

REVISIÓN

Mecanismos epigenéticos en el desarrollo de la memoria y su implicación en algunas enfermedades neurológicas



M.A. Rosales-Reynoso^a, A.B. Ochoa-Hernández^b,
C.I. Juárez-Vázquez^a y P. Barros-Núñez^{b,*}

^a División de Medicina Molecular, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, IMSS, Guadalajara, Jalisco, México

^b División de Genética, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, IMSS, Guadalajara, Jalisco, México

Recibido el 16 de octubre de 2013; aceptado el 2 de febrero de 2014

Accesible en línea el 10 de septiembre de 2014

PALABRAS CLAVE

Epigenética;
Memoria;
Plasticidad neuronal;
Genes y memoria;
Desarrollo de la memoria;
Modificación sináptica y memoria

Resumen

Introducción: Hoy en día se acepta que el sistema nervioso central adulto posee una enorme flexibilidad morfofuncional que le permite realizar procesos de remodelación estructural aún después de haber alcanzado su desarrollo y maduración. Además del enorme número de genes que participan en el desarrollo de la memoria, los diferentes mecanismos epigenéticos conocidos también han sido involucrados en procesos de modificación neuronal normal y patológica y, por ende, en los mecanismos de desarrollo de la memoria.

Desarrollo: Este trabajo fue llevado a cabo a través de una sistemática revisión de las bases de datos de publicaciones biomédicas sobre los aspectos genéticos y epigenéticos que participan en la función sináptica y la memoria.

Conclusiones: La activación de la expresión génica, en respuesta a estímulos extrínsecos, ocurre también en células nerviosas diferenciadas. La actividad neuronal induce formas específicas de plasticidad sináptica que permiten la formación y almacenamiento de la memoria a largo plazo. Los mecanismos epigenéticos tienen un papel crucial en los procesos de modificación sináptica y en la formación y desarrollo de la memoria. Alteraciones en estos mecanismos producen déficit cognitivo y de memoria en padecimientos neurodegenerativos (enfermedad de Alzheimer y Huntington) así como en trastornos del desarrollo neurológico (síndrome de Rett, x-frágil y esquizofrenia). Los resultados obtenidos en diferentes modelos muestran, sin embargo, un escenario promisorio con tratamientos potenciales para algunos de estos padecimientos.

© 2013 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: pbarros_gdl@yahoo.com.mx (P. Barros-Núñez).

KEYWORDS

Epigenetics;
Memory;
Neural plasticity;
Genes and memory;
Memory
development;
Synaptic modification
and memory

Epigenetic mechanisms in the development of memory and their involvement in certain neurological diseases

Abstract

Introduction: Today, scientists accept that the central nervous system of an adult possesses considerable morphological and functional flexibility, allowing it to perform structural remodelling processes even after the individual is fully developed and mature. In addition to the vast number of genes participating in the development of memory, different known epigenetic mechanisms are involved in normal and pathological modifications to neurons and therefore also affect the mechanisms of memory development.

Development: This study entailed a systematic review of biomedical article databases in search of genetic and epigenetic factors that participate in synaptic function and memory.

Conclusions: The activation of gene expression in response to external stimuli also occurs in differentiated nerve cells. Neural activity induces specific forms of synaptic plasticity that permit the creation and storage of long-term memory. Epigenetic mechanisms play a key role in synaptic modification processes and in the creation and development of memory. Changes in these mechanisms result in the cognitive and memory impairment seen in neurodegenerative diseases (Alzheimer disease, Huntington disease) and in neurodevelopmental disorders (Rett syndrome, fragile x, and schizophrenia). Nevertheless, results obtained from different models are promising and point to potential treatments for some of these diseases.

© 2013 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

Por mucho tiempo se consideró que el cerebro de mamíferos adultos era un órgano incapaz de continuar con procesos de remodelación estructural luego de terminadas sus etapas del desarrollo. Tal concepto se aplicaba a todas las estructuras del sistema nervioso y en especial a las sinapsis. En los últimos años estos conceptos han cambiado drásticamente, al punto de aceptar que existe una enorme flexibilidad en la forma y función neuronal del cerebro adulto. Las neuronas y sinapsis sufren diversas formas de plasticidad estructural y funcional, permitiendo cambios profundos en la estructura cerebral íntima. Estos cambios son adaptables y generados principalmente por los patrones de actividad neuronal, que son a su vez estimulados por la experiencia sensorial tanto de fuentes internas como externas¹.

Los recientes descubrimientos de la biología del desarrollo mostraron que la activación de la expresión génica en respuesta a señales extracelulares, del tipo de los factores de crecimiento, ocurre también en células posmitóticas diferenciadas. La activación transcripcional en células maduras puede ser inducida por una variedad de estímulos extrínsecos, incluyendo algunos de los factores que activan la transcripción durante el desarrollo embrionario y fetal. En particular se ha demostrado que las neuronas pueden modificar la expresión de un grupo de genes en respuesta a estímulos de despolarización, lo cual permitió plantear la hipótesis que la actividad génica puede ser influenciada por la actividad sináptica normal.

La observación de que la actividad neuronal induce tanto los cambios adaptativos neuronales como los cambios en los patrones de expresión génica, sugieren que tal secuencia de eventos es el origen de formas específicas de plasticidad neuronal y específicamente sináptica. También se ha logrado demostrar que los mismos genes que son estimulados por la actividad sináptica funcionan también durante el

desarrollo del cerebro, lo que sugiere que la plasticidad, en todas las etapas del desarrollo cerebral, utiliza mecanismos y maquinaria molecular similar² (tabla 1).

Más recientemente se demostró que la expresión génica, subyacente a la actividad sináptica y neuronal, se encuentra regulada en gran medida por mecanismos epigenéticos de la misma índole que los que ocurren en procesos del desarrollo embrionario o fetal. Las evidencias sugieren que las modificaciones epigenéticas dentro del SNC, que son cruciales para la adaptación de la conducta a corto y largo plazo, ocurren como consecuencia de diversos estímulos ambientales. La activación o silenciamiento de estos genes, controlados por mecanismos epigenéticos, parece representar un importante regulador del potencial sináptico y la memoria.

Este trabajo tiene como objetivo presentar una revisión sistemática y actualizada de los mecanismos epigenéticos relacionados con la función sináptica y con la memoria, así como de las alteraciones epigenéticas involucradas en la afectación de la memoria, tanto en alteraciones del neurodesarrollo como en padecimientos neurodegenerativos.

Mecanismos epigenéticos

La *epigenética* es un término acuñado por Waddington para referirse al conjunto de procesos de regulación de la expresión génica, que no incurren en cambios en la secuencia de nucleótidos del ADN y que tienen un carácter heredable³. Hasta la fecha se han descrito 3 mecanismos que participan en forma importante en la regulación génica: 1) la modificación de histonas, 2) la metilación del ADN y, 3) los ácidos ribonucleicos (ARN) no codificantes. Entre estos, la modificación de histonas es el proceso más ampliamente conocido y relacionado con un importante número de enfermedades neurológicas⁴⁻⁶.

