

Epigenetika i depresivni poremećaj

Epigenetics and major depression disorder

Hrvoje Lepeduš^{1*}, Kornelija Mikulaj¹, Koraljka Gall Trošelj^{2*}

Sažetak. Veliki depresivni poremećaj (MDD, od engl. *Major Depressive Disorder*) jedan je od najčešćih psihosomatskih poremećaja, sa snažnom tendencijom porasta broja oboljelih. Do 2020. godine mogao bi postati drugi najveći zdravstveni svjetski problem. Uzroci nastanka bolesti, kao i klinička slika, vrlo su složeni. Ovakva složenost posljedica je aktivnosti velikog broja gena, od kojih svaki „pridonosi“ nastanku i izražaju bolesti s relativno malim udjelom. Sve veći broj rezultata mnogih studija upućuje na važnost epigenetičkih mehanizama regulacije aktivnosti gena, kao poveznicu bioloških i drugih čimbenika koji se povezuju s nastankom depresije. Većina istraživanja pokazuje uzročno-posljedičnu vezu između različitih bioloških i psihosocijalnih čimbenika, s jedne strane, te međuovisne promjene obrazaca metilacije/demetilacije molekule DNK i promjene koda histona, s druge strane. Sve je više podataka o značajnoj ulozi različitih nekodirajućih molekula RNK u nastanku depresivnog poremećaja. Konačno, pokazalo se da mnogi antidepresivi djeluju na epigenom. Ovaj učinak otvara potpuno novo poglavlje u razumijevanju patogeneze i epigenetičke podloge liječenja depresivnog poremećaja.

Ključne riječi: antidepresivi; epigenetika; stres; veliki depresivni poremećaj

Abstract. Major Depressive Disorder (MDD) represents one of the most common psychosomatic disorders with a pronounced increasing incidence. It is expected to become the number two major world health problem by 2020. The causes of MDD as well as its clinical features are very complex. The probable reason for such complexity relates to a large number of genes, being involved in a condition where each gene makes only a minor contribution to the MDD etiology and clinic phenotypes. An increasing number of studies published during last decade have pointed out the importance of epigenetic regulatory mechanisms in affecting gene activity as well as constituting a possible link between biological and other factors related to MDD. Most of the studies have shown causality between different, MDD related biological and psycho-social factors. They have also described mutually controlled processes involved in the regulation of DNA methylation and establishment of histone code. There is a growing body of evidence on the significant role of non-coding RNA molecules in the ethiopathogenesis of MDD. Finally, it was shown that many antidepressive agents exert much influence on the epigenome. Such activity opens a new chapter in understanding the MDD pathogenesis and the basis for epigenome-reshaping related therapy.

Key words: antidepressive agents; epigenetics; major depressive disorder; stress

¹Odsjek za psihologiju, Filozofski fakultet, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Osijek

²Zavod za molekularnu medicinu, Laboratorij za epigenomiku, Institut Ruđer Bošković, Zagreb

***Dopisni autori:**

Prof. dr. sc. Hrvoje Lepeduš
Odsjek za psihologiju, Filozofski fakultet
Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku
L. Jägera 9, 31 000 Osijek
e-mail: hlepedus@yahoo.com,
hlepedus@ffos.hr

Prof. dr. sc. Koraljka Gall Trošelj
Zavod za molekularnu medicinu, Laboratorij
za epigenomiku
Institut Ruđer Bošković
Bijenička cesta 54, 10 000 Zagreb
e-mail: troselj@irb.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

UVOD

Definicija, klinička slika i dijagnoza

Depresija (lat. *depressio*, *depressus* – nizak; *deprimere* – pritisnuti, utisnuti), odnosno veliki depresivni poremećaj (MDD, engl. *Major Depressive Disorder*), jedan je od najčešćih psihosomatskih poremećaja. Iako interes za njega seže unatrag više od 2000 godina, posebna pozornost posvećuje mu se upravo u 21. stoljeću.

Veliki depresivni poremećaj jedan je od najčešćih psihosomatskih poremećaja koji se očituje kroz emocionalne, kognitivne i somatske simptome. Iako točan uzrok bolesti još uvijek nije poznat, sve je više dokaza da nastanak depresije ovisi o mnogim čimbenicima, povezanim s genetskim ustrojem jedinke i stresom, koji modeliranjem epigenoma potiču brojne psihopatološke mehanizme.

Procjenjuje se da od depresije u svijetu trenutno boluje približno 350 milijuna osoba, različitih dobnih skupina. Broj oboljelih u stalnom je porastu. Predviđa se da bi do 2020. godine depresija mogla postati drugi najveći zdravstveni problem u svijetu¹.

Simptomi depresije očituju se kroz emocionalne, kognitivne i somatske poremećaje. Uobičajeni simptomi su tjeskoba, gubitak interesa i zadovoljstva u uobičajenim aktivnostima te smanjena životna energija. Česti simptomi su i poremećaji spavanja, apetita, koncentracije i pažnje, smanjeno samopoštovanje i samopouzdanje, ideje krivnje i bezvrijednosti, pesimizam, ideje o samoozljeđivanju ili samoubojstvu. Somatski simptomi su anhedonija, nedostatak reaktivnosti na uobičajeno ugodnu okolinu i događaje, rano buđenje, pogoršanje depresije u jutarnjim satima, psihomotorna usporenost ili nemir, gubitak apetita i tjelesne mase te smanjenje spolnog nagona. Prema 10. revidiranoj Međunarodnoj klasifikaciji bolesti i srodnih zdravstvenih problema (MKB-10)², konačna dijagnoza depresije postavlja se psihološkom evaluacijom, nakon liječničkog pregleda i laboratorijskih pretraga. Dijagnoza „depresija“ postaviti će se ako se depresivno stanje pojavljuje u epizodama, a prvi simptomi traju minimalno

