



Σχολή Θετικών Επιστημών και Υγείας  
Χημική και Βιομοριακή Ανάλυση

Διπλωματική Εργασία

Ο ρόλος της επιγενετικής στη σχιζοφρένεια

Πρόιου Βασιλική

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Μαρκοπούλου Σουλτάνα

Πάτρα, Ιανουάριος 2024

Η παρούσα εργασία αποτελεί πνευματική ιδιοκτησία της φοιτήτριας Πρόιου Βασιλικής, που την εκπόνησε. Στο πλαίσιο της πολιτικής ανοικτής πρόσβασης ο συγγραφέας/δημιουργός εκχωρεί στο ΕΑΠ, μη αποκλειστική άδεια χρήσης του δικαιώματος αναπαραγωγής, προσαρμογής, δημόσιου δανεισμού, παρουσίασης στο κοινό και ψηφιακής διάχυσής τους διεθνώς, σε ηλεκτρονική μορφή και σε οποιοδήποτε μέσο, για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, άνευ ανταλλάγματος και για όλο το χρόνο διάρκειας των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας. Η ανοικτή πρόσβαση στο πλήρες κείμενο για μελέτη και ανάγνωση δεν σημαίνει καθ' οιονδήποτε τρόπο παραχώρηση δικαιωμάτων διανοητικής ιδιοκτησίας του συγγραφέα/δημιουργού ούτε επιτρέπει την αναπαραγωγή, αναδημοσίευση, αντιγραφή, αποθήκευση, πώληση, εμπορική χρήση, μετάδοση, διανομή, έκδοση, εκτέλεση, «μεταφόρτωση» (downloading), «ανάρτηση» (uploading), μετάφραση, τροποποίηση με οποιονδήποτε τρόπο, τμηματικά ή περιληπτικά της εργασίας, χωρίς τη ρητή προηγούμενη έγγραφη συναίνεση του συγγραφέα/δημιουργού. Ο συγγραφέας/δημιουργός διατηρεί το σύνολο των ηθικών και περιουσιακών του δικαιωμάτων.



## Ο ρόλος της επιγενετικής στη σχιζοφρένεια

Πρόιου Βασιλική

Επιτροπή επίβλεψης Διπλωματικής εργασίας

Επιβλέπων Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Μαρκοπούλου Σουλτάνα

Μέλος ΣΕΠ

Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο

Συν-Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Τσουμάνη Κωνσταντίνα

Μέλος ΣΕΠ

Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο

*Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών «Χημική και Βιομοριακή Ανάλυση» του Ελληνικού Ανοικτού Πανεπιστημίου, υπό την επίβλεψη και καθοδήγηση της καθηγήτριας κ. Μαρκοπούλου Σουλτάνας, για τα οποία θα ήθελα να την ευχαριστήσω θερμά. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές του ΕΑΠ για τις πολύτιμες γνώσεις που παρείχαν καθ' όλη τη διάρκεια της φοίτησής μου. Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια και τους δικούς μου ανθρώπους για τη συνεχή ενθάρρυνση και υποστήριξή τους.*

## Περίληψη

Η σχιζοφρένεια αναγνωρίζεται ως μία χρόνια νευροαναπτυξιακή διαταραχή με εξελικτική πορεία καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του ασθενή και με εξαιρετικά ετερογενές γενετικό, νευροβιολογικό, επιγενετικό και περιβαλλοντικό υπόβαθρο. Επηρεάζει σημαντικά την πρώιμη ανάπτυξη του εγκεφάλου και εκφράζεται με μία σειρά θετικών (παραισθήσεις, ψευδαισθήσεις, γενικότερη αποδιοργάνωση σκέψης) και αρνητικών (κοινωνική απόσυρση, συναισθηματική έκπτωση) συμπτωμάτων, αλλά και γνωστικών δυσλειτουργιών. Η σχιζοφρένεια χαρακτηρίζεται από υψηλή κληρονομικότητα, όμως οι γενετικές παραλλαγές δεν αρκούν για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας της ασθένειας, αποκαλύπτοντας έτσι μία πολυπαραγοντική προέλευση της, η οποία είναι αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης γονιδίων και περιβάλλοντος. Παρ' όλο που η σχιζοφρένεια έχει αποδοθεί σε προγεννητικά, περιγεννητικά και μεταγεννητικά συμβάντα κατά τη διάρκεια της κύησης, του τοκετού και της παιδικής ηλικίας, η αιτιολογία της παραμένει μέχρι και σήμερα αδιευκρίνιστη. Μία σειρά ερευνών, κυρίως σε ζωικά μοντέλα, υποδεικνύει τον ισχυρό ρόλο που διαδραματίζει η επιγενετική στην ανάπτυξη της σχιζοφρένειας αλλά και στη μετέπειτα πορεία της νόσου και το θεραπευτικό της αποτέλεσμα. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί αντανakλούν δυναμικές τροποποιήσεις της δομής, αλλά όχι της αλληλουχίας του DNA, οι οποίες ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων. Η μεθυλίωση του DNA αποτελεί την πιο γνωστή επιγενετική τροποποίηση που εμπλέκεται στην ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των ιστονών (μεθυλίωση, ακετυλίωση, φωσφορυλίωση, ουβικουιλίνωση) και η απορρύθμιση της έκφρασης των μη κωδικών RNAs έχουν επίσης ενοχοποιηθεί για την παθογένεση της σχιζοφρένειας. Επιπλέον, οι επιγενετικές τροποποιήσεις αποτελούν πολλά υποσχόμενους στόχους για μία νέα προοπτική θεραπείας της σχιζοφρένειας λόγω της ικανότητάς τους να μεταβάλλουν την έκφραση των γονιδίων κινδύνου της ασθένειας. Τα αντιψυχωσικά φάρμακα έχουν βρεθεί επίσης να επάγουν επιγενετικές αλλαγές και να επηρεάζουν άμεσα την έκφραση και δραστηριότητα των επιγενετικών ρυθμιστών. Τα δεδομένα αυτά αποτελούν σημαντική πρόκληση για μελλοντικές μελέτες γιατί προσφέρουν ένα νέο θεραπευτικό πεδίο με βασικό στόχο την έως το δυνατόν ελάχιστη, ακόμα και μηδενική ανθεκτικότητα των ασθενών στην αγωγή, η οποία θα έδινε ελπίδα για αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση των συμπτωμάτων και βελτίωση της ποιότητας ζωής.

## Λέξεις-κλειδιά

Επιγενετική της σχιζοφρένειας, επιγενετικές τροποποιήσεις σχιζοφρένειας, DNA μεθυλίωση και σχιζοφρένεια, τροποποιήσεις ιστόνης και σχιζοφρένεια, miRNAs και σχιζοφρένεια, επιγενετικοί βιοδείκτες σχιζοφρένειας, επιγενετική στη διάγνωση σχιζοφρένειας, επιγενετική στη θεραπεία σχιζοφρένειας

## The role of epigenetics in schizophrenia

Proiou Vasiliki

### **Abstract**

Schizophrenia is regarded as a neurodevelopmental disorder with a progressing course throughout patients' life and an extraordinary heterogeneous genetic, neurobiological, epigenetic and environmental background. Schizophrenia influences brain development in early stages and is expressed as a combination of positive (hallucinations, delusions and thought disorganization) and negative (social withdrawal, emotional disruption) symptoms, as well as cognitive dysfunctions. Schizophrenia is characterized by high heritability. Although the genetic variations alone fail to explain the pathophysiology of the disease. Thus, schizophrenia has a multifactorial nature that can be attributed to a complex interaction of genes and environment. While schizophrenia has been attributed to prenatal, perinatal and postnatal events during pregnancy, birth and childhood, the etiology of the disease remains unclear until today. There are strong evidences, mainly from researches in animal models, that indicates the critical role of epigenetic mechanisms in the onset of schizophrenia as well as the following disease state and the therapeutic response. Epigenetics refers to dynamic modifications of the structure of DNA, which however do not alter the DNA sequence. Through these mechanisms, epigenetics has the ability to regulate gene expression. DNA methylation is the most well-studied epigenetic modification that is involved in the regulation of gene expression in cases of schizophrenia. Subsequently, post-translational modification of histones, such as methylation, acetylation, phosphorylation, ubiquitination, and dysregulation of non-coding RNAs' expression have also been implicated in the pathogenesis of schizophrenia. In addition, epigenetic modifications are promising targets for a new perspective of treatment due to their ability to alter the expression of schizophrenia risk genes. Antipsychotic drugs have also been found to induce epigenetic alterations and directly influence the expression and activity of epigenetic regulators. These data offer a new challenging field of research to develop new therapeutic techniques which would minimize the resistant of patients and provide a more effective treatment and improve their quality of life.

### **Keywords**

epigenetics of schizophrenia, epigenetic modifications of schizophrenia, DNA methylation and schizophrenia, histone modification and schizophrenia, microRNAs and schizophrenia, epigenetic biomarkers of schizophrenia, epigenetics in diagnosis of schizophrenia, epigenetics in therapy of schizophrenia

## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	v
Abstract .....	vi
Περιεχόμενα.....	vii
Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων .....	viii
Κατάλογος Πινάκων .....	ix
1. Η σχιζοφρένεια .....	1
1.1 Ορισμός και κλινική εικόνα.....	1
1.2 Επιδημιολογία.....	4
1.3 Παθοφυσιολογία .....	6
1.4 Γενετικό υπόβαθρο .....	8
1.5 Αντιμετώπιση.....	10
2. Σκοπός.....	12
3. Μεθοδολογία.....	13
4. Επιγενετικοί μηχανισμοί.....	14
4.1 Γενικά για τους επιγενετικούς μηχανισμούς.....	14
4.2 Μεθυλίωση DNA.....	15
4.3 Μετά-μεταφραστικές τροποποιήσεις ιστονών .....	16
4.4 Μη κωδικά RNAs .....	20
4.5 Τεχνικές .....	22
5. Η επιγενετική πλευρά της σχιζοφρένειας .....	25
5.1 Μία γενική εικόνα.....	25
5.2 Μεθυλίωση DNA.....	26
5.3 Μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ιστονών .....	31
5.4 Μη κωδικά mRNAs .....	32
5.5 Επιγενετικές τροποποιήσεις σχιζοφρένειας σε περιφερικούς ιστούς .....	34
5.6 Οι επιγενετικές τροποποιήσεις σχιζοφρένειας ως πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι .....	37
5.7 Οι επιδράσεις των αντιψυχωσικών στην επιγενετική της σχιζοφρένειας.....	39
6. Συζήτηση-συμπεράσματα .....	43
6.1 Διάγνωση και βιοδείκτες .....	43
6.2 Μελλοντικές προοπτικές.....	45
Βιβλιογραφία .....	48

## **Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων**

Εικόνα 1-1 Η κληρονομικότητα της σχιζοφρένειας .....	1
Εικόνα 1-2 Τα στάδια της σχιζοφρένειας .....	4
Εικόνα 1-3 Η αιτιολογία της σχιζοφρένειας .....	9
Εικόνα 4-1 Οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των ιστονών .....	17
Εικόνα 4-2 Οι ρυθμιστές της δομής της χρωματίνης.....	18
Εικόνα 4-3 Οι επιγενετικές τροποποιήσεις ιστονών και η επίδραση στη χρωματίνη.. .....	20
Εικόνα 4-4 Οι βασικότερες επιγενετικές τροποποιήσεις .....	22
Εικόνα 5-1 Οι αλλαγές στις επιγενετικές τροποποιήσεις στη σχιζοφρένεια .....	26
Εικόνα 5-2 Τρόποι επιγενετικών τροποποιήσεων των αντιψυχωσικών φαρμάκων .....	40



## **Κατάλογος Πινάκων**

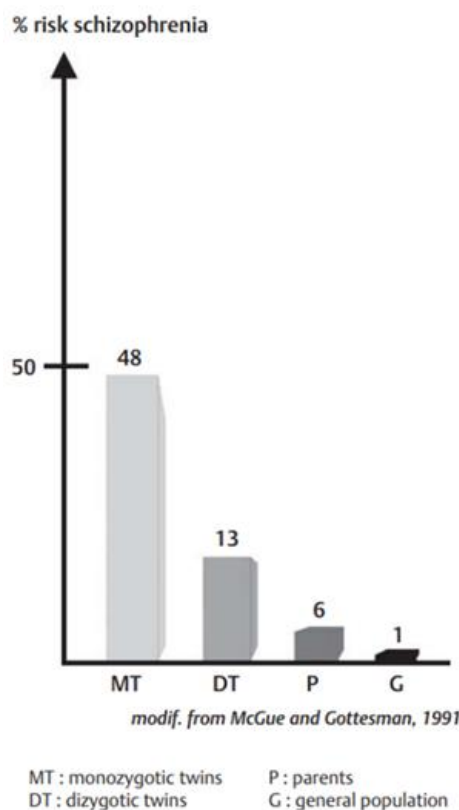
Πίνακας 5-1 Γονίδια με διαφορετική μεθυλίωση στη σχιζοφρένεια .....	30
Πίνακας 5-2 Μη φυσιολογικά εκφραζόμενα ncRNAs σε σχιζοφρένεια .....	34



## 1. Η σχιζοφρένεια

### 1.1. Ορισμός και κλινική εικόνα

Ως νευροψυχιατρικές ασθένειες, όπως αυτισμός, κατάθλιψη, διπολική διαταραχή και σχιζοφρένεια, ορίζονται οι νευρολογικές και ψυχιατρικές διαταραχές οι οποίες πλήττουν διάφορες εγκεφαλικές λειτουργίες που επηρεάζουν φυσιολογικές δραστηριότητες του ατόμου.<sup>1</sup> Η σχιζοφρένεια αποτελεί μία από τις πιο σοβαρές χρόνιες ψυχικές διαταραχές, η οποία επηρεάζει 1 στους 100 ανθρώπους και έχει επιπολασμό 0,4% παγκοσμίως.<sup>2</sup> Όπως συμβαίνει και με όλες τις ψυχικές ασθένειες, το γενετικό υπόβαθρο και η κληρονομικότητα της σχιζοφρένειας αποτελεί αμφιλεγόμενο θέμα και έχει αμφισβητηθεί αρκετά μεταξύ των επιστημόνων. Έρευνες έχουν δείξει ότι η σχιζοφρένεια παρουσιάζει υψηλή κληρονομικότητα, ωστόσο μελέτες σε οικογένειες και διδύμους υποδηλώνουν τον κρίσιμο ρόλο των περιβαλλοντικών παραγόντων στην αιτιολογία της ασθένειας.<sup>3,4</sup> Οι μονοζυγωτικοί δίδυμοι παρουσιάζουν ποσοστό συμφωνίας 45%-50%, συγκριτικά με το 10%-15% των ετεροζυγωτικών διδύμων. (Εικόνα 1.1) Η 50%-55% ασυμφωνία σε περιπτώσεις σχιζοφρένειας ατόμων που μοιράζονται πανομοιότυπο γονιδίωμα ενισχύει την θεωρία για την σημαντική επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων στην ανάπτυξη της ασθένειας. Οι περιβαλλοντικές αυτές παρεμβάσεις περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων στρες, ιικές λοιμώξεις, διατροφικές ελλείψεις, υποξία, επίδραση νευροτοξινών και επιπλοκές κατά την κύηση και τον τοκετό.<sup>5</sup>



Εικόνα 1.1 Η κληρονομικότητα της σχιζοφρένειας<sup>6</sup>

Συνεπώς, η σχιζοφρένεια αποτελεί μία πολύπλοκη διαταραχή πολυπαραγοντικής προέλευσης με μία σειρά συμπτωμάτων τα οποία μπορούν να αποδοθούν σε γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες.<sup>7</sup> Χαρακτηρίζεται από διάφορες διακυμάνσεις διαταραχών σε γνωστικά χαρακτηριστικά, συμπεριφορά και συναισθηματική κατάσταση, οι οποίες συνδυαστικά υπονομεύουν την αντίληψη, την λογική και την κρίση του ατόμου.<sup>8</sup> Η έναρξη της ασθένειας τοποθετείται τυπικά προς το τέλος της εφηβείας ή την πρώιμη ενήλικη ζωή. Το στάδιο αυτό είναι κρίσιμο για τη διαδικασία της νευροανάπτυξης και χαρακτηρίζεται από συναπτικό «κλάδεμα», διαδικασία κατά την οποία ο εγκέφαλος ξεφορτώνεται τις περιττές συνδέσεις, κρατώντας τελικά αυτές που έχουν πραγματική σημασία, αλλά και τελική ωρίμανση του προμετωπιαίου φλοιού, περιοχή που ρυθμίζει τις ανώτερες γνωστικές λειτουργίες, όπως η μνήμη εργασίας και ο έλεγχος των συναισθημάτων. Σε νευρομορφολογικό επίπεδο, μελέτες έδειξαν ότι οι εγκέφαλοι ατόμων με σχιζοφρένεια παρουσιάζουν μείωση στον αριθμό και την πολυπλοκότητα των νευρωνικών συνδέσεων στον προμετωπιαίο φλοιό, υποδηλώνοντας μη φυσιολογικό συναπτικό κλάδεμα κατά την νευροανάπτυξη. Η μειωμένη δενδριτική πολυπλοκότητα στον προμετωπιαίο φλοιό σχετίζεται με την έκπτωση των γνωστικών λειτουργιών, ένα συνηθισμένο σύμπτωμα των ατόμων με σχιζοφρένεια.<sup>9</sup> Η σχιζοφρένεια αποτελεί ένα πολύπλοκο σύνδρομο με ετερογενή συνδυασμό συμπτωμάτων. Η βασική συμπτωματολογία της σχιζοφρένειας μπορεί να ομαδοποιηθεί σε τρεις κατηγορίες: στα θετικά συμπτώματα, τα αρνητικά συμπτώματα και τις γνωστικές δυσλειτουργίες.

