivas. El estrés crónico con derrota social regula una baja transcripción en el hipocampo de BDNF y esta regulación a la disminución se revierte por un tratamiento con antidepresivo (Tsankova y col., 2006). Es necesario trabajos adicionales para identificar, de manera amplia en el genoma, los muchos otros genes implicados en la mediación de los efectos de tipo antidepresivo en los niveles de acetilación de histonas en varias regiones del cerebro límbico.

Regulación de la metilación de histonas en adultos sometidos a estrés

La derrota social crónica, coincidente con el aumento sostenido de la acetilación H3 en el NAc como se señaló anteriormente, provoca una disminución global en los niveles de H3K9me2, que es una marca represiva mediada a través de regulación de la HMTs asociado G9a y la proteína G9a-

como (Covington y col., 2011). Por el contrario, la sobreexpresión de G9a en el NAc, aumenta los niveles de H3K9me2 y promueve la capacidad de recuperación del estrés e induce respuestas de tipo antidepresivo. Un producto génico que contribuye a estos efectos es Ras, una pequeña GTPasa de la cascada de señalización de ERK. Curiosamente, las dos adaptaciones asociadas con la activación de genes (H3K9me2 reducida y el aumento de acetilación H3) ejercen efectos opuestos en el comportamiento. Una explicación es los diferentes genes que se ven afectados por estas modificaciones.

El estrés crónico también altera los niveles de metilación de las histonas en el hipocampo. Se han observado efectos diferenciales en los niveles globales de H3K4me3, H3K9me3 y H3K27me3 dentro de diferentes subregiones del hipocampo en respuesta al estrés por inmovilización agudo o crónico (Hunter y col., 2009). La discusión anterior pone de relieve la necesidad de realizar evaluaciones a escala de todo el genoma y de cambios en la cromatina, lo que permitirá la identificación de los mecanismos hasta ahora desconocidos implicados en el estrés y relacionados con los trastornos y la acción antidepresiva.

Regulación epigenética por estrés en etapas tempranas de la vida

Durante el desarrollo, el cerebro es sensible a los cambios ambientales, como el cuidado de los padres y a los eventos estresantes. La estimulación cognitiva puede conducir a efectos amplios sobre la estructura y función del cerebro, por lo tanto, pueden influir en la función cognitiva y afectiva en los niños, adolescentes y adultos jóvenes (Shonkoff y col., 2009). El maltrato, el abandono y el trauma durante la infancia aumenta el riesgo de depresión y de ansiedad y trastornos de abuso de sustancias, así como el riesgo de convertirse en un padre abusivo (Lupien y col., 2009). Por el contrario, las formas más leves de estrés pueden promover la resiliencia. Tal regulación bidireccional durante la vida temprana en la susceptibilidad a las enfermedades relacionadas con el estrés en la edad adulta probablemente esté mediada por alteraciones estables en la estructura de la cromatina de genes específicos en el cerebro. Los estudios longitudinales revelaron cambios en la metilación del ADN en las células epiteliales bucales que se asociaron a la adversidad temprana (Essex y col., 2011), aunque cómo tales cambios se relacionan con la función del cerebro permanece aún desconocido. Varios modelos animales claramente han identificado la reprogramación epigenética de la expresión génica como un mecanismo estable durante las primeras experiencias de vida, el estrés en particular y la atención materna, afecta a las respuestas del individuo que se expresan más tarde en la vida en la adultez (Bale y col., 2010).

Uno de los procedimientos más utilizados para inducir el estrés en la vida temprana en los roedores es la separación periódica materna durante la vida postnatal temprana. Está caracterizada por alteraciones fisiológicas a largo plazo y

alteraciones en el comportamiento, incluyendo elevados niveles de glucocorticoides e hiperactividad del eje HPA en respuesta a nuevas situaciones de estrés en la adultez. Murgatroyd y col., (2009) informaron que la arginina vasopresina (AVP) tiene una mayor expresión en el PVN inducida por separación maternal. Además de tener un papel en la homeostasis del agua, la AVP es un regulador clave del eje HPA. La AVP es secretada por neuronas de los núcleos PVN y, en conjunto con el CRF, regula la liberación de hormona adrenocorticotropina (ACTH) (Lolait y col., 2007). El estrés en la vida temprana activa la proteína quinasa II calcio / calmodulina dependiente (CaMKII) y la fosforilación en la serina MeCP2-438 (S438) en PVN, lo que conduce a la liberación de MeCP2 desde el gen AVP. Este proceso se asocia con la activación del gen *Avp* y el aumento de la reactividad del eje HPA, que se mantiene en la edad adulta. Sin embargo, la inducción de genes *Avp* no se acompaña de una activación de CaMKII persistente y de la fosforilación de MeCP2-S438. Más bien, la activación de quinasa y la fosforilación de MeCP2 son seguidos por una desmetilación del promotor del gen *Avp*. Presumiblemente, tanto la activación de CaMKII y la fosforilación de MeCP2 ejercen efectos transcripcionales más allá del gen *Avp*, es por eso que aún sigue siendo un foco de futuras investigaciones. Del mismo modo, las ratas recién nacidas que están expuestas a malos cuidadores durante las primeras semanas postnatales inducen un aumento significativo en la metilación del ADN en regiones reguladoras (exones IV y IX) del gen de BDNF en la corteza prefrontal y el hipocampo, lo que se mantiene de manera persistente es la disminución del BDNF en la corteza prefrontal pero no hipocampo (Roth y col., 2009), tal regulación de la vida temprana de la expresión de BDNF podría influir en la vulnerabilidad a nuevas situaciones de estrés en la vida adulta.