Tabla 1 Genes implicados en plasticidad sináptica, aprendizaje y memoria

	Nombre del gen*	Símbolo**	Localización	Función
Plasticidad sináptica				
<i>Actividad sináptica</i>	Receptor de glutamato ionotrópico	<i>GRIN1(NMDA)</i>	9q34.3	Formación de la memoria a largo plazo
	N-metil-D-aspartato 1			
	Gen de la proteína de unión al elemento de respuesta de AMPc 1	<i>CREB1</i>	2q34	Es esencial para la actividad inducida de la expresión génica que media la formación de la memoria
	Gen de la proteína de unión a CREB	<i>CREBBP (CBP)</i>	16p13.3	Procesos de memoria a largo plazo, reconocimiento de nuevos objetos y del miedo condicionado
	Gen homólogo del virus del sarcoma osteogénico murino FBJ (Finkel-Biskis-Jinkins)	<i>FOS (C-FOS)</i>	14q24.3	Participa en la plasticidad sináptica y en la memoria espacial y contextual
<i>Fuerza sináptica</i>	Gen regulador de la proteína G de señalización	<i>RGS2</i>	1q31	Se expresa en corteza del cerebro, hipocampo, amígdala y cuerpo estriado; afecta la plasticidad a corto plazo, disminuye la señalización presináptica y aumenta las concentraciones de neurotransmisor
	Gen de envoltura nuclear 1 conteniendo repetidos de espectrina	<i>SYNE1 (cpg2)</i>	6q25	Implicado en la endocitosis sináptica de los receptores de glutamato. Regula el tráfico tanto de receptores tipo AMPA como NMDA. Se encuentra exclusivamente en las sinapsis excitatorias y sobre todo en regiones de espinas dendríticas
	Cinasa tipo polo 2	<i>PLK2 (Snk)</i>	5q12.1-q13.2	Se expresa en niveles basales en corteza, hipocampo, amígdala y otras regiones del cerebro. Fosforila el dominio PDZ de la proteína SPAR, la cual es parte del andamio que ayuda a promover el crecimiento de las espinas dendríticas
<i>Adición y eliminación sináptica</i>	Gen de proteína neuronal de dominio PAS 4	<i>NPAS4</i>	11q13	Factor de transcripción, regulado por actividad, que controla específicamente el desarrollo de sinapsis inhibitorias
	Pentraxina neuronal 2	<i>NPTX2 (Narp)</i>	7q21.3-q22.1	Facilita la sinaptogénesis y regula la fuerza sináptica a través de la agrupación de los receptores postsinápticos de AMPA
	Neuritina 1	<i>NRN1 (cpg15)</i>	6p25.1	Altamente conservado en la remodelación dendrítica y axonal. Afecta la maduración estructural de las neuronas y las neurotrofinas, promueve la supervivencia y diferenciación neuronal
	Activador del plasminógeno tisular	<i>PLAT (tPA)</i>	8p12	Proteólisis neuronal que facilita la plasticidad sináptica y estructural. Su actividad conduce al mayor alargamiento del axón y a formación de sinapsis
Memoria episódica				
	Receptor canabinoide 1	<i>CNR1</i>	6q14-q15	Se expresa profusamente en hipocampo y en el giro dentado y en menor grado en las capas de células CA3 y CA1. Se ha relacionado con el deteriorado rendimiento neurocognitivo

Tabla 1 (continuación)

	Nombre del gen*	Símbolo**	Localización	Función
Variabilidad genética y trastornos cognitivos y de memoria	Gen de supresión específica de crecimiento	<i>GAS1</i>	9q21.3-q22	La expresión alterada de <i>GAS1</i> afecta la integridad neuronal en el hipocampo con impacto potencial en la cognición
	Apolipoproteína E	<i>APOE</i>	19q13.2	Mantenimiento y reparación de la membrana celular, efecto sobre la limpieza de la proteína β amiloide ($A\beta$) y/o papel regulador potencial sobre la fosforilación de las proteínas tau
	Factor neurotrófico derivado del cerebro	<i>BDNF</i>	11p13	Participa importantemente en la plasticidad y el desarrollo neuronal. Promueve el crecimiento celular y la supervivencia de las neuronas serotoninérgicas. Ha sido asociado con potenciación a largo plazo temprana y tardía
	Gen que contiene dominios WW y C2	<i>WWC1(KIBRA)</i>	5q34	Participa en el desarrollo del cerebro y la formación de la memoria como una proteína postsináptica de andamiaje que conecta al citoesqueleto con moléculas de señalización
	Catecol-O-metiltransferasa	<i>COMT</i>	22q11.21	Implicada en el catabolismo de la dopamina, la cual juega un papel crítico en los procesos de cognición, especialmente en la corteza prefrontal; es crítica en las tareas de función ejecutiva como la atención, el aprendizaje y la memoria
	Receptor 2 A de serotonina	<i>HTR2A</i>	13q14-q21	Codifica para uno de los receptores de serotonina, con un importante papel en el aprendizaje y la memoria
Padecimientos neurológicos y alteraciones epigenéticas				
<i>Desarrollo neural y diferenciación</i>	Factor de transcripción de silenciamiento RE1	<i>REST</i>	4q12	Es expresado ubicuamente en el sistema nervioso y actúa reprimiendo la expresión de genes neurales, es importante para determinar si una célula tendrá algún fenotipo neuronal
<i>Síndrome de Rett</i>	Gen de la proteína de unión a metil CpG 2	<i>MECP2</i>	Xq28	Regula genes que son importantes para procesos cognitivos y plasticidad sináptica
<i>Síndrome X-frágil</i>	Gen de déficit intelectual ligado al cromosoma x-1	<i>FMR1</i>	Xq27.3	Su función es esencial para el aprendizaje y la memoria
<i>Esquizofrenia</i>	Reelina	<i>RELN</i>	7q22	Involucrado en el desarrollo de sinapsis

* Nombre oficial de los genes según la página GENE de NCBI.

** Los símbolos entre paréntesis representan otros nombres del mismo gen.

Modificación de histonas

Las histonas son proteínas básicas que participan en el empaquetamiento del ADN y formación de los nucleosomas. La modificación de las histonas es un mecanismo que ocurre en forma independiente o como consecuencia de la metilación del ADN^{6,7}. La hipótesis actual indica que los extremos amino terminales de las histonas, que sobresalen de la estructura de la cromatina, participan en un proceso de integración de señales que dan lugar a un patrón específico de modificaciones postraduccionales y forman un «código de histonas», el cual dirige la actividad de numerosos factores y cofactores

de la maquinaria transcripcional. Actualmente se conocen 4 tipos de modificaciones postraduccionales en los extremos de las proteínas histónicas que participan en el marcaje epigenético: 1) acetilación, 2) metilación, 3) ubiquitinación y 4) fosforilación^{6,8,9}.

