

Vloga stresa in epigenetskih dejavnikov pri anksiozno-depresivnih stanjih

Sebastian Pelikan¹

Eva Vidovič¹

Jurij Bon^{1,2}

Brigita Novak Šarotar^{1,2}

¹Univerzitetna psihiatrična klinika Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

²Katedra za psihiatrijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

Korespondenca:

Sebastian Pelikan, dr. med.

sebastianpelikan@hotmail.it

Ključne besede:

stres, os hipotalamus-hipofiza-nadledvičnica, glukokortikoidi, metilacija DNK, BDNF, COMT, SLC6A4, oligodendrocitni geni, SKA2, NR3C1, FKBP5

IZVLEČEK

Stres je kot okoljski dejavnik pomembno vključen v patogenezo anksioznih in depresivnih stanj. Zaznava stresorja sproži kaskado molekularnih, hormonskih ter nevronskih procesov, ki povzročijo spremembo vedenja, ta je lahko adaptivna ali, v primeru vztrajanja ali disregulacije, privede do pojava psihopatologije. Pomemben glasnik stresa so glukokortikoidi, ki po vezavi na glukokortikoidni receptor ne sprožijo le sprememb v transkripcijskem profilu, temveč povzročajo tudi trajne spremembe epigenoma. Metilacija DNK, kot eden izmed epigenetskih mehanizmov, regulira izražanje genov, s čimer vpliva na pojav in potek anksiozno-depresivnih stanj.

ABSTRACT

Stress as an environmental factor plays an important role in the pathogenesis of anxiety and depressive disorders. A stressor causes a cascade of molecular, hormonal and neuronal processes that result in a behavioral change which can be adaptive or, if chronic or dysregulated, may have detrimental effects on the individuals' mental health. Glucocorticoids act as an important messenger of stressful stimuli by binding to the glucocorticoid receptor and causing changes in, not only the transcriptional profile of the cell, but also its epigenome. DNA methylation, as an epigenetic mechanism, regulates gene expression and determines the development and evolution of anxious and depressive states.

Uvod

Kljub številnim raziskavam in napredku znanosti patofiziološki mehanizmi različnih anksioznih in depresivnih stanj še niso povsem pojasnjeni, kar pomembno vpliva na uspešnost njihovega zdravljenja. Ob tem je incidenca depresije izrazito v porastu in predstavlja vse večje breme za družbo. Anksiozno-depresivna stanja lahko razumemo kot preplet številnih zunanjih in notranjih dejavnikov, ki vplivajo na duševno delovanje posameznika. Med zunanjimi etiološkimi dejavniki je bil prepoznani izraziti vpliv psihosocialnega stresa na razvoj bolezni. Številne etiološke študije so potrdile pomembnost dednih dejavnikov, ki vplivajo prek kompleksnih, poligenetskih mehanizmov (1, 2). Veliko raziskav se je zato usmerilo v

proučevanje genetskih variant in njihovemu vplivu na dovzetnost za pojav bolezni; raziskave pa so prikazale tudi številne nasprotujoče si izsledke med prisotnostjo aberantnih genetskih variant in pojavom psihopatologije. V zadnjem času se zelo poudarja vpliv epigenetskih mehanizmov kot posrednikov med okoljskimi dejavniki, genomom in fenotipom. Študije, ki proučujejo izpostavljenost psihosocialnim stresorjem, so potrdile dolgotrajne epigenetske spremembe genov, ki so vključeni v mehanizme regulacije čustvovanja in vedenja (3). Nadaljnje raziskovanje pri motnjah razpoloženja se tako usmerja v epigenetske mehanizme, ki uravnavajo izražanje genov. Najpogosteje raziskovani geni, ki so vpleteni v razvoj psihopatologije, predstavljajo hkrati tudi potencialne bodoče tarče za epigenetsko osnovano terapijo (4).

V članku želimo povzeti sodobno razumevanje mehanizmov učinkovanja stresa in vloge epigenetskih dejavnikov pri nastanku nevrobioloških sprememb, povezanih z anksiozno-depresivnimi stanji.

Alostaza in alostatska preobremenitev

Telo se na vsak dražljaj, ki prihaja iz notranjega ali zunanjega okolja, odzove s kaskado reakcij, ki povzročijo različne fiziološke spremembe ter se kažejo s spremenjenim vedenjem. Različni kemični mediatorji kot posredniki pri odzivu na okoljske dejavnike služijo uspešnemu spopadanju posameznika z novonastalo situacijo. Kot primer lahko pogledamo sproščanje kateholaminov ob izpostavitvi čustvenemu ali fizičnemu stresu. Povišane ravni kateholaminov zvišajo srčno frekvenco in krvni tlak ter s tem posameznika pripravijo na vedenjsko reakcijo, 'boj ali beg'. Kratkotrajna aktivacija omenjenega odziva pripomore k uspešnemu spopadanju s potencialno ogrožajočim dogodkom in načeloma ne povzroča bolezenskih sprememb. Ključen pri aktivaciji odziva je tudi njegov zaključek, ki ga predstavljajo dinamične spremembe, ki organizem povrnejo v 'začetno stanje' oz. homeostazo. Proces vzdrževanja homeostaze imenujemo alostaza. O alostatski preobremenitvi govorimo, kadar prekomerna aktivacija ali neuspešni mehanizmi terminacije odziva povzročijo kronično sproščanje mediatorjev in negativne učinke, ki so lahko vzrok tudi za patološke spremembe. V primeru zgoraj omenjenega procesa bi kronično sproščanje istih mediatorjev tako povzročilo daljši čas trajajočo povečano srčno frekvenco ter povišan krvni tlak, kar vodi v patološke spremembe kardiovasku-

larnega sistema. Adaptivni in prekomerni odziv tako predstavljata nasprotujoči si možnosti odziva na dražljaj, ki lahko zato pri posamezniku povzroči adaptacijo v smeri povečane odpornosti ali povečane ranljivosti ob ponovni izpostavitvi. Slednje je odvisno od kompleksnega prepleta individualnih značilnosti vsakega posameznika (5).