dva tjedna (potrebna je prisutnost najmanje dva uobičajena i dva druga česta simptoma). Prema težini kliničke slike razlikuju se: blaga depresivna epizoda (F32.0), srednje teška depresivna epizoda (F32.1), teška depresivna epizoda bez psihotičnih simptoma (F32.2), teška depresivna epizoda sa psihotičnim simptomima (F32.3), ostale depresivne epizode (F32.8) te nespecificirane depresivne epizode (F32.9). Ako nakon minimalnog razdoblja od dva mjeseca bez simptoma dođe do nove depresivne epizode, tada se radi o ponavljajućem (rekurentnom) depresivnom poremećaju.

Etiologija depresije – znanstvena zen avantura: „Kad pogodiš cilj, promašio si sve ostalo!“

Rizik za obolijevanje od depresije je približno 15 %. Bolest se javlja u ljudi različite dobi i dva puta češće u žena u odnosu na muškarce. Simptomi bolesti su, kao što je već rečeno, vrlo raznoliki i uzrokuju značajne psihosocijalne teškoće. Zbog navedenih razloga, ova bolest predstavlja i veliko financijsko opterećenje za zdravstvene sustave. Bolest se ne može spriječiti ako se ne poznaje njezin uzrok, a teorije o uzrocima nastanka depresije su, na temelju brojnih istraživanja, objedinjene u dvije temeljne skupine: biološke i psihosocijalne.

Biološke teorije temelje se na rezultatima nekoliko različitih istraživačkih pravaca. Neurobiokemijska istraživanja usredotočena su na mehanizme kojima se regulira razina različitih neurotransmitora, poglavito monoaminskih (serotonin, dopamin, norepinefrin). Otuda i naziv „monoaminska teorija“, koja se tumači na dva načina. Prvo se tumačenje temelji na činjenici da je razina monoaminskih neurotransmitora promijenjena zbog poremećaja u njihovoj biosintezi, pohrani ili oslobađanju u sinaptičku pukotinu. Drugo tumačenje podrazumijeva da je razina neurotransmitora optimalna, ali je poremećeno djelovanje postsinaptičkih receptora i/ili provođenje signala u postsinaptičkim neuronima.

Budući da su monoaminski neurotransmitori vezani uz dijelove mozga koji moduliraju emocije, spoznavanje i pažnju (frontalni korteks), apetit, spolni nagon, osjećaj zadovoljstva (hipotalamus), motoriku (mali mozak) te ponašanje vezano uz nagrađivanje i motivaciju (*nucleus accumbens* i

prefrontalni korteks), dugo vremena se pretpostavljalo da su upravo oni odgovorni za pojavu različitih simptoma karakterističnih za depresivni poremećaj.

Neka su istraživanja pokazala da bi, osim spomenutih monoaminskih neurotransmitora, i neke druge molekule: GABA (engl. *Gamma-Aminobutyric Acid*), glutamat, neuroaktivni steroidi, opiodi, kolekistokinin, histamin i nikotin) mogle biti uključene u nastanak depresije. Iako se u dijelu oboljelih od depresije stanje popravilo upotrebom različitih antidepresiva koji moduliraju razinu određenih neurotransmitora, ne postoji jasan dokaz o točno određenom neurotransmitoru i/ili njegovom prekursoru koji bi mogao imati ključnu ulogu u nastanku depresije³.

Biološka teorija upotpunjena je i spoznajama o specifičnim neuroendokrinim promjenama koje prate pojavu depresije u dijelu oboljelih (povišena razina kortizola združena s poremećajem cirkadijanog ritma, poremećeno funkcioniranje osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda (HHN) i osovine hipotalamus-hipofiza-štitna žlijezda (HHT))⁴, naročito onih koji su bili izloženi dugotrajnom stresu. Poznato je da biološki odgovor na kronični stres dovodi do poremećaja u funkcioniranju HHN-a i HHT-a, što rezultira povišenom razinom glukokortikoida (najčešće kortizola). Povišena razina kortizola dovodi se u vezu s oštećenjem neurona u hipokampusu i smanjenjem njegovog volumena te, u konačnici, do povećanog rizika za nastanak depresivnog poremećaja⁵.

Uvođenjem sofisticiranih, informativnih slikovnih metoda i tehnika (magnetska rezonancija i funkcionalna magnetska rezonancija, pozitronska emisijska tomografija), biološki aspekt istraživanja etiologije depresije poprimio je novu dimenziju. Do uvođenja ovih metoda u kliničku praksu patološko-anatomska istraživanja na ljudima bila su moguća isključivo *post mortem*, na tkivu oboljelih od depresivnog poremećaja koji su počinili samoubojstvo. Istraživanja su pokazala da u oboljelih od depresivnog poremećaja dolazi do patoloških promjena u dijelovima mozga koji su funkcionalno bili povezani sa simptomima depresije: amigdala (smanjena gustoća glija stanica, povećan protok krvi i povišena metabolička aktivnost), prefrontalni korteks (smanjenje volumena sive tvari, slabiji protok krvi, snižen metabolizam te

povećanje lezija u bijeloj tvari), hipokampus (smanjena aktivnost povezana sa smanjenjem volumena sive tvari i broja neurona, slabiji protok krvi i vezanje serotonina te snižen metabolizam), prednji cingularni korteks (slabiji protok krvi i snižen metabolizam, posebno u dorzalnoj regiji) te bazalni gangliji posebno u području striatuma (smanjeni volumen, gustoća neurona, protok krvi i snižena metabolička aktivnost)⁶.