Τα θετικά συμπτώματα περιλαμβάνουν:

- Ψευδαισθήσεις, δηλαδή αντιλήψεις που δεν αποτελούν απόκριση σε κάποιο ερέθισμα και μπορούν να επηρεάσουν την αφή, τη γεύση, την όσφρηση, την όραση αλλά πιο συχνά αποτελούν ακουστικές ψευδαισθήσεις
- Παραισθήσεις, παραληρητικές ιδέες και πεποιθήσεις που δεν ανταποκρίνονται στην πραγματικότητα και αφορούν κυρίως την προσωπική ζωή του ατόμου. Για παράδειγμα τα άτομα πιστεύουν ότι είναι θύματα κάποιας δίωξης ή συννομωσίας και ότι οι σκέψεις τους ελέγχονται από κάποια ανώτερη εξωτερική δύναμη
- Αποδιοργάνωση σκέψης, η οποία εκδηλώνονται με αποδιοργανωμένα και παράλογη ομιλία και αδυναμία χρήσης της γλώσσας με συνεκτικότητα και λογική

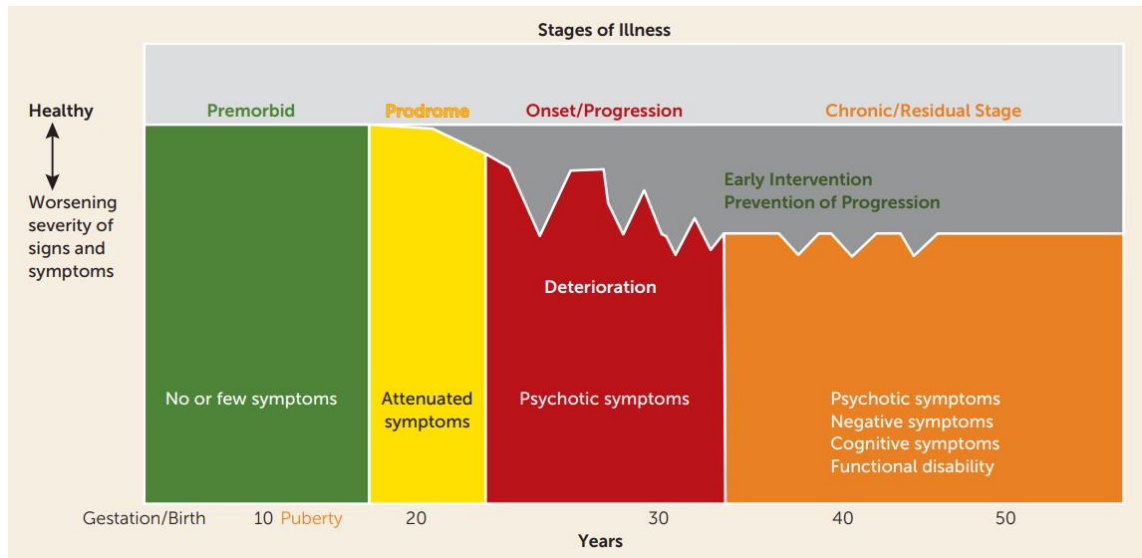
Τα αρνητικά συμπτώματα περιλαμβάνουν:

- Κοινωνική απομόνωση
- Παραμέληση εαυτού
- Αδυναμία του ατόμου να νιώσει ικανοποίηση
- Συναισθηματική ισοπέδωση, η οποία εκδηλώνεται με μονότονη φωνή και απουσία εκφράσεων προσώπου
- Απάθεια και αδιαφορία ατόμου για οποιοδήποτε κίνητρο και πρωτοβουλία

Τέλος, η γνωστική δυσλειτουργία των ασθενών με σχιζοφρένεια εμφανίζεται κυρίως με δυσκολία συγκέντρωσης, προσοχής, τήρησης οδηγιών και ολοκλήρωσης εργασιών και με προβλήματα μνήμης εργασίας.<sup>10,11</sup>

Τα θετικά συμπτώματα ονομάζονται έτσι γιατί υποδηλώνουν την ύπαρξη κάποιας παθολογικής κατάστασης, δηλαδή σκέψεων και συμπεριφορών που δεν υφίστανται υπό φυσιολογικές συνθήκες, και σχετίζονται κυρίως με θετική ρύθμιση της σηματοδότησης της ντοπαμίνης. Αντίθετα τα αρνητικά συμπτώματα αντανakλούν την απουσία ικανότητας του ατόμου να εκτελεί κάποιες φυσιολογικές λειτουργίες και συμπεριφορές τόσο σε κοινωνικό και διαπροσωπικό επίπεδο όσο και σε επαγγελματικό. Στην εμφάνιση των αρνητικών συμπτωμάτων εμπλέκονται τόσο η μη φυσιολογική σηματοδότηση ντοπαμίνης όσο και μία πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ GABA σηματοδότησης και υποδραστικής λειτουργίας γλουταμικού οξέος σε προμετωπιαίο λοβό και ιππόκαμπο εγκεφάλου.<sup>12</sup> Στοιχεία ερευνών δείχνουν ότι το 50% των περιπτώσεων έχει οξεία έναρξη της ασθένειας ενώ το υπόλοιπο 50% χαρακτηρίζεται από μακρά πρόδρομη νόσο.<sup>13</sup> Σε ότι αφορά την πρόδρομη πορεία, η έναρξη των αρνητικών συμπτωμάτων εμφανίζεται περίπου πέντε χρόνια πριν από το πρώτο ψυχωτικό επεισόδιο, ενώ η έναρξη των θετικών συμπτωμάτων εμφανίζεται κοντά στην πρώτη νοσηλεία και αποτελούν την ένδειξη ότι το άτομο χρίζει ιατρικής φροντίδας.<sup>14</sup>

Παρ' όλο που τα συμπτώματα της ασθένειας εμφανίζονται τυπικά κατά τη διάρκεια της εφηβείας ή στην πρώιμη ενήλικη ζωή, πολλές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στη σύνδεση της σχιζοφρένειας με προγεννητικά γεγονότα, όπως επιπλοκές κατά τον τοκετό ή λοίμωξη της μητέρας κατά την διάρκεια της κύησης.<sup>15</sup> Για το σκοπό αυτό έχουν χρησιμοποιηθεί αναπτυξιακά ζωικά μοντέλα σχιζοφρένειας στα οποία εφαρμόζονται διάφορα περιβαλλοντικά ερεθίσματα ή χορηγούνται συγκεκριμένα φάρμακα κατά την περιγεννητική ή πρώιμη μεταγεννητική περίοδο και στη συνέχεια οι έρευνες επικεντρώνονται στην μελέτη της ανάπτυξης των απογόνων.<sup>16</sup> Από τα πρώτα αναπτυξιακά σκευάσματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το ιβοτενικό οξύ και η τετραδοτοξίνη τα οποία προκαλούσαν νεογνικές βλάβες στον ιππόκαμπο των αρουραίων οι οποίες οδηγούσαν σε μία σειρά από ανωμαλίες οι οποίες ομοιάζουν με συμπτώματα της σχιζοφρένειας και εμφανίζονταν σε διάφορες χρονικές στιγμές μετά την εφηβεία.<sup>17</sup> Ταυτόχρονα, έχουν εφαρμοστεί και διάφορες μεταγεννητικές αναπτυξιακές παρεμβάσεις όπως η χορήγηση αγωνιστών ή ανταγωνιστών υποδοχέων γλουταμικού, στρες μετά τον απογαλακτισμό ή κοινωνική απομόνωση.<sup>18</sup> Τα αποτελέσματα ήταν η εμφάνιση διαταραχών της αισθητηριοκινητικής λειτουργίας, γνωστική εξασθένηση καθώς και αυξημένο άγχος και επιθετικότητα.<sup>19</sup> Η έναρξη της ασθένειας, αν και συχνά δύσκολα αναγνωρίσιμη, αποτελεί την πρόδρομη φάση πριν την εκδήλωση του πρώτου ψυχωτικού επεισοδίου και μάλιστα προηγείται της εμφάνισης ψυχωτικών συμπτωμάτων για πάνω από δέκα χρόνια. Περιλαμβάνει κυρίως έκπτωση γνωστικών και κοινωνικών λειτουργιών. Η έκβαση της σχιζοφρένειας μπορεί να κυμαίνεται από πλήρη ανάρρωση μέχρι χρόνια ανάγκη για φροντίδα και συγκριτικά με τον γενικό πληθυσμό, το προσδόκιμο ζωής των ασθενών μειώνεται κατά 20 χρόνια.<sup>20</sup> Οι ασθενείς με σχιζοφρένεια έρχονται αντιμέτωποι με σοβαρές δυσκολίες στην καθημερινή τους ζωή, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητάς τους να διατηρούν τις κοινωνικές τους σχέσεις, να υποστηρίξουν την επαγγελματική τους ιδιότητα και γενικότερα να ζουν ανεξάρτητα.<sup>21</sup> Επιπλέον, πολλά άτομα με σχιζοφρένεια έχουν να διαχειριστούν κατάθλιψη και κατάχρηση ουσιών, παράγοντες που διαμορφώνουν την συχνότητα περιστατικών αυτοκτονίας σε ποσοστό 10%-15%.<sup>22</sup> Στην Εικόνα 1.2 απεικονίζονται τα στάδια της νόσου και κάποια βασικά χαρακτηριστικά τους.



Εικόνα 1.2 Απεικόνιση των σταδίων της σχιζοφρένειας. Τα προσυμπτωματικά στάδια είναι προνοσηρά και προδρομικά. Τα συνδρομικά στάδια περιλαμβάνουν την έναρξη του πρώτου ψυχωτικού επεισοδίου και ακολουθεί το προοδευτικό στάδιο. Η θεραπεία στα αρχικά στάδια της ασθένειας είτε πριν είτε κατά τη διάρκεια του πρώτου ψυχωτικού επεισοδίου, αποβλέπει στην πρόληψη ή την μείωση της διάρκειας των ψυχωτικών επεισοδίων, τον περιορισμό των υποτροπών και της επιδείνωσης που εμφανίζεται στο συνδρομικό στάδιο και οδηγεί στις χρόνιες επιπτώσεις της νόσου.<sup>23</sup>

## 1.2 Επιδημιολογία

Επιστημονικά δεδομένα εκτιμούν μία πιθανότητα 10% ανάπτυξης της ασθένειας σε συγγενείς πρώτου βαθμού και 3% για συγγενείς δεύτερου βαθμού. Στην περίπτωση που και οι δύο γονείς πάσχουν από σχιζοφρένεια ο κίνδυνος να αποκτήσουν παιδί με την διαταραχή εκτιμάται γύρω στο 40%.<sup>24</sup> Οι ασθενείς με σχιζοφρένεια έχουν μικρότερο προσδόκιμο ζωής από τον υπόλοιπο πληθυσμό με την τυποποιημένη αναλογία θνησιμότητας να εκτιμάται στα 2.6, με την αυτοκτονία να αποτελεί τον κυριότερο παράγοντα θανάτου στην αρχή της νόσου ενώ στα μετέπειτα χρόνια, ο εθισμός στο κάπνισμα, ο ανθυγιεινός τρόπος ζωής και τα αντιψυχωσικά φάρμακα τα οποία προωθούν την παχυσαρκία και έχουν σαν αποτέλεσμα διαβήτη, μεταβολικά σύνδρομα και τελικά καρδιαγγειακά και αναπνευστικά προβλήματα, απειλούν τη ζωή των ασθενών.<sup>25,26</sup>

Οι παράγοντες κινδύνου της σχιζοφρένειας περιλαμβάνουν:

*Προγεννητικά και περιγεννητικά γεγονότα*

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα άτομα τα οποία υφίστανται κάποιες επιπλοκές κατά την εμβρυική ηλικία ή κατά τη διάρκεια του τοκετού θεωρείται ότι έχουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν σχιζοφρένεια. Έχουν γίνει μελέτες οι οποίες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι επιπλοκές της εγκυμοσύνης, όπως ο διαβήτης κύησης ή η αιμορραγία, ή προβλήματα κατά τον τοκετό, όπως η επείγουσα καισαρική, το χαμηλό οξύγονο, το χαμηλό βάρος γέννησης, αλλά και διάφορες ανωμαλίες κατά την φάση

της εμβρυικής ζωής συσχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με την εμφάνιση σχιζοφρένειας. Οι παραπάνω παράγοντες κινδύνου βρίσκονται ακόμα υπό διερεύνηση από την επιστημονική κοινότητα, όμως μία πιθανή εξήγηση που έχει δοθεί είναι ότι τα διάφορα μη φυσιολογικά γεγονότα κατά την κύηση ή τον τοκετό έχουν αρνητική επίδραση στην νευρωνική συνδεσιμότητα του αναπτυσσόμενου εγκεφάλου του εμβρύου, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια του δεύτερου τριμήνου που αποτελεί ένα βασικό στάδιο για τη νευροανάπτυξη. Για παράδειγμα, ο υποσιτισμός της μητέρας κατά την κύηση, συμπεριλαμβανομένης και της μη επαρκούς πρόσληψης φυλλικού οξέος και βιταμίνης D, αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα κινδύνου. Ακόμη, οι λοιμώξεις και τα υψηλά επίπεδα στρες κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου έχουν συνδεθεί με διπλάσιες πιθανότητες εμφάνισης της νόσου στους απογόνους. Επιπλέον, ανάμεσα σε ασθενείς που πάσχουν από σχιζοφρένεια, μία σημαντική μερίδα εκπροσωπείται από άτομα που έχουν γεννηθεί χειμώνα το οποίο πιθανόν να οφείλεται σε μεγαλύτερη πιθανότητα η εγκυμονούσα μητέρα να εκτεθεί σε λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος οι οποίες επηρεάζουν επίσης την ανάπτυξη του εμβρυικού εγκεφάλου.<sup>27,28</sup>

#### *Πατρική ηλικία*

Οι άντρες που γίνονται πατέρες σε μεγαλύτερη ηλικία θεωρείται ότι έχουν μεγαλύτερες πιθανότητες να αποκτήσουν παιδί με σχιζοφρένεια συγκριτικά με νεαρότερης ηλικίας άντρες, χωρίς όμως να έχει ξεκαθαριστεί πλήρως εάν αυτό είναι αποτέλεσμα ψυχολογικών ή βιολογικών παραγόντων.<sup>29</sup> Τα περισσότερα επιστημονικά στοιχεία διαμορφώνουν την επικρατέστερη άποψη ότι οι άντρες που πάσχουν από μία σχιζοτυπική προσωπικότητα και συμπεριφορά μπορεί να παντρευτούν και να δημιουργήσουν οικογένεια σε μεγαλύτερη ηλικία. Επιπλέον, μία δεύτερη θεωρία η οποία προσεγγίζει σε βιολογικό επίπεδο την ιδέα αυτή, υποστηρίζει ότι οι άντρες μεγαλύτερης ηλικίας οι οποίοι αποκτούν παιδί είναι πιθανό να περιέχουν περισσότερες μεταλλάξεις στο γονιδίωμά τους, τις οποίες μπορεί να μεταβιβάσουν στους απογόνους τους.<sup>30</sup>

#### *Φύλο*

Γενικότερα, η σχιζοφρένεια έχει αναφερθεί να είναι ελαφρώς πιο συχνή στους άντρες σε σχέση με τις γυναίκες, με σχετικό παράγοντα κινδύνου (risk ratio) 1.4/1. Επιπλέον, φαίνεται πως οι άντρες πάσχουν από σοβαρότερη μορφή σχιζοφρένειας συγκριτικά με τις γυναίκες, και μάλιστα εμφανίζουν την διαταραχή νωρίτερα στη ζωή τους. Συγκεκριμένα, η ηλικία αιχμής εμφάνισης των ψυχωσικών συμπτωμάτων για τους άντρες είναι τα 20-25 χρόνια, ενώ στις γυναίκες συνήθως εμφανίζονται 5 ή παραπάνω χρόνια αργότερα.<sup>31,32,33</sup>

#### *Αστικό περιβάλλον*

Τα άτομα τα οποία γεννήθηκαν και μεγάλωσαν σε μεγάλα αστικά κέντρα και μάλιστα σε υποβαθμισμένες περιοχές αυτών, έχουν μεγαλύτερες πιθανότητες ανάπτυξης της διαταραχής σε σχέση με τους ανθρώπους που ζουν σε μικρότερες πόλεις ή επαρχιακά κέντρα. Σύμφωνα με την μελέτη AESOP (Aetiology and Ethnicity of Schizophrenia and other Psychoses), μια επιδημιολογική μελέτη που διεξάχθηκε στην Αγγλία, η συχνότητα εμφάνισης σχιζοφρένειας στις μικρότερες πόλεις Νότιγχαμ και Μπρίστολ ήταν μικρότερη από την μισή από τη συχνότητα εμφάνισης στο Λονδίνο. Στο Λονδίνο, τα μεγαλύτερα ποσοστά συγκεντρώνονται στις περιοχές χαμηλότερου