Aunque el papel causal de la metilación del ADN en la regulación transcripcional durante el desarrollo postnatal del cerebro ha sido cuestionada (Edwards y col., 2010), estos estudios de estrés-vida temprana demuestran que metilación del ADN es un mecanismo ideal, al menos desde un punto de vista heurístico, para generar cambios en el potencial transcripcional. El estrés en la vida temprana también puede modificar los niveles de acetilación de histonas a través de cambios en las HDAC. La separación de la madre en ratones BALB / C disminuye los niveles de HDAC en el cerebro anterior adulto, que conduce a un aumento concomitante de lisina acetilada H4 (Levine y col., 2012). La activación de las HDAC y la disminución resultante en H4 acetilada empeora el efecto del estrés, lo que sugiere que la reducción observada en la expresión de HDAC es un proceso adaptativo positivo.

En los roedores, la atención materna tiene efectos a largo plazo sobre las respuestas conductuales y endocrinas al estrés en la descendencia. El cuidado materno para la rata neonata se mide por la frecuencia de lamidos a las crías y por el aseo a ellas (LG). Este comportamiento de (LG) es la principal fuente de estimulación táctil que regula la respuesta

endócrina, cardiovascular y de comportamiento (Zhang y Meaney, 2010). La variación en la conducta maternal es un fenómeno natural, que puede tener efectos a largo plazo sobre los sistemas neuronales que regular el aprendizaje y la memoria, la neuroplasticidad y las respuestas emocionales y de estrés. De hecho, diferentes niveles de cuidado materno pueden profundamente influir sobre los niveles hipocámpales de GR, afectando por lo tanto la regulación del eje HPA por estrés. Como adultos, los hijos de las madres con alto LG muestran incrementos de expresión de GR en el hipocampo y, por lo tanto, una mayor regulación de la retroalimentación negativa por los glucocorticoides en comparación con los animales adultos criados por las madres con bajo LG. Este perfil de expresión en los niveles de GR se ha trazado inversamente a los niveles de metilación en el promotor del gen GR. Los niveles inferiores de metilación mejoran la accesibilidad del promotor para factores de transcripción y proteínas reguladoras de la cromatina, como la proteína de unión a CREB (CBP) (Weaver y col., 2007). Todos los efectos del alto maternaje (alta LG) pueden revertirse en la descendencia adulta por infusión intracerebroventricular de L-metionina, que actúa como un grupo dador de metilos. Del mismo modo, la infusión de la tricostatina A, un inhibidor de HDAC revierte los cambios inducidos por el bajo maternaje (bajo LG) (Zhang y Meaney, 2010). Estos resultados demuestran una vez más la interacción entre la metilación del ADN y de las histonas y muestran que los cambios en el epigenoma establecidos por el medio ambiente durante el desarrollo temprano pueden revertirse mediante enfoques farmacológicos en adultos haciendo hincapié en la plasticidad de la regulación de la cromatina en el cerebro adulto.

Otros comportamientos también dependen de las interacciones madre-hijo. La atención materna es una línea materna de transmisión de comportamiento que está mediada en parte por la alteración a largo plazo de la expresión de la oxitocina en el área hipotalámica medial preóptica (MPOA) y está regulada por el estrógeno (Champagne, 2008).

Una necesidad importante en el campo es extender estos estudios de AVP, GR, y ER α para identificar presumiblemente muchos más genes adicionales cuya metilación puede contribuir aún más a estos fenotipos conductuales. Es necesario seguir trabajando para caracterizar los efectos funcionales de estos y muchas otras modificaciones de promotor observadas en la vulnerabilidad al estrés en toda la vida.

Por lo general, existen decenas a cientos de dinucleótidos CpG en la codificación de regulación y de un gen dado regiones, y la combinación de *on* (CpG desmetilación) y (metilación CpG) señales de *off* en cada sitio CpG que produce un metiloma complejo para cada gen. Debido a cambios en la metilación en distintas regiones de un gen podría ejercer diferentes efectos funcionales. Aún falta mucho por conocer acerca de los patrones de metilación del ADN en genes neuronales.

L-Acetilcarnitina como regulador epigenético

Han pasado ya 50 años y no han sido pocos los medicamentos mecanísticamente distintos para el tratamiento de los trastornos depresivos mayores, a pesar de ello, casi dos tercios de los pacientes no logran la remisión completa de los síntomas con los antidepresivos actualmente disponibles (Preskorn, 2012).