Nevrobiologija anksiozno-depresivnih stanj

Stres

Možganska omrežja s procesiranjem okoljskega dražljaja omogočijo vedenjski odziv, ki je za posameznika bodisi zaščiten ali škodljiv. Ob odzivu nastanejo spremembe na molekularni in strukturni ravni, ki vplivajo na trenutni in prihodnji vedenjski odziv. To pomeni, da je odziv na dražljaj oz. dogodek odvisen od predhodnih izkušenj posameznika, ki so prek kemičnih mediatorjev povzročile vztrajajoče morfološke spremembe (5).

Prvi korak pri odzivu organizma na dražljaj je zaznava dogodka (6). Večina senzornih informacij najprej prečka retikularni aktivacijski sistem ali talamus. Ta je z amigdalo povezan prek neposrednega in posrednega nitja: neposredno nitje omogoča sprožitev alarmne faze odgovora z aktivacijo avtonomnega živčevja in osi hipotalamus-hipofiza-nadledvičnica (os HHN); posredno nitje pa povezuje amigdalo s talamusom prek hipotalamusa in omogoča integracijo senzoričnih informacij ter kognitivnih informacij iz prefrontalne skorje (PFC) in hipokampusu. Slednje sodeluje pri kontekstualnem oblikovanju spominov (7).

Os hipotalamus-hipofiza-nadledvičnica

V kaskadi stresnega odziva se glukokortikoidi sproščajo kot posledica aktivacije osi HHN. Amigdala direktno oživčuje kortikotropin sproščujoče nevrone v paraventricularnem jedru (angl. paraventricular nucleus; PVN) hipotalamusa. PVN sintetizira kortikotropin sproščujoči hormon (angl. corticotrophin-releasing hormone; CRH), ki povzroča sprostitvev kortikotropina (angl. adrenocorticotrophic hormone; ACTH) v krvni obtok. ACTH deluje na celice v fascikulatni coni skorje nadledvičnice, kjer povzroči produkcijo in sprostitvev glukokortikoidov (6). GK krožijo v krvnem obtoku, kar pomeni, da lahko dosežejo vsak organ in omogočajo koordinirano delovanje možganov in telesa. Njihova naloga je mobilizacija substratov za energijo ter blaženje primarnega stresnega, imunskega in vnetnega odziva (8). Svojo funkcijo

opravijo prek transkripcije genov. Vežejo se na cistosolne glukokortikoidne (GR) ali mineralokortikoidne (MR) receptorje, ki v homodimerni ali heterodimerni obliki potujejo v jedro, kjer povzročijo prepisovanje genov. MR-receptorji imajo večjo afiniteto za glukokortikoide v primerjavi z GR-receptorji. To jim omogoča, da so večinoma aktivirani že pri bazalnih koncentracijah glukokortikoidov. V nasprotju z njimi se aktivacija GR-receptorjev progresivno večja z izrazitejšim izločanjem glukokortikoidov, kar pomeni, da je aktivacija GR-receptorjev bolj odvisna od delovanja cirkadianega ritma in s stresom povzročenih sprememb (9, 10). GR-receptorji so ubikvitarno izraženi v nevronih in celicah glije, največjo gostoto opažajo v hipotalamusu, natančneje v PVN (11). Precejšnje soizražanje GR in MR receptorjev je prisotno tudi v hipokampalnih piramidnih celicah, podjedrih amigdale in nekaterih predelih možganske skorje (12). Večja izraženost GR-receptorjev v PVN hipotalamusa in hipokampalnih regijah kaže na dominantno mesto regulacije aktivnosti osi HHN, kar pomeni, da vezava glukokortikoidov na GR-receptorje povzroči zmanjšanje aktivnosti osi HHN prek negativne povratne zanke (6).

Nezadostna ali prekomerna aktivnost osi HHN lahko povzroči alostatsko preobremenitev in pojav nevropsihiatričnih motenj, med katerimi so najbolj zastopana anksiozno-depresivna stanja (13). Med posamezniki je mogoče opaziti različne odzive na isti dražljaj; stresor tako pri nekaterih povzroči adaptivne spremembe, medtem ko pri drugih povzroči pojav psihopatologije (14). Posledično lahko sklepamo, da na stresni odziv in odpornost posameznika na stres vpliva individualiziran preplet genov in okolja.

Morfološke spremembe struktur, vključenih v stresni odziv, in nevroplastičnost

Nevroplastičnost označuje sposobnost možganskega tkiva za samoobnovo in remodelacijo nevronske mreže kot odgovor na zunanje in notranje dejavnike (15). Razvoj novejših nevroradioloških metod je omogočil natančnejšo obravnavo strukturnih sprememb, ki nastanejo pri odzivu na stres. Opazili so, da akutni in kronični stres povzročata adaptivno plastičnost možganskih struktur, ki so vključene v stresni odziv (hipotalamus, amigdala, PFC). Adaptivna plastičnost pomeni strukturne spremembe v možganskih regijah, ki so dovzetnejše za stres, na nevroprotektiven način. Nastale morfološke spremembe nato vplivajo na avtonomne in neuroendokrine funkcije ter imajo pomemben vpliv pri nadaljnjem stresnem odzivu

(7). Iz študij na živalskih modelih vemo, da k adaptivni plastičnosti prispevajo kemični mediatorji, med humoralnimi so pomembnejši glukokortikoidi; celični mediatorji za te spremembe pa so nevtrofini – med njimi je najpomembnejši in najbolj raziskan nevtrofični dejavnik možganskega izvora (BDNF). Ta svoj učinek doseže prek različnih mehanizmov bodisi na morfološki kakor tudi na funkcijski ravni. Na morfološki ravni je najpomembnejša nevrogeneza v proliferativnih predelih hipokampusu (pa tudi v amigdali, centru za ugodje in drugje) in stimulacija preživetja obstoječih nevronov. Na funkcijski ravni pa BDNF uravnava razvejevanje nevrnskih izrastkov – aksonov in dendritov – ter vzpostavljanje novih sinaps (16).