κοινωνικού και οικονομικού επιπέδου.<sup>34,35</sup> Ενδιαφέρον παρουσιάζει μία αντίστοιχη μελέτη στη Δανία η οποία περιγράφει τον μεγάλο ρόλο που διαδραματίζει η ανατροφή σε μεγάλα αστικά κέντρα καθώς ακόμα και άτομα που δεν γεννήθηκαν αλλά έζησαν σε μεγάλες πόλεις έχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης σχιζοφρένειας σε σχέση με τα άτομα που γνώρισαν λιγότερο αστικοποιημένα περιβάλλοντα.<sup>36</sup>

#### *Μετανάστευση*

Σε ένα πιο γενικό πλαίσιο, έχει αποδειχθεί αυξημένη συχνότητα σχιζοφρένειας σε πολλές ομάδες μεταναστών συγκριτικά με άτομα που δεν έχουν βιώσει μετανάστευση οι ίδιοι ή οι οικογένειές τους.<sup>37</sup> Η μελέτη AESOP επικεντρώθηκε στη συχνότητα εμφάνισης σχιζοφρένειας μεταξύ των μεταναστευτικών ομάδων και υποστήριξε την μεγάλη επιρροή που κατέχει στην εμφάνιση της ασθένειας όχι τόσο η χώρα προέλευσης των μεταναστών όσο η χώρα που τους φιλοξενεί, υπογραμμίζοντας ότι η έλλειψη κοινωνικής υποστήριξης και η αυξημένη έκθεση σε κοινωνικές και φυλετικές διακρίσεις, αυξάνουν τον κίνδυνο των ατόμων για την σχιζοφρένεια.<sup>38</sup>

#### *Χρήση ναρκωτικών ουσιών*

Η συστηματική χρήση αμφεταμίνης, μεθαμφεταμίνης, κοκαΐνης και παραγώγων καθινόνης μπορεί να προκαλέσει μία κατάσταση σχεδόν πανομοιότυπη με αυτή της παρανοϊκής σχιζοφρένειας.<sup>39</sup> Επιπλέον η παρατεταμένη χρήση κάνναβης και του ενεργού συστατικού της τετραϋδροκανναβινόλης ή το κάπνισμα κάνναβης θεωρείται παράγοντας κινδύνου για αυξημένο ρίσκο εμφάνισης σχιζοφρένειας και επίσης μπορεί να επιδεινώσουν τα ήδη υπάρχοντα ψυχωτικά συμπτώματα. Επιπλέον, σημαντική είναι η δοσο-εξαρτώμενη σχέση που παρατηρείται, καθώς ο κίνδυνος αυξάνεται σε άτομα που αρχίζουν τη χρήση νωρίς στην εφηβεία. Επιπλέον, οι διάφορες ποικιλίες κάνναβης υψηλής ισχύος και τα δραστικά συνθετικά κανναβοειδή που έχουν αρχίσει να γίνονται ευρέως διαθέσιμα μέσω του διαδικτύου έχουν ενοχοποιηθεί για οξείες ψυχωτικές αντιδράσεις.<sup>40,41,42</sup>

#### *Κοινωνικές αντιξοότητες*

Μία σειρά από αντίξοα γεγονότα της παιδικής ηλικίας συμπεριλαμβανομένης της σωματικής και σεξουαλικής κακοποίησης, της κακομεταχείρισης και του εκφοβισμού, έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης σχιζοφρένειας στα μετέπειτα χρόνια της ζωής του ατόμου.<sup>43</sup> Μέσω της τεχνικής τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET scan) ανακαλύφθηκε ότι οι περισσότεροι από τους παραπάνω περιβαλλοντικούς παράγοντες επηρεάζουν τη σύνθεση ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα του εγκεφάλου των ασθενών.<sup>44</sup>

### **1.3 Παθοφυσιολογία**

Αν και η αιτιολογία της ασθένειας παραμένει μέχρι και σήμερα ασαφής, οι μεταθανάτιες μελέτες σε άτομα με σχιζοφρένεια έχουν προτείνει μη φυσιολογικά συμβάντα στις νευροαναπτυξιακές διεργασίες ως μία πιθανή αιτία. Αυτό έχει βρεθεί να είναι αποτέλεσμα διάφορων μακροσκοπικών και ιστολογικών αλλοιώσεων στους εγκεφάλους των ασθενών. Τέτοιες αλλαγές περιλαμβάνουν κυρίως μείωση του όγκου του εγκεφάλου, αύξηση μεγέθους κοιλίας και μη φυσιολογικές νευρικές δομές του φλοιού και του ιππόκαμπου, χωρίς σαφή παθολογικά εγκλειστικά σώματα,



δυστροφικούς νευρίτες ή νευροεκφυλισμό. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα προς το παρόν οι δομικές ανωμαλίες που έχουν ανιχνευτεί να μην θεωρούνται άμεση αιτία αλλά συνέπεια της ασθένειας.<sup>45</sup>

Η μη φυσιολογική λειτουργία της νευροδιαβίβασης σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου αποτέλεσε τη βάση για τη παθοφυσιολογία της σχιζοφρένειας. Οι περισσότερες θεωρίες επικεντρώνονται είτε στην περίσσεια είτε την ανεπάρκεια νευροδιαβιβαστών όπως η ντοπαμίνη, το γλουταμικό και η σεροτονίνη, ενώ κάποιες άλλες εμπλέκουν το ασπαρτικό, τη γλυκίνη και το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) ως σημαντικά συστατικά της νευροχημικής ανισορροπίας της σχιζοφρένειας.<sup>46</sup> Η υπόθεση της ντοπαμίνης στη σχιζοφρένεια παραμένει το κεντρικό δόγμα της ασθένειας για δεκαετίες και προτείνει ότι τα θετικά συμπτώματα της νόσου προκύπτουν από την υπερδραστηριότητα της ντοπαμινεργικής νευροδιαβίβασης στις μεταιχμιακές οδούς, ενώ τα αρνητικά συμπτώματα είναι αποτέλεσμα της υποντοπαμινεργικής λειτουργίας στις μετωπιαίες δομές.<sup>47</sup> Το 1960 εισάχθηκε το αντιψυχωσικό χλωροπρομαζίνη, που αποτελεί αναστολέα της ντοπαμίνης, με αποτέλεσμα να γίνει φανερό ότι η παθοφυσιολογία της σχιζοφρένειας σχετίζεται στενά με την υπερδραστηριότητα του ντοπαμινεργικού συστήματος.<sup>48</sup> Η θεωρία της ντοπαμίνης που υποδηλώνει την εμπλοκή της στα συμπτώματα της σχιζοφρένειας περιλαμβάνει τέσσερα μονοπάτια που αφορούν την δραστηριότητά της στους υποδοχείς DR. Η υπερδραστηριότητα της ντοπαμίνης στο μεσολιμβικό μονοπάτι προς τις μεταιχμιακές περιοχές του εγκεφάλου θεωρείται ότι συμβάλει στην εμφάνιση των θετικών συμπτωμάτων της σχιζοφρένειας. Η υποδραστηριότητα της ντοπαμίνης στη μεσοφλοιώδη οδό που προέρχεται από την κοιλιακή καλύπτρα έως λιμπικές και φλοιικές περιοχές έχει συνδεθεί με την εμφάνιση των αρνητικών συμπτωμάτων και γνωστικών δυσλειτουργιών. Η υποδραστηριότητα της ντοπαμίνης στο μονοπάτι nigrostriatal που προέρχεται από τη μέλαινα ουσία και καταλήγει στο ραβδωτό σώμα, επηρεάζει το εξωπυραμιδικό σύστημα και συμβάλλει στα κινητικά συμπτώματα, ενώ τέλος, η παρεμπόδιση ή η μείωση επιπέδων ντοπαμίνης στην φυματοϋποφυσιακή οδό προκαλεί αυξημένα επίπεδα προλακτίνης και έχει σαν αποτέλεσμα τη γαλακτόρροια, αμηνόρροια και μειωμένη λίμπιντο.<sup>49</sup> Ωστόσο, ο αποκλεισμός της νευροδιαβίβασης της ντοπαμίνης απέτυχε να ανακουφίσει ορισμένα από τα συμπτώματα της ασθένειας, υποδηλώνοντας την πιθανή ύπαρξη και άλλων νευροδιαβιβαστών οι οποίοι εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία της σχιζοφρένειας. Μελέτες διαπίστωσαν ότι η εξασθένηση της σηματοδότησης του γλουταμικού μπορεί να συμβάλει επίσης στην ανάπτυξη σχιζοφρένειας μέσω της πρόκλησης δυσλειτουργιών σε ανασταλτικούς ενδονευρώνες και τη διαταραχή της ισορροπίας διέγερσης-αναστολής στις περιοχές του φλοιού και του ιππόκαμπου που μπορεί να οδηγήσει σε υπερδραστηριότητα του ντοπαμινεργικού συστήματος.<sup>50</sup> Ένα από τα πρώτα ευρήματα σε ασθενείς με σχιζοφρένεια είναι η ύπαρξη χαμηλών επιπέδων γλουταμικού στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Η υπόθεση του γλουταμικού αναφέρει ότι η δυσλειτουργία του υποδοχέα του γλουταμικού NMDA επιφέρει θετικά, αρνητικά και γνωστικά συμπτώματα. Η υπόθεση αυτή ενισχύεται και από το γεγονός ότι η χορήγηση φαρμάκων που δρουν σαν ανταγωνιστές των υποδοχέων του γλουταμικού, όπως η κεταμίνη και η φυκλιδίνη, μιμείται πολλά χαρακτηριστικά της σχιζοφρένειας.<sup>51</sup> Ένας πιθανός μηχανισμός στον οποίο αποδόθηκε, είναι η υποδραστηριότητα των υποδοχέων γλουταμικού στους ενδονευρώνες GABA στον προμετωπιαίο φλοιό που επιφέρει θετικά συμπτώματα στα άτομα, όπως παραληρητικές ιδέες και ψευδαισθήσεις. Η μη

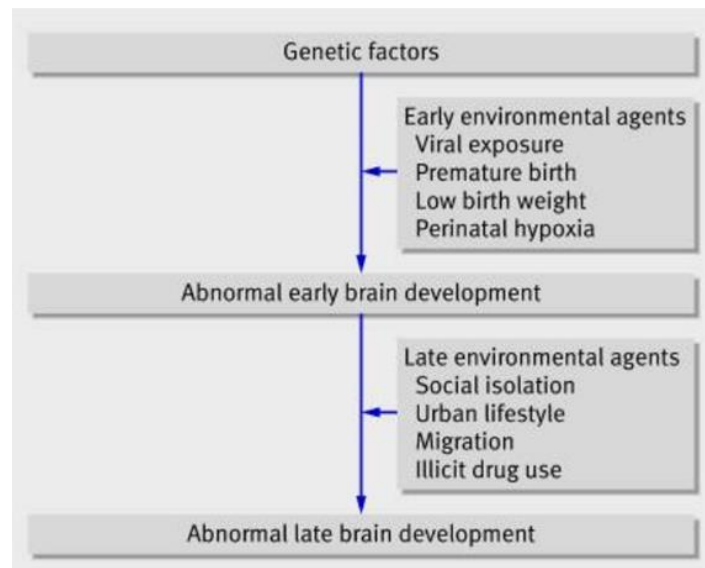
φυσιολογική λειτουργία των NMDA αποδίδεται πιθανώς σε μη φυσιολογική ανάπτυξη των νευρώνων του προμετωπιαίου φλοιού.<sup>52</sup> Μελέτες έχουν δείξει ότι η χρόνια επαγόμενη από το στρες σεροτονινεργική υπερδραστηριότητα στον εγκεφαλικό φλοιό των ασθενών, κυρίως στον πρόσθιο φλοιό και τον ραχιαίο μετωπιαίο λοβό, μπορεί να προκαλέσει συμπτώματα σχιζοφρένειας.<sup>53</sup> Περαιτέρω έρευνα οδήγησε στην ανάπτυξη φαρμάκων, όπως η ρισπεριδόνη και η κλοζαπίνη, τα οποία καταστέλλουν τους υποδοχείς ντοπαμίνης και σεροτονίνης και είχαν αρκετά αποτελεσματική δράση στην ανακούφιση τόσο των θετικών όσο και των αρνητικών συμπτωμάτων της σχιζοφρένειας. Ωστόσο, η υπόθεση της σεροτονίνης δεν έχει διαλευκανθεί πλήρως μέχρι στιγμής.<sup>54</sup>

#### **1.4 Γενετικό υπόβαθρο**

Η κληρονομικότητα της σχιζοφρένειας εκτιμάται γύρω στο 79%-81%. Υπάρχουν πολλά χρωμοσώματα που περιλαμβάνουν ένα τόπο κινδύνου για τη σχιζοφρένεια, επηρεάζοντας άλλα λιγότερο και άλλα περισσότερο την ανάπτυξη της ασθένειας. Οι περισσότεροι γενετικοί τόποι που σχετίζονται με τη σχιζοφρένεια εντοπίζονται σε μη κωδικές περιοχές των γονιδίων, όπως τα ιντρόνια και οι περιοχές των υποκινητών, υποδηλώνοντας ότι η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης κατέχει κρίσιμο ρόλο.<sup>55</sup> Τα γονίδια που σχετίζονται με τον κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου έχουν βρεθεί να εμπλέκονται σε συγκεκριμένα βιολογικά μονοπάτια που αφορούν τη μετασυναπτική πυκνότητα, τη μετασυναπτική μεμβράνη, τη δένδριτική σπονδυλική στήλη και τον νευρώνα του άξονα. Λόγω του ότι η σχιζοφρένεια είναι μία πολυπαραγοντική διαταραχή, το γενετικό υπόβαθρο και οι διάφορες γενετικές παραλλαγές συμβάλλουν στον κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου όμως δεν εξηγούν πλήρως την αιτιολογία και παθοφυσιολογία της ασθένειας.<sup>56</sup> Η αλληλουχία του DNA αποτελεί τη μοριακή βάση της κληρονομικότητας και οι διάφορες αλλαγές που μπορεί να υποστεί όπως μεταλλάξεις, διαγραφές, εισαγωγές, επιγενετικές τροποποιήσεις κτλ, μπορεί να πυροδοτήσουν την εμφάνιση διάφορων διαταραχών. Επιπλέον, επιπρόσθετες αλλαγές μπορεί να προκληθούν κατά τη διάρκεια της ζωής του ατόμου, ως αποτέλεσμα επίδρασης ακτινών X ή διαφόρων φαρμάκων. Η συμβολή της γενετικής στη σχιζοφρένεια έχει αποτελέσει για πολύ καιρό το επίκεντρο μελέτης και τη βάση για πολλά ζωικά μοντέλα, και έχουν ανακαλυφθεί πολλά γονίδια τα οποία σχετίζονται με τον κίνδυνο ανάπτυξης της διαταραχής. Είναι σημαντικό ότι τα περισσότερα από αυτά τα γονίδια κωδικοποιούν πρωτεΐνες που σχετίζονται με την πλαστικότητα των νευρώνων, τη γλουταμινεργική και ντοπαμινεργική λειτουργία και τη συναπτογένεση.<sup>57</sup> Η μεγαλύτερη μέχρι τώρα σχετική μελέτη σε επίπεδο γονιδιώματος δημοσιεύθηκε το 2014 και περιλαμβάνει δεδομένα από 37.000 άτομα με σχιζοφρένεια και 113.000 δείγματα ελέγχου και αποκάλυψε την ύπαρξη 108 γενετικών τόπων που σχετίζονται με την διαταραχή. Η ανακάλυψη των υποψήφιων γονιδίων κινδύνου είναι το πρώτο βήμα για την παραγωγή εξελιγμένων ζωικών μοντέλων σχιζοφρένειας τα οποία συμβάλλουν στην κατανόηση των περίπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των γονιδίων και του περιβάλλοντος που αποτελούν την βάση της ασθένειας στον άνθρωπο.<sup>58,59</sup> Παρακάτω αναφέρονται κάποια από τα πιο σημαντικά γονίδια που βρέθηκε να εμπλέκονται στην ανάπτυξη σχιζοφρένειας.