Metilación del ADN

El ADN presenta regiones de 1.000-1.500 pares de bases ricas en dinucleótidos CpG (islas CpG), que son reconocidas por las enzimas ADN-metiltransferasas. Durante la replicación del ADN, las citosinas de la cadena recién sintetizada son

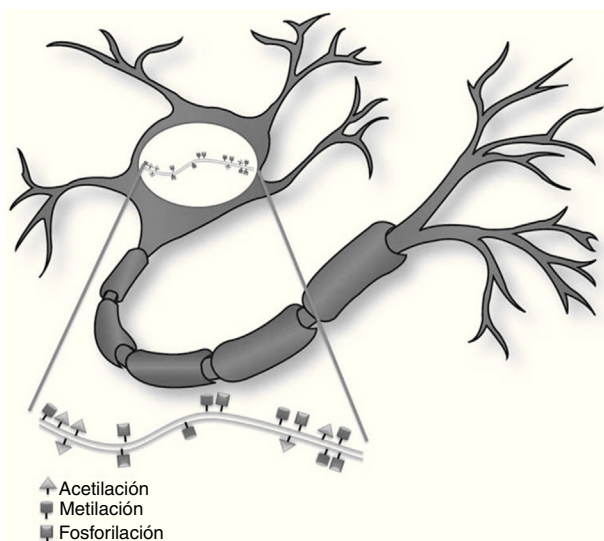


Figura 1 Control epigenético en el sistema nervioso del adulto. La regulación epigenética en neuronas de cerebro adulto ocurre en respuesta a señales sinápticas y/o estímulos ambientales. Estos estímulos externos resultan en cambios en el perfil transcripcional y por ende en la función neuronal.

metiladas, manteniéndose así la memoria del estado metilado en la molécula hija de ADN. En general esta modificación se hace estable y es heredada como un patrón clonal de metilación. La sobremetilación de estas regiones mantiene la estructura condensada de la cromatina e impide la transcripción de los genes involucrados^{6,8,9}.

ARN no codificantes

No codifican para ninguna proteína pero sus secuencias son complementarias a ADN o ARN codificante e impiden su traducción; esta es una forma de regulación negativa de la expresión a nivel postranscripcional. A este tipo pertenecen los denominados ARN de interferencia (iARN) los cuales se unen a secuencias complementarias de ARNm para degradarlo e impedir su traducción en proteínas^{6,8,9}.

Mecanismos epigenéticos en la función sináptica y formación de la memoria

La memoria se describe como el proceso cerebral que permite almacenar información a largo plazo⁸. Recientes evidencias sugieren que una amplia variedad de estímulos ambientales producen modificaciones epigenéticas en el SNC que son críticas para la adaptación de la conducta a corto y largo plazo (fig. 1)¹⁰. Como tal, las modificaciones epigenéticas intervienen por diferentes mecanismos en la creación y mantenimiento de la memoria conductual en múltiples niveles. Estos y otros estudios han generado interés en el potencial terapéutico de fármacos capaces de mejorar o alterar estas reacciones en los trastornos cognitivos^{8,11}.

El estudio llevado a cabo por Levenson et al. demostró que la formación de la memoria a largo plazo también está sujeta a marcaje epigenético. En el modelo de acondicionamiento al miedo contextual un modelo de aprendizaje

dependiente del hipocampo en el que el animal aprende a asociarse a un nuevo ambiente con un estímulo aversivo, la acetilación de la histona H3, pero no de H4, se observa significativamente incrementada¹². La formación de la memoria a largo plazo en el modelo del miedo contextual requiere del receptor de glutamato ionotrópico N-metil-D-aspartato 1 (GRIN1) y de la cascada de señalización MEK-ERK/MAPK en el hipocampo; la inhibición de cualquiera de estos, bloquea la acetilación de la histona H3. Estos hallazgos indican que, en el código de histonas, tipos específicos de memoria se asocian con patrones específicos de modificaciones histónicas¹².

Otros autores han investigado la formación de la memoria a largo plazo en ratones transgénicos con alteraciones en la función de las proteínas de unión a CREB (CBP). Estos ratones transgénicos son heterocigotos para una forma dominante negativa o truncada de CBP (CBP_{DN}+/-)¹⁰⁵, y tienen un déficit significativo en varias formas de memoria a largo plazo, como la de evitar el cruzamiento pasivo de espacios, el reconocimiento de nuevos objetos y el de miedo condicionado¹³.

Otros 2 estudios independientes utilizaron ratones deficientes en CBP, pero que carecían de los graves problemas del desarrollo de los ratones CBP_{DN}+/- . En el primero de estos estudios se transformó el alelo dominante negativo de CBP a un promotor inducible (CBP_{I-DN}+/-)¹⁴. La activación del alelo dominante negativo, posterior al desarrollo normal de los animales, mostró alteración en el aprendizaje de los laberintos espaciales de agua y en el reconocimiento de nuevos objetos¹⁴. En el segundo estudio, ratones heterocigotos para CBP (CBP^{+/-}) tuvieron alteraciones en la memoria contextual y en la memoria condicionada al miedo y mostraron alteraciones en el reconocimiento de nuevos objetos¹⁵. En ambos estudios, la administración de un inhibidor de la enzima desacetilasa de histona (HDAC) restauró la formación de la memoria a largo plazo. Esto significa que cualquier alteración en los procesos que regulan la estructura de la cromatina puede afectar la formación de la memoria a largo plazo *in vivo*¹². En ambos estudios, los inhibidores de la HDAC no afectaron la memoria a corto plazo⁸.

Plasticidad sináptica

Los cambios en la fuerza de la actividad sináptica son ampliamente aceptados como críticos en la formación de la memoria a largo plazo. Muchos estudios han caracterizado los mecanismos que son responsables para la inducción, expresión y mantenimiento de la plasticidad sináptica en varios organismos¹⁶. Una interesante observación es que estos mecanismos son similares a aquellos involucrados en la formación de la memoria a largo plazo. Así, la inducción de la plasticidad sináptica quizás involucre mecanismos epigenéticos similares a los involucrados en la memoria a largo plazo. Un ejemplo de este mecanismo de sinapsis sensorial y motora se describió en el molusco marino *Aplysia* que muestra 2 formas de plasticidad: la *facilitación a largo plazo* (FLP) que se refiere al mejoramiento duradero de la transmisión sináptica y la *depresión a largo plazo* (DLP) que es una disminución duradera en la transmisión sináptica. La acetilación de la histona H4 en el promotor de la proteína de unión CCAAT (C/EBP) de *Aplysia* fue transitoriamente incrementada durante la FLP, pero también disminuyó

transitoriamente durante la DLP. Por lo tanto, estas 2 formas opuestas de plasticidad inducen cambios opuestos en la acetilación de las histonas en *Aplysia*¹⁷.