Najbolje istražen dio mozga povezan s depresijom je hipokampus, ponajviše zbog toga što ima ključnu ulogu u učenju i pamćenju. Dodatno, poremećaji u ovom dijelu mozga mogu biti odgovorni za neprikladne emocionalne reakcije na podražaje iz okoline⁷. Istraživanja pokazuju da promjene u plastičnosti sinapsi, u specifičnim dijelovima središnjeg živčanog sustava, posebno u hipokampusu, mogu biti ključan čimbenik u razvoju depresije⁸. Abnormalna plastičnost može biti povezana s promjenama u razini neurotrofnih čimbenika, posebno čimbenika BDNF-a (engl. *Brain-Derived Neurotrophic Factor*). Snižena razina BDNF-a povezana je sa smanjenjem volumena hipokampusa, najvjerojatnije zbog atrofije neurona CA3⁹. Također, čimbenik BDNF povezuje se i s proliferacijom stanica u dentatnom girusu hipokampusa, što je jedno od nekoliko mjesta neurogeneze *de novo*, u mozgu odraslih. Davanje antidepresiva kroz dulji vremenski period dovodi do pojačanog izražaja čimbenika BDNF-a te do povećanja volumena hipokampusa³.

Konačno, činjenica je i da se depresivni poremećaj učestalo pojavljuje u članova nekih obitelji. Rizik od nastanka oboljenja je dva do tri puta veći u potomaka oboljelih osoba, u odnosu na potomke osoba koje nemaju depresivni poremećaj. Ovaj podatak ukazuje na značaj genetskih čimbenika u etiologiji depresije¹⁰. Nadalje, istraživanja vezana uz članove obitelji u kojima se često dijagnosticirala depresija, ukazala su i na postojanje dodatnih afektivnih poremećaja (anksiozni poremećaj, bipolarni poremećaj) u obitelji. Ovi podatci, dobiveni na temelju epidemioloških istraživanja, upućuju na moguću etiološku povezanost, odnosno na zajedničke nasljedne čimbenike rizika vezane uz nastanak depresije¹¹.

Istraživanja u području genetike uglavnom su usredotočena na pokušaje identificiranja genskih lokusa na kojima bi se trebali nalaziti geni odgo-

vorni za nastanak bolesti. U ovim su se istraživanjima koristile metode kojima se pokušala analizirati cjelogenomska povezanost (GWAS, engl. *Genome-Wide Association Studies*), najčešće analizom polimorfizama pojedinačnih nukleotida (SNPs, engl. *Single-Nucleotid Polymorphisms*). Nažalost, za razliku od nekih drugih bolesti i poremećaja (npr. shizofrenija), u istraživanju u kojem se ovaj pristup pokazao uspješnim, uspjeh je, u području istraživanja depresije, izostao. Naime, nije identificiran niti jedan lokus koji bi se nedvoj-

Epigenetički mehanizmi regulacije aktivnosti gena obuhvaćaju metilaciju molekule DNK, posttranslacijske modifikacije histona te utišavanje gena djelovanjem malih interferirajućih molekula RNK. Istraživanja pokazuju uzročno-posljedičnu vezu između različitih bioloških i psihosocijalnih čimbenika nastanka depresije s epigenetičkim mehanizmima regulacije aktivnosti gena. Konačno, pokazalo se da mnogi antidepresivi djeluju izravno na epigenom.

beno mogao smatrati značajnim za objašnjenje etiologije depresivnog poremećaja. Treba napomenuti da su, u novije vrijeme, polimorfizmi u nekim genima pokazani kao statistički značajno učestaliji u osoba oboljelih od depresije (na primjer, polimorfizam rs334558 u genu *GSK3β* (engl. *Glycogen Synthase Kinase 3 Beta*)¹². Nemogućnost povezivanja jednog, ili manjeg broja gena, s nastankom depresije odraz je složene etiologije ove bolesti za nastanak koje je potrebno sudjelovanje velikog broja gena, pri čemu svaki ima malen pojedinačni doprinos kliničkoj slici bolesti (procjenjuje se da je svaki peti gen izražen u mozgu uključen u nastanak depresije).

Dodatni problem predstavlja i nemogućnost točnog kliničkog razlučivanja depresivnog poremećaja koji se može javljati zasebno, ili kao dio kliničke slike neke druge duševne bolesti. Također, značajne razlike u pojavi depresije i nastanku drugih sindroma povezanih s izloženošću stresu u blizanaca, jasno upućuju na važnost dodatnih etioloških čimbenika¹³.

Posljednje je desetljeće obilježio velik pomak u razumijevanju interakcije gena i njihovih produkata s čimbenicima okoliša u razvoju duševnih

poremećaja. Napredak u molekularnoj biologiji omogućio je uvid u epigenetičke mehanizme djelovanja koji su, kako se pokazalo, izuzetno osjetljivi na utjecaje iz okoliša. Iznimno važna posljedica epigenetičkog modeliranja promjena je aktivnosti gena¹⁴, koja, u kontekstu izloženosti utjecajima okoliša, predstavlja dio prilagodbe. Ova se prilagodba odražava i na funkciji neurona, i, posljedično, na promjene u ponašanju. Shodno tome, sve je više dokaza koji upućuju na značaj epigenetičkih promjena u određenim područjima mozga¹⁵.