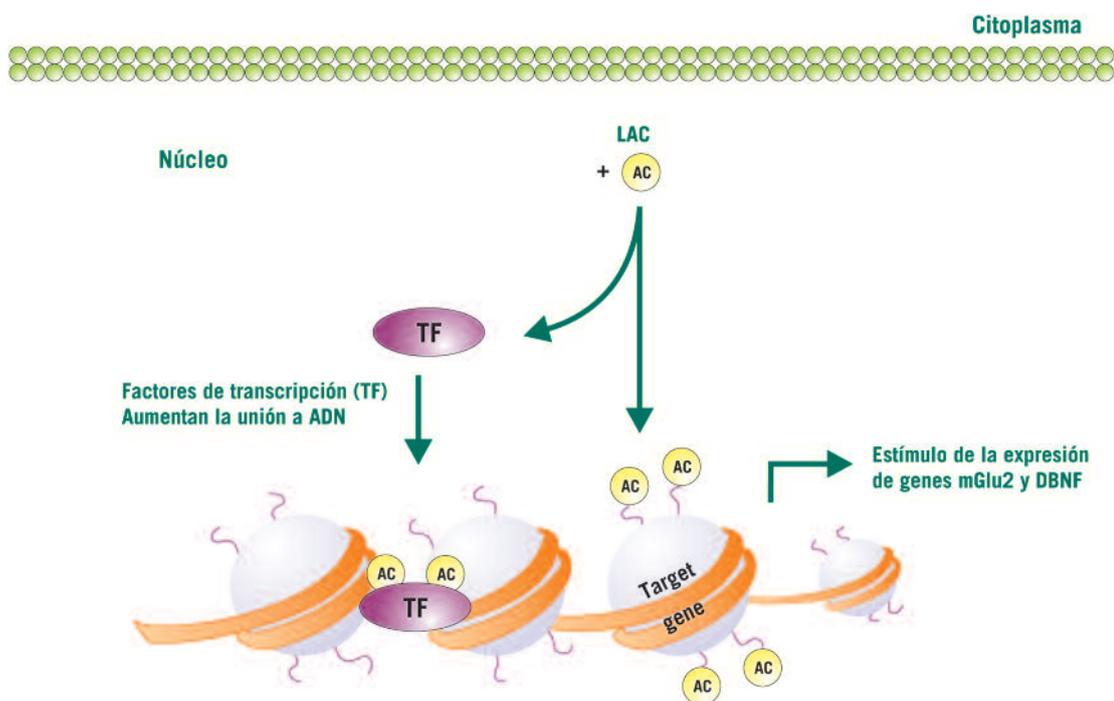
Además, incluso cuando se logra la remisión adecuada, los pacientes requieren entre 2 a 4 semanas de tratamiento antes de que los efectos sean significativos, aumentando el riesgo de complicaciones, como el suicidio (Rush y col., 2009). Este retraso en la eficacia ha generado un impulso importante para identificar y desarrollar nuevas terapias con efectos más rápidos. La reciente identificación de la ketamina como un antidepresivo rápido y eficaz en el tratamiento de pacientes resistentes ha sido pionero (Berman y col., 2000, Murrough y col., 2012). Nasca y col. (2013) describen en PNAS un único potencial antidepresivo de acción rápida, L-acetilcarnitina (L-AC), que es un suplemento dietético que actúa acetilando proteínas para controlar su función. L-AC se informa que es bien tolerado y que puede cruzar fácilmente la barrera hematoencefálica (Barhwal y col., 2009). Sorprendentemente, L-AC exhibe eficacia antidepresiva dentro de los 2-3 días después de la administración intraperitoneal en roedores, en comparación con las 2-3 semanas de tratamiento que es necesario con un antidepresivo estándar, como clorimipramina. Aunque L-AC es relativamente

inespecífica y puede apuntar a muchos procesos biológicos, Nasca y col. sugieren (2013) que puede promover respuestas antidepresivas rápidas por acetilación de las proteínas histonas que controlan la transcripción de BDNF y por receptores metabotrópicos a glutamato (Rush y col., 2009), receptores mGlu2 en el hipocampo (Hipp) y en la corteza prefrontal (PFC) (Figura 1). Uno de los aspectos más impresionantes de este artículo es que Nasca y col. (2013) verifican la eficacia antidepresiva rápida de L-AC tanto en un modelo de rata con susceptibilidad genética como la línea sensible Flinders (FSL) y luego de exposición crónica al estrés, factores que se cree que son la causa principal de la depresión en los seres humanos. Aunque es claramente necesario mucho más trabajo para entender los mecanismos de la acción antidepresiva de ALC en los roedores, la dosis y el perfil de seguridad relativo para el tratamiento de la depresión en los seres humanos, estos resultados son un primer paso hacia ese objetivo.