Pri bolnikih z depresijo, kot tudi na živalskih modelih, ugotavljamo atrofijo v predelih limbičnega sistema, hipokampusu, striatumu, kavdatnega jedra in soležnih predelov skorje – ventromedialne, orbitofrontalne in cingulatne skorje (17). V hipokampusu, medialni amigdali in medialnem PFC so kot odziv na stres opazili tudi krajšanje dendritov in izgubo sinaps, medtem ko so v bazolateralni amigdali in orbitofrontalni skorji opisali nasproten proces – daljšanje dendritov in tvorbo novih sinaps (18–20). Krajšanje dendritov in izguba sinaps negativno vplivata na funkcionalno aktivnost struktur, medtem ko ima daljšanje dendritov in tvorba novih sinaps nasproten učinek, torej povečano funkcijo. Hipokampus in PFC sta tudi ključnega pomena za spomin, pozornost in kontrolo impulzov, izguba funkcije teh struktur prispeva k pojavu kognitivnega upada pri depresiji in še dodatno zmanjša sposobnost učenja novih veščin, ki bi lahko bolniku omogočale učinkovitejše spopadanje z boleznijo (21). Nevroplastičnost tako nastopa kot ena izmed osrednjih patofizioloških sprememb pri depresiji, kar dokazuje odkritje značilnih morfoloških in funkcijskih sprememb v predelih možganov, ki so odgovorni za stresni odziv in čustvovanje.

Monoaminska signalizacija

Med funkcijskimi spremembami v delovanju možganov pri anksiozno-depresivnih stanjih so že dolgo znane spremembe v signalizaciji med nevroni znotraj plastičnih nevrnskih mrež. V skladu z monoaminsko hipotezo naj bi pomembno vlogo v patogenezi depresije imela motnja v aktivnosti ene ali več signalnih poti z monoaminskim prenašalcem, torej serotonina, dopamina ali noradrenalina. Nevroni, katerih signalizacija temelji na sproščanju monoaminskih prenašalcev, tvorijo evolucijsko izjemno

dobro ohranjene strukture možganskega debla, od koder prek projekcij v limbični predel in skorjo vplivajo na delovanje celotnih možganov, zato ni presenetljivo, da imajo tudi v razvoju možganov in uravnavanju kognitivnih procesov osrednjo vlogo.

Monoaminske signalne poti do neke mere podpirajo druga drugo pri ohranjanju homeostaze. Kar pa seveda tudi pomeni, da lahko hujša motnja v eni izmed njih zmoti delovanje ostalih.

Vemo na primer, da dopamin zavira izločanje noradrenalina iz locus ceruleusa, noradrenalin spodbuja izločanje dopamina v ventralni tegmentalni regiji, dopamin in noradrenalin pa spodbujata izločanje serotonina iz dorzalnega nucleusa raphe (21).

Aktivnost noradrenalinskih nevronov povezujemo predvsem s povečanjem pozornosti, budnosti in aktivnosti. Akutni stres stimulira noradrenergično aktivnost prek povišane sinteze in sekrecije CRH, ACTH in kortizola, ki se izloča hkrati z noradrenalinom iz nadledvične žleze, kar posledično dvigne simpatični tonus in sproščanje citokinov z vzajemnim učinkom na os HHN, kar ima dolgoročno nevrotoksične posledice.

S serotoninsko signalizacijo povezujemo številne funkcije. Za nas je pomembna vloga v uravnavanju razpoloženja. Tudi mutacije v genih, ki so vključeni v sistem serotoninske signalizacije, so povezane z večjim tveganjem za razvoj depresije, npr. polimorfizmi gena SLC6A4 za serotoninski prenašalec 5-HTTLPR, ki so povezani z moteno čustveno regulacijo in pojavom depresije.

Dopamin je prenašalec tako imenovane nagrajevalne poti, ki je v tesni povezavi z nevrovegetativno simptomatiko anhedonije in zmanjšano motivacijo pri depresiji. Primarne bolezni produkcije dopamina (npr. parkinsonova bolezen) tudi lahko povzročijo depresijo, bupropion in podobni antidepresivi pa učinkujejo ravno prek spodbujanja izločanja dopamina (21). Watt in Panskepp opisujeta, kako naj bi se pri posameznikih z veliko izpostavljenostjo stresu ali žalovanju ta dopaminska pot trajno oslabilila, domnevno tudi prek posrednih sprememb v izločanju BDNF in nevroplastičnosti, kar bolnik doživlja kot anhedonijo in obup (22).

Epigenetika

Pomembno vlogo pri posredovanju vpliva okoljskih dejavnikov imajo epigenetske modifikacije, ki v primerjavi z neposrednim delovanjem okoljskega stresorja učinkujejo dolgotrajno (23). Pri tem imajo pomembno vlogo glukokortikoidi, katerih učinko-

vanje nadzoruje kompleksen preplet genomskih in negenomskih mehanizmov. Genomski mehanizmi predstavljajo neposredno delovanje kompleksa homodimera ali heterodimera in posledično regulacijo transkripcije genov. Negenomski mehanizmi predstavljajo aktivacijo znotrajceličnih signalnih poti, ki nastanejo kot posledica vezave glukokortikoidov na GR-receptorje. Po vezavi na pripadajoče receptorje se aktivira signalna pot ERK-MAPK, ki nato povzroči aktivacijo jedrne MSK1 in ELK1/p300. Slednje povzročijo epigenetske modifikacije genov, kromatinsko remodelacijo in vedenjsko adaptacijo (24, 25).

Značilnost epigenetskih modifikacij je, da ne spreminjajo zaporedja nukleotidov, temveč le strukturo in s tem prepisovalno aktivnost kromatina. Epigenetski mehanizmi preklapljajo med prepisno aktivno in neaktivno obliko gena prek kondenzacije kromatina; bolj kondenzirana struktura (heterokromatin) predstavlja prepisno neaktiven gen, medtem ko manj kondenzirana struktura (evkromatin) predstavlja prepisno aktiven gen. Vsaka celica tako skupaj z okoljskimi dejavniki, na katere je odzivna, tvori posebni epigenetski vzorec, tj. epigenom (26). V nadaljevanju se bomo osredotočili na metilacijo DNK.

Metilacija DNK pomeni dodajanje metilne skupine (-CH₃) na citozinski ostanek na odsekih vijačnice, ki so bogati s citozinom-fosfatom-gvaninom (CpG). Nastane 5-metilcitozin (5mC), ki predstavlja zelo stabilno epigenetsko modifikacijo in na prepisovanje genov deluje represivno, takrat rečemo, da je gen utišan (27), ali korelira z aktivnim prepisovanjem. Represivno delovanje izvaja na 2 načina: pri prvem načinu onemogoča vezavo transkripcijskih dejavnikov na vijačnico DNK, kar je predvsem pomembno, kadar gre za prisotnost metilacije v promotorski regiji gena, pri drugem pa privabi beljakovine, ki se vežejo na metilirane domene CpG in povzročijo deacetilacijo histonov ter kromatinsko kondenzacijo (26). Nasprotno je višja metilacija telesa gena povezana z večjo transkripcijsko aktivnostjo oziroma razprto stjo metiliranega odseka DNK (28).