Ipak, stručnjaci upozoravaju da bi prevelik interes za biološku podlogu nastanka depresije mogao skrenuti pozornost s ništa manje važnih, psihosocijalnih čimbenika, kao uzroka ove bolesti. Važno je razumjeti da se mehanizmi djelovanja vezani uz ove dvije skupine čimbenika nadopunjuju, a rezultati sve većeg broja istraživanja pokazuju da bi upravo epigenetika mogla biti njihova funkcionalna poveznica¹⁶. Na temelju dosadašnjih saznanja moguće je zaključiti da nastanak depresije ovisi o mnogim čimbenicima, povezanim s genetskim ustrojem jedinke i stresom, koji modeliranjem epigenoma potiču brojne psihopatološke mehanizme.

TEMELJNI EPIGENETIČKI MEHANIZMI U REGULIRANJU AKTIVNOSTI GENA

Jedno od temeljnih saznanja u području biologije, vezano uz život svake stanice i svake jedinke, veže se uz čimbenike/događaje koji određuju koji će geni u točno određenim stanicama (tkivima) i u kojem vremenskom intervalu, biti izraženi. S obzirom na interakciju nemjerljivo velikog broja različitih signala iz okoliša na jedan složen organizam, važnost usklađenosti ovih dinamičkih događanja prepoznata je tek u postgenomskoj eri. Prepoznavanje postojanja većeg broja promotora u ciljnom genu, alternativno prekrivanje primarnih transkripata, posttranslacijske modifikacije proteina i cijela kolekcija različitih, nekodirajućih malih molekula RNK, dodatno ukazuje na složenost mogućih interakcija. Tri najdetalnije istražena epigenetička mehanizma regulacije aktivnosti gena obuhvaćaju metilaciju molekule DNK, posttranslacijske modifikacije histona, te utišavanje gena djelovanjem malih interferirajućih molekula RNK¹⁷. Pri tome je vrlo važno istaknuti koordinira-

no djelovanje svih ovih mehanizama u stanici, čime se postiže homeostaza koju obilježava vrlo precizno usklađivanje odvijanja vrlo složenih procesa.

Metilacija molekule DNK odvija se kovalentnim vezanjem metilne skupine na 5. atom ugljika citozina u otočiću CpG (područja dulja od 500 parova baza koja imaju više od 55 % nukleotida s bazama C i G)^{18,19}. U pravilu, metilacija molekule DNK za posljedicu ima utišavanje aktivnosti gena. Ovaj se fenomen temelji na dvjema dobro znanim pojavama: 1. metilacija uzrokuje promjenu konformacije dijela molekule DNK (prijelaz iz konformacije A-DNK u Z-DNK) čime veliki utvor u molekuli DNK postaje plošan, tj. iščezava. Zbog toga se gube „mjesto prepoznavanja“ specifičnih sljedova molekule DNK od strane čimbenika transkripcije. Posljedično, izostaje njihovo vezanje za molekulu DNK; i 2. dodatno, u stanici postoje proteini MeCP2 (engl. *Methyl Cytosine Binding Proteins*) koji se vežu upravo na metilirane otočiće CpG. Ako su vezani za metilirani DNK promotora gena – izostaje vezanje čimbenika transkripcije²⁰. S obzirom na to da približno 56 % gena u čovjeka, u području promotora, posjeduje otočiće CpG, jasno je da je reguliranje aktivnosti upravo ovih gena usko povezano sa statusom metilacije njihovih promotora.

Posttranslacijske modifikacije histona predstavljaju osnovu temeljnog mehanizma kojim se remodelira kromatin. Neke su modifikacije jako dobro proučene: acetilacija lizilnih, metilacija arginilnih (mono-ili di-) i lizilnih (mono-, di- ili tri-) te fosforilacija serilnih, treonilnih i tirozilnih aminokiselinskih ostataka. Osim ovih, postoje i modifikacije o kojima se zna puno manje: ubikvitinacija, sumoilacija, krotonilacija, formilacija i propionilacija/butirilacija lizilnih ostataka te ADP ribozilacija i citrulinacija. Raznolike kombinacije ovih modifikacija čine kôd histona (od engl. *histone code*)²¹. Funkcionalni značaj acetilacije histona u odnosu na aktivnost gena naročito je dobro proučen. Enzimi deacetilaze histona (HDAC, engl. *Histone Deacetylase*) uklanjaju negativno nabijene acetilne skupine iz N-terminusa histona (tzv. repova), pri čemu dolazi do kondenzacije kromatina. S obzirom na to da se ovo događa i u područjima promotora gena, funkcionalna posljedica je njihovo utišavanje zbog onemogućenog vezanja čimbeni-

ka transkripcije. Paralelno s procesom remodeliranja kromatina, deacetilacija histona aktivira DNK-metiltransferazu, koja lokalno metilira molekulu DNK u području promotora i dodatno utišava aktivnost gena.

Enzimi s antagonističkim načinom djelovanja, acetilaze histona (HAC, engl. *Histone Acetylase*), sudjeluju u aktiviranju gena kataliziranjem dodavanja acetilne skupine, čime se oslabljuje veza između negativno nabijene molekule DNK i histona. Zbog toga se kromatin „otvara“, čime se potakne aktivnost gena: a) olakšanim vezanjem čimbenika transkripcije i b) onemogućavanjem pristupa DNK-metiltransferaza molekuli DNK²².

Međuvodno mijenjanje obrazaca metilacije molekule DNK i acetilacije histona predstavlja do danas najbolje istražen epigenetički mehanizam regulacije ekspresije gena tijekom razvojnih, tkivno-specifičnih i patoloških promjena u organizmu.