Hay una creciente literatura que sugiere que el estrés crónico reprograma la expresión génica en regiones del cerebro, tales como la Hipp y núcleo accumbens (NAC), y que la normalización de la maquinaria transcripcional a través de modificaciones postraduccionales de las histonas pueden corregir algunos de los errores en la transcripción de genes y promover respuesta antidepresiva (Tsankova y col., 2007). Los inhibidores de histonas deacetilasas (HDACi) se administran por vía intraperitoneal (Schroeder y col., 2007;

FIGURA 4

Mecanismo de acción de L-AC



Esquema del mecanismo de acción L-acetilcarnitina a nivel central en donde regula la transcripción mediante acetilación de histonas de genes claves en modelos de depresión como la vía glutamatérgica y el factor neurotrófico BDNF.

Adaptado de Nasca y col., 2013)

Tsankova y col., 2006), así como directamente en el Hipp (Covington y col., 2011), amígdala (Covington y col., 2011), y NAC (Covington y col., 2009; Golden y col. 2013), y promueven respuestas de comportamiento antidepresivos luego del estrés. En el NAC, los inhibidores de HDAC han demostrado que pueden normalizar la expresión de genes con perfiles similares a los que son tratados crónicamente con imipramina- y con los ratones control no estresados. El trabajo de Nasca y col. (2013) sugiere mecanismos similares de acción para ALC, mediante el cual se incrementó la acetilación de histonas y la normalización de BDNF o mGlu2 en el Hipp y PFC promoviendo resiliencia luego de un estrés crónico impredecible, en las ratas FSL. Curiosamente, los autores muestran que la normalización de la expresión del receptor mGlu2 a través de un mecanismo epigenético está funcionalmente relacionado con respuestas antidepresivas (Nasca y col. 2013); inhibidores de HDAC normalizan la expresión mGlu2 en ratas FSL y L-AC ha limitado la eficacia antidepresiva en ratones mGlu2 *knockout*. Estos hallazgos son muy interesantes; sin embargo, hay algunas preguntas importantes a considerar. Por ejemplo, en trabajos previos han demostrado que el aumento de BDNF en el hipocampo es antidepresivo (Shirayama y col., 2002), pero el aumento de BDNF en el sistema dopaminérgico mesolímbico es prodepresor (Berton y col., 2006).

Finalmente, es importante señalar que L-AC es un agente de acetilación no específico y es claro en el presente trabajo si las acciones antidepresivas son únicamente resultado de acetilación de las proteínas nucleares, como la transcripción de factores y las histonas, o si que es en parte un resultado de la acetilación de otras proteínas fuera del núcleo (Figura 1). Por ejemplo, acetilación de los microtúbulos que pueden influir en la estabilidad del citoesqueleto neuronal (Sudo y Baas, 2010). Están bien establecido en modelos de depresión que existe una en hipocampo y en corteza prefrontal una desestabilización del citoesqueleto y una pérdida de sinapsis glutamatérgicas excitatorias (Christoffel y col., 2011). Por lo tanto, es tentador especular que L-AC puede intervenir en la estabilidad del citoesqueleto y en la sinapsis glutamatérgica en momentos de estrés o en individuos genéticamente predispuestos. La posibilidad de que la acetilación puede afectar procesos postranscripcionales en los trastornos de estrés no es completamente especulativo. Trabajos recientes han identificado un papel para la desacetilación de histonas, HDAC6, fuera del núcleo a través de sus acciones sobre la proteína de estrés térmico 90 (HSP90), una proteína chaperona importante para el procesamiento proteico (Espallergues y col., 2012). Aunque existen varios ejemplos que resaltan los diversos roles de la acetilación en la función de los sistemas neuronales, se deben profundizar los efectos de L-AC con una serie de objetivos no nucleares. El trabajo de Nasca y col. (2013) representa el tipo de investigación en ciencias básicas que puede ayudar a orientar el desarrollo de nuevos tratamientos para la depresión. La identificación de

antidepresivos de acción rápida, se ha traducido en un nuevo desafío para la generación de terapias antidepresivas.

Conclusiones

La acetilación y metilación de histonas son importantes en numerosos procesos celulares. Recientemente han sido implicadas en varios desórdenes psiquiátricos.

Las investigaciones epigenéticas prometen mejorar nuestra comprensión de los mecanismos por los cuales los individuos presentan muy variadas respuestas a los acontecimientos vitales adversos, tanto durante el desarrollo como en la edad adulta. Los modelos animales de trastornos relacionados con el estrés están empezando a revelar las modificaciones específicas en la cromatina que mantienen estables los patrones de la expresión génica y por lo tanto median la aberrante neuroplasticidad asociada con estos trastornos. Estudios equivalentes se han centrado en las modificaciones de la cromatina que contribuyen a respuestas antidepresivas. Existen diferentes tipos de mecanismos epigenéticos que han sido implicados, incluyendo los cambios con el estrés o inducida por los antidepresivos en el ADN como metilación, acetilación y metilación de histonas, y miRNAs. Sin embargo, las modificaciones examinadas hasta la fecha representan la punta del *iceberg* de la gama diversa y compleja de los mecanismos epigenéticos que probablemente estén implicados en el estrés y en la acción antidepresiva.