Los cambios epigenéticos inducidos por la plasticidad sináptica son observados también en modelos mamíferos. La activación directa de los receptores GRIN1 en el hipocampo incrementa la acetilación de las histonas H3, las cuales pueden ser bloqueadas por la inhibición de la cascada MEK-ERK/MAPK. De igual forma, la activación de vías de señalización dopaminérgicas, colinérgicas y glutamatérgicas en el hipocampo induce la fosforilación de las histonas H3 dependientes del incremento de ERK¹². Estos resultados sugieren que la inducción de la plasticidad sináptica en los mamíferos genera un incremento en la acetilación y fosforilación de las histonas en el hipocampo dependiente de ERK, de manera similar a lo observado en *Aplysia*. Estos estudios indican que el estado epigenético del genoma afecta la inducción a largo plazo en la plasticidad sináptica en los mamíferos^{8,12}.

Enfermedades neurológicas y alteraciones epigenéticas

Existe un conjunto de evidencias que implican a los mecanismos epigenéticos como causa de disfunciones cognitivas humanas. Padecimientos neurodegenerativos y enfermedades del neurodesarrollo pueden ser atribuidos, al menos en parte, a mecanismos subyacentes al marcaje epigenético del genoma. Se analizarán las evidencias encontradas en algunos de los padecimientos más interesantes.

Padecimientos neurodegenerativos

Algunos padecimientos neurodegenerativos parecen estar relacionados con alteraciones en los mecanismos epigenéticos; entre ellos, la enfermedad de Alzheimer (EA) y la enfermedad de Huntington (EH) son intensamente estudiados (tabla 2).

Enfermedad de Alzheimer

Es la causa más frecuente de demencia degenerativa primaria. Se caracteriza por alteraciones cognitivas, demencia y por la acumulación de placas formadas por fragmentos β -amiloides y agregados neurofibrilares en diferentes regiones del cerebro. Su prevalencia es de alrededor de 35 millones de personas en el mundo^{18,19}.

Recientes evidencias demuestran que la acetilación de histonas y metilación del ADN participan en la etiología de la EA. Las placas amiloides son formadas por el depósito de los péptidos β -amiloides producidos durante el procesamiento de la proteína precursora amiloide (APP) mediante las secretasas β y γ . Interesantemente, durante el procesamiento de la APP, además del fragmento extracelular β amiloide, se produce también un fragmento intracelular llamado dominio intracelular APP (AICD), el cual interactúa *in vitro* con la HAT-TIP60 y coactúa como un activador transcripcional. Esto sugiere que la EA está asociada con un incremento

en la acetilación de histonas¹⁸. Tal suposición es apoyada por resultados en cultivos neuronales, los cuales muestran que mutaciones en el gen *presenilina1* (*PS1*) (gen que codifica para un miembro del complejo γ -secretasa) inhiben la degradación vía proteosoma de la proteína HAT-CBP, resultando en un incremento de la expresión génica mediada por CREB²⁰.

En un reciente estudio *in vivo* se encontró que la sobreexpresión de la histona desacetilasa *SIRT1* confiere protección contra la neurodegeneración en un modelo murino para la EA; sin embargo, no se conoce si *SIRT1* actúa a través de la maquinaria epigenética y/o a través de otros genes²¹. Otros estudios han demostrado también una disminución en la acetilación de las histonas, lo cual está causalmente relacionado con la EA²².

Finalmente la metilación del ADN es otro mecanismo implicado en la etiología de la EA, siendo el proceso de hipometilación el más ampliamente reportado. En cultivos celulares la hipometilación de la región promotora del gen *PS1* incrementó la expresión de presenilina y potenció la formación de las placas β -amiloides²³⁻²⁶. Se propone que este efecto puede revertirse con la aplicación de un donador de metilo como S-adenosilmetionina (SAM), el cual rescata la metilación y disminuiría la expresión de presenilina, reduciendo la formación de las placas β -amiloides. Estos estudios sugieren que los donadores de metilo y/o los fármacos que actúan sobre el metabolismo de los metilos pueden ser agentes terapéuticos potenciales para el tratamiento de la EA²⁵⁻²⁷.

Enfermedad de Huntington

Es un raro padecimiento neurodegenerativo que se hereda en forma autosómica dominante y cuya incidencia varía de 3-7 por cada 100.000 individuos en los Estados Unidos. Se caracteriza por deterioro cognitivo y de la memoria, alteraciones psiquiátricas y movimientos no coordinados. La EH resulta de una mutación en el gen *HTT*, consistente en la amplificación del número de repeticiones CAG en el extremo 5' del gen, lo que produce una expansión de poliglutaminas en la región N-terminal de la proteína huntingtina²⁸.

Varios estudios sugieren que la acetilación y la metilación de las histonas están alteradas en la EH. Modelos murinos en los cuales la actividad de la proteína de unión a CREB (CREBBP) está comprometida exhiben reducida acetilación de la cromatina, disminución de la FLP en el hipocampo y déficit de la memoria a largo plazo. También se ha observado que la pérdida de la función de CREBBP se asocia con degeneración del cuerpo estriado en modelos murinos para la EH. Además, la huntingtina que resulta de la expresión del gen *HTT* mutado, interactúa directamente con el dominio de las acetiltransferasas CREBBP, resultando en una reducción de la actividad de esta enzima²⁹.

Otro mecanismo observado en cultivos celulares involucra la unión de las poliglutaminas a las proteínas histonas acetiltransferasas (HAT), a CREBBP y al factor asociado p300/CREBBP, lo cual reduce la actividad de las HAT y el nivel de acetilación de las histonas H3 y H4. Estos resultados demuestran que la disminución de los niveles de CREBBP y la alteración en los procesos de transcripción

Tabla 2 Mecanismos y terapias epigenéticas en padecimientos neurodegenerativos y del neurodesarrollo

Enfermedad	Gen	Función	Efecto epigenético	Modelos utilizados	Tratamiento epigenético relacionado
<i>Desórdenes del neurodesarrollo</i>					
Síndrome de Rett	<i>MECP2</i>	Unirse a los dinucleótidos CpG y reclutar HDAC	↓ Acetilación de histonas	<ul style="list-style-type: none"> • Humanos • Murinos • <i>MeCP2</i> • Cultivos celulares 	Ninguno
Síndrome X- frágil	<i>FMR1</i>	La expansión de repeticiones CGG lleva a metilación del gen mutado	↑ Metilación del ADN ↓ Acetilación de histonas	Líneas celulares derivadas de pacientes con SXF	5-aza, butirato de sodio HDACi, SAHA y TSA
Esquizofrenia	<i>RELN</i>	Proteína de matriz extracelular, involucrada en el desarrollo de sinapsis	↑ Metilación del ADN	<ul style="list-style-type: none"> • Humanos • Modelos murinos • Cultivos celulares Células madre de pacientes	5- aza, butirato de sodio HDACi, y acidovalproico Clozapinaantipsicótica
<i>Desórdenes neurodegenerativos</i>					
Enfermedad de Alzheimer	<i>APP</i>	APP actúa como dominio intracelular, similar a Notch, asociado con la proteína HAT TIP60	↓ Acetilación de histonas	<ul style="list-style-type: none"> • Cultivos celulares • Modelos murinos • Tejido <i>posmortem</i> de humanos 	Sustitución de PS1 HDAC, SIRT1, butirato de sodio, donadores metilo SAM
Enfermedad de Huntington	<i>Htt</i>	Regula la transcripción de la proteína BDNF	↓ Acetilación de histonas ↑ Metilación de histonas H3K9	Modelos murinos R6/2 y 82Q	HDAC, butirato de sodio, SAHA, fenilbutirato, antraciclina