Metilacijo DNK lahko opišemo v treh fazah: metilacija de novo, ohranjanje metilacije in demetilacija. Metilacijo de novo katalizira DNMT, pri sesalcih DNMT3A in DNMT3B. V proces ohranjanja metilacije DNK je vključen encim DNMT1. Proces, ki je nasproten metilaciji, pa je demetilacija DNK. Poteka lahko pasivno z izgubo metilne skupine med celično delitvijo ali aktivno z metilcitozin dioksigenazo (angl. ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenases; TET) (29). TET katalizira 5mC do hidroksimetilcitozina,

nato 5-formilcitozina in 5-karboksicitozina. 5-formilcitozin in 5-karboksicitozin sta nestabilna, zato ju DNK-glikozilaza izreže. Skozi proces popraviljanja z izrezovanjem baz (angl. base excision repair; BER) dobimo nemetiliran odsek DNK (30).

Prenos epigenetskih sprememb skozi življenje

Imamo mnogo dokazov o pojavu anksiozno-depresivne simptomatike pri odraslih, ki so bili v otroštvu izpostavljeni pomembnim stresnim ali travmatskim izkušnjam, na primer ob zlorabi (31, 32). Izpostavljenost okoljskemu stresu zgodaj v življenju dokazano vpliva na dovzetnost za pojav bolezni kasneje v odrasli dobi. Ta učinek posredujejo epigenetski mehanizmi (33). V živalskem modelu so mladiče podgan izpostavili manj skrbnim materam. Kasneje so pri istih podganah v odrasli dobi opazili hiperaktivacijo osi HHN in večjo nagnjenost k razvoju anksiozno-depresivne simptomatike. Manjša skrbnost mater je bila povezana s povečano metilacijo promotora gena za nevrotrofično indukcijsko beljakovino NGFIA v hipokampusu. Metilacija v tem predelu zmanjša ekspresijo GR-receptorjev, kar povzroči okvaro mehanizma za uravnavanje koncentracije glukokortikoidov prek negativne povratne zanke. To se je kazalo kot povišana izhodiščna koncentracija glukokortikoidov (34).

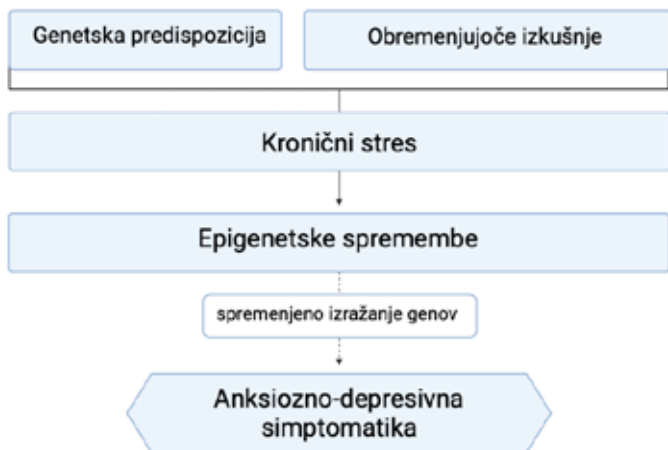
Študije na ljudeh in živalih so dokazale tudi vpliv stresnih dogodkov med intrauterinim razvojem na kasnejši pojav anksiozno-depresivne simptomatike (35). Prenatalni maternalni stres lahko negativno vpliva na potomce in vztraja celo v njihovi odrasli dobi (36). Stresor je lahko izpostavitvev okoljskim onesnaževalcem, prehrabnim dejavnikom, psihosocialnemu stresu ipd. Obstaja vedno več dokazov, da epigenetske modifikacije, povzročene z izpostavljenostjo stresorju med intrauterinim razvojem, omogočajo stabilne spremembe epigenoma ploda in vztrajajo v odrasli dobi posameznika, ob čemer je bolj dovzet za anksiozno-depresivna stanja (37–39).

Transgeneracijski prenos epigenetskih sprememb

Transgeneracijski prenos predstavlja prenos prek vsaj dveh generacij; če gre le za prenos prek ene generacije – od staršev na potomca – potem govorimo o intergeneracijskem prenosu (40). Živalski modeli, ki so proučevali transgeneracijski učinek travmatskega stresa, so uporabljali različne paradigme – izpostavitvev manj skrbnim materam, materinska separacija,

kondicioniranje strahu (41). Babb in sodelavci so uporabili model kroničnega stresa na miših, kjer so moške potomce (F1) izpostavili manj skrbnim materam (F0). F1 so nato parili z naivno populacijo, da je nastala generacija F2. Generacija F2 je kazala zmanjšano socialno vedenje med puberteto in odraslostjo. Vedenjske anomalije so spremljale tudi spremenjene koncentracije kortikosterona in oksitocina ter dodatno prolaktina pri potomkah (42).

Pri modelu transgeneracijskega prenosa ostaja vprašanje, ali gre pri procesu zgolj za prenos epigenetskih informacij ali obstaja možnost ponovne vzpostavitve podobnega epigenetskega vzorca zaradi izpostavitve istemu ali podobnemu okolju. Heard in Martienssen sta mnenja, da prisotnost transgeneracijskega epigenetskega prenosa pri rastlinah in nekaterih živalih ne pogojuje prisotnosti transgeneracijskega prenosa pri ljudeh ter da imamo za potrditev slednjega trenutno premalo informacij (43). Podobno je ugotavljal tudi B. Horsthemke, ki pri transgeneracijskem prenosu poudarja pomembnejšo vlogo komunikacije, imitacije in učenja pri adaptaciji človeške vrste (44).



Slika 1: Shematski prikaz različnih dejavnikov, vključenih v patofiziologijo anksiozno-depresivnih motenj

Vloga posameznih genov

V nadaljevanju predstavljamo še novejša dognanja iz raziskav na tem področju z vidika vloge nekaterih izbranih genov, ki sodelujejo v opisanih mehanizmi in pri katerih je bil prepoznan vpliv epigenetskih regulatornih mehanizmov ali prisotnost epigenetskih mutacij (predvsem metilacije DNK) v navezavi na patofiziološko ozadje in klinično sliko anksiozno-depresivnih stanj, povzeto po Park et al. (4).