Konačno, regulacija ekspresije gena ovisna o malim molekulama RNK naziva se RNK interferencijom (RNKi). Ovaj mehanizam dovodi do utišavanja aktivnosti gena na posttranskripcijskoj razini, na različite načine – poticanjem/usmjeravanjem cijepanja transkripta, inhibicijom procesa translacije ili neizravnim djelovanjem na strukturu kromatina (poticanje stvaranja heterokromatina)²³.

REMODELIRANJE EPIGENOMA I DEPRESIVNI POREMEĆAJ

Promjene metilacije molekule DNK

Rezultati sve većeg broja istraživanja pokazuju da bi upravo epigenetički mehanizmi mogli pojasniti postojeće nedoumice vezane uz depresivni poremećaj: način nasljeđivanja depresije, razloge za različitu incidenciju poremećaja u istovjetnih blizanaca, veću prevalenciju depresije u žena u odnosu na muškarce te depresije nastale u ljudi koji su bili izloženi snažnom stresu²⁴. Većina studija, u kojima se depresivni poremećaj pokušao povezati s epigenetičkim promjenama, temelji se na istraživanju obrazaca metilacije molekule DNK. Sabunciyan i sur.²⁵ proveli su prvu veliku studiju EWAS (engl. *Epigenome-Wide Association Studies*) kojom je istražen poremećaj obrasca metilacije molekule DNK izdvojene iz frontalnog korteksa 39 oboljelih od depresivnog poremećaja, u odno-

su na 27 kontrolnih uzoraka. Analizirano je ukupno 3,5 milijuna otočića CpG. Na temelju povećane razine metilacije molekule DNK (više od 10 %), otkrivena su 224 razlikovno metilirana područja (DMR, engl. *Differentially Methylated Region*). Autori su detaljno analizirali 17 područja DMR-a. Kriterij odabira bio je smještaj točaka DMR-a u blizini gena povezanih s rastom i razvojem neurona, a koji su u ovom modelu bili utišani. Najveća razlika u metiliranoosti molekule DNK (12 – 15 % viša u oboljelih u odnosu na kontrolu) otkrivena je u području gena *PRIMA1* (engl. *Prolin Rich Membrane Anchor 1*), razina čijeg je transkripta bila dvostruko niža u odnosu na kontrolu. Uloga istoimenog proteina je organiziranje acetilkolinesteraze u tetramere koji interagiraju s neuronskim staničnim membranama. Snižena razina *PRIMA1*, nastala kao posljedica prekomjerne metiliranoosti molekule DNK, mogla bi značajno pridonijeti smanjenju funkcije istoimenog proteina. Ovo bi bilo kompatibilno s kliničkom slikom depresivnog poremećaja. Nadalje, za neke je biokemijske biljege depresije pokazana podudarnost obrazaca metilacije molekule DNK u uzorcima krvi s uzorcima mozga dobivenih *post mortem*. Snižena razina metilacije molekule DNK izdvojene iz leukocita periferne krvi, i to u više od 360 otočića CpG, utvrđena je u neliječenih osoba oboljelih od depresivnog poremećaja, u odnosu na kontrolnu skupinu. Neki od ovih otočića nalaze se u promotorima gena čija je povišena ekspresija prethodno povezana s depresivnim poremećajem (npr. *CAPRIN1*, engl. *Cell Cycle Associated Protein 1*; *CITED2*, engl. *cAMP-Response Element Binding Protein/p300-Interacting Transactivator with Glu/Asp-Rich Carboxy-Terminal Domain-2*; *DGKH*, engl. *Diacylglycerol Kinase*; *GSK3β* i *SGK1*, engl. *Serum/Glucocorticoid Regulated Kinase 1*)^{26,27}.

Nadalje, usporedbom obrazaca metilacije molekule DNK istovjetnih blizanaca utvrđena je značajna razlika u području određenih gena, od kojih su neki kandidati za razvoj depresivnog poremećaja (npr. *WDR26*, engl. *WD Repeat Domain 26*)²⁸. Bez obzira na to je li utvrđena razlika stohastička ili je uvjetovana određenim utjecajem okoliša, ova opažanja pomažu u razumijevanju razlika u sklonosti obolijevanju, u istovjetnih blizanaca. Najnovija studija, u kojoj su uspoređeni obrasci

metilacije molekule DNK u stanicama periferne krvi, spermija i prefrontalnog korteksa istovjetnih blizanaca (neoboljelih i oboljelih od depresivnog poremećaja) i još nekoliko skupina ispitanika, ukazala je na različitost obrazaca. Zanimljivo, snaga razlike ovisila je i o starosti ispitanika, i o njihovom podrijetlu (što se pokušalo protumačiti različito dugačkim trajanjem djelovanja različitih čimbenika okoline)²⁹.

Također, vrlo su značajna i istraživanja metilacije gena koji kodira čimbenik BDNF. Ovaj je protein uključen u reguliranje mehanizama koji omogućuju preživljavanje neurona i ključan je za uspostavu i održavanje neuralne plastičnosti i kognitivnih funkcija³⁰. U oboljelih od depresivnog poremećaja je, u usporedbi s kontrolnom skupinom, utvrđena povišena razina metilacije molekule DNK u području promotora gena *BDNF*. Ova je pojava korelirala sa sniženom razinom proteina BDNF i u uzorcima krvi i u uzorcima tkiva mozga, *post mortem*³¹.