APP: proteína precursora amiloide; CREBBP: proteína de unión a CREB1; EP300: proteína de unión p300; HDAC: histona desacetilasa; HDACi: inhibidor de histonas desacetilasas; HAT: histona acetiltransferasa; Htt: huntingtina; MECP2: proteína de unión a metilCpG; PS1: presenilina; SAHA: aciduberilnolilidohidroxalámico; SIRT1: regulador homólogo 1 de información silente; TSA: tricostatina A; 5-aza-5-aza-2-deoxicitidina. Modificado de: Levenson y Sweatt⁸, Scarpa et al.²⁴

dependientes de CREBBP/CREB1 se asocian con déficit en la memoria a largo plazo en ratones mutantes *Hdh^{Q7/Q111}*²⁹.

En estudios recientes realizados en un modelo de drosophila con expansión de poliglutaminas, se ha logrado reducir la actividad de las HDAC mediante mutaciones dirigidas o inhibición farmacológica, disminuyendo los efectos patológicos inducidos por la poliglutamina²⁹. Actualmente se conoce un grupo amplio de inhibidores de las HDAC, como el butirato de sodio, el ácido suberoyl anilido hidroxalámico (SAHA), el fenilbutirato y el inhibidor 4b de la HDAC, los cuales mejoran el déficit motor y la atrofia neuronal en modelos murinos de EH³⁰⁻³⁴ (fig. 2). Interesantemente, se ha observado reversión del estado de hipoacetilación de la α -tubulina citoplasmática mediante inhibidores de la HDAC^{20,29}. En otro estudio, células estriadas de ratón, con o sin EH, fueron tratadas con el inhibidor específico

tubacina HDAC6, obteniendo un incremento en la acetilación de la α -tubulina y reversión de algunos signos de la enfermedad³⁵.

Además de la acetilación, también el proceso de metilación se encuentra alterado en modelos murinos de EH, en los que se observa un incremento de la proteína dime-til H3K9, misma que participa en procesos de represión transcripcional^{25,27,36}.

Enfermedades del neurodesarrollo

Un número substancial de evidencias señalan qué alteraciones epigenéticas están involucradas en el mecanismo etiológico de varios trastornos del neurodesarrollo; entre ellos los síndromes de Rett (SR), x-frágil (SXF) y la esquizofrenia (tabla 2).

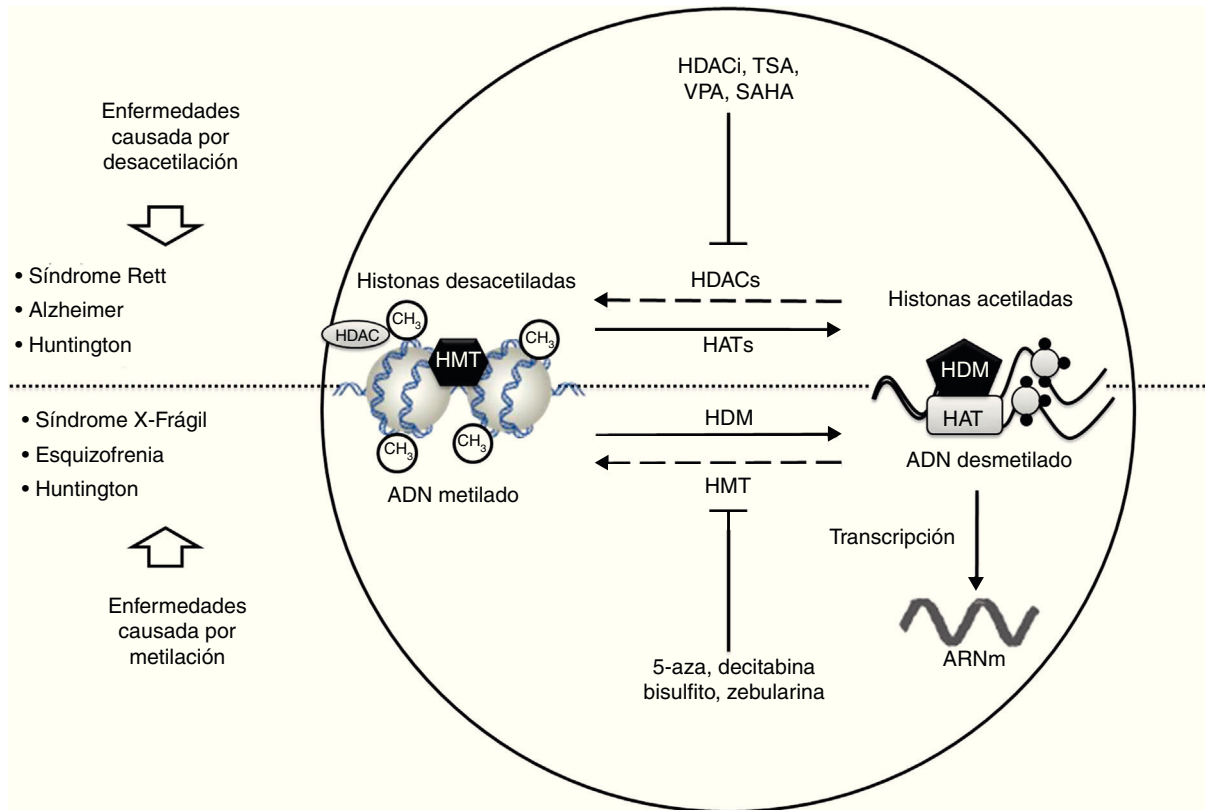


Figura 2 *Desórdenes neurológicos y alteraciones epigenéticas.* En condiciones normales las enzimas HAT acetilan histonas para una correcta transcripción del ADN; en cambio las enzimas HDAC desacetilan histonas, lo que puede dar lugar a padecimientos como Rett, Alzheimer y Huntington. Sustancias como HDACi, TSA, VPA, SAHA inhiben las enzimas HDAC y son usadas en el tratamiento de dichas patologías.

Por otro lado, en condiciones normales las enzimas HDM desmetilan el ADN, permitiendo su correcta transcripción; en cambio las enzimas HMT metilan el ADN, provocando padecimientos como x-frágil, esquizofrenia y Huntington. Sustancias como 5-aza, decitabina, bisulfito y zebularina inhiben las enzimas HMT y son usadas en el tratamiento de dichas patologías.