Med izbranimi so najboljše raziskani geni: gen za

serotoninski transporter (SLC6A4), gen za katehol-o-metiltransferazo (angl. catechol-o-methyltransferase; COMT) in gen za nevrotrofični dejavnik možganskega izvora (angl. brain-derived neurotrophic factor; BDNF).

BDNF

Gen za BDNF kodira istoimensko beljakovino iz družine nevrotrofinov, ki je osrednji mediator nevroplastičnosti v možganskem tkivu. Pri zdravih osebah je BDNF aktiven predvsem v možganskih predelih, ki so pomembni za učenje, spomin in višje kognitivne funkcije, kjer promovira razmnoževanje, preživetje, rast in diferenciacijo nevronov samih, nevronskega izrastkov in sinaps. Zmanjšana raven BDNF je povezana z atrofijo nevronov ter celično smrtjo. Pri študijah na žrtvah samomora in živalskih modelih z depresivno simptomatiko so opazili zmanjšano raven BDNF v možganih v povezavi z zmanjšano prostornino hipokampusa (45). Mnoge študije so ugotovile nižjo koncentracijo serumskega BDNF, ki korelira z zmanjšano prostornino hipokampusa in PFC (46, 47). Ta korelacija nakazuje na vključenost BDNF v patogenezo anksiozno-depresivnih motenj kot mediatorja nevroplastičnosti pri stresnih motnjah (27). Hkrati je bila v raziskavah ugotovljena tudi korelacija višje stopnje metilacije gena BDNF z nižjo aktivnostjo beljakovine, z zmanjšanim volumnom hipokampusa, višjo obolevnostjo za depresijo in večjo izraženo depresivnih simptomov. Metilacije nekaterih predelov znotraj gena so imele večji vpliv na klinično sliko, predvsem na promotorski regiji prvega eksona. V raziskavi na bolnikih z depresijo so odkrili pomembno zmanjšane vrednosti metilacije tega gena med bolniki s hujšo obliko depresije v primerjavi z blago, tako v predelu CpG-otočkov promotorske regije kakor tudi v telesu gena, kar je v nasprotju s tem, kar bi pričakovali, in bi lahko namigovalo na sodelovanje dodatnih kompenzatornih mehanizmov (4). V raziskavi o vplivu dolgotrajnega stresa, povzročene s socialno zavrnitvijo (chronic social defeat stress), na miših so dokazali zmanjšano izražanje BDNF v hipokampusu ter povečano aktivnost v centru za ugodje, kar bi lahko za posameznika pomenilo hkrati večjo dovzetnost za razvoj anksiozno-depresivnega stanja in tudi sindroma odvisnosti. V študiji na otrocih so dokazali povečano metilacijo na tem genu v povezavi s prisotnostjo zlorabe v širšem pomenu, torej spolne, telesne ali čustvene zlorabe, nasilja, zanemarjanja in nasploh neugodnih zgodnjih življenjskih okoliščin. Raziskava o vplivu stresa v službi

je pokazala zmanjšano splošno metilacijo gena pri osebah z več stresa, vendar brez razlik v metilaciji promotorske regije. Našteto dokazuje tudi vpliv stresa na delovanje te beljakovine prek epigenetskih modifikacij. Na serumsko koncentracijo BDNF ima vpliv tudi antidepresivno zdravljenje. Sen in sodelavci so opazili povišanje serumske koncentracije BDNF in zmanjšanje depresivnih simptomov ob dolgotrajnem antidepresivnem zdravljenju. Normalizacija serumske koncentracije BDNF tako predstavlja enega od terapevtskih učinkov antidepresivov pri zdravljenju depresije (48). Povečana metilacija gena za BDNF, domnevno pod vplivom dolgotrajnega stresa, zmanjša dostopnost BDNF v možganih, kar je povezano z atrofijo hipokampusa in PFC ter ima pomembno vlogo v patogenezi anksiozno-depresivnih stanj.

COMT

COMT kodira katehol-o-metiltransferazo – encim, ki je odgovoren za razgradnjo kateholaminov dopamina, adrenalina in noradrenalina v sinaptični špranji. Njegova aktivnost vpliva predvsem na procese v PFC, kjer so prenašalci za ponovni privzem dopamina v celico manj izraženi, zato ima tu razgradnja dopamina toliko večji pomen za odstranjevanje prenašalca iz sinaptične špranje (49). Beljakovina COMT obstaja v 2 izooblikah: vezana na membrano (angl. membrane-bound COMT; MB-COMT) in topna (angl. soluble COMT; S-COMT). MB-COMT je dominantna oblika, vpletena v razgradnjo dopamina. Izraža funkcijski polimorfizem Val158Met, kjer Val-kodirajoči alel povzroča 3x večjo aktivnost encima kot Met-kodirajoči alel (50). Hiperaktivnost COMT je povezana s povečano razgradnjo dopamina, kar se kaže v zmanjšanih kognitivnih sposobnostih, kot so koncentracija, motivacija in pozornost. Sklepali bi lahko, da bi se ob pojavu funkcijskega polimorfizma za Val-kodirajoči alel pogosteje pojavljali depresivni simptomi, vendar neposredna povezanost med depresivnimi simptomi in funkcijskim polimorfizmom gena za Val-kodirajoči alel do sedaj še ni bila dokazana (17). Variabilnost študij na tem področju kaže na to, da so v patologijo vpleteni še drugi mehanizmi, ki vplivajo na funkcijo tega encima. Naslednja raven modifikacij, ki vplivajo na izražanje genov, in s tem funkcijsko aktivnost, so epigenetske spremembe. Na in sodelavci so prvi proučili vpliv metilacije gena za COMT v PFC pri depresiji. Dokazali so hipometiliranost gena za COMT pri posameznikih z depresijo v primerjavi s kontrolami. Sklepali so, da bi depresivno simpto-

matiko, ki je povezana s pomanjkanjem dopamina in noradrenalina, lahko razložili s hipometiliranostjo gena za COMT (49). Hipometiliranost gena omogoča povečano prepisovanje, s čimer se poveča aktivnost encima. V primeru COMT bi povečana aktivnost encima povzročila večjo razgradnjo dopamina in noradrenalina, s čimer bi se njuna količina v sinaptični špranji zmanjšala. Zmanjšana količina dopamina in noradrenalina pa je glede na monoaminsko hipotezo razlog za pojav anksioznih in depresivnih simptomov.