Το γονίδιο DISC1 (disrupted-in-schizophrenia 1) κωδικοποιεί τη συναπτική πρωτεΐνη DISC1 και εκφράζεται νωρίς κατά την ανάπτυξη και συμβάλλει στη προγεννητική και

μεταγεννητική ανάπτυξη των νευρώνων.<sup>60</sup> Τα ποντίκια με απώλεια της λειτουργία της πρωτεΐνης εμφανίζουν μορφολογία εγκεφάλου παρόμοια με την μορφολογία ατόμων με σχιζοφρένεια σύμφωνα με μελέτες σε μεταθανάτια δείγματα, ενώ έχει παρατηρηθεί δυσλειτουργία στην κίνηση, την γνωστική λειτουργία και την συμπεριφορά.<sup>61,62</sup> Μία διαγραφή στο χρωμόσωμα 22q11.2 έχει συνδεθεί με την ανάπτυξη σχιζοφρένειας και θεωρείται ότι αντιπροσωπεύει περίπου το 1% των περιπτώσεων. Και στην περίπτωση αυτή, τα ποντίκια εμφανίζουν μορφολογία εγκεφάλου παρόμοια με αυτή των ασθενών με σχιζοφρένεια και επιφέρουν γνωστική δυσλειτουργία, προβλήματα μνήμης και εργασίας.<sup>63,64</sup> Οι μεταλλάξεις στα γονίδια που κωδικοποιούν το μόριο κυτταρικής προσκόλλησης νευρεγουλίνη (NGR1) και του υποδοχέα του ErbB4 ενέχουν επίσης αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη σχιζοφρένειας.<sup>65</sup> Το μόριο αυτό εμπλέκεται στην ανάπτυξη του νευρικού συστήματος και οι μεταλλάξεις που υφίσταται προκαλούν συμπεριφορική δυσλειτουργία και βλάβες σε μνήμη εργασίας.<sup>66,67</sup> Το γονίδιο RELN συμμετέχει στο συναπτικό σχηματισμό και την πλαστικότητα και μείωση του αντίστοιχου mRNA και της πρωτεΐνης που κωδικοποιεί έχουν αναφερθεί στην παρεγκεφαλίδα, τον ιππόκαμπο και το μετωπιαίο φλοιό ατόμων με σχιζοφρένεια.<sup>68</sup> Μία διαγραφή στο γονίδιο αυτό προκαλεί παθολογική κατάσταση στα ποντίκια παρόμοια με αυτή της σχιζοφρένειας, η οποία περιλαμβάνει μείωση της πυκνότητας της δενδριτικής σπονδυλικής στήλης, αυξημένη συσσώρευση νευρώνων, διαταραχή της κοινωνικής αλληλεπίδρασης, της κινητικής λειτουργίας και των γνωστικών χαρακτηριστικών. Η πρωτεΐνη Dysbindin αποτελεί μία συναπτική πρωτεΐνη με σημαντική δράση στην εξωκυττάρωση, τη βιογένεση κυστιδίων και τη διακίνηση υποδοχέων που εμπλέκονται στη διεγερτική συναπτική μετάδοση. Γενετικές παραλλαγές στο μόριο αυτό έχουν βρεθεί να πλήττουν τη γνωστική λειτουργία στους ανθρώπους και να αυξάνουν τον κίνδυνο σχιζοφρένειας. Έχει παρατηρηθεί επίσης σημαντική μείωση της έκφρασης του γονιδίου και κατ' επέκταση της πρωτεΐνης στον ιππόκαμπο και προμετωπιαίο φλοιό των ασθενών. Σε πειράματα με ποντίκια στα οποία έχει διαταραχθεί η φυσιολογική λειτουργία της συγκεκριμένης πρωτεΐνης παρατηρήθηκε η παρουσία φαινοτύπου με πολλά κοινά χαρακτηριστικά με τη σχιζοφρένεια, όπως υπερκινητικότητα, διαταραχές της μάθησης και μνήμης, καθώς και αύξηση των ψυχαναγκαστικών συμπεριφορών. Παράλληλα, παρατηρήθηκε διατάραξη του μονοπατιού σηματοδότησης της ντοπαμίνης, αλλά και της νευρωνικής διεγερσιμότητας.<sup>69,70</sup>



Εικόνα 1.3 Το αιτιολογικό μοντέλο της σχιζοφρένειας<sup>10</sup>

### 1.5 Αντιμετώπιση

Παρά την σοβαρότητα της ασθένειας και τις αρνητικές επιπτώσεις που επιφέρει σε παγκόσμιο επίπεδο, η ιατρική κοινότητα έχει στη διάθεσή της περιορισμένες φαρμακευτικές θεραπείες, πολλές από τις οποίες επιφέρουν σοβαρές παρενέργειες. Η εισαγωγή των αντιψυχωσικών φαρμάκων πραγματοποιήθηκε το 1950 και έφερε επανάσταση στην προσέγγιση της θεραπείας της σχιζοφρένειας, βελτιώνοντας σημαντικά την ποιότητα ζωής των ασθενών. Ωστόσο, επειδή υπάρχει μεγάλη διακύμανση στην ανταπόκριση και την ανεκτικότητα στα φάρμακα αυτά μεταξύ των ασθενών, καθίσταται ιδιαίτερα δύσκολη η εύρεση των κατάλληλων βιοδεικτών για την πρόβλεψη της πρόγνωσης και της έκβασης της θεραπείας.<sup>71</sup> Οι φαρμακοθεραπευτικές επιλογές για τη θεραπεία της σχιζοφρένειας που είναι σήμερα διαθέσιμες αφορούν το στάδιο της ασθένειας μετά την έναρξη της ψύχωσης. Τα αντιψυχωσικά χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τα άτυπα και τα τυπικά. Τα τυπικά αντιψυχωσικά είναι κυρίως ανταγωνιστές της ντοπαμίνης D2, όπως αλοπεριδόλη, χλωροπρομαζίνη και φλουφαιναζίνη. Τα άτυπα αντιψυχωσικά έχουν και άλλους στόχους πέρα από τους υποδοχείς ντοπαμίνης. Παραδείγματα αυτής της κατηγορίας είναι η κλοζαπίνη, η ρισπεριδόνη, η κουετιαπίνη και η ολανζαπίνη. Τα τρέχοντα αντιψυχωσικά στοχεύουν κυρίως στη ανακούφιση των συμπτωμάτων της ψύχωσης και έχουν περιορισμένη επίδραση στις αρνητικές και γνωστικές δυσλειτουργίες.<sup>72</sup> Το ίδιο αντιψυχωσικό φάρμακο μπορεί να προκαλέσει βελτίωση των συμπτωμάτων ενός ασθενή ενώ σε κάποιον άλλον μπορεί να μην επιφέρει κανένα αποτέλεσμα ή ακόμα και να προκαλέσει την εμφάνιση ανεπιθύμητων παρενεργειών. Έρευνες έχουν δείξει ότι κατά μέσο όρο το 20-30% των ασθενών με σχιζοφρένεια δεν ανταποκρίνονται στην συμβατική θεραπεία και λιγότερο από το 40% επιτυγχάνουν ύφεση των συμπτωμάτων.<sup>73</sup> Επιπλέον, περίπου το 30% των ασθενών εμφανίζουν ανοχή στην θεραπεία. Για αυτή τη κατηγορία ασθενών το αντιψυχωσικό κλοζαπίνη θεωρείται η τυπική αγωγή.<sup>74</sup> Οι γιατροί συχνά για την επιλογή του κατάλληλου αντιψυχωσικού, προχωρούν στη χορήγηση δύο, τριών ή και παραπάνω φαρμάκων σε σειρά με

ποικίλες δοσολογίες με σκοπό να καταλήξουν στο φάρμακο με την αποδεκτή αποτελεσματικότητα και τις ανεκτές παρενέργειες. Όπως είναι φανερό, η διαδικασία αυτή επιφέρει πολλά προβλήματα τόσο στους ασθενείς όσο και στο σύστημα υγείας. Η προσέγγιση αυτή εκθέτει τους ασθενείς στις διάφορες πιθανές παρενέργειες του κάθε φαρμάκου, παρατείνει τον χρόνο ανάρρωσης και μπορεί μακροπρόθεσμα να επιδεινώσει την έκβαση της θεραπείας. Ταυτόχρονα, το σύστημα υγείας υφίσταται τεράστια οικονομική επιβάρυνση λόγω της μεγάλης σπατάλης των ιατρικών πόρων.<sup>75</sup> Παρακάτω, αναφέρονται μερικά από τα αντιψυχωσικά φάρμακα που βρίσκουν ευρεία εφαρμογή στο πεδίο της θεραπείας της σχιζοφρένειας:

- Κλοζαπίνη (CLZ): είναι το πρώτο εμπορικά διαθέσιμο αντιψυχωσικό φάρμακο και καθίσταται ως το πιο αποτελεσματικό καθώς η δράση του μειώνει την επιθετικότητα και τις τάσεις αυτοκτονίας των ασθενών.

- ΡΙσπεριδόνη (RIS): αποτελεί έναν εκλεκτικό μονοαμινεργικό ανταγωνιστή που συνταγογραφείται συνήθως σαν αντιψυχωσικό φάρμακο «πρώτης γραμμής». Αποτελεί ανταγωνιστή των DRD2 και 5-HT2A υποδοχέων (αντιψυχωσικά 2ης γενιάς) και έχει επιδείξει σημαντική αποτελεσματικότητα στην αντιμετώπιση των θετικών και αρνητικών συμπτωμάτων της σχιζοφρένειας.

- Ολανζαπίνη (OLZ): χρησιμοποιείται ευρέως γιατί αποτελεί το περισσότερο ανεκτό από τους ασθενείς αντιψυχωσικό φάρμακο. Είναι ένας ανταγωνιστής των υποδοχέων DRD2, 5-HT2A και μουςκαρίνης. Εμφανίζει σημαντική μεταβλητότητα μεταξύ των ατόμων σε ότι αφορά την αποτελεσματικότητα και τις παρενέργειες που προκαλεί.

- Αριπιπραζόλη (ARI): αποτελεί αντιψυχωσικό φάρμακο τρίτης γενιάς και χαρακτηρίζεται από μερική ανταγωνιστική ιδιότητα των υποδοχέων DRD2 και 5-HT2A και παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον σαν βιοδείκτης αποτελεσματικότητας της θεραπείας.

## **2. Σκοπός**

Ο σκοπός της εργασίας είναι η ανασκόπηση και η παράθεση πειραματικών δεδομένων και αποτελεσμάτων από δημοσιευμένες μελέτες που περιγράφουν τον τρόπο με τον οποίο οι διάφοροι επιγενετικοί μηχανισμοί επηρεάζουν το γονιδίωμα και πυροδοτούν την ανάπτυξη της σχιζοφρένειας. Επιπλέον, μελετήθηκαν και αναφέρονται πληροφορίες ερευνών που σχετίζονται με την πιθανότητα να μπορούν οι επιγενετικές τροποποιήσεις να αξιοποιηθούν ως μελλοντικοί βιοδείκτες τόσο της διάγνωσης όσο και της θεραπείας της σχιζοφρένειας, ειδικότερα για περιπτώσεις ασθενών που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην ήδη υπάρχουσα θεραπεία με αντιψυχωσικά φάρμακα, καθώς επίσης και το αποτέλεσμα της συνδυαστικής δράσης των αντιψυχωσικών και επιγενετικών τροποποιήσεων.

### **3. Μεθοδολογία**

Η παρούσα εργασία περιλαμβάνει δεδομένα που σχετίζονται με την επιγενετική ρύθμιση στην σχιζοφρένεια τα οποία προέρχονται από άρθρα που έχουν δημοσιευθεί σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά και τα οποία αναζητήθηκαν στη διαδικτυακή βάση δεδομένων PubMed. Για τη συγγραφή δόθηκε μεγαλύτερη έμφαση σε άρθρα της τελευταίας δεκαετίας με σκοπό να περιληφθούν τα αποτελέσματα από πρόσφατα πειράματα των επιστημονικών ομάδων. Τα άρθρα που συμπεριλήφθηκαν στην εργασία και δημοσιεύτηκαν πριν από περισσότερα από δέκα χρόνια αφορούν σημαντικές πληροφορίες σχετικά με την σχιζοφρένεια και την επιγενετική ρύθμιση και περιλαμβάνουν τις πρώτες μελέτες που διεξάχθηκαν και έδωσαν το έναυσμα για τις μετέπειτα έρευνες.



#### 4. Επιγενετικοί μηχανισμοί

##### 4.1 Γενικά για τους επιγενετικούς μηχανισμούς

Το γονιδίωμα των θηλαστικών αποτελείται από 3 δισεκατομμύρια νουκλεοτίδια τα οποία έχουν μήκος περίπου 2 μέτρα, εν τούτοις εντοπίζονται στον πυρήνα των κυττάρων χάρη σε έναν αξιοσημείωτο βαθμό οργάνωσης και συσπείρωσης της χρωματίνης. Η μονάδα οργάνωσης της χρωματίνης είναι το νουκλεόσωμα το οποίο αποτελείται από 147 ζεύγη βάσεων DNA που περιελίσσονται γύρω από το οκταμερές των ιστονών. Κάθε οκταμερές αποτελείται από δύο αντίγραφα από τις ιστόνες H2A, H2B, H3 και H4. Η χρωματίνη υφίσταται μεταξύ δύο διαφορετικών μορφών: της ευχρωματίνης, μίας ανοιχτής, ενεργής μορφής η οποία επιτρέπει την μεταγραφή των γονιδίων, και της ετεροχρωματίνης, μίας ανενεργής, συμπυκνωμένης κατάστασης που δεν ευνοεί την μεταγραφή. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί ελέγχουν την απόσταση μεταξύ των νουκλεοσωμάτων καθώς και τον βαθμό συσπείρωσής τους, ρυθμίζοντας με τον τρόπο αυτό την δραστηριότητα των γονιδίων.<sup>76</sup>

Ο όρος επιγενετική, που ετυμολογικά σημαίνει πέρα ή πιο πάνω από την γενετική, χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Βρετανό βιολόγο Conrad Hal Waddington ως ο κλάδος της βιολογίας που μελετά την αλληλεπίδραση των γονιδίων με τα προϊόντα τους και τον φαινότυπο που προκύπτει.<sup>77,78</sup> Ακολουθώντας, οι πιο πρόσφατες επιγενετικές μελέτες επικεντρώθηκαν στο πως μπορεί να κληρονομηθούν οι αλλαγές που προκαλούνται από περιβαλλοντικά ερεθίσματα στις επόμενες γενιές. Επομένως, η επιγενετική διερευνά το πως ρυθμίζεται η γονιδιακή έκφραση από περιβαλλοντικές επιρροές. Οι επιρροές αυτές μπορεί να περιλαμβάνουν διάφορα γεγονότα ή εμπειρίες κατά τη ζωή του ατόμου, ακόμα και αλλαγές στον ενδοκυτταρικό περιβάλλον που περιβάλλει το DNA.<sup>79</sup> Σήμερα, οι επιγενετικές τροποποιήσεις αναφέρονται σαν μία δυναμική διαδικασία η οποία προκαλεί δομικές και βιοχημικές αλλαγές στη χρωματίνη χωρίς όμως να μεταβάλλεται η αλληλουχία του DNA. Οι αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση που προκαλούνται από επιγενετικές τροποποιήσεις μπορούν να κληρονομηθούν μέσω της μείωσης και της μίτωσης, είναι όμως αναστρέψιμες, σε αντίθεση με τις γενετικές αλλαγές.<sup>80,81</sup> Οι επιγενετικοί μηχανισμοί ρυθμίζουν σημαντικές λειτουργίες του εγκεφάλου, όπως η νευρογένεση, ο νευροεκφυλισμός, η νευρωνική δραστηριότητα και η γνωστική λειτουργία και αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο έρευνας για την ανακάλυψη της αιτιολογίας και των χαρακτηριστικών πολλών ασθενειών του κεντρικού νευρικού συστήματος.<sup>82</sup> Οι κύριοι περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου για τη σχιζοφρένεια δρουν σε κρίσιμες περιόδους για την πρώιμη νευροανάπτυξη και μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά γεγονότα όπως η κυτταρική αναπαραγωγή και η διαφοροποίηση των ιστών, ωστόσο μπορεί να συνεχίζουν να επιδρούν στον οργανισμό και στην πρώιμη ενήλικη και μετέπειτα ζωή του ατόμου.<sup>83</sup>

Υπάρχουν 3 κύριοι επιγενετικοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην ρύθμιση των γενετικών τροποποιήσεων και οι οποίοι αναλύονται παρακάτω: η μεθυλίωση του DNA, οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ιστονών και τα μη κωδικά RNAs.