Promjene koda histona i razine malih molekula RNK

Istraživanja posttranslacijskih modifikacija histona ukazala su na značaj usklađivanja djelovanja ovog epigenetičkog mehanizma s metilacijom molekule DNK u patogenezi depresivnog poremećaja. Povišena razina mRNK za deacetilaze histona 2 i 5 (HDAC2 i HDAC5) utvrđena je u perifernoj krvi neliječenih – oboljelih od depresivnog poremećaja, u odnosu na kontrolnu skupinu³². Aktivnost ovih gena mijenjala se ovisno o tijeku bolesti – u remisiji je bila slična aktivnosti u ispitanika kontrolne skupine.

S druge strane, snižena razina proteina HDAC2 pokazana je u tkivu mozga (*nucleus accumbens*) depresivnih bolesnika³³. Ove razlike mogle bi biti posljedica epigenetičke različitosti leukocita i tkiva mozga, ali i činjenice da se u prvoj studiji³² mjerio mRNK, a u drugoj³³ protein.

Nadalje, dokazano je da aktivirajuća trimetilacija četvrtog lizinskog repa histona H3 (H3K4me3) korelira s povišenom razinom ekspresije gena *SYN2* (gen kodira nastanak proteina SYN2; člana obitelji sinapsina za koje je poznato da imaju izuzetno važnu ulogu u nastanku različitih neuropsihijatrijskih poremećaja), *post mortem*³⁴. Budući da modifikacija H3K4me3 ostaje stabilna tijekom au-

tolize, ovi rezultati posebno su značajni za epigenetičke studije u kojima se koriste tkiva umrlih osoba.

Konačno, uloga različitih nekodirajućih molekula RNK pokazala se važnom za stvaranje potpune slike o epigenetičkoj regulaciji depresivnog poremećaja. Prva provedena istraživanja, u kulturama stanica neurona i na animalnim modelima, pokazala su da prekomjerna ekspresija određenih molekula mikro RNK (engl. *micro RNA*; miR), miR-18a i miR-124a, djeluje represivno na akumulaciju glukokortikoidnih receptora^{35,36}.

Ova istraživanja mogla bi, barem djelomično, objasniti povezanost depresije s fiziologijom stresa, s obzirom na to da oboljeli od depresije imaju smanjenu akumulaciju glukokortikoidnih receptora i povišenu razinu kortizola u plazmi i cerebrospinalnoj tekućini. Analiza ispoljavanja miR u prefrontalnom korteksu neliječenih osoba koje su bolovale od depresivnog poremećaja i počinile samoubojstvo pokazuju sniženu ekspresiju 21 različite molekule miR, u odnosu na kontrolnu skupinu³⁷. Iako uloga molekula miR u etiologiji depresivnog poremećaja nije razjašnjena, cirkulirajuće miR u krvi i cerebrospinalnoj tekućini privlače velik interes istraživača zbog toga što su stabilne i mogle bi biti korisni biljezi.

ANTIDEPRESIVI MIJENJAJU EPIGENOM – „STARI IZAZOVI, NOVE MOGUĆNOSTI“

Etiološka složenost depresivnog poremećaja i nemogućnost razumijevanja njegovog nastanka otvorila je put različitim psihosocijalnim i kognitivno-bihevioralnim pristupima liječenju. U depresiji je u znatnoj mjeri smanjeno izlučivanje norepinefrina i serotonina, pa su najčešće korištene vrste antidepresiva neselektivni i selektivni inhibitori ponovne pohrane serotonina (SSRIs, engl. *Serotonin-Specific Reuptake Inhibitors*), neselektivni inhibitori monoaminooksidaze (MAOIs, engl. *Monoamine Oxidase Inhibitors*) te selektivni inhibitori monoaminooksidaze tipa A.

U pravilu, oboljeli osjeća poboljšanje nakon nekoliko tjedana uzimanja lijeka. Pri tome se posebno ističe: „... *uputno je slijediti uobičajena pravila dobre kliničke prakse koja se tiču izbora antidepresiva i njegova profila nuspojave i interakcija s drugim lijekovima u starijih osoba.*“³⁸

Istraživanja epigenetičke podloge nastanka depresivnog poremećaja nužno uključuju i bolesnike koji su uzimali lijekove, antidepresive. Pokazalo se da velik broj ovih lijekova izravno djeluje na epigenom, snižavanjem razine metilacije molekule DNK. Npr. triciklički antidepresivi, amitriptilin i imipranim, snizili su razinu metilacije molekule DNK u primarnim astrocitima štakora. Ovi antidepresivi inhibiraju katalitičku aktivnost DNK metiltransferaze tipa 1 (DNMT1, engl. *DNA Methyltransferase 1*), i to tako da smanjuju razinu histon metiltransferaze G9a, koja je dobro znani poticatelj aktivnosti DNMT1³⁹. Poznato je i da valproat, inhibitor deacetilaza histona, lijek odobren za liječenje epilepsije i bipolarnog poremećaja, potiče globalno smanjenje razine metilacije molekule DNK u embrionalnim stanicama bubrega čovjeka i u stanicama jetra štakora⁴⁰. Pokazano je i da antipsihotik klozapin potiče s demetilaciju molekule DNK u frontalnom korteksu mozga i striatumu štakora⁴¹. Vrlo su značajna otkrića vezana uz BDNF, kao medijatora učinaka liječenja antidepresivima iz skupine SSRI. U mnogim je studijama pokazano da antidepresivi ove skupine povećavaju razinu BDNF-a upravo u područjima mozga koja se vezuju uz nastanak depresije⁴².