SLC6A4

SLC6A4 kodira serotoninski transporter (SERT ali 5-HTT), ki je odgovoren za ponovni privzem serotonina iz sinaptične špranje v celico. Polimorfizem 5-HTTLPR v promotorski regiji gena SLC6A4 za serotoninski prenašalec je povezan z moteno čustveno regulacijo in pojavom depresije (21). Prav tako obstaja že veliko študij, ki povezujejo metilacijo gena za SLC6A4 s pojavom depresije in specifičnimi okoljskimi stresorji. Povišana metilacija tega gena, v povezavi s slabšo klinično sliko, je bila prisotna pri posameznikih, ki so bili izpostavljeni stresnim dejavnikom v zgodnjem življenjskem obdobju (27). Povečana metilacija je bila tudi povezana z volumnom hipokampusa, poleg spola in višje starosti (4). Metilacija tega gena se tako ponuja kot potencialni biomarker za stres v otroštvu in nekatere podskupine depresivne motnje. Zabeleženi so tudi različni odzivi posameznih genskih polimorfizmov na interakcije med stresorji okolja, metilacijo in posledicami le-te za tveganje obolenosti kasneje v življenju, pri katerih bi lahko razlika v stopnji metilacije SLC6A4 obrazložila odstopanja pričakovanega vpliva polimorfizmov SLC6A4 na klinično sliko pod enako stresnimi življenjskimi pogoji (51). Študija na pacientih s sindromom izgorelosti je razkrila, da so imeli pacienti z več obremenitvami v obdobju tik pred nastopom bolezni nižano stopnjo metilacije. Povečana metilacija proksimalne promotorske regije je bila pri posameznikih z nižjim ekonomskim statusom v puberteti (in torej predvidoma večjo stopnjo stresa) povezana z višjo reaktivnostjo amigdale na nevarnost (4).

Druge študije povezujejo visoko stopnjo metilacije tega gena z zmanjšanim stresnim odzivom in povišano odpornostjo na stresorje. V tej luči bi lahko hipermetilacija tega gena zgodaj v razvoju pomenila ugodno adaptacijo z zaščitno funkcijo za zdravje (51). Znan je mehanizem desensitizacije in zniževanja ravni izražanja serotoninskih receptorjev pod vplivom povi-

šane koncentracije serotonina v sinaptični špranji pri terapiji s serotoninskimi antidepresivi (SSRI). Pri pacientih, zdravljenih s SSRI, so dokazali tudi vpliv na povečano metilacijo določenih CpG-otočkov, kar odpira možnost za raziskovanje še nepoznanih mehanizmov učinkovanja SSRI (40). Zaradi neskladij v izsledkih sumimo, da v različnih življenjskih obdobjih in pod vplivom specifičnih stresorjev prihaja do metilacije različnih regij gena, morda celo specifičnih CpG-otočkov. Spremembe v stopnji metilacije tega gena pod vplivom stresa skozi življenje in posledični vpliv na pojavnost bolezni tako ostajajo delno nepojasneni.

Oligodendrocitni geni

Oligodendrocitni geni LINGO3, POU3F1 in ITGB1 so pomembni za rast in funkcijo oligodendrocitov v interakciji z aksoni nevronov, s katerimi so v stiku. Oligodendrociti so odgovorni za mielinizacijo aksonov v centralnem živčevju, ki jih zaradi sodelovanja pri istih celičnih procesih in sorodnosti v epigenetski modifikaciji lahko obravnavamo skupaj (4). Zanimiva je predvsem študija na vzorcih možganovine anteriorne cingulate skorje pri treh skupinah subjektov – zdravih kontrolah, žrtvah samomora brez izkušnje zlorabe v otroštvu (mišljeno v širšem pomenu telesne ali čustvene zlorabe in zanemarjanja) in žrtvah samomora, ki so utrpeli zlorabo v otroštvu. V njej so dokazali, da je bila zgolj pri zadnji skupini, v povezavi s slabšo mielinizacijo možganovine, prisotna diferencialna metilacija posameznih regij genov iz te skupine. Posamezni CpG-otočki genov bolnikov iz zadnje skupine so kazali statistično pomembno povečano ali zmanjšano metiliranost specifičnih regij teh genov v primerjavi z ostalima dvema skupinama. Lahko bi torej sklepali, da je diferencialna metilacija pod vplivom stresa v obdobju rasti in razvoja možganov, prek epigenetskih modifikacij, povezana z motnjo mielinizacije kortikalnih nevronov v ACC, kar predstavlja predispozicijo za duševno bolezen kasneje v življenju (4).

SKA2

SKA2 kodira komponento beljakovinskega kompleksa (angl. spindle and kinetochore-associated protein complex; SKA2), ki je vključen v regulacijo segregacije kromosomov med celično delitvijo. O povezanosti metilacije SKA2, stresa in depresije same so raziskave ponudile mešane rezultate. Povišana raven metilacije tega gena močno korelira z nekaterimi vidiki subjektivnega doživljanja depresije, natančneje s trenutno stopnjo suicidalnih ideacij in

suicidalnim vedenjem. Višja raven metilacije SKA2 je tudi posredno povezana s stopnjo stanjšanja možganske skorje v čelnem režnju in hujšo simptomatiko pri bolnikih s posttravmatsko stresno motnjo (PTSM). Na podlagi zbranih, sicer še skromnih dokazov, se stopnja metilacije SKA2 ponuja kot potencialni biomarker za določene klinične značilnosti motenj razpoloženja (suicidalnost in PTSM), čeprav najverjetneje nima neposredne vloge v sami etiologiji in patogenezi bolezni (4).