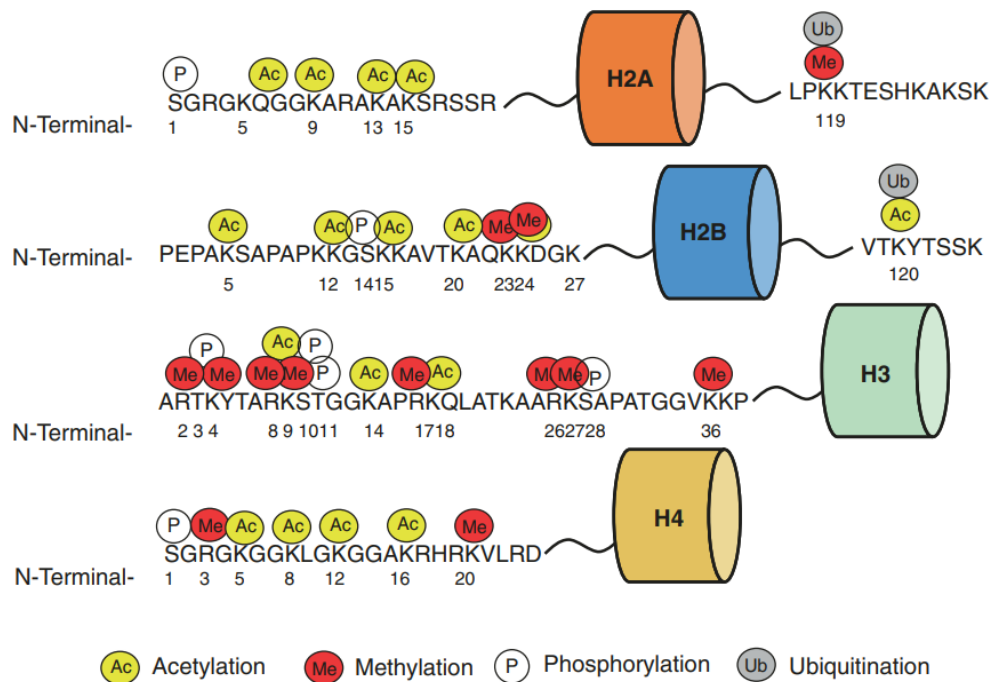
#### 4.2 Μεθυλίωση DNA: το ίδιο γονίδιο με διαφορετικό μοτίβο μεταγραφής

Η μεθυλίωση του DNA αποτελεί τον καλύτερα χαρακτηρισμένο μηχανισμό και έχει μελετηθεί εκτενώς στον άνθρωπο και γενικότερα στα θηλαστικά. Παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη καθώς συμμετέχει στην αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X, στη γονιδιωματική αποτύπωση, στην καταστολή των επαναλαμβανόμενων στοιχείων του DNA και γενικότερα στη σταθερότητα του γονιδιώματος και τη γονιδιακή ρύθμιση.<sup>84</sup> Είναι μία επιγενετική τροποποίηση η οποία έχει σαν αποτέλεσμα τον σχηματισμό μίας βιοχημικά τροποποιημένης βάσης C, της 5-μεθυλ-κυτοσίνης (5mC) μέσω της προσθήκης μίας μεθυλικής ομάδας (-CH<sub>3</sub>) στον 5' άνθρακα του πυριμιδινικού δακτυλίου της κυτοσίνης που ακολουθείται από γουανίνη. Το δινουκλεοτίδιο αυτό είναι γνωστό ως νησίδες CpG (CpG islands).<sup>85</sup> Η οικογένεια ενζύμων που είναι υπεύθυνη για σχηματισμό και τη διατήρηση του μοτίβου μεθυλίωσης είναι οι DNA μεθυλοτρανσφεράσες (DNA methyl-transferases, DNMTs). Στον άνθρωπο έχουν χαρακτηριστεί τέσσερις τύποι μεθυλοτρανσφερασών (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B και DNMT3L) που καταλύουν τη μεταφορά της μεθυλικής ομάδας από την S-αδενοσυλμεθειονίνη στο δινουκλεοτίδιο CpG το οποίο εντοπίζεται κατά κύριο λόγο στους υποκινητές των γονιδίων.<sup>86,87</sup> Η υπερμεθυλίωση αυτών των CpGs τα οποία υπό φυσιολογικές συνθήκες βρίσκονται μη μεθυλιωμένα ή υπομεθυλιωμένα, έχει σαν αποτέλεσμα την μεταγραφική αδρανοποίηση των αντίστοιχων γονιδίων. Παρ' όλα αυτά, μεθυλίωση DNA δεν παρατηρείται μόνο στις νησίδες CpG. Η μεθυλίωση εκτός νησίδων CpGs εντοπίζεται σε κυτοσίνες ακολουθούμενες από θυμίνη, αδενίνη ή κάποια άλλη κυτοσίνη, καταλύεται από τις μεθυλοτρανσφεράσες DNMT3A και DNMT3B και θεωρείται περισσότερο διαδεδομένη στα ανθρώπινα εμβρυικά βλαστοκύτταρα και στον εγκεφαλικό ιστό.<sup>88</sup> Η περίπτωση αυτή σχετίζεται με ενεργοποίηση γονιδίων και τη διατήρηση της ακεραιότητας των χρωμοσωμάτων.<sup>89</sup> Η μεθυλίωση του DNA αλλάζει τη δομή της χρωματίνης και μπλοκάρει την πρόσβαση και δέσμευση των μεταγραφικών παραγόντων στους υποκινητές των γονιδίων και επομένως συνιστά κρίσιμο ρυθμιστή της γονιδιακής έκφρασης και σίγασης.<sup>90</sup>

Η μεθυλίωση του DNA είναι μια δυναμική διαδικασία το αποτέλεσμα της οποίας μπορεί να αναστραφεί. Σχετικές μελέτες έχουν περιγράψει την οικογένεια πρωτεϊνών TET (Ten Eleven Translocation) που τροποποιούν την 5-μεθυλ-κυτοσίνη και έχουν την ικανότητα να διαγράψουν την μεθυλίωση του DNA. Τα ένζυμα TET1, TET2 και TET3 καταλύουν την διαδοχική αντίδραση οξείδωσης της 5-μεθυλ-κυτοσίνης σε 5-υδροξυμεθυλ-κυτοσίνη (5hmC), σε 5-φορμυλ-κυτοσίνη (5fC) και 5-καρβοξυλ-κυτοσίνη (5caC), η οποία ονομάζεται απομεθυλίωση. Η ισορροπία μεταξύ μεθυλίωσης-απομεθυλίωσης έχει κρίσιμο ρόλο στην κληρονομικότητα των επιγενετικών τροποποιήσεων στους απογόνους και στη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης. Η διατάραξη αυτής της ισορροπίας δημιουργεί πρόσφορο έδαφος για την εμφάνιση πολλών ασθενειών, με βασικότερο τον καρκίνο. Επιπλέον, η μη φυσιολογική μεθυλίωση του DNA θεωρείται ότι συμβάλλει στην παθογένεση πολλών νευρολογικών και ψυχιατρικών διαταραχών, δεδομένου ότι η μεθυλίωση του DNA επηρεάζει πολλές νευροβιολογικές διεργασίες, όπως η νευρογένεση, η μάθηση και η μνήμη.<sup>91</sup>

#### **4.3 Μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ιστονών: φύλακες της πρόσβασης στη γενετική πληροφορία**

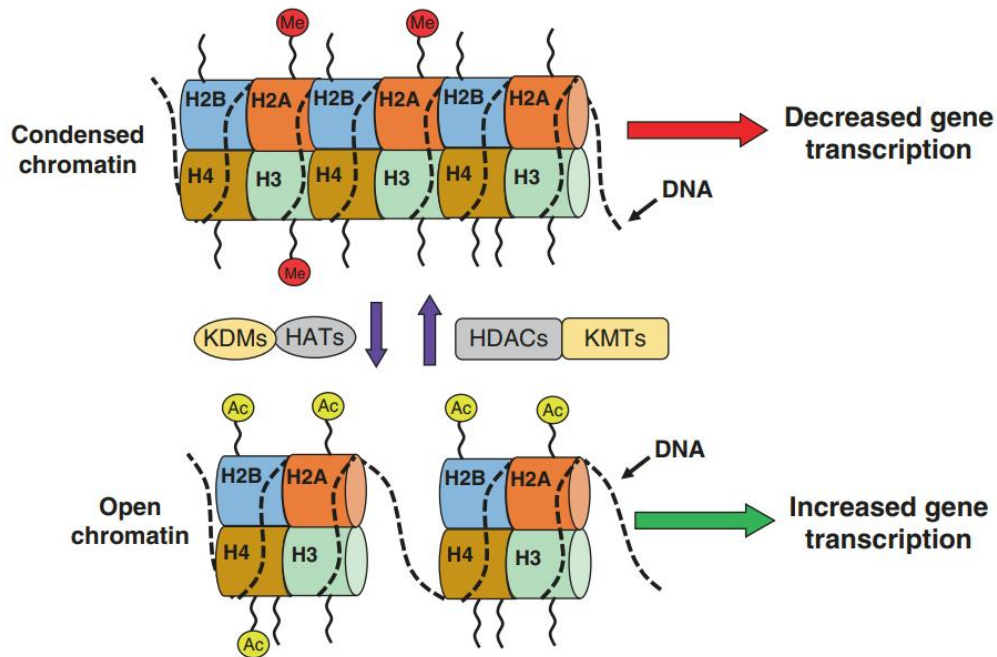
Πέρα από την άμεση τροποποίηση του DNA μέσω μεθυλίωσης, επιγενετικές αλλαγές μπορεί να επέλθουν μέσω της τροποποίησης της τρισδιάστατης δομής και του πακεταρίσματος του DNA και των ιστονών και διάφορων πρωτεϊνικών παραγόντων που σχετίζονται με αυτή. Ως εκ τούτου, η τροποποίηση των ιστονών αναφέρεται σε μία σειρά από μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις, συμπεριλαμβανομένης της μεθυλίωσης, ακετυλίωσης, φωσφορυλίωσης, ουβικουιτίνωσης, σουμοϋλίωσης (μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις με προσκόλληση μικρών τροποποιητών που μοιάζουν με ουβικιτίνη (SUMOs)) και ADP ριβοζυλίωση. (Εικόνα 4.1) Οι τροποποιήσεις αυτές έχουν μεγάλη σημασία γιατί ελέγχουν τη δυναμική μετάβαση μεταξύ μεταγραφικά ενεργής και μεταγραφικά ανενεργής δομής της χρωματίνης και επηρεάζουν την ακρίβεια της μεταγραφής μέσω της ρύθμισης της αντιγραφής και της επιδιόρθωσης του DNA, του εναλλακτικού ματίσματος, της συμπύκνωσης των χρωμοσωμάτων και της σταθερότητας του γονιδιώματος, και ουσιαστικά συμμετέχουν στην ενεργοποίηση ή απενεργοποίηση των γονιδίων.<sup>92,93</sup> Μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις στις ιστόνες λαμβάνουν χώρα σε αρκετά διαφορετικά κατάλοιπα, με μερικά από αυτά να αποτελούν στόχους για παραπάνω από μία τροποποίηση. Για παράδειγμα, τα κατάλοιπα λυσίνης (K) μπορεί είτε να μεθυλιωθούν είτε να ακετυλιωθούν. Διαφορετικοί τύποι τροποποιήσεων μπορούν επίσης να συμβούν σε διαφορετικά αμινοξικά κατάλοιπα. Για παράδειγμα, μεθυλίωση παρατηρείται και σε κατάλοιπα λυσίνης και σε κατάλοιπα αργινίνης (R). Επιπλέον, τα αμινοξέα των ιστονικών ουρών μπορούν να υποστούν μεθυλίωση, δι-μεθυλίωση και τρι-μεθυλίωση. Στα περισσότερα είδη, η ιστόνη H3 ακετυλιώνεται σε K9, K14, K18, K23 και K56, μεθυλιώνεται σε R2, K4, K9, K27, K36 και K79, και φωσφορυλιώνεται σε σερίνες (S) 10 και 28 και θρεονίνες (T) 3 και 11. Η ιστόνη H4 συνήθως ακετυλιώνεται σε K5, K8, K12 και K16, μεθυλιώνεται σε R3 και K20, και φωσφορυλιώνεται σε S1.<sup>94</sup>



Εικόνα 4.1 Απεικόνιση των διάφορων μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων που εντοπίζονται στις ιστόνες<sup>94</sup>

#### 4.3.1 Ακετυλίωση ιστονών

Η ακετυλίωση των ιστονών είναι μία αναστρέψιμη διαδικασία η οποία καταλύεται από τις ακετυλοτρανσφεράσες των ιστονών (Histone Acetyltransferases-HATs) με την μεταφορά μίας ακετυλομάδας από το συνένζυμο ακετυλο-CoA σε θετικά φορτισμένα κατάλοιπα λυσίνης στις ουρές των ιστονών.<sup>95</sup> Η αντίδραση αυτή εξουδετερώνει το φορτίο των κατάλοιπων λυσίνης με αποτέλεσμα να μειώνεται η συγγένεια των ιστονών με το DNA και να προκύπτει μία πιο χαλαρή μορφή της χρωματίνης η οποία είναι εύκολα προσβάσιμη από τους μεταγραφικούς παράγοντες.<sup>96</sup> Η ακετυλίωση επομένως ευνοεί τη μεταγραφική δραστηριότητα και κατέχει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, στον ενεργειακό μεταβολισμό και τη δομή του κυτταροσκελετού.<sup>97</sup> Με την αντίθετη διαδικασία, δηλαδή την αποακετυλίωση των ιστονών η οποία καταλύεται από τις αποακετυλάσες των ιστονών (Histone Deacetylases-HDACs), αφαιρείται η ακετυλομάδα από τις ακετυλιωμένες ιστόνες και αναιρείται η δράση των HATs, επιστρέφοντας τις ιστόνες στην αρχική βασική τους κατάσταση.<sup>98</sup> Η αποακετυλίωση επιφέρει μια πιο συμπαγή μορφή χρωματίνης με περιορισμένη πρόσβαση των μεταγραφικών παραγόντων η οποία οδηγεί τελικά σε γονιδιακή σίγαση.<sup>99</sup> Η διατάραξη της ισορροπία μεταξύ ακετυλίωσης-αποακετυλίωσης επηρεάζει πολλές φυσιολογικές διεργασίες και της αποδίδεται μερίδιο ευθύνης για την εμφάνιση διάφορων παθολογικών καταστάσεων, ειδικότερα του καρκίνου. Παράλληλα, υπάρχουν πολλές ενδείξεις που υποδεικνύουν τη μη φυσιολογική ακετυλίωση ιστονών υπεύθυνη για την παθογένεση ψυχιατρικών διαταραχών.<sup>100</sup>



Εικόνα 4.2 Σχηματική απεικόνιση των παραγόντων που ρυθμίζουν την κατάσταση συμπύκνωσης της δομής της χρωματίνης. Η δυναμική κατάσταση ακετυλίωσης/αποακετυλίωσης ρυθμίζεται από την ακετυλοτρανσφεράση της ιστόνης (HAT) και την αποακετυλάση της ιστόνης (HDAC), ενώ η μεθυλίωση της ιστόνης από τις μεθυλτρανσφεράσες της λυσίνης (KMTs) και τις απομεθυλάσες της λυσίνης (KDMs)<sup>94</sup>

#### 4.3.2 Φωσφορυλίωση ιστονών

Ολοένα και περισσότερες πληροφορίες έρχονται στο φως για τον ρόλο της φωσφορυλίωσης των ιστονών στην κυτταρική φυσιολογία και τις ανθρώπινες ασθένειες. Συμβάλλει στη δυναμική δομή της χρωματίνης μέσω της μεταφοράς φωσφορικής ομάδας από πρωτεϊνικές κινάσες σε κατάλοιπα θρεονίνης, τυροσίνης και σερίνης στις ουρές ιστονών.<sup>101</sup> Είναι επίσης μια αναστρέψιμη διαδικασία η οποία έχει συνδεθεί στενά με διάφορα κυτταρικά γεγονότα, όπως η μίτωση, η συμπύκνωση χρωμοσωμάτων, η ρύθμιση κυτταρικού κύκλου, η επιδιόρθωση του DNA, η απόκριση στο κυτταρικό στρες και η απόπτωση. Ένα βασικό χαρακτηριστικό είναι ότι η περιοχή στην οποία θα λάβει χώρα η φωσφορυλίωση καθορίζει και το κυτταρικό γεγονός το οποίο θα επηρεαστεί. Για παράδειγμα, η φωσφορυλίωση της ιστόνης H2A.X στη σερίνη 139 (H2AXser139) συνδέεται με την επιδιόρθωση ρήξεων της διπλής έλικας του DNA, ενώ η φωσφορυλίωση της ιστόνης H2B στη σερίνη 14 (H2Bser14) επηρεάζει τη συμπύκνωση της χρωματίνης που σχετίζεται με την απόπτωση.<sup>102</sup> Μεταξύ των καλύτερα χαρακτηρισμένων περιοχών φωσφορυλίωσης είναι η σερίνη 10 και η σερίνη 28 της ιστόνης H3 που σχετίζονται με την ανοιχτή, χαλαρή δομή της χρωματίνης και την ενεργοποίηση της μεταγραφικής δραστηριότητας. Οι πρωτεϊνικές κινάσες σερίνης/θρεονίνης φωσφορυλιώνουν την ομάδα -OH των κατάλοιπων σερίνης ή θρεονίνης, ενώ οι ειδικές για την τυροσίνη πρωτεϊνικές κινάσες φωσφορυλιώνουν τα αμινοξικά κατάλοιπα τυροσίνης, υπάρχουν όμως πολλές ακόμα πρωτεϊνικές κινάσες στα θηλαστικά οι οποίες ταξινομούνται σε

διακριτές υπεροικογένειες. Πολλές διαφορετικές κινάσες μπορούν να φωσφορυλιώνουν το ίδιο αμινοξικό κατάλοιπο. Αντίθετα, οι πρωτεϊνικές φωσφατάσες είναι οι κύριοι τελεστές της αποφωσφορυλίωσης των ιστονών.<sup>103</sup>