Nekoliko studija pokazalo je da se epigenetički mehanizam ovakvog djelovanja antidepresiva temelji na modifikaciji histona, točnije – sniženoj trimetilaciji lizilnog ostatka 27 u histonu H3 (H3K27me3), u promotoru egzona IV gena *BDNF*⁴³. Nadalje, djelovanje antidepresiva escitaloprama (SSRI) tijekom 12 tjedana liječenja, uzrokovalo je razlikovnu ekspresiju 30 različitih molekula miR, od čega su 28 bile povišene, a dvije izrazito smanjeno eksprimirane⁴⁴. Za neke je od ovih, pojačano izraženih miR molekula (miR-132, miR-26a, miR26b i miR-182) poznato da su uključene u regulaciju neurogeneze i plastičnosti sinapsi, te razine proteina BDNF-a⁴⁵.

Iako se broj istraživanja u području epigenetike značajno povećao, moglo bi se ipak reći da su ova istraživanja tek u začetku. Dosadašnji rezultati ukazuju na važnost epigenetičkih mehanizama u regulaciji aktivnosti mnogih gena koji se smatraju važnima za nastanak depresije. Tipični epigenetički mehanizmi regulacije njihove aktivnosti u ovoj bolesti (metilacija/demetilacija molekule DNK, modifikacije histona i razlikovno očitovanje razli-

čitih nekodirajućih molekula RNK) mogli bi biti ključni ne samo za razumijevanje patogeneze ove bolesti, nego i za razumijevanje djelovanja anti-depresiva.

Stoga je realno očekivati da bi novootkriveni mehanizmi regulacije aktivnosti epigenoma u razdoblju koje će uslijediti mogli pomoći u predviđanju nastanka i kliničkog tijeka bolesti. Ovo bi pridonijelo razvoju novih lijekova čije bi se djelovanje temeljilo upravo na reverziji epigenetičkih modifikacija molekula, kojih je aktivnost, zbog aberantnih epigenetičkih promjena u oboljelih od depresivnog poremećaja, promijenjena.

Izjava o sukobu interesa: autori izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

LITERATURA

1. Depression [Internet]. Geneva: World Health Organization [cited 2017 Jan 30]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/>.
2. Hrabak-Žerjavić V, Katalinić D. Mentalni poremećaji i poremećaji ponašanja. In: Kuzman M (ed). Međunarodna klasifikacija bolesti i srodnih zdravstvenih problema – deseta revizija, svezak 1. – drugo izdanje. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Medicinska naklada, 2012;289–91.
3. Kharade SM, Gumate DS, Naikwade NS. A review: hypothesis of depression and role of antidepressant drugs. *Int J Pharm Pharm Sci* 2010;2:36.
4. Bondy B. Pathophysiology of depression and mechanisms of treatment. *Dialogues Clin Neurosci* 2002;4:7–20.
5. Sheline YI, Wang PW, Gadots MH, Csernansky JG, Vannier MW. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:3908–13.
6. Kasala ER, Bodduluru LN, Maneti Y, Thipparaboina R. Effect of meditation on neurophysiological changes in stress mediated depression. *Complement Ther Clin Pract* 2014;20:74–80.
7. Palazidou E. The neurobiology of depression. *Br Med Bull* 2012;101:127–45.
8. Pittenger C, Duman RS. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 2008;33:88–109.
9. Briz V, Liu Y, Zhu G, Bi X, Baudry M. A novel form of synaptic plasticity in field CA3 of hippocampus requires GPER1 activation and BDNF release. *J Cell Biol* 2015;210:1225–37.
10. Sullivan PF, Neale MC, Kendler KS. Genetics epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *Am J Psychiatry* 2000;157:1552–62.
11. Rush AJ, Zimmerman M, Wisniewski SR, Fava M, Hollon SD, Warden D et al. Comorbid psychiatric disorders in depressed outpatients: demographic and clinical features. *J Affect Disord* 2005;87:43–55.
12. Liu S, Wang L, Sun N, Yang C, Liu Z, Li X et al. The gender-specific association of rs334558 in GSK3β with major depressive disorder. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2017;96:e5928. [cited 2017 Jan 20]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5279103/>.
13. Flint J, Kendler KS. The genetics of major depression. *Neuron* 2014;81:484–503.
14. Roy M, Tapadia MG, Joshi S, Koch B. Molecular and genetic basis of depression. *J Genet* 2014;93:879–92.
15. Roth TL. Epigenetic mechanisms in the development of behaviour. *Dev Psychopathol* 2013;25:1279–91.
16. Nestler EJ, Pena CJ, Kundakovic M, Mitchell A, Akbarian S. Epigenetic basis of mental illness. *Neuroscientist* 2016;22:447–63.
17. Graff J, Mansuy IM. Epigenetic codes in cognition and behaviour. *Behav Brain Res* 2008;192:70–87.
18. Takai D, Jones PA. Comprehensive analysis of CpG islands in human chromosomes 21 and 22. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:3740–5.
19. Bock C, Walter J, Paulsen M, Lengauer T. CpG island mapping by epigenome prediction. *PLoS Comput Biol* [Internet]. 2007;3:e110. [cited 2007 Jun 8]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pcbi.0030110>.
20. Du Q, Luu PL, Storzaker C, Clark SJ. Methyl-CpG-binding domain proteins: readers of the epigenome. *Epigenomics* 2015;7:1051–73.
21. Önder Ö, Sidoli S, Carroll M, Garcia BA. Progress in epigenetic histone modification analysis by mass spectrometry for clinical investigations. *Expert Rev Proteomics* 2015;12:499–517.
22. Zhang T, Cooper S, Brockdorff N. The interplay of histone modifications – writers that read. *EMBO Rep* 2015;16:1467–81.
23. Vialou V, Feng J, Robinson AJ, Nestler EJ. Epigenetic mechanism of depression and antidepressant action. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2013;53:59–87.
24. Mill J, Petronis A. Molecular studies of major depressive disorder: the epigenetic perspective. *Mol Psychiatry* 2007;12:799–814.
25. Sabunciyani S, Aryee MJ, Irizarry RA, Rongione M, Webster MJ, Kaufman WE et al. Genome-wide DNA methylation scan in major depressive disorder. *PLoS ONE* [Internet]. 2012;7:e34451. [cited 2012 Apr 12]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0034451>.
26. Saavedra K, Molina-Márquez AM, Saavedra N, Zambano T, Salazar LA. Epigenetic modifications of major depressive disorder. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2016;17:1279. [cited 2016 Aug 5]. Available from: <http://www.mdpi.com/1422-0067/17/8/1279/htm>.
27. Numata S, Ishii K, Tajima A, Iga J, Kinoshita M, Watanabe S et al. Blood diagnostic biomarkers for major depressive disorder using multiplex DNA methylation profiles: Discovery and validation. *Epigenetics* 2015;10:135–41.
28. Córdova-Palomera A, Fatjó-Vilas M, Gastó C, Navarro V, Krebs MO, Fañanás L. Genome-wide methylation study on depression: differential methylation and variable methylation in monozygotic twins. *Transl Psychiatry* [Internet]. 2015;5:e557. [cited 2015 Apr 28]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4462612/>.
29. Oh G, Wang SC, Pal M, Chen ZF, Khare T, Tochigi M et al. DNA modification study of major depressive disorder: beyond locus-by-locus comparisons. *Biol Psychiatry* 2015;77:246–55.