NR3C1

NR3C1 kodira GR-glukokortikoidni receptor, ki je kot vezavno mesto za kortizol in druge glukokortikoidne hormone ključni člen v regulaciji osi HPA stresnega odziva. Prisotnost zlorabe v otroštvu močno negativno korelira z izražanjem NR3C1. Spremembe metilacije celotnega gena in specifičnih CpG-otočkov v številnih raziskavah močno korelirajo s prisotnostjo anksiozno-depresivne simptomatike, stopnjo izraženosti simptomov ter s tipom (spolna zloraba, telesna zloraba, telesno zanemarjanje, čustvena zloraba in čustveno zanemarjanje) in resnostjo zlorabe v otroštvu. Kljub temu so si rezultati nasprotujoči si glede smeri sprememb v metilaciji, ki je bila ponekod povečana, ponekod pa zmanjšana (4).

FKBP5

FKBP5 kodira FK506 vezavno beljakovino iz družine imunofilinov, ki sodelujejo pri imunoregulaciji in pravilnem zvijanju ter premeščanju beljakovin znotraj celice. Nastopa tudi kot podenota v regulatornem beljakovinskem kompleksu glukokortikoidnega receptorja, ki spreminja njegovo odzivnost na kortizol in tako posredno sodeluje v regulaciji stresnega odziva. Spremembe v metilaciji so pomembno korelirale s prisotnostjo stresnih dogodkov v otroštvu, večja metiliranost v odraslosti pa je korelirala z nižjo izraženoostjo depresivnih simptomov. Obseg in vzročno povezanost med metilacijo tega gena, stresom in nastopom depresije je še potrebno natančneje raziskati.

OXTR

OXTR kodira receptor za hormon oksitocin, ki se sintetizira v hipotalamusu in se v krvni obtok sprošča iz posteriorne hipofize. Njegova primarna vloga je facilitacija socialnih interakcij in socialnega navezovanja. Metilacija petih specifičnih CpG-otočkov je v povezavi z zlorabo v otroštvu pozitivni napovedni dejavnik pojava depresije.

Zaključek

Novi uvidi v preplet etioloških in patofizioloških dejavnikov anksiozno-depresivnih stanj človekovo duševnost umeščajo v bogat kontekst širšega okolja in notranjih dogajanj. Predstavljajo nadaljevanje mišljenjske tradicije o prepletu človekovega makrokozmosa (bogovih nad oblaki, družbena ureditev, medosebni odnosi) in mikrokozmosa (lastni duši, telesu, mišljenju). So zadnji korak tudi na poti širšega kulturnozgodovinskega (civilizacijskega) podviga za osmišljanje samega človekovega obstoja, doživljanja svoje eksistence in izziva, ki ga predstavlja trpljenje, ki nas žene k iskanju rešitev.

To je delo, ki ga sodobna znanost in medicina ter v prvi vrsti psihiatrija nadaljujejo skozi raziskovanje vloge, ki jo imajo psihosocialni dejavniki v človekovem vsakdanu in osebni zgodovini, ter notranjih biokemijskih dogajanj, ki jih narekuje dednost. Epi-genetski dejavniki modulirajo izražanje posameznikovega genetskega materiala v interakciji z okoljem in so zato pomemben ključ za uspešnejšo obravnavo anksiozno-depresivnih stanj.

Viri

1. Kendler KS, Gatz M, Gardner CO, Pedersen NL. A Swedish national twin study of lifetime major depression. *American Journal of Psychiatry*. 2006;163(1):109–14.
2. Sullivan PF, Daly MJ, Ripke S, Lewis CM, Lin DY, Wray NR, et al. A mega-Analysis of genome-wide association studies for major depressive disorder. *Molecular Psychiatry*. 2013;18(4):497–511.
3. Zannas AS, West AE. Epigenetics and the regulation of stress vulnerability and resilience. *Neuroscience*. 2014;264:157–70.
4. Park C, Rosenblat JD, Brietzke E, Pan Z, Lee Y, Cao B, et al. Stress, epigenetics and depression: A systematic review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2019;102:139–52.
5. Sapolsky RM. Stress and the brain: Individual variability and the inverted-U. *Nature Neuroscience*. 2015;18(10):1344–6.
6. Menke A. Is the HPA Axis as Target for Depression Outdated, or Is There a New Hope? *Front Psychiatry*. 2019 Feb 28;10:101.
7. McEwen BS, Akil H. Revisiting the stress concept: Implications for affective disorders. *Journal of Neuroscience*. 2020;40(1):12–21.
8. de Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. Stress and the brain: From adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2005;6(6):463–75.
9. Young EA, Abelson J, Lightman SL. Cortisol pulsatility and its role in stress regulation and health. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2004;25:69–76.
10. Kitchener P, di Blasi F, Borrelli E, Piazza PV. Differences between brain structures in nuclear translocation and DNA binding of the glucocorticoid receptor during stress and the circadian cycle. *European Journal of Neuroscience* 2004;19(7):1837–46.
11. Miklós IH, Kovács KJ. GABAergic innervation of corticotropin-releasing hormone (CRH)-secreting parvocellular neurons and its plasticity as demonstrated by quantitative immunoelectron microscopy. *Neuroscience*. 2002;113(3):581–92.
12. Patel PD, Lopez JF, Lyons DM, Burke S, Wallace M, Schatzberg AF. Glucocorticoid and mineralocorticoid receptor mRNA expression in squirrel monkey brain. *Journal of Psychiatric Research*. 2000;34(6):383–92
13. McEwen BS. Redefining neuroendocrinology: Epigenetics of brain-body communication over the life course. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2018;49:8–30.
14. Rusconi F, Battaglioli E. Acute stress-induced epigenetic modulations and their potential protective role toward depression. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2018;11:1–8.
15. Cramer SC, Sur M, Dobkin BH, O'Brien C, Sanger TD, Trojanowski JQ, et al. Harnessing neuroplasticity for clinical applications. *Brain*. 2011;134:1591–609.
16. Levy MJF, Boulle F, Steinbusch HW, van den Hove DLA, Kenis G, Lanfumey L. Neurotrophic factors and neuroplasticity pathways in the pathophysiology and treatment of depression. *Psychopharmacology*. 2018;235:2195–220.
17. Antypa N, Drago A, Serretti A. The role of COMT gene variants in depression: Bridging neuropsychological, behavioral and clinical phenotypes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. Pergamon; 2013;37:1597–610.
18. McEwen BS. The Brain on Stress: Toward an Integrative Approach to Brain, Body, and Behavior. *Perspectives on psychological science : a journal of the Association for Psychological Science*. 2013;8(6):673–5.
19. Price JL, Drevets WC. Neurocircuitry of mood disorders. *Neuropsychopharmacology*; 2010;35:192–216.
20. Lau T, Bigio B, Zelli D, McEwen BS, Nasca C. Stress-induced structural plasticity of medial amygdala stellate neurons and rapid prevention by a candidate antidepressant. *Molecular Psychiatry*. 2017;22(2):227–34.
21. Dean J, Keshavan M. The neurobiology of depression: An integrated view. *Asian Journal of Psychiatry*. 2017;27:101–11.