Los mecanismos epigenéticos están regulados durante toda la vida en las neuronas, y durante los períodos de mayor sensibilidad al estrés, como la vida temprana, que son particularmente importantes. Aunque varios genes específicos han sido identificados como siendo regulados de forma permanente (por ejemplo, los recursos genéticos en el hipocampo, CRF y AVP en PVN), muchos otros genes probablemente también jueguen un papel en la vulnerabilidad al estrés. Por otra parte, además de alteraciones sostenidas en los niveles de mRNA en el estado estacionario de ciertos genes, el estrés en la vida temprana, probablemente, también modifique el potencial transcripcional de muchos genes adicionales a través de su estimulación epigenética o su desensibilización. La identificación de todos los genes que están regulados epigenéticamente por el estrés, y que son importantes para el control de la vulnerabilidad al estrés a través del ciclo de vida, por lo tanto, requerirá la superposición de varios niveles de análisis. Estos análisis incluyen todo el genoma desde analizar el ARN, su expresión junto con la de la metilación del ADN, modificaciones de las histonas, remodelación de la cromatina y factores de transcripción. Este tipo de trabajo requerirá también de la optimización de las herramientas bioinformáticas que permitan un análisis del conjunto enorme de datos involucrados.

Esta tarea se complica aún más por el gran número de regiones del cerebro involucradas en relación al estrés. No solo cada región del cerebro que se ha investigado de forma independiente, como varios tipos de células neuronales y no neuronales distintas dentro de cada región tendrán que ser

caracterizadas por separado. Por ejemplo, las modificaciones epigenéticas que ocurren en neuronas glutamatérgicas piramidales en la corteza prefrontal son probablemente muy diferentes de los que ocurren en varios subtipos diferentes de interneuronas GABAérgicas, astrocitos y oligodendrocitos. Afortunadamente, estamos viendo la aparición de herramientas que permiten la investigación específica del tipo celular, de las modificaciones de la cromatina en un tejido heterogéneo como el cerebro (203).

Para una comprensión completa de los mecanismos epigenéticos de estrés y la acción antidepressiva, se debe hacer la transición a escala del genoma. Como se señaló anteriormente, la combinación de numerosas modificaciones de la cromatina (204) permitirá el trazado del epigenoma antidepressivo. Estos son solo algunos ejemplos de las nuevas líneas de investigación que potencialmente podrían revelar mecanismos fundamentalmente nuevos que controlen los fenómenos relacionados con el estrés. Por último, ha habido un interés, en las posibles aplicaciones terapéuticas de fármacos dirigidos a enzimas modificadores de la cromatina (211). Por ejemplo, los inhibidores de HDAC que ejercen respuestas de tipo antidepressivo potentes en diversos mode-

los animales. Si tales fármacos ofrecen posibilidades realistas para el descubrimiento de fármacos sigue siendo incierto, dado que la mayoría de las proteínas de modificación en la cromatina se expresan ampliamente en todo el cerebro y en los tejidos periféricos. Por otra parte, no hay duda de que la caracterización epigenética del estrés por diferentes modelos revelará una visión mucho más completa de la gama de proteínas y ncRNAs que median la patología inducida por el estrés, la reversión de la patología con un tratamiento antidepressivo y el desarrollo de dicha patología en individuos resistentes. Este conocimiento proporcionará por primera vez una guía general para los futuros esfuerzos de descubrimiento de fármacos. Es evidente que la modificación de histonas tiene un rol importante en la patofisiología de la depresión. Dependiendo de la región del cerebro y de la modificación de histonas involucrada se activará o reprimirá la expresión de genes asociados con su patofisiología. La gran expectativa es desarrollar estudios de genoma amplio que contribuyan al desarrollo de nuevos biomarcadores de la enfermedad y de esta forma contribuir a optimizar el tratamiento antidepressivo.

Referencias bibliográficas

- Andrus BM, Blizinsky K, Vedell PT, Dennis K, Shukla PK, et al. 2012. Gene expression patterns in the hippocampus and amygdala of endogenous depression and chronic stress models. *Mol. Psychiatry* 17:49–61.
- Bale TL, Baram TZ, Brown AS, Goldstein JM, Insel TR, et al. 2010. Early life programming and neurodevelopmental disorders. *Biol. Psychiatry* 68:314–19.
- Barhwal K, et al. (2009) Acetyl-L-carnitine (ALCAR) prevents hypobaric hypoxia-induced spatial memory impairment through extracellular related kinase-mediated nuclear factor erythroid 2-related factor 2 phosphorylation. *Neuroscience* 161(2):501–514.
- Berger SL. 2007. The complex language of chromatin regulation during transcription. *Nature* 447:407–12.
- Berman RM, et al. (2000) Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biol Psychiatry* 47(4):351–354.
- Berton O, McClung CA, Dileone RJ, Krishnan V, Renthal W, et al. 2006. Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science* 311:864–68.
- Bird A. 2007. Perceptions of epigenetics. *Nature* 447:396–98.
- Bird A. 2008. The methyl-CpG-binding protein MeCP2 and neurological disease. *Biochem. Soc. Trans.* 36:575–83.
- Chahrour M, Jung SY, ShawC,ZhouX,Wong ST, et al. 2008. MeCP2, a key contributor to neurological disease, activates and represses transcription. *Science* 320:1224–29.
- Champagne FA, Weaver IC, Diorio J, Dymov S, Szyf M, Meaney MJ. 2006. Maternal care associated with methylation of the estrogen receptor- α 1b promoter and estrogen receptor- α expression in the medial preoptic area of female offspring. *Endocrinology* 147:2909–15.
- Champagne FA. 2008. Epigenetic mechanisms and the transgenerational effects of maternal care. *Front. Neuroendocrinol.* 29:386–97.
- Chertkow-Deutsher Y, Cohen H, Klein E, Ben-Shachar D. 2010. DNA methylation in vulnerability to post-traumatic stress in rats: evidence for the role of the post-synaptic density protein Dlgap2. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 13:347–59.
- Cheung P, Allis CD, Sassone-Corsi P. 2000. Signaling to chromatin through histone modifications. *Cell* 103:263–71.
- Christoffel DJ, Golden SA, Russo SJ (2011) Structural and synaptic plasticity in stress-related disorders. *Rev Neurosci* 22(5):535–549.
- Chrousos GP. 2009. Stress and disorders of the stress system. *Nat. Rev. Endocrinol.* 5:374–81.
- Covington HE III, Maze I, LaPlantQ, VialouV,Ohnishi Y, et al. 2009. Antidepressant actions of histone deacetylase inhibitors. *J.*