HAT: histonas acetiltransferasas; *HDAC*: histonas desacetilasas; *HDACi*: inhibidor de histonas desacetilasas; *HDM*: histonas desmetilasas; *HMT*: histonas metiltransferasas; *SAHA*: ácido suberoilsanilidohidroxalamico; *TSA*: tricostatina A; *VPA*: ácido valproico; *5-aza*: 5-aza-2-deoxicitidina.

Síndrome de Rett

Tiene una frecuencia de 1:10.000 a 1:15.000 individuos en Estados Unidos. La enfermedad se manifiesta en edades tempranas de la infancia como una alteración del desarrollo neurológico que ocasiona déficit en el aprendizaje y la memoria. Se caracteriza por microcefalia, movimientos estereotipados, alteración de la coordinación motora, convulsiones, problemas del lenguaje y del aprendizaje, y alteración cognitiva de leve a severa. Otras de las manifestaciones clínicas incluyen ataxia, espasticidad y alteraciones autonómicas.

El mecanismo epigenético relacionado al SR es el fenómeno de metilación del ADN que impide la transcripción del gen *MECP2*³⁷. La proteína *MECP2* es miembro de la familia de represores transcripcionales de unión a grupos metilo (MBP) y juega un papel dual en el silenciamiento y la activación transcripcional³⁷. Además de regular la metilación del ADN, *MECP2* también participa en procesos de acetilación y metilación de histonas (fig. 2).

Los resultados de estudios realizados en modelos murinos con deleciones del gen *MECP2* en regiones específicas del

cerebro recuerdan el fenotipo de los pacientes con SR³⁸. Un modelo murino carente de la expresión del gen *MECP2* mostró cerebros más pequeños, con menor peso y con neuronas más pequeñas; además, los ratones mostraron ausencia total de su actividad exploratoria^{39,40}, déficit cognitivo y reducida plasticidad sináptica⁴¹.

Consistente con el efecto de la deficiencia de la proteína *MECP2*, las alteraciones cognitivas pueden ser revertidas por sobreexpresión del gen *MECP2*^{27,42,43}. La fosforilación de *MECP2* también permite el crecimiento dendrítico y la maduración de las espinas dendríticas^{27,44}. En modelos murinos se ha observado que la sobreexpresión de *MECP2* induce la FLP en el hipocampo y mejora la formación de la memoria a largo plazo, lo que demuestra que *MECP2* modula la inducción de la plasticidad sináptica y la formación de la memoria⁴⁵.

Síndrome X frágil

Es considerado la causa heredable más común de disfunción intelectual ligada al cromosoma x. Su frecuencia es de aproximadamente uno de cada 4.000 varones y una de cada

8.000 mujeres; se asocia a la expresión citogenética del sitio frágil Xq27.3 (FRAXA) y se transmite mediante un mecanismo inusual de herencia ligado al cromosoma x. Además de un conjunto de características dismórficas, los pacientes con SXF presentan deficiencia cognitiva, de aprendizaje y de memoria. La mutación que causa el SXF es una amplificación de trinucleótidos CGG en la región no traducible 5' del gen *FMR1*¹⁹. Actualmente se conoce que la metilación del ADN, así como la acetilación y metilación de las histonas están implicadas en los mecanismos moleculares de esta enfermedad. La expansión del trinucleótido CGG resulta en un incremento de la metilación del ADN en el promotor del gen *FMR1*, lo cual impide la transcripción génica y anula la producción del ARN mensajero y de la proteína *FMR1*⁴⁶⁻⁴⁸. La proteína *FMR1* (*FMRP*), ausente en los pacientes con SXF, es una proteína de unión a ARNm que participa en la formación de los polirribosomas⁴⁶.

Recientes estudios en modelos murinos de SXF, demuestran que la regulación de la traducción mediante *FMRP* es esencial para el aprendizaje y la memoria, tanto en células madre neurales adultas como en neuronas jóvenes; así mismo se ha observado que un reducido número de nuevas neuronas, con defectos en la maduración, puede contribuir a la deficiencia cognitiva del SXF⁴⁹.

El tratamiento de células linfoblastoides de pacientes con SXF con agentes desmetilantes como la 5-aza-2-deoxycitidina revierte eficientemente la hipermetilación del promotor *FMR1*, restableciendo los niveles del ARNm⁵⁰. Interesantemente, la expresión del ARNm es restablecida incluso por encima del nivel de referencia cuando el 5-aza-2-deoxycitidina es combinado con los inhibidores de las HDAC como el 4-fenilbutirato, el butirato de sodio y la TSA⁵¹. Esto sugiere un efecto combinado de la desacetilación y la hipermetilación del ADN como mecanismo causal del SXF y, opuestamente, un efecto sinérgico potencial de hiperacetilación de las histonas y desmetilación del ADN como un posible tratamiento para los pacientes con SXF (fig. 2). Dos estudios adicionales reportan que el tratamiento con 5-aza-2-deoxycitidina en líneas celulares de pacientes con SXF desplaza el patrón epigenético de metilación de histonas⁵². Otros estudios utilizando ensayos de inmunoprecipitación de cromatina en el promotor del gen *FMR1* muestran que el tratamiento con 5-aza-2-deoxycitidina disminuye la metilación de la histona H3K9, la cual participa en el silenciamiento transcripcional^{25,53}.

Esquizofrenia

Es un padecimiento mental relativamente común, con una prevalencia en los Estados Unidos de 1:100 individuos mayores de 18 años. Se caracteriza por presentar 2 tipos de síntomas psicóticos. Los síntomas positivos incluyen alteraciones en el pensamiento, ilusiones, alucinaciones y delirios. Los síntomas negativos incluyen aislamiento social, pérdida de la motivación, y apatía, reflejando una pérdida de las habilidades conductuales. Presentan además disfunción cognitiva, que incluye el deterioro de la memoria de trabajo y la desorganización conceptual²⁷.

Las causas de la esquizofrenia no son bien entendidas pero es probable que resulten de una compleja interacción de predisposición genética y condiciones ambientales

durante el desarrollo pre y posnatal. Las evidencias sugieren el involucramiento de mecanismos epigenéticos, en particular la metilación de histonas y de ADN. En tejido cerebral de pacientes diagnosticados con esquizofrenia, los niveles del ARNm de reelina (*RELN*) (proteína de la matriz extracelular implicada en la migración neuronal) se encontraron significativamente reducidos, correlacionando con niveles incrementados de la proteína DNA metiltransferasa 1 (*DNMT1*). Esto sugiere que la hipermetilación del ADN en la región promotora del gen *RELN*, puede ser responsable de la disminución de los niveles del gen *RELN* en pacientes esquizofrénicos⁵⁴. Se ha demostrado que el promotor del gen *RELN* contiene varios sitios específicos para metilación y que la inhibición de la actividad de HDAC y DNMT incrementa la expresión de *RELN*, lo que sugiere que mecanismos epigenéticos están importantemente relacionados con la expresión de esta proteína^{25,45}.