22. Watt DF, Panksepp J. Depression: An Evolutionarily Conserved Mechanism to Terminate Separation Distress? A Review of Aminergic, Peptidergic, and Neural Network Perspectives. *Neuropsychanalysis*. 2009;11(1):7–51.
23. Higuchi F, Uchida S, Yamagata H, Otsuki K, Hobara T, Abe N, et al. State-dependent changes in the expression of DNA methyltransferases in mood disorder patients. *Journal of Psychiatric Research*. 2011;45(10):1295–300.
24. Saunderson EA, Spiers H, Mifsud KR, Gutierrez-Mecinas M, Trollope AF, Shaikh A, et al. Stress-induced gene expression and behavior are controlled by DNA methylation and methyl donor availability in the dentate gyrus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2016;113(17):4830–5.
25. Gutiérrez-Mecinas M, Trollope AF, Collins A, Morfett H, Hesketh SA, Kersanté F, et al. Long-lasting behavioral responses to stress involve a direct interaction of glucocorticoid receptors with ERK1/2-MSK1-Elk-1 signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(33):13806–11.
26. Stankiewicz AM, Swiergiel AH, Lisowski P. Epigenetics of stress adaptations in the brain. *Brain Research Bulletin*. 2013;98:76–92.
27. Chmielewska N, Szyndler J, Maciejak P, Płaźnik A. Epigenetic mechanisms of stress and depression. *Psychiatria Polska*. 2019;53(6):1413–28.
28. Talarowska M. Epigenetic Mechanisms in the Neurodevelopmental Theory of Depression. *Depress Res Treat*. 2020 Apr 24;2020:6357873.
29. Greenberg MVC, Bourc'his D. The diverse roles of DNA methylation in mammalian development and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2019;20:590–607.
30. Bhutani N, Burns DM, Blau HM. DNA demethylation dynamics. *Cell*. 2011;146(6):866–72.
31. Enoch MA. The role of early life stress as a predictor for alcohol and drug dependence. *Psychopharmacology*. 2011;214:17–31.
32. Bale TL, Baram TZ, Brown AS, Goldstein JM, Insel TR, McCarthy MM, et al. Early life programming and neurodevelopmental disorders. *Biol Psychiatry*. 2010;68(4):314–9.
33. Jirtle RL, Skinner MK. Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nature Reviews Genetics*. 2007;8:253–62.
34. Weaver ICG, Cervoni N, Champagne FA, D'Alessio AC, Sharma S, Seckl JR, et al. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature Neuroscience*. 2004;7(8):847–54.
35. Cao-Lei L, Laplante DP, King S. Prenatal Maternal Stress and Epigenetics: Review of the Human Research. *Current Molecular Biology Reports*. 2016;2(1):16–25.
36. Beydoun H, Saftlas AF. Physical and mental health outcomes of prenatal maternal stress in human and animal studies: A review of recent evidence. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2008;22:438–66.
37. Szyf M. DNA methylation, behavior and early life adversity. *J Genet Genomics*; 2013;40:331–8.
38. Billack B, Serio R, Silva I, Kinsley CH. Epigenetic changes brought about by perinatal stressors: A brief review of the literature. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 2012;66(3):221–31.
39. King S, Dancause K, Turcotte-Tremblay AM, Veru F, Laplante DP. Using natural disasters to study the effects of prenatal maternal stress on child health and development. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2012 Dec;96(4):273–88.
40. Jawaid A, Roszkowski M, Mansuy IM. Transgenerational Epigenetics of Traumatic Stress. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2018;158:273–298.
41. Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*; 2009;10:434–45.
42. Babb JA, Carini LM, Spears SL, Nephew BC. Transgenerational effects of social stress on social behavior, corticosterone, oxytocin, and prolactin in rats. *Hormones and Behavior*. 2014;65(4):386–93.
43. Heard E, Martienssen RA. Transgenerational epigenetic inheritance: myths and mechanisms. *Cell*. 2014 Mar 27;157(1):95–109.

44. Horsthemke, B. A critical view on transgenerational epigenetic inheritance in humans. *Nat Commun* 9, 2973 (2018).
 45. Karege F, Bondolfi G, Gervasoni N, Schwald M, Aubry JM, Bertschy G. Low Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity. *Biological Psychiatry*. 2005;57(9):1068–72.
 46. Bouckaert F, Dols A, Emsell L, de Winter FL, Vansteelandt K, Claes L, et al. Relationship between Hippocampal Volume, Serum BDNF, and depression severity following electroconvulsive therapy in late-life depression. *Neuropsychopharmacology*. 2016;41(11):2741–8.
 47. Fossati P, Radtchenko A, Boyer P. Neuroplasticity: from MRI to depressive symptoms. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2004 Dec;14 Suppl 5:S503-10.
 48. Boulle F, van den Hove DLA, Jakob SB, Rutten BP, Hamon M, van Os J, et al. Epigenetic regulation of the BDNF gene: Implications for psychiatric disorders. *Molecular Psychiatry*. 2012;17:584–96.
 49. Na KS, Won E, Kang J, Kim A, Choi S, Tae WS, et al. Differential effect of COMT gene methylation on the prefrontal connectivity in subjects with depression versus healthy subjects. *Neuropharmacology*. 2018;137:59–70.
 50. Abdolmaleky HM, Cheng KH, Faraone S v., Wilcox M, Glatt SJ, Gao F, et al. Hypomethylation of MB-COMT promoter is a major risk factor for schizophrenia and bipolar disorder. *Human molecular genetics*. 2006;15(21):3132–45.
 51. Provenzi L, Giorda R, Beri S, Montirosso R. SLC6A4 methylation as an epigenetic marker of life adversity exposures in humans: A systematic review of literature. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2016;71:7–20.
-