#### 4.3.3 Μεθυλίωση ιστονών

Η μεθυλίωση των ιστονών είναι μία σύνθετη επιγενετική τροποποίηση, η οποία καταλύεται από τις μεθυλοτρανσφεράσες των ιστονών (Histone methyltransferase-HMT) και περιλαμβάνει τη μεταφορά μιας μεθυλικής ομάδας που προέρχεται από τον κύριο δότη μεθυλομάδων SAM σε κατάλοιπα αργινίνης και λυσίνης στις ιστονικές ουρές. Στα θηλαστικά, τα κατάλοιπα αργινίνης και λυσίνης της ιστόνης H3 αποτελούν τις κυριότερες περιοχές-δέκτες των μεθυλομάδων. Οι μεθυλοτρανσφεράσες χωρίζονται στις μεθυλοτρανσφεράσες λυσίνης (KMTs) και πρωτεϊνικές μεθυλοτρανσφεράσες αργινίνης (PRTMs). Στον άνθρωπο έχουν ταυτοποιηθεί πάνω από 50 διαφορετικές ιστονικές μεθυλοτρανσφεράσες. Ο βαθμός και το μοτίβο της μεθυλίωσης καθορίζουν αν θα προκληθεί μεταγραφική ενεργοποίηση ή καταστολή. Για παράδειγμα, η τρι-μεθυλίωση της λυσίνης 4 στην ιστόνη 3 (H3K4me3) και η τρι-μεθυλίωση της λυσίνης 27 στην ιστόνη H3 (H3K27me3) σχετίζονται γενικότερα με την ενεργοποίηση των γονιδίων και την προώθηση της μεταγραφής, ενώ αντίθετα, η δι-μεθυλίωση της λυσίνης 9 της ιστόνης H3 (H3K9me2) έχει παρατηρηθεί κατά κύριο λόγο σε περιπτώσεις σίγασης ή χαμηλής έκφρασης γονιδίων.<sup>104</sup> Η μεθυλομάδα μπορεί να απομακρυνθεί από τις ιστόνες με τη δράση των απομεθυλάσων των ιστονών (Histone demethylase-HDM). Η διατάραξη της ισορροπίας της δράσης μεταξύ των HMT-HDM μπορεί να προκαλέσει γενετικές μεταλλάξεις, μετατοπίσεις και απορυθμισμένες εκφράσεις, οδηγώντας τελικά σε μία πληθώρα ασθενειών, όπως ο καρκίνος.<sup>105</sup> Ταυτόχρονα, αλλαγμένη μεθυλίωση ιστονών που επηρεάζει τα μοτίβα έκφρασης των γονιδίων στον εγκέφαλο έχει βρεθεί να έχει στενή σχέση με τη παθογένεση διαταραχών του φάσματος ψύχωσης και διάθεσης.<sup>106</sup>

#### 4.3.4 Ουβικουιτίνωση

Η συγκεκριμένη τροποποίηση ανήκει στις λιγότερο μελετημένες και περιλαμβάνει την μονοουβικουιτινοποίηση των ιστονών με την προσθήκη ενός μορίου ουβικιτίνης μήκους 76 αμινοξέων σε συγκεκριμένα κατάλοιπα λυσίνης στις ουρές των ιστονών. Ως θέσεις ουβικουιτίνωσης έχουν αναγνωρισθεί η K119 στην ιστόνη H2A και η K120 και K34 στην ιστόνη H2B.<sup>107</sup> Η διεργασία αυτή απαιτεί την διαδοχική δράση τριών ομάδων ενζύμων, τα ένζυμα ενεργοποίησης ουβικιτίνης (E1), τα ένζυμα σύζευξης ουβικιτίνης (E2) και τα ένζυμα λιγάσης ουβικιτίνης (E3), τα οποία στοχεύουν ειδικά τις ιστόνες H2A και H2B. Παρόμοια με τις άλλες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις, έτσι και η ουβικουιτίνωση είναι μία αναστρέψιμη διαδικασία και η αποουβικουιτίνωση πραγματοποιείται με την δράση μίας κατηγορίας πρωτεασών που ονομάζονται ένζυμα αποουβικουιτινοποίησης (DUBs). Η μονοουβικουιτίνωση της ιστόνης εμπλέκεται στον μεταγραφικό έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης και στην απόκριση σε βλάβες του DNA.<sup>108</sup>



Modification	Histone	Residue	Effects of transcription
Acetylation	H2A	K5	Activation
	H2B	K5, K12, K15, K20	Activation
	H3	K4, K9, K14, K18,	Activation
	H3	K23, K36,	Activation
	H3	K56	DNA repair, histone deposition
	H4	K5, K8, K16	Activation
	H4	K12	Activation, histone deposition
	H4	K91	Histone deposition
Methylation	H3	K4, K79	Activation
	H3	K9, K27	Repression
	H3	R2, R8, R17, R26	Activation
	H3	K36	Elongation
	H4	R3	Activation
	H4	K20	Repression
Phosphorylation	H2A	S1, T120	Mitosis
	H2AX	S139	DNA repair
	H2B	S14	Apoptosis
	H3	T6	Activation
	H3	T3, S10, T11, S28	Mitosis, DNA repair
	H3	T45	DNA replication
	H4	S1	Mitosis, activation
Ubiquitination	H2A	K119	Repression
	H2B	K120	Elongation
	H3	K23	Maintenance of DNA methylation

*K* lysine, *R* arginine, *S* serine, *T* threonine

Εικόνα 4.3 Οι πιο συχνές επιγενετικές τροποποιήσεις των ιστονών στα θηλαστικά και η επίδραση που ασκούν στη χρωματίνη<sup>94</sup>

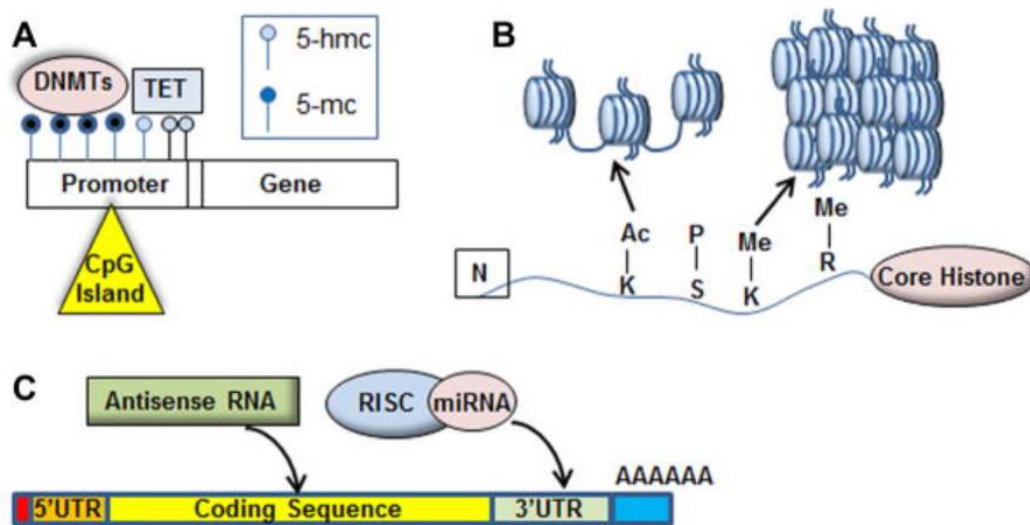
#### 4.4 Μη κωδικά RNAs

Η παρεμβολή RNA (RNA interference-RNAi) αποτελεί έναν ακόμη επιγενετικό μηχανισμό που ρυθμίζει ειδικά την αποσιώπηση συγκεκριμένων γονιδίων-στόχων μέσω της αποικοδόμησης ή αποσταθεροποίησης του mRNA, προκαλώντας καταστολή της μεταγραφής και της μετάφρασης.<sup>109</sup> Παρ' όλο που οι διάφορες ομάδες RNAs βρίσκονται ακόμα υπό έρευνα και ανακαλύπτονται συνεχώς νέες κατηγορίες, υπάρχουν δύο κατηγορίες μικρών μη κωδικών RNAs (small non-coding RNAs-sncRNAs) τα οποία έχουν βρεθεί να κατέχουν σημαντικό ρόλο στις επιγενετικές τροποποιήσεις: το μικρό RNA (microRNA-miRNA) και το μικρό παρεμβαλλόμενο RNA (short-interfering RNAs-siRNA).<sup>110</sup> Τα miRNAs είναι μία κατηγορία μη κωδικών RNAs με μήκος περίπου 22 νουκλεοτιδίων που κωδικοποιούνται από διάφορες περιοχές του γονιδιώματος, όπως ιντρόνια, εξώνια και διαγονιδιακά τμήματα. Η βιοσύνθεσή τους διαμεσολαβείται από την RNA πολυμεράση II, η οποία παράγει αρχικά ένα πρόδρομο μόριο miRNA (pri-miRNA) το οποίο εντοπίζεται στον πυρήνα. Το pri-miRNA επεξεργάζεται από το συμπλόκου Drosha-DGCR8 και

παράγεται το pre-mRNA μόριο με μήκος 70 νουκλεοτιδίων το οποίο τελικά μεταφέρεται στο κυτταρόπλασμα από τις πρωτεΐνες Exportin 5 και Ran-GTP, όπου υφίσταται περαιτέρω επεξεργασία από την ενδονουκλεάση Dicer με αποτέλεσμα την παραγωγή ενός ώριμου δίκλωνου miRNA. Η φόρτωση ενός εκ των δύο αλυσίδων στο σύμπλοκο RISC (RNA-induced silencing complex) επιφέρει την αποικοδόμηση του mRNA-στόχου ή την καταστολή της μετάφρασής του.<sup>111</sup> Συμβάλλουν στην ρύθμιση διάφορων διεργασιών του νευρικού συστήματος, όπως η μετανάστευση και διαφοροποίηση των νευρώνων, η συναπτική πλαστικότητα και η νευρογένεση, μέσω της δέσμευσης στην περιοχή 3' UTR των mRNAs στόχων είτε παρεμποδίζοντας την μετάφραση είτε οδηγώντας το mRNA για αποικοδόμηση. Τα miRNAs θεωρούνται ενδογενή προϊόντα κυττάρων και παρουσιάζουν μερική συμπληρωματικότητα με αλληλουχία του mRNA-στόχου, επομένως ένα miRNA μπορεί να στοχεύει σε περισσότερα του ενός mRNA και να επηρεάσει την έκφραση πολλών γονιδίων ταυτόχρονα. Επειδή η δράση τους προκαλεί την αναστολή της μετάφρασης του mRNA, η απορρύθμιση της έκφρασής των miRNAs που συμμετέχουν υπό φυσιολογικές συνθήκες σε βασικές κυτταρικές δραστηριότητες έχει μεγάλη σημασία για την αιτιολογία πολλών ασθενειών, όπως ο καρκίνος και οι νευροεκφυλιστικές και ψυχιατρικές παθήσεις. Είναι σημαντικό ότι απορρύθμιση της έκφρασης και της βιογένεσης των miRNAs έχει παρατηρηθεί σχεδόν σε κάθε νευροαναπτυξιακή, νευροεκφυλιστική ή ψυχιατρική διαταραχή.<sup>112</sup> Τα siRNAs αποτελούν εξωγενή προϊόντα προερχόμενα από ιούς, τρानσποζόνια ή διαγονίδια, διαθέτουν απόλυτη συμπληρωματικότητα με μία μοναδική αλληλουχία του mRNA στόχου και δρουν προκαλώντας τη διάσπασή του και την καταστολή της έκφρασης του αντίστοιχου γονιδίου.<sup>113</sup>

Μία διαφορετική τάξη μη κωδικών RNAs τα οποία αντιπροσωπεύουν ένα μεγάλο μέρος τους, είναι τα μακρά μη κωδικά RNAs (long non-coding RNAs-lncRNAs), με μήκος πάνω από 200 νουκλεοτίδια. Δομικά, τα lncRNAs μοιράζονται αρκετά κοινά χαρακτηριστικά με τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, όπως η ύπαρξη υποκινητών και η οριοθέτηση μεταξύ ιντρονίων και εξονίων. Τα μετάγρατά τους έχουν επίσης αρκετές ομοιότητες με τα mRNAs, όπως ότι διαθέτουν 5'-καλύπτρα, 3'-poly-A ουρά και ότι υπόκεινται σε μάτισμα. Η βασική τους διαφορά όπως υποδηλώνει και το όνομά τους είναι ότι δεν υφίστανται μετάφραση.<sup>114</sup> Αποτελούν ενδογενή κυτταρικά μετάγραφα και ρυθμίζουν τη διαδικασία της μεταγραφής και της μετάφρασης προκαλώντας αλλαγές στη δομή της χρωματίνης.<sup>115</sup> Σχετικές μελέτες υποδεικνύουν ότι τα lncRNAs εμπλέκονται άμεσα σε βιολογικές διαδικασίες όπως η διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, η αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X και η γονιδιωματική αποτύπωση.<sup>116</sup> Επιπλέον, ολοένα και περισσότερα στοιχεία μελετών υπογραμμίζουν την εμπλοκή τους στην εμφάνιση ψυχιατρικών ασθενειών.<sup>117</sup> Υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί με τους οποίους τα lncRNAs μπορούν να επηρεάσουν την έκφραση των γονιδίων, ακόμα και πριν από το στάδιο της μεταγραφής. Αρχικά, μπορούν να μεταβάλλουν την κατάσταση συμπύκνωσης της χρωματίνης οδηγώντας διάφορα σύμπλοκα σε συγκεκριμένες θέσεις πάνω στο γονιδίωμα.<sup>118</sup> Μια έρευνα έδειξε ότι το lncRNA HOTAIR συνδέεται με δύο σύμπλοκα τροποποίησης της ιστόνης, το πολυκομβικό κατασταλτικό σύμπλεγμα 2 (PRC2) και το σύμπλοκο LSD1/CoREST/REST, για να συντονίσει την μεθυλίωση της ιστόνης H3 στη λυσίνη 27 και την απομεθυλίωση της ιστόνης H3 στη λυσίνη 4 αντίστοιχα.<sup>119</sup> Μία άλλη έρευνα έδειξε ότι η διαγραφή των lncRNAs που

αλληλεπιδρούν με το PRC2 οδηγεί σε ενίσχυση της γονιδιακής έκφρασης.<sup>120</sup> Επιπλέον, τα lncRNAs αλληλεπιδρούν με μεταγραφικούς παράγοντες με σκοπό τη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων. Για παράδειγμα, το lncRNA RMST αλληλεπιδρά με τον μεταγραφικό παράγοντα SOX2, ρυθμίζοντας τη μεταγραφή μεγάλου αριθμού γονιδίων του εγκεφάλου. Αξίζει να σημειωθεί ότι στους υποκινητές των γονιδίων στόχων προσδένεται το RMST αντί του μεταγραφικού παράγοντα.<sup>121</sup>



Εικόνα 4.4 Οι πιο συχνές επιγενετικές τροποποιήσεις: Α. DNA μεθυλοτρανσφεράσες (DNMTs) τροποποιούν νησίδες CpG σε υποκινητές γονιδίων. Αύξηση μεθυλίωσης υποκινητών (μπλε κύκλοι) οδηγεί σε μειωμένη έκφραση γονιδίου. Τροποποίηση με ένζυμο TET (γαλάζιοι κύκλοι) αναιρεί την καταστολή της γονιδιακής έκφρασης. Β. Οι ιστόνες υπόκεινται μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις (μεθυλίωση, ακετυλίωση, φωσφορυλίωση) επιφέροντας είτε χαλάρωση της δομής της χρωματίνης στο νουκλεόσωμα (ευχρωματίνη) και ενεργοποίηση μεταγραφής γονιδίου, είτε συσπείρωση χρωματίνης (ετεροχρωματίνη) και απαγόρευση πρόσβασης μεταγραφικών παραγόντων σε γονίδιο. Γ. Μη κωδικά RNAs δρουν σε περιοχές υποκινητων, κωδικές περιοχές και το μοτίβο 3'-UTR, ρυθμίζοντας την έκφραση του mRNA-στόχου.<sup>9</sup>

#### 4.5 Τεχνικές

Στη βιβλιογραφία, αναφέρονται διάφορες τεχνικές οι οποίες εφαρμόστηκαν από τις επιστημονικές ομάδες με σκοπό τον εντοπισμό των διάφορων επιγενετικών τροποποιήσεων στο γονιδίωμα. Μία από τις πρώτες τεχνικές που εφαρμόστηκαν για τον προσδιορισμό αλλαγών στη γονιδιακή έκφραση σε μεγάλη κλίμακα σε μεταθανάτια δείγματα εγκεφάλου από ασθενείς με σχιζοφρένεια ήταν η ανάλυση υβριδισμού μικροσυστοιχιών. Στην τεχνική αυτή χρησιμοποιούνται ολιγονουκλεοτιδικοί ανιχνευτές γνωστής αλληλουχίας οι οποίοι ακινητοποιούνται ομοιοπολικά σε στερεό υπόστρωμα, στους οποίους κάτω από τις κατάλληλες