- Neurosci. 22:11451–60.
- Covington HE III, Maze I, Sun H, Bomze HM, DeMaio KD, et al. 2011. A role for repressive histone methylation in cocaine-induced vulnerability to stress. *Neuron* 71:656–70.
 - Covington HE III, Vialou VF, LaPlant Q, Ohnishi YN, Nestler EJ. 2011. Hippocampal-dependent antidepressant-like activity of histone deacetylase inhibition. *Neurosci. Lett.* 493:122–26.
 - de Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. 2005. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 6:463–75
 - Djupedal I, Ekwall K. 2009. Epigenetics: heterochromatin meets RNAi. *Cell Res.* 19:282–95
 - Duman RS, Monteggia LM. 2006. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol. Psychiatry* 59:1116–27.
 - Edwards JR, O'Donnell AH, Rollins RA, Peckham HE, Lee C, et al. 2010. Chromatin and sequence features that define the fine and gross structure of genomic methylation patterns. *Genome Res.* 20:972–80.
 - Elliott E, Ezra-Nevo G, Regev L, Neufeld-Cohen A, Chen A. 2010. Resilience to social stress coincides with functional DNA methylation of the *Crf* gene in adult mice. *Nat. Neurosci.* 13:1351–3.
 - Espallergues J, et al. (2012) HDAC6 regulates glucocorticoid receptor signaling in serotonin pathways with critical impact on stress resilience. *J Neurosci* 32(13):4400–4416.
 - Essex MJ, Thomas Boyce W, Hertzman C, Lam LL, Armstrong JM, et al. 2011. Epigenetic vestiges of early developmental adversity: childhood stress exposure and DNA methylation in adolescence. *Child Dev.* In press, doi: 10.1111/j.1467-8624.2011.01641.x
 - Feinberg AP. 2007. Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease. *Nature* 447:433–40.
 - Fyffe SL, Neul JL, Samaco RC, Chao HT, Ben-Shachar S, et al. 2008. Deletion of *Mecp2* in *Sim1*-expressing neurons reveals a critical role for *Mecp2* in feeding behavior, aggression, and the response to stress. *Neuron* 59:947–58.
 - Gibney ER, Nolan CM. 2010. Epigenetics and gene expression. *Heredity* 105:4–13.
 - Golden SA, et al. (2013) Epigenetic regulation of *RAC1* induces synaptic remodeling in stress disorders and depression. *Nat Med*, 10.1038/nm.3090.
 - Gould TD, O'Donnell KC, Picchini AM, Dow ER, Chen G, Manji HK. 2008. Generation and behavioral characterization of β -catenin forebrain-specific conditional knock-out mice. *Behav. Brain Res.* 189:117–25.
 - Hackman DA, Farah MJ, Meaney MJ. 2010. Socioeconomic status and the brain: mechanistic insights from human and animal research. *Nat. Rev. Neurosci.* 11:651–59.
 - Hao Sheng Sun, Pamela J Kennedy and Eric J Nestler. Epigenetics of the Depressed Brain: Role of Histone Acetylation and Methylation. *Neuropsychopharmacology Reviews* (2013) 38, 124–137.
 - Hervouet E, Vallette FM, Cartron PF. 2009. *Dnmt3*/transcription factor interactions as crucial players in targeted DNA methylation. *Epigenetics* 4:487–99.
 - Hobara T, Uchida S, Otsuki K, Matsubara T, Funato H, et al. 2009. Altered gene expression of histone deacetylases in mood disorder patients. *J. Psychiatr. Res.* 44:263–70.
 - Hollis F, Wang H, Dietz D, Gunjan A, Kabbaj M. 2010. The effects of repeated social defeat on long-term depressive-like behavior and short-term histone modifications in the hippocampus in male Sprague-Dawley rats. *Psychopharmacology* 211:69–77.
 - Hunter RG, McCarthy KJ, Milne TA, Pfaff DW, McEwen BS. 2009. Regulation of hippocampal H3 histone methylation by acute and chronic stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106:20912–17.