Estudios posteriores demuestran que la acetilación de lisinas en la histona 3 (H3K9 o K14), en el promotor del gen *RELN* en cerebros de murinos se incrementa después del tratamiento con ácido valproico asociado con clozapina o sulpirida^{55,56}. Por otro lado, estudios realizados en células y cultivos neuronales *in vivo* e *in vitro* demuestran que la metilación del gen *RELN* suprime su expresión. El tratamiento con TSA y ácido valproico incrementaron la metilación del ADN en el promotor del gen *RELN*; en tanto que en ratones heterocigotos para *RELN*, inyecciones con ácido valproico potencian la expresión del gen *RELN*. Estos hallazgos sugieren una interacción entre la desmetilación del ADN y la acetilación histónica para la activación de la expresión del gen *RELN*⁵⁴.

Conclusiones

Mecanismos epigenéticos tales como la modificación covalente del ADN y los cambios pos-traduccionales de las histonas se han establecido como reguladores necesarios de la fisiología sináptica y de la memoria. Finalmente se ha determinado que los mecanismos epigenéticos juegan un papel central en las funciones cerebrales, por lo que cualquier alteración puede conducir a trastornos en el desarrollo neurológico o a procesos neurodegenerativos. Los estudios en modelos murinos patológicos han generado la mayor parte del conocimiento que actualmente disponemos al respecto y nos muestran un escenario promisorio con una serie de tratamientos potenciales como los inhibidores de las HDAC en la terapia de algunos padecimientos neurológicos. Sin embargo, y a pesar de la creciente evidencia científica relacionada con el papel que estos mecanismos epigenéticos juegan en los procesos de modificación sináptica, aún existe una enorme cantidad de preguntas no resueltas respecto a estos mecanismos y su control sobre la formación y desarrollo de la memoria a largo plazo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Leslie JH, Nedivi E. Activity-regulated genes as mediators of neural circuit plasticity. *Prog Neurobiol*. 2011;94:223–37.
2. Sheng M, Greenberg ME. The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system. *Neuron*. 1990;4:477–85.
3. Waddington CH. The epigenetics of birds. *Science*. 1953;117:427–8.
4. Malecová B, Morris KV. Transcriptional gene silencing through epigenetic changes mediated by non-coding RNAs. *Curr Opin Mol Ther*. 2010;12:214–22.
5. Saxena A, Carninci P. Long non-coding RNA modifies chromatin: Epigenetic silencing by long non-coding RNAs. *Bioessays*. 2011;33:830–9.
6. Day JJ, Sweatt JD. Epigenetic treatments for cognitive impairments. *Neuropsychopharmacology*. 2012;37:247–60.
7. Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. *Nature*. 2000;403:41–5.
8. Levenson JM, Sweatt JD. Epigenetic mechanisms in memory formation. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6:108–18.
9. Gräff J, Kim D, Dobbin MM, Tsai LH. Epigenetic regulation of gene expression in physiological and pathological brain processes. *Physiol Rev*. 2011;91:603–49.
10. Sweatt JD. Experience-dependent epigenetic modifications in the central nervous system. *Biol Psychiatry*. 2009;65:191–7.
11. Molfese DL. Advancing neuroscience through epigenetics: Molecular mechanisms of learning and memory. *Dev Neuropsychol*. 2011;36:810–27.
12. Levenson JM, O’Riordan KJ, Brown KD, Trinh MA, Molfese DL, Sweatt JD. Regulation of histone acetylation during memory formation in the hippocampus. *J Biol Chem*. 2004;279:40545–59.
13. Rampon C, Tang YP, Goodhouse J, Shimizu E, Kyin M, Tsien JZ. Enrichment induces structural changes and recovery from nonspatial memory deficits in CA1 NMDAR1-knockout mice. *Nat Neurosci*. 2000;3:238–44.
14. Korzus E, Rosenfeld MG, Mayford M. CBP histone acetyltransferase activity is a critical component of memory consolidation. *Neuron*. 2004;42:961–72.
15. Alarcón JM, Malleret G, Touzani K, Vronskaya S, Ishii S, Kandel ER, et al. Chromatin acetylation, memory, and LTP are impaired in CBP^{+/-} mice: A model for the cognitive deficit in Rubinstein-Taybi syndrome and its amelioration. *Neuron*. 2004;42:947–59.
16. Klann E, Antion MD, Banko JL, Hou L. Synaptic plasticity and translation initiation. *Learn Mem*. 2004;11:365–72.
17. Guan Z, Giustetto M, Lomvardas S, Kim JH, Miniaci MC, Schwartz JH, et al. Integration of long-term-memory-related synaptic plasticity involves bidirectional regulation of gene expression and chromatin structure. *Cell*. 2002;111:483–93.
18. Cao X, Südhof TC. A transcriptionally [correction of transcriptively] active complex of APP with Fe65 and histone acetyltransferase Tip60. *Science*. 2001;293:115–20.
19. Rosales-Reynoso MA, Ochoa-Hernández AB, Juárez-Vázquez CI, Barros-Núñez P. Enfermedad de Alzheimer y síndrome X frágil: la vía Wnt/B catenina como mecanismo biológico común. *Rev Neurol*. 2012;55:543–8.
20. Marambaud P, Wen PH, Dutt A, Shioi J, Takashima A, Siman R, et al. A CBP binding transcriptional repressor produced by the PS1/epsilon-cleavage of N-cadherin is inhibited by PSI FAD mutations. *Cell*. 2003;114:635–45.
21. Kim D, Nguyen MD, Dobbin MM, Fischer A, Sananbenesi F, Rodgers JT, et al. SIRT1 deacetylase protects against neurodegeneration in models for Alzheimer’s disease and amyotrophic lateral sclerosis. *EMBO J*. 2007;26:3169–79.
22. Rouaux C, Jokic N, Mbebi C, Boutillier S, Loeffler JP, Boutillier AL. Critical loss of CBP/p300 histone acetylase activity by caspases-6 during neurodegeneration. *EMBO J*. 2003;22:6537–49.
23. Saura CA, Choi SY, Beglopoulos V, Malkani S, Zhang D, Shankaranarayana Rao BS, et al. Loss of presenilin function causes impairments of memory and synaptic plasticity followed by age-dependent neurodegeneration. *Neuron*. 2004;42:23–36.
24. Scarpa S, Fuso A, D’Anselmi F, Cavallaro RA. Presenilin 1 gene silencing by S-adenosylmethionine: A treatment for Alzheimer disease? *FEBS Lett*. 2003;541(1–3):145–8.
25. Abel T, Zukin RS. Epigenetic targets of HDAC inhibition in neurodegenerative and psychiatric disorders. *Curr Opin Pharmacol*. 2008;8:57–64.
26. Mastroeni D, Grover A, Delvaux E, Whiteside C, Coleman PD, Rogers J. Epigenetics mechanisms in Alzheimer’s disease. *Neurobiol Aging*. 2011;32:1161–80.
27. Gräff J, Mansuy IM. Epigenetic dysregulation in cognitive disorders. *Eur J Neurosci*. 2009;30:1–8.
28. Rosales-Reynoso MA, Barros-Núñez P. Diagnóstico molecular de la enfermedad de Huntington. *Gac Med Méx*. 2008;144:271–3.
29. Steffan JS, Bodai L, Pallos J, Poelman M, McCampbell A, Apostol BL, et al. Histone deacetylase inhibitors arrest polyglutamine-dependent neurodegeneration in *Drosophila*. *Nature*. 2001;413:739–43.
30. Ferrante RJ, Kubilus JK, Lee J, Ryu H, Beesen A, Zucker B, et al. Histone deacetylase inhibition by sodium butyrate chemotherapy ameliorates the neurodegenerative phenotype in Huntington’s disease mice. *J Neurosci*. 2003;23:9418–27.
31. Hockly E, Richon VM, Woodman B, Smith DL, Zhou X, Rosa E, et al. Suberoylanilidehydroxamic acid, a histone deacetylase inhibitor, ameliorates motor deficits in a mouse model of Huntington’s disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:2041–6.
32. Gardian G, Browne SE, Choi DK, Klivenyi P, Gregorio J, Kubilus JK, et al. Neuroprotective effects of phenylbutyrate in the N171-82Q transgenic mouse model of Huntington’s disease. *J Biol Chem*. 2005;280:556–63.
33. Sadri-Vakili G, Bouzou B, Benn CL, Kim MO, Chawla P, Overland RP, et al. Histones associated with downregulated genes are hypo-acetylated in Huntington’s disease models. *Hum Mol Genet*. 2007;16:1293–306.
34. Thomas EA, Coppola G, Desplats PA, Tang B, Soragni E, Burnett R, et al. The HDAC inhibitor 4b ameliorates the disease phenotype and transcriptional abnormalities in Huntington’s disease transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:15564–9.
35. Dompierre JP, Godin JD, Charrin BC, Cordelières FP, King SJ, Humbert S, et al. Histone deacetylase 6 inhibition compensates for the transport deficit in Huntington’s disease by increasing tubulin acetylation. *J Neurosci*. 2007;27:3571–83.
36. Stack EC, del Signore SJ, Luthi-Carter R, Soh BY, Goldstein DR, Matson S, et al. Modulation of nucleosome dynamics in Huntington’s disease. *Hum Mol Genet*. 2007;16:1164–75.
37. Amir RE, van den Veyver IB, Wan M, Tran CQ, Francke U, Zoghbi HY. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nat Genet*. 1999;23:185–8.
38. Lilja T, Wallenborg K, Björkman K, Albåge M, Eriksson M, Lagercrantz H, et al. Novel alterations in the epigenetic signature of MeCP2-targeted promoters in lymphocytes of Rett syndrome patients. *Epigenetics*. 2013;8:246–51.
39. Chen RZ, Akbarian S, Tudor M, Jaenisch R. Deficiency of methyl-CpG binding protein-2 in CNS neurons results in a Rett-like phenotype in mice. *Nat Genet*. 2001;27:327–31.
40. Guy J, Hendrich B, Holmes M, Martin JE, Bird A. A mouse *Mecp2*-null mutation causes neurological symptoms that mimic Rett syndrome. *Nat Genet*. 2001;27:322–6.
41. Collins AL, Levenson JM, Vilaythong AP, Richman R, Armstrong DL, Noebels JL, et al. Mild overexpression of MeCP2 causes