συνθήκες θα υβριδοποιηθούν δείγματα κατακερματισμένου DNA μέσω συμπληρωματικότητας με τις αντίστοιχες αλληλουχίες των καθηλωμένων ανιχνευτών. Η τεχνική αυτή περιλαμβάνει κυρίως την κατεργασία του DNA με διθειώδες νάτριο (bisulfate conversion), την πέψη με ένζυμα περιορισμού και την ανοσοκατακρήμνηση. Η επεξεργασία του DNA με διθειώδες νάτριο έχει σαν αποτέλεσμα οι κυτοσίνες που δεν έχουν υποστεί μεθυλίωση να μετατρέπονται σε ουρακίλες και εν συνεχεία οι ουρακίλες κατά την ενίσχυση με PCR να μετατρέπονται σε θυμίνες. Αντίθετα, οι μεθυλιωμένες κυτοσίνες παραμένουν ανεπηρέαστες. Στη συνέχεια υπολογίζεται η αναλογία κυτοσίνης προς θυμίνη στα τελικά προϊόντα η οποία αξιοποιείται για τον υπολογισμό του επιπέδου μεθυλίωσης σε οποιαδήποτε δεδομένη θέση στο γονιδίωμα. Ο υβριδισμός αυτών των προϊόντων σε μία προσαρμοσμένη μικροσυστοιχία με χρήση κατάλληλων ανιχνευτών που μπορούν να διακρίνουν τις μη μετατρεπόμενες από τις μετατρεπόμενες κυτοσίνες διευκολύνει την αναγνώριση οποιασδήποτε θέσης ενδιαφέροντος CpG. Το 2007 εισάχθηκε η τεχνική της πυροαλληλούχησης (pyrosequencing), μία μέθοδος προσδιορισμού αλληλουχίας που βασίζεται στην κατεργασία του DNA με διθειώδες νάτριο. Η πυροαλληλούχηση δίνει τη δυνατότητα ποσοτικής παρακολούθησης της ενσωμάτωσης νουκλεοτιδίων μέσω της παραγωγής φωτός κατά την ενσωμάτωση και της απελευθέρωσης ενός μορίου πυροφωσφορικού για κάθε νουκλεοτίδιο που προστίθεται. Το αποτέλεσμα είναι ένα πυρόγραμμα στο οποίο το παραγόμενο φως απεικονίζεται ως κορυφές των οποίων το ύψος είναι ανάλογο του αριθμού των νουκλεοτιδίων που έχουν ενσωματωθεί σε κάθε θέση. Η ενζυμική κατάτμηση του DNA με τις ισοσχιζομερείς ενδονουκλεάσες περιορισμού (isoschizomers) περιλαμβάνει ένζυμα «ευαίσθητα» στη μεθυλίωση από τα οποία το ένα αναγνωρίζει τη μεθυλιωμένη κυτοσίνη και το άλλο τη μη μεθυλιωμένη. Τα προϊόντα κατάτμησης ανιχνεύονται είτε με PCR είτε με Southern blot. Η τεχνική πέψης προσφέρει ποσοτικό προσδιορισμό του προφίλ μεθυλίωσης του γονιδιώματος όμως δεν μπορεί να προσεγγίσει το ολικό επίπεδο γονιδιώματος γιατί η δράση των ενδονουκλεασών περιορίζεται μόνο στις αλληλουχίες που περιέχουν τις θέσεις περιορισμού. Η ανοσοκατακρήμνηση των μεθυλιωμένων θραυσμάτων επιτυγχάνεται με χρήση κατάλληλου μονοκλωνικού αντισώματος που στοχεύει τις μεθυλιωμένες θέσεις CpG. Τα ανοσοκαταβυθισμένα μεθυλιωμένα κλάσματα υφίσταται υβριδοποίηση με μικροσυστοιχία και στη συνέχεια υπολογίζεται το επίπεδο μεθυλίωσης του DNA.<sup>122</sup>

Η ανοσοκατακρήμνηση χρωματίνης με ανάλυση αλληλουχίας (Chromatin immunoprecipitation followed by sequencing-ChIPseq) αποτελεί μία βασική τεχνολογία της επιγονιδιωματικής έρευνας. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στη χρήση αντισώματος εξειδικευμένου να στοχεύει μία συγκεκριμένη πρωτεΐνη που δεσμεύεται στο DNA ή μία συγκεκριμένη τροποποίηση ιστόνης, για τον αναγνώριση συγκεκριμένων τόπων εντός του γονιδιώματος. Η συνεχώς αυξανόμενη πρόοδος της αλληλούχησης επόμενης γενιάς (NGS) και της υπολογιστικής ανάλυσης δίνει την δυνατότητα κατανόησης του τρόπου που το επιγενετικό τοπίο μπορεί να συμβάλλει στην ανάπτυξη διάφορων ασθενειών, όπως του καρκίνου και των νευροψυχιατρικών διαταραχών. Μέχρι σήμερα, πέντε βασικές τροποποιήσεις έχουν μελετηθεί ευρέως με την εφαρμογή ChIPseq:

- Η μεθυλίωση της λυσίνης 4 στην ιστόνη H3 και η ακετυλίωση της λυσίνης 27 στην ιστόνη H3 που σχετίζονται με περιοχές ενίσχυσης

- Η τρι-μεθυλίωση της λυσίνης 4 στην ιστόνη H3 που αφορά κυρίως περιοχές υποκινητών
- Η τρι-μεθυλίωση της λυσίνης 36 στην ιστόνη H3 που επηρεάζει μεταγραφικές περιοχές του γονιδιώματος
- Η τρι-μεθυλίωση της λυσίνης 27 στην ιστόνη H3 που έχει συνδεθεί με την καταστολή της γονιδιακής έκφρασης
- Η τρι-μεθυλίωση της λυσίνης 9 στην ιστόνη H3 που σχετίζεται με τη δομή της ετεροχρωματίνης<sup>123</sup>

Η ανάλυση μικροσυστοιχίας αποτελεί μία από τις πρώτες μεθόδους που αξιοποιήθηκαν για την ανάλυση των miRNAs και παρέχει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με το προφίλ έκφρασης τους. Τα κύρια στάδια της τεχνικής συνοψίζονται ως εξής: αρχικά γίνεται απομόνωση και καθαρισμός του miRNA από το δείγμα, υφίσταται αντίστροφη μεταγραφή και επισημαίνεται με φθορίζουσα χρωστική. Στη συνέχεια τα επισημασμένα miRNAs υβριδοποιούνται στη συστοιχία και τέλος χρησιμοποιείται λέιζερ που εκπέμπει ακτινοβολία φθορισμού. Η ποσότητα του φθορισμού που μετριέται σε κάθε ανιχνευτή είναι ανάλογη της ποσότητας των υβριδοποιημένων αλληλουχιών miRNAs που εντοπίζονται στο υπό εξέταση δείγμα. Οι μικροσυστοιχίες mRNA αποτελούν χρήσιμο εργαλείο για τη σύγκριση της έκφρασης των miRNAs μεταξύ δύο καταστάσεων, για παράδειγμα μεταξύ της ύπαρξης ή μη μιας παθολογικής κατάστασης ή μεταξύ του ελέγχου και της θεραπείας, όμως δεν χρησιμοποιούνται γενικά για απόλυτη ποσοτικοποίηση. Για να επιτευχθεί η ποσοτικοποίηση τα αρχικά αποτελέσματα από τις μικροσυστοιχίες επικυρώνονται με μία δεύτερη μέθοδο, συνήθως με PCR πραγματικού χρόνου (Real Time PCR).<sup>124</sup> Η ανακάλυψη και η εξελικτική πορεία της αλληλούχισης επόμενης γενιάς, έφερε στο προσκήνιο και μία ακόμη σημαντική προσέγγιση στη μελέτη της έκφρασης των miRNAs, την αλληλούχιση RNA (RNA-seq), που επιτρέπει την δημιουργία μιας cDNA βιβλιοθήκης από το δείγμα RNA που μας ενδιαφέρει και τη μαζική παράλληλη αλληλούχιση των υπό μελέτη μορίων cDNA. Στη συνέχεια η υπολογιστική επεξεργασία και η βιοπληροφορική ανάλυση των παραπάνω δεδομένων μπορεί να προσδιορίσει τόσο γνωστά όσο και καινούργια μόρια miRNA και παρέχει δυνατότητα σχετικής ποσοτικοποίησης.<sup>125</sup>

## 5. Η επιγενετική πλευρά της σχιζοφρένειας

### 5.1 Μία γενική εικόνα

Ο εγκέφαλος μπορεί να χαρακτηριστεί ως μία ανώτερη επιγενετική μηχανή η οποία αντιλαμβάνεται τα περιβαλλοντικά ερεθίσματα, τα καταγράφει και τα επεξεργάζεται έτσι ώστε να μπορέσει να παρέχει στον οργανισμό τις κατάλληλες πληροφορίες που σκοπό έχουν την επιβίωση και την αναπαραγωγή του. Η δραστηριότητα αυτή επιτυγχάνεται με νευρικά κυκλώματα και συστήματα σηματοδότησης τα οποία περιέχουν διάφορα κομβικά σημεία με κύτταρα που αποκρίνονται στα ερεθίσματα και ενσωματώνουν τα διάφορα περιβαλλοντικά δεδομένα που λαμβάνουν. Επομένως, είναι λογικό οι διάφορες επιγενετικές τροποποιήσεις να αποτελούν κεντρικό χαρακτηριστικό αυτού του εντυπωσιακού οργάνου. Όπως είναι αναμενόμενο, σε συστήματα με τέτοιο βαθμό πολυπλοκότητας, υπάρχει μεγάλη πιθανότητα για τυχόν αστοχίες οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν σε κατάρρευση της πολυπλοκότητας και της δομικής και λειτουργικής ακεραιότητας του συστήματος. Στον ανθρώπινο εγκέφαλο, τέτοια λάθη συνήθως πλήττουν τη συμπεριφορά και τη γνωστική λειτουργία των ατόμων, προκαλώντας σύνδρομα όπως η σχιζοφρένεια. Το συμπέρασμα αυτό ενισχύεται από μία πληθώρα απεικονίσεων νευροφυσιολογικών και νευροπαθολογικών εξετάσεων που αποδεικνύουν ότι η σχιζοφρένεια σχετίζεται με απώλεια της δομικής και λειτουργικής συνδεσιμότητας.<sup>126,127</sup>

Οι επιγενετικοί δείκτες αποτελούν μία ελπιδοφόρα προσέγγιση για την κατανόηση της αιτιολογίας και της παθοφυσιολογίας της ασθένειας αλλά και την εγκαθίδρυση βιοδεικτών υψηλής ακρίβειας. Η επιγενετική γεφυρώνει το χάσμα μεταξύ γονιδιώματος και περιβάλλοντος και εξηγεί το υψηλό ποσοστό κληρονομικότητας αλλά χαμηλό ποσοστό συμφωνίας μεταξύ ομοζυγωτικών διδύμων.<sup>128</sup> Οι επιγενετικοί μηχανισμοί αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστές της βιολογίας και της γνωστικής διαδικασίας του εγκεφάλου, και μαζί με τους γενετικούς μηχανισμούς παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξή του.<sup>129</sup> Εάν το περιβάλλον δεν είναι κατάλληλο για την ορθή γενετική απόκριση και η επιγενετική μηχανή εντοπίζεται απορρυθμισμένη, τότε ενέχει κίνδυνος ανάπτυξης διαταραχών όπως η σχιζοφρένεια.<sup>130</sup> Η έρευνα του Mirmics και των συνεργατών του ήταν η πρώτη που χρησιμοποίησε ανάλυση μικροσυστοιχιών για να προσδιορίσει σε μεγάλη κλίμακα αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση σε μεταθανάτια δείγματα εγκεφάλου ατόμων με σχιζοφρένεια.<sup>131</sup> Από τότε μία σειρά ερευνών έχουν επιβεβαιώσει αλλαγές στην μεταγραφή και την έκφραση γονιδίων του εγκεφάλου στα άτομα που πάσχουν από τη διαταραχή και συμφωνούν ότι η επιγενετική ρύθμιση έχει κεντρικό ρόλο στις αλλοιώσεις αυτές. Οι αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων αφορούν κυρίως αύξηση της μεθυλίωσης και μείωση της ακετυλίωσης συγκεκριμένων καταλοίπων (π.χ. H3K9, H3K27 και H3K9, H3K14 αντίστοιχα) που δημιουργούν ένα περιοριστικό μεταγραφικό περιβάλλον χρωματίνης. Τέτοιες μεταβολές έχουν παρατηρηθεί τόσο σε μεταθανάτια δείγματα εγκεφάλου όσο και σε δείγματα περιφερικού αίματος ασθενών με σχιζοφρένεια. Στην Εικόνα 5.1 αναφέρονται οι βασικότερες επιγενετικές τροποποιήσεις που έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με σχιζοφρένεια και έχουν συσχετιστεί με την εμφάνιση της νόσου.

Histone residue	Epigenetic mark	Tissue	Direction of change
Peripheral tissues:			
H3/H4	Acetylation	Lymphocytes	Decrease
H3K9/K14	Acetylation	Lymphocytes	Decrease
H3K9	Di-methylation	Lymphocytes	Increase
H3S10	Phosphorylation	PBMCs	Increase
CNS tissues:			
H3R17	Methylation	PFC	Increase
H3K9	Di-methylation	Cortex	Increase
H3K4	Tri-methylation	PFC	Decrease
H3K27	Tri-methylation	PFC	Increase
H3K9	Di-methylation	Cortex	Increase
H3K9/K14	Acetylation	PFC	Decrease
H3S10/H3K14	Phosphorylation/acetylation	PFC	Increase

Εικόνα 5.1 Αλλαγές στις επιγενετικές τροποποιήσεις ασθενών με σχιζοφρένεια.<sup>94</sup>

## 5.2 Μεθυλίωση DNA

Εκτός από την περίπτωση της σχιζοφρένειας, αλλαγές στην φυσιολογική κατάσταση μεθυλίωσης του DNA έχει εντοπιστεί και σε άλλες νευροψυχιατρικές ασθένειες, συμπεριλαμβανομένου του αυτισμού, της διπολικής διαταραχής και της διαταραχής προσωπικότητας. Πρόσφατες μελέτες αναγνωρίζουν ένα μεγάλο αριθμό αλλαγών στη μεθυλίωση του DNA σε διάφορες περιοχές του γονιδιώματος ασθενών με σχιζοφρένεια, υποδηλώνοντας τη στενή σχέση τους με την παθογένεση της ασθένειας. Επιπλέον, βρέθηκε αυξημένη έκφραση των DNMTs σε εγκεφάλους ασθενών με αποτέλεσμα να προκαλείται υπερμεθυλίωση και κατ' επέκταση μείωση της έκφρασης των αντίστοιχων γονιδίων που σχετίζονται με τη σχιζοφρένεια. Τα δύο πιο καλά μελετημένα γονίδια αυτής της κατηγορίας είναι τα RELN και GAD1. Το γονίδιο RELN κωδικοποιεί την εξωκυττάρια γλυκοπρωτεΐνη reelin η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην μετανάστευση των νευρώνων και των νευρογλοιακών κυττάρων στον σωστό προορισμό τους κατά την πρόιμη μεταγεννητική ανάπτυξη του εγκεφάλου.<sup>132</sup> Επίσης, συμμετέχει στην επέκταση των αξόνων και των δενδριτών και στην εξειδίκευση της δομής των έξι στρωμάτων του ανθρώπινου φλοιού.<sup>133</sup> Το γονίδιο GAD1 κωδικοποιεί την αποκαρβοξυλάση του γλουταμικού οξέος GAD67 (glutamic acid decarboxylase 67) η οποία καταλύει την μετατροπή του L-γλουταμινικού στον ανασταλτικό νευροδιαβιβαστή γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA).<sup>134</sup> Σύμφωνα με μελέτες σε μεταθανάτια δείγματα εγκεφάλου ασθενών με σχιζοφρένεια, παρατηρήθηκε υπερμεθυλίωση των υποκινητών των γονιδίων RELN και GAD1 το οποίο οδήγησε σε μειωμένη έκφραση των γονιδίων και μειωμένη παραγωγή των αντίστοιχων πρωτεϊνών.<sup>135</sup>

Συγκεκριμένα, η έκφραση RELN παρατηρήθηκε ότι μειώνεται κατά 30-50% σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου στα άτομα που πάσχουν από σχιζοφρένεια

συγκριτικά με υγιή άτομα, γεγονός εξαιρετικής σημασίας αν ληφθεί υπόψη ο ρόλος της πρωτεΐνης στην ανάπτυξη του εγκεφάλου και τη συνδεσιμότητα.<sup>136</sup> Ο Abdolmaleky και οι συνεργάτες του απέδωσαν πρώτοι την μείωση της έκφρασης του γονιδίου RELN στην υπερμεθυλίωση του υποκινητή του μετά από μελέτες σε πέντε δείγματα μετωπιαίου λοβού του εγκεφάλου σε άντρες ασθενείς με σχιζοφρένεια συγκριτικά με υγιή δείγματα ελέγχου.<sup>137</sup> Το εύρημα αυτό επιβεβαίωσαν και ο Grayson και οι συνεργάτες του<sup>138</sup>, ωστόσο ακολούθησαν δύο ακόμα μελέτες οι οποίες δεν εντόπισαν κάποια αλλαγή στην κατάσταση μεθυλίωσης του υποκινητή του γονιδίου RELN. Η αντίφαση αυτή αποδόθηκε σε διαφορές στα πειραματικά πρωτόκολλα και σε διαφορές στις περιοχές του εγκεφάλου που μελετήθηκαν.<sup>139</sup> Το εύρημα αυτό ενισχύει η ανακάλυψη αυξημένων επιπέδων έκφρασης του δότη μεθυλομάδας SAM στον προμετωπιαίο φλοιό ασθενών με σχιζοφρένεια.<sup>140</sup> Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν με πειραματικά μοντέλα ποντίκια, η υπερμεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου και η απορρύθμιση της πρωτεΐνης *reelin* ως απόκριση στο προγεννητικό στρες, προκαλούσε στην συμπεριφορά τους αλλαγές όμοιες με τα συμπτώματα της σχιζοφρένειας, ενισχύοντας την άποψη ότι οι περιβαλλοντικοί στρεσογόνοι παράγοντες τροποποιούν μέσω μεθυλίωσης το γονίδιο RELN, επηρεάζοντας τη φυσιολογική λειτουργία του εγκεφάλου.<sup>141</sup> Το γονίδιο GAD1 έχει παρατηρηθεί επανειλημμένα να παρουσιάζει υπερμεθυλιωμένο υποκινητή σε μελέτες μεταθανάτιων δειγμάτων εγκεφαλικού φλοιού ασθενών με σχιζοφρένεια.<sup>142</sup> Μελέτες που έγιναν σε ζωικά μοντέλα ενισχύουν την υπόθεση ότι η έκθεση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου της σχιζοφρένειας, όπως η ενεργοποίηση του μητρικού ανοσοποιητικού συστήματος κατά την κύηση, ενισχύουν την υπερμεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου GAD1, η οποία συνοδεύεται από μειωμένη παραγωγή mRNA.<sup>143</sup> Τα γονίδια RELN και GAD1 διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της GABAεργικής νευροδιαβίβασης η οποία θεωρείται ότι συμβάλλει στη νευροπαθολογία της σχιζοφρένειας.<sup>144</sup>