 - Hyman SE, Nestler EJ. 1996. Initiation and adaptation: a paradigm for understanding psychotropic drug action. *Am. J. Psychiatry* 153:151–62.
 - Im HI, Hollander JA, Bali P, Kenny PJ. 2010. *MeCP2* controls BDNF expression and cocaine intake through homeostatic interactions with microRNA-212. *Nat. Neurosci.* 13:1120–27.
 - Jenuwein T, Allis CD. 2001. Translating the histone code. *Science* 293:1074–80.
 - Jiang Y, Langley B, Lubin FD, Renthal W, Wood MA, et al. 2008. Epigenetics in the nervous system. *J. Neurosci.* 28:11753–59.
 - Keller S, Sarchiapone M, Zarrilli F, Videtic A, Ferraro A, et al. 2010. Increased BDNF promoter methylation in the Wernicke area of suicide subjects. *Arch. Gen. Psychiatry* 67:258–67.
 - Kim JK, Samaranyake M, Pradhan S. 2009. Epigenetic mechanisms in mammals. *Cell. Mol. Life Sci.* 66:596–612.
 - Kozus E, Rosenfeld MG, Mayford M. 2004. CBP histone acetyltransferase activity is a critical component of memory consolidation. *Neuron* 42:961–72.
 - Krishnan V, Han MH, Graham DL, Berton O, Renthal W, et al. 2007. Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. *Cell* 131:391–404.
 - LaPlant Q, Vialou V, Covington HE III, Dumitriu D, Feng J, et al. 2010. *Dnmt3a* regulates emotional behavior and spine plasticity in the nucleus accumbens. *Nat. Neurosci.* 13:1137–43.
 - Levine A, Worrell TR, Zimnisky R, Schmauss C. 2012. Early life stress triggers sustained changes in histone deacetylase expression and histone H4 modifications that alter responsiveness to adolescent antidepressant treatment. *Neurobiol. Dis.* 45:488–98.
 - Liu D, Diorio J, Tannenbaum B, Caldji C, Francis D, et al. 1997. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* 277:1659–62.
 - Lolait SJ, Stewart LQ, Jessop DS, Young WS III, O'Carroll AM. 2007. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to stress in mice lacking functional vasopressin V1b receptors. *Endocrinology* 148:849–56.
 - Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C. 2009. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat. Rev. Neurosci.* 10:434–45.
 - Lyons DM, Parker KJ, Schatzberg AF. 2010. Animal models of early life stress: implications for understanding resilience. *Dev. Psychobiol.* 52:616–24.
 - Maze I, Covington HE III, Dietz DM, LaPlant Q, Renthal W, et al. 2010. Essential role of the histone methyltransferase *G9a* in cocaine-induced plasticity. *Science* 327:213–16.
 - McEwen BS. 2008. Central effects of stress hormones in health and disease: understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. *Eur. J. Pharmacol.* 583:174–85.
 - Meaney MJ, Szyf M. 2005. Environmental programming of stress responses through DNA methylation: life at the interface between a dynamic environment and a fixed genome. *Dialogues Clin. Neurosci.* 7:103–23.
 - Melas PA, Rogdaki M, Lennartsson A, Bjork K, Qi H, et al. 2011. Antidepressant treatment is associated with epigenetic alterations in the promoter of *P11* in a genetic model of depression. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 15:669–79.
 - Miller CA, Sweatt JD. 2007. Covalent modification of DNA regulates memory formation. *Neuron* 53:857–69.
 - Murgatroyd C, Patchev AV, Wu Y, Micale V, Bockmuhl Y, et al. 2009. Dynamic DNA methylation programs persistent adverse effects of early-life stress. *Nat. Neurosci.* 12:1559–66.
 - Murrough JW, et al. (2012) Rapid and longer-term antidepressant effects of repeated ketamine infusions in treatment-resistant major