- a progressive neurological disorder in mice. *Hum Mol Genet.* 2004;13:2679–89.
42. Chen WG, Chang Q, Lin Y, Meissner A, West AE, Griffith EC, et al. Derepression of BDNF transcription involves calcium-dependent phosphorylation of MeCP2. *Science.* 2003;302:885–9.
 43. Martinowich K, Hattori D, Wu H, Fouse S, He F, Hu Y, et al. DNA methylation-related chromatin remodeling in activity-dependent BDNF gene regulation. *Science.* 2003;302:890–3.
 44. Zhou Z, Hong EJ, Cohen S, Zhao WN, Ho HY, Schmidt L, et al. Brain-specific phosphorylation of MeCP2 regulates activity-dependent Bdnf transcription, dendritic growth, and spine maturation. *Neuron.* 2006;52:255–69.
 45. Day JJ, Sweatt JD. Cognitive neuroepigenetics: A role for epigenetic mechanisms in learning and memory. *Neurobiol Learn Mem.* 2011;96:2–12.
 46. Ashley CT, Sutcliffe JS, Kunst CB, Leiner HA, Eichler EE, Nelson DL, et al. Human and murine FMR-1: Alternative splicing and translational initiation downstream of the CGG-repeat. *Nat Genet.* 1993;4:244–51.
 47. Gecz J, Gedeon AK, Sutherland GR, Mulley JC. Identification of the gene FMR2, associated with FRAXE mental retardation. *Nat Genet.* 1996;13:105–8.
 48. Gu Y, Shen Y, Gibbs RA, Nelson DL. Identification of FMR2, a novel gene associated with the FRAXE CCG repeat and CpG island. *Nat Genet.* 1996;13:109–13.
 49. Luo Y, Shan G, Guo W, Smrt RD, Johnson EB, Li X, et al. Fragile x mental retardation protein regulates proliferation and differentiation of adult neural stem/progenitor cells. *PLoS Genet.* 2010;6:e1000898.
 50. Chiurazzi P, Pomponi MG, Willemsen R, Oostra BA, Neri G. In vitro reactivation of the FMR1 gene involved in fragile X syndrome. *Hum Mol Genet.* 1998;7:109–13.
 51. Chiurazzi P, Pomponi MG, Pietrobono R, Bakker CE, Neri G, Oostra BA. Synergistic effect of histone hyperacetylation and DNA demethylation in the reactivation of the FMR1 gene. *Hum Mol Genet.* 1999;8:2317–23.
 52. Tabolacci E, Pietrobono R, Moscato U, Oostra BA, Chiurazzi P, Neri G. Differential epigenetic modifications in the FMR1 gene of the fragile X syndrome after reactivating pharmacological treatments. *Eur J Hum Genet.* 2005;13:641–8.
 53. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell.* 2007;128:693–705.
 54. Chen Y, Sharma RP, Costa RH, Costa E, Grayson DR. On the epigenetic regulation of the human reelin promoter. *Nucleic Acids Res.* 2002;30:2930–9.
 55. Sharma RP, Grayson DR, Gavin DP. Histone deacetylase 1 expression is increased in the prefrontal cortex of schizophrenia subjects: Analysis of the National Brain Databank microarray collection. *Schizophr Res.* 2008;98(1-3):111–7.
 56. Dong E, Nelson M, Grayson DR, Costa E, Guidotti A. Clozapine and sulpiride but not haloperidol or olanzapine activate brain DNA demethylation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105:13614–9.