30. Leal G, Comprido D, Duarte CB. BDNF-induced local protein synthesis and synaptic plasticity. *Neuropharmacology* 2014;76:639–56.
31. Duclot F, Kabbaj M. Epigenetic mechanisms underlying the role of brain-derived neurotrophic factor in depression and response to antidepressants. *J Exp Biol* 2015;218:21–31.
32. Hobara T, Uchida S, Otsuki K, Matsubara T, Funato H, Matsuo K et al. Altered gene expression of histone deacetylases in mood disorder patients. *J Psychiatr Res* 2010;44:263–70.
33. Covington HE III, Maze I, LaPlant QC, Vialou VF, Ohnishi YN, Berton O et al. Antidepressant actions of histone deacetylase inhibitors. *J Neurosci* 2009;29:11451–60.
34. Cruceanu C, Alda M, Nagy C, Freemantle E, Rouleau GA, Turecki G. H3K4 tri-methylation in synapsin genes leads to different expression patterns in bipolar disorder and major depression. *Int J Neuropsychopharmacol* 2013;16:289–99.
35. Uchida S, Nishida A, Hara K, Kamemoto T, Suetsugi M, Fujimoto M et al. Characterization of the vulnerability to repeated stress in Fischer 344 rats: Possible involvement of microRNA-mediated down-regulation of the glucocorticoid receptor. *Eur J Neurosci* 2008;27:2250–61.
36. Vreugdenhil E, Verissimo CS, Mariman R, Kamphorst JT, Barbosa JS, Zweers T et al. MicroRNA18 and 124a down-regulate the glucocorticoid receptor: Implications for glucocorticoid responsiveness in the brain. *Endocrinology* 2009;150:2220–8.
37. Smalheiser NR, Lugli, G, Rizavi HS, Torvik VI, Turecki G, Dwivedi Y. MicroRNA expression is down-regulated and reorganized in prefrontal cortex of depressed suicide subjects. *PLoS ONE* [Internet]. 2012;7:e33201. [cited 2012 Mar 9]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22427989>.
38. Mimica N, Kušan Jukić M. Depresija u osoba starije životne dobi: specifičnosti kliničke slike i smjernice za liječenje. *Medix* 2013;106:213–8.
39. Zimmermann N, Zschocke J, Perisic T, Yu S, Holsboer F, Rein T. Antidepressants inhibit DNA methyltransferase 1 through reducing G9a levels. *Biochem J* 2012;448:93–102.
40. Milutinovic S, D'Alessio AC, Detich N, Szyf M. Valproate induces widespread epigenetic reprogramming which involves demethylation of specific genes. *Carcinogenesis* 2007;28:560–71.
41. Santoro ML, Ota VK, Stilhano RS, Silva PN, Santos CM, Diana MC et al. Effect of antipsychotic drugs on gene expression in the prefrontal cortex and nucleus accumbens in the spontaneously hypertensive rat (SHR). *Schizophrenia Res* 2014;157:163–8.
42. Björkholm C, Monteggia LM. BDNF a key transducer of antidepressant effects. *Neuropharmacology* 2016;102:72–9.
43. Lopez JP, Mamdani F, Labonte B, Beaulieu MM, Yang JP, Berlim MT et al. Epigenetic regulation of BDNF expression according to antidepressant response. *Mol Psychiatry* 2013;18:398–9.
44. Bocchio-Chiavetto L, Maffioletti E, Bettinsoli P, Giovannini C, Bignotti S, Tardito D et al. Blood microRNA changes in depressed patients during antidepressant treatment. *Eur Neuropsychopharmacol* 2013;23:602–11.
45. Li YJ, Xu M, Gao ZH, Wang YQ, Yue Z, Zhang YX et al. Alterations of serum levels of BDNF-related miRNAs in patients with depression. *PLoS One* [Internet]. 2013;8:e63648. [cited 2012 Mar 9]. Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0063648>.