depression. *Biol Psychiatry*, 10.1016.

- Nagano T, Fraser P. 2011. No-nonsense functions for long noncoding RNAs. *Cell* 145:178–81.
- Nakahata Y, Sahar S, Astarita G, Kaluzova M, Sassone-Corsi P. 2009. Circadian control of the NAD⁺ salvage pathway by CLOCK-SIRT1. *Science* 324:654–57.
- Nan X, Hou J, Maclean A, Nasir J, Lafuente MJ, et al. 2007. Interaction between chromatin proteins MECP2 and ATRX is disrupted by mutations that cause inherited mental retardation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104:2709–14.
- Nasca C, et al. (2013) L-acetylcarnitine causes rapid antidepressant effects through the epigenetic induction of mGlu2 receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 110:4804–4809.
- Newell-Price J, Clark AJ, King P. 2000. DNA methylation and silencing of gene expression. *Trends Endocrinol. Metab.* 11:142–48.
- Peleg S, Sananbenesi F, Zovoilis A, Burkhardt S, Bahari-Javan S, et al. 2010. Altered histone acetylation is associated with age-dependent memory impairment in mice. *Science* 328:753–56.
- Preskorn SH (2012) Ketamine: The hopes and the hurdles. *Biol Psychiatry* 72 (7):522–523.
- Qureshi IA, Mattick JS, Mehler MF. 2010. Long non-coding RNAs in nervous system function and disease. *Brain Res.* 1338:20–35.
- Rice JC, Allis CD. 2001. Histone methylation versus histone acetylation: new insights into epigenetic regulation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 13:263–73.
- Roth TL, Lubin FD, Funk AJ, Sweatt JD. 2009. Lasting epigenetic influence of early-life adversity on the BDNF gene. *Biol. Psychiatry* 65:760–69.
- Roth TL, Zoladz PR, Sweatt JD, Diamond DM. 2011. Epigenetic modification of hippocampal Bdnf DNA in adult rats in an animal model of post-traumatic stress disorder. *J. Psychiatr. Res.* 45:919–26.
- Rush AJ, et al. (2009) STAR*D: Revising conventional wisdom. *CNS. Drugs* 23 (8):627–647.
- Sapolsky RM. 1996. Stress, glucocorticoids, and damage to the nervous system: the current state of confusion. *Stress* 1:1–19.
- Schmidt HD, Shelton RC, Duman RS. 2011. Functional biomarkers of depression: diagnosis, treatment, and pathophysiology. *Neuropsychopharmacology* 36:2375–94.
- Schroeder FA, Lin CL, Crusio WE, Akbarian S. 2007. Antidepressant-like effects of the histone deacetylase inhibitor, sodium butyrate, in the mouse. *Biol. Psychiatry* 62:55–64.
- Shin LM, Liberzon I. 2009. The neurocircuitry of fear, stress, and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology* 35:169–91.
- Shirayama Y, Chen AC, Nakagawa S, Russell DS, Duman RS (2002) Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *J Neurosci* 22(8):3251–3261.
- Shonkoff JP, Boyce WT, McEwen BS. 2009. Neuroscience, molecular biology, and the childhood roots of health disparities: building a new framework for health promotion and disease prevention. *JAMA* 301:2252–59.
- Sterrenburg L, Gaszner B, Boerrigter J, Santbergen L, Bramini M, et al. 2011. Chronic stress induces sex-specific alterations in methylation and expression of corticotropin-releasing factor gene in the rat. *PLoS ONE* 6:e28128.
- Sudo H, Baas PW (2010) Acetylation of microtubules influences their sensitivity to severing by katanin in neurons and fibroblasts. *J Neurosci* 30(21):7215–7226.
- Sun ZW, Allis CD. 2002. Ubiquitination of histone H2B regulates H3 methylation and gene silencing in yeast. *Nature* 418:104–8.
- Taft RJ, Pang KC, Mercer TR, Dinger M, Mattick JS. 2010. Non-coding RNAs: regulators of disease. *J. Pathol.* 220:126–39.
- Tsankova N, Renthal W, Kumar A, Nestler EJ (2007) Epigenetic regulation in psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 8(5):355–367.
- Tsankova NM, Berton O, Renthal W, Kumar A, Neve RL, Nestler EJ. 2006. Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat. Neurosci.* 9:519–25.
- Uchida S, Hara K, Kobayashi A, Otsuki K, Yamagata H, et al. 2011. Epigenetic status of Gdnf in the ventral striatum determines susceptibility and adaptation to daily stressful events. *Neuron* 69:359–72.
- Uddin M, Koenen KC, Aiello AE, Wildman DE, de los Santos R, Galea S. 2011. Epigenetic and inflammatory marker profiles associated with depression in a community-based epidemiologic sample. *Psychol. Med.* 41:997–1007.
- Uher R. 2011. Genes, environment, and individual differences in responding to treatment for depression. *Harv. Rev. Psychiatry* 19:109–24.
- von Holst D. 1998. The concept of stress and its relevance for animal behavior. *Adv. Study Behav.* 27:1–131.
- Wang Y, Leung FC. 2004. An evaluation of new criteria for CpG islands in the human genome as gene markers. *Bioinformatics* 20:1170–77.
- Weaver IC, D'Alessio AC, Brown SE, Hellstrom IC, Dymov S, et al. 2007. The transcription fac-
- tor nerve growth factor-inducible protein A mediates epigenetic programming: altering epigenetic marks by immediate-early genes. *J. Neurosci.* 27:1756–68.
- Weber M, Schubeler D. 2007. Genomic patterns of DNA methylation: targets and function of an epigenetic mark. *Curr. Opin. Cell Biol.* 19:273–80.
- Yehuda R, McFarlane AC, Shalev AY. 1998. Predicting the development of posttraumatic stress disorder from the acute response to a traumatic event. *Biol. Psychiatry* 44:1305–13.
- Zhang TY, Meaney MJ. 2010. Epigenetics and the environmental regulation of the genome and its function. *Annu. Rev. Psychol.* 61:439–66.