Διαταραχές στο σύστημα νευροδιαβιβαστών λόγω διαφορετικής μεθυλίωσης των γονιδίων των ντοπαμινεργικών, σεροτονινεργικών και γλουταμινεργικών συστημάτων μπορεί να οδηγήσει σε ανάπτυξη σχιζοφρένειας. Αυξημένη μεθυλίωση του υποκινητή των υποδοχέων ντοπαμίνης DRD4, DRD5 και DRD2 έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με σχιζοφρένεια.<sup>145</sup> Ένα ακόμα γονίδιο που παρουσιάζει ενδιαφέρον στις μελέτες μεθυλίωσης είναι το COMT γιατί το προϊόν του κατεχολ-Ο-μεθυλοτρανσφεράση εμπλέκεται στο μεταβολισμό της ντοπαμίνης, διαδικασία που διαταράσσεται στην σχιζοφρένεια και ευθύνεται σε μεγάλο βαθμό για τα θετικά συμπτώματα της.<sup>146</sup> Μελέτες έχουν δείξει υπερμεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου COMT.<sup>147</sup> Οι δύο ισομορφές του συστήματος μεταβολισμού της ντοπαμίνης, MB-COMT και S-COMT, μεθυλιώνονται διαφορετικά σε περιπτώσεις σχιζοφρένειας. Το S-COMT έχει βρεθεί υπερμεθυλιωμένο ενώ το MB-COMT εντοπίζεται υπομεθυλιωμένο στους ασθενείς.<sup>148</sup> Ο πιθανός κίνδυνος για ανάπτυξη σχιζοφρένειας θεωρείται ότι σχετίζεται περισσότερο με τη μείωση της μεθυλίωσης του γονιδίου COMT.<sup>149</sup> Η μείωση της μεθυλίωσης οδηγεί σε αύξηση της έκφρασης και δραστηριότητας της πρωτεΐνης με αποτέλεσμα, μετά την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, την παρουσία χαμηλών επιπέδων συναπτικής ντοπαμίνης και τελικά, επιφέρει μείωση της ντοπαμινεργικής διέγερσης των μετασυναπτικών νευρώνων.<sup>150</sup> Έρευνες υποστηρίζουν ότι όταν αυτό συμβαίνει στον προμετωπιαίο φλοιό του εγκεφάλου έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της εκτελεστικής λειτουργίας



του ατόμου, χαρακτηριστικό που παρατηρείται συνήθως σε ασθενείς με σχιζοφρένεια.<sup>151</sup> Τα γονίδια που εμπλέκονται σε σεροτονινεργικές οδούς όπως τα HTR1A και HTR2A, αλλά και ο μεταφορέας σεροτονίνης 5-HTT έχουν εντοπιστεί υπερμεθυλιωμένα σε περιπτώσεις σχιζοφρένειας.<sup>152</sup> Η μεθυλίωση των γλουταμινεργικών γονιδίων επηρεάζει με διαφορετικό τρόπο την σχιζοφρένεια. Μελέτες έδειξαν ότι η μεθυλίωση του υποκινητή των γονιδίων GMR2 και GMR5 μείωσε σε σημαντικό βαθμό τον κίνδυνο για σχιζοφρένεια σε αντίθεση με την μεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου GRIA3 που σχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο.<sup>153</sup>

Ένα άλλο γονίδιο, το SOX10, το οποίο κωδικοποιεί ένα σημαντικό μεταγραφικό παράγοντα για τη διαφοροποίηση των ολιγοδενδροκυττάρων, έχει επίσης βρεθεί με μειωμένη έκφραση σε μεταθανάτια δείγματα εγκεφάλου ασθενών με σχιζοφρένεια. Η μείωση αυτή αποδόθηκε στην υπερμεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου.<sup>154</sup> Το γονίδιο SOX10 είναι υπεύθυνο για τη ρύθμιση της εμβρυικής ανάπτυξης και της μοίρας των κυττάρων.<sup>155</sup> Σχετική μελέτη αναφέρει την υπερμεθυλίωση του γονιδίου στον εγκεφαλο ασθενών με σχιζοφρένεια η οποία ευθύνεται για την μειωμένη έκφρασή του. Μελέτες σε μεταθανάτιους εγκεφάλους ασθενών με σχιζοφρένεια έχουν δείξει ότι η μείωση της έκφρασης του SOX10 μπορεί να οδηγήσει σε δυσλειτουργία των γονιδίων των ολιγοδενδροκυττάρων και της μυελίνωσης και κατ' επέκταση της πρωτεΐνης των ολιγοδενδροκυττάρων, που όλα αυτά μαζί έχουν παρατηρηθεί στους ασθενείς με σχιζοφρένεια.<sup>156</sup>

Ο εγκεφαλικός νευροτροφικός παράγοντας BDNF εμπλέκεται στη φλεγμονώδη οδό του κεντρικού νευρικού συστήματος και ανήκει στην οικογένεια των αυξητικών παραγόντων που συμβάλλουν στη διαφοροποίηση, την ωρίμανση και την επιβίωση των νευρώνων. Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του αποτελεί το γεγονός ότι κάτω από ορισμένες δυσμενείς συνθήκες όπως γλουταμινεργική διέγερση, εγκεφαλική ισχαιμία, υπογλυκαιμία και νευροτοξικότητα, αποκτά νευροπροστατευτικό ρόλο.<sup>157</sup> Μελέτες έχουν παρατηρήσει μία διαφορετική μεθυλίωση του γονιδίου BDNF μεταξύ των ασθενών με σχιζοφρένεια και των υγιών ατόμων, το εύρημα όμως αυτό δεν είναι αναπαραγώγιμο.<sup>158</sup> Πιθανόν αυτό να οφείλεται σε διάφορους παράγοντες που επηρεάζουν την μεθυλίωση του DNA, όπως η ηλικία έναρξης της νόσου, το φύλο και η χορήγηση φαρμάκων.<sup>159</sup> Η μη φυσιολογική μεθυλίωση του γονιδίου προκαλεί αλλοίωση της έκφρασής του, κάτι που έχει παρατηρηθεί στις φλοιώδεις περιοχές του εγκεφάλου των ασθενών με σχιζοφρένεια.<sup>160</sup> Αλλαγή στην έκφραση του γονιδίου επιφέρει αλλαγή στην λειτουργία της πρωτεΐνης, με αποτέλεσμα να πλήττεται η δendraitική ανάπτυξη, η συναπτική πυκνότητα και το μέγεθος των νευρωνικών κυττάρων, συμβάντα που εμπλέκονται στην ανάπτυξη της διαταραχής.<sup>161</sup>

Έχουν βρεθεί και διάφορα ακόμη γονίδια όπως τα NR3B, GRIA2, FOXP2, των οποίων οι διαφορετικές εκφράσεις σε περιπτώσεις σχιζοφρένειας διερευνήθηκαν με άξονα την μεθυλίωση των υποκινητών τους. Συνολικά, όλες αυτές οι μελέτες αποδεικνύουν ότι οι διάφορες αλλαγές στην έκφραση γονιδίων κυρίως του φλοιού του εγκεφάλου είναι πιθανόν να οφείλονται σε αλλαγές του φυσιολογικού προφίλ μεθυλίωσης του υποκινητή τους ως απόκριση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου.<sup>162</sup> Οι αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA στην σχιζοφρένεια είναι τόσο διαδεδομένες που έδωσαν το έναυσμα για εφαρμογή ερευνών με σκοπό την παρατήρηση των αλλαγών μεθυλίωσης σε όλο το γονιδίωμα. Οι μελέτες αυτές

αναφέρονται ως μελέτες συσχέτισης σε επίπεδο γονιδιώματος (epigenome-wide methylation studies-EWAS).<sup>163</sup> Μία τέτοια μελέτη σε 35 περιπτώσεις σχιζοφρένειας και 35 υγιείς μάρτυρες ανέφερε αλλαγές στη μεθυλίωση μίας πληθώρας γονιδίων που σχετίζονται με την αιτιολογία της νόσου, όπως τα γονίδια του υποδοχέα του γλουταμινικού, και σε γονίδια που εμπλέκονται σε οδούς GABAεργικής νευροδιαβίβασης.<sup>164</sup> Σε μία άλλη μελέτη μεθυλίωσης DNA σε όλο το γονιδίωμα σε δείγματα από μετωπιαίους φλοιούς από μία ομάδα 24 ατόμων με σχιζοφρένεια και 24 δειγμάτων ελέγχου στα οποία αξιολογήθηκε η κατάσταση μεθυλίωσης σε περισσότερες από 485.000 θέσεις CpG. Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική διαφορά στην κατάσταση μεθυλίωσης μεταξύ των δύο ομάδων.<sup>165</sup> Ένα ακόμα σημαντικό εύρημα είναι ότι 99 από τα διαφορετικά μεθυλιωμένα γονίδια που βρέθηκαν από την έρευνα, παρατηρούνται τόσο στην εγκέφαλο όσο και στο αίμα των ασθενών με σχιζοφρένεια.<sup>166</sup> Στον Πίνακα 5.1 γίνεται μία συνοπτική απεικόνιση των σημαντικότερων γονιδίων που έχουν βρεθεί να επηρεάζονται σε ασθενείς που πάσχουν από την διαταραχή, του ρόλου τους και της αλλαγής που έχει εντοπιστεί να υφίσταται το φυσιολογικό μοτίβο μεθυλίωσής τους.

Έχει βρεθεί ότι δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μπορούν να πυροδοτήσουν την εμφάνιση ψυχιατρικών διαταραχών στους ενήλικους απογόνους, κυρίως σχιζοφρένεια και κατάθλιψη, μέσω επιγενετικών τροποποιήσεων. Ένας επιγενετικός μηχανισμός που επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την έκθεση σε αντίξοες περιβαλλοντικές επιδράσεις αποτελεί η μεθυλίωση του DNA. Πολλές έρευνες έχουν επικεντρωθεί στον υποσιτισμό της μητέρας κατά την κύηση, που φαίνεται να επηρεάζει την ανάπτυξη του εμβρύου και να έχει μακροπρόθεσμες επιζήμιες συνέπειες στην ψυχική υγεία των απογόνων στην μετέπειτα ζωή τους. Η επίδραση της προγεννητικής έκθεσης σε υποσιτισμό έχει μελετηθεί εκτενώς κυρίως μέσω φυσικών πειραμάτων που συμβαίνουν σε διάφορους πληθυσμούς, όπως για παράδειγμα σε περιπτώσεις λιμού. Οι μελέτες αυτές απέδειξαν ότι η προγεννητική έκθεση σε λιμό συνδέεται με την υπερ-μεθυλίωση και την υπο-μεθυλίωση ενός μεγάλου αριθμού γονιδίων που εμπλέκονται σε νευρωνικές, νευροενδοκρινικές και ανοσολογικές διεργασίες, με πιο σημαντικό το γονίδιο του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα 2 (IGF2) το οποίο εμπλέκεται σε νευρωνικές λειτουργίες και συγκεκριμένα συμβάλλει στην εμβρυική ανάπτυξη και την ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος. Η πλειοψηφία των ερευνών αναφέρει αλλαγές στην κατάσταση μεθυλίωσης του γονιδίου αυτού οι οποίες αφορούν τόσο αύξηση όσο και μείωση της μεθυλίωσης ανάλογα με την σοβαρότητα και τη διάρκεια του λιμού. Για παράδειγμα, στον Μεγάλο Κινέζικο λιμό που ήταν αρκετά σοβαρός και διήρκεσε τρία χρόνια, παρατηρήθηκε αύξηση της μεθυλίωσης του γονιδίου IGF2, ενώ στον Ολλανδικό λιμό που θεωρήθηκε λιγότερο σοβαρός με διάρκεια έξι μηνών, αναφέρεται μείωση της μεθυλίωσης. Επίσης, μία πρόσφατη μελέτη περιγράφει αλλοιώσεις στην μεθυλίωση του γονιδίου της φωσφατάσης διπλής ειδικότητας 22 (DUSP22) η οποία συμμετέχει σε νευρικές λειτουργίες είναι αποτέλεσμα της προγεννητικής επίδρασης σε λιμό και υπάρχουν ενδείξεις ότι συμβάλλει πιθανόν στην εμφάνιση σχιζοφρένειας στους απογόνους.<sup>167</sup>

<i>Γονίδιο</i>	<i>Λειτουργία</i>	<i>Εύρημα</i>
COMT	Μεταβολισμός ντοπαμίνης	Υπομεθυλίωση σε εγκέφαλο ασθενών
SOX10	Διαφοροποίηση ολιγοδενδροκυττάρων	Υπερμεθυλίωση σε εγκέφαλο ασθενών
FOXP2	Μεταγραφικός παράγοντας, ορθή ανάπτυξη ομιλίας και λόγου	Υπερμεθυλίωση σε εγκέφαλο ασθενών
KEL	Διαμεμβρανική πρωτεΐνη τύπου 2	Υπερμεθυλίωση
HTR2A	Υποδοχέας σεροτονίνης	Υπομεθυλίωση σε σάλιο ασθενών
NOS1	Συνθάση μονοξειδίου του αζώτου	Διαφορετική μεθυλίωση σε εγκέφαλο ασθενών
AKT1	Κινάσησερίνης/θρεονίνης	Διαφορετική μεθυλίωση σε εγκέφαλο ασθενών
WDR18	Ρυθμιστής κυτταρικού κύκλου και μεταγωγής σημάτων	Υπομεθυλίωση σε εγκέφαλο ασθενών
GRIA2	Μεταβολισμός νευροδιαβιβαστών	Υπομεθυλίωση σε εγκέφαλο ασθενών
MARLIN1	Εξαρτώμενη από μικροσωληνίσκους μεταφορά του GABA-B	Υπομεθυλίωση σε εγκέφαλο ασθενών
KCNJ6	Κανάλι καλίου, ρύθμιση έκκρισης ινσουλίνης	Υπομεθυλίωση σε εγκέφαλο ασθενών
WNT1	Κυτταρική διαφοροποίηση, ανάπτυξη νευρώνων	Διαφορετική μεθυλίωση σε εγκέφαλο ασθενών
NR4A2	Μεταγραφικός παράγοντας, ανάπτυξη νευρώνων	Διαφορετική μεθυλίωση σε εγκέφαλο ασθενών
TBC1D22A	Πρωτεΐνη ενεργοποίησης GTPασών	Υπομεθυλίωση σε ασθενείς
MMP9	Μεταλλοπρωτεάση	Υπομεθυλίωση σε ασθενείς
GRIN-2B	Συναπτική πλαστικότητα, ανάπτυξη εγκεφάλου	Υπομεθυλίωση σε αίμα ασθενών
DDR1	Ανάπτυξη και διαφοροποίηση κυττάρων	Υπομεθυλίωση σε λευκοκύτταρα και αίμα ασθενών

Πίνακας 5.1 Συνοπτική παρουσίαση των πιο σημαντικών γονιδίων που έχουν βρεθεί να μεθυλιώνονται διαφορετικά στη σχιζοφρένεια.<sup>168</sup>



### 5.3 Μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ιστονών

#### 5.3.1 Ακετυλίωση ιστονών

Υπάρχει μία σειρά ενδείξεων οι οποίες συμφωνούν ότι ορισμένες τροποποιήσεις των ιστονών μπορούν να συνδεθούν με την ανάπτυξη σχιζοφρένειας και οι οποίες είναι απόρροια αλλαγών της έκφρασης τροποποιητικών ενζύμων των ιστονών, όπως η μείωση της έκφρασης της HDAC2 και η αύξηση της έκφρασης της HDAC1.<sup>168</sup> Σήμερα, η μελέτη των τροποποιήσεων των ιστονών στο πλαίσιο της σχιζοφρένειας θεωρείται ελλιπής και αυτό οφείλεται σε τεχνικές δυσκολίες ανάλυσης τους σε μεταθανάτια δείγματα. Ωστόσο, πραγματοποιήθηκε μία σημαντική έρευνα με εφαρμογή της δοκιμασίας ChIP σε μεταθανάτια δείγματα ανθρώπινου προμετωπιαίου φλοιού με χρήση ενός αντισώματος έναντι της ακετυλιωμένης ιστόνης H3 στις λυσίνες 9 και 14 και στη συνέχεια χρήση ποσοτικής PCR με τους κατάλληλους εκκινητές έναντι των υποκινητών των γονιδίων. Τα αποτελέσματα αποκάλυψαν την στενή συσχέτιση των αλλαγών της ακετυλίωσης της ιστόνης H3 στην περιοχή του υποκινητή με την αλλαγή της έκφρασης τεσσάρων γονιδίων που εμπλέκονται στην εμφάνιση της σχιζοφρένειας, τα GAD67, TOMM70A, HTR2C και PPM1E. Συγκεκριμένα στα παραπάνω γονίδια παρατηρήθηκε υποακετυλίωση της περιοχής του υποκινητή τους.<sup>169</sup> Έρευνα που έγινε σε 16 ασθενείς με σχιζοφρένεια και 27 υγιή άτομα ελέγχου έδειξε ότι η μείωση της έκφρασης του GAD1 γονιδίου οφείλεται σε αύξηση της έκφρασης του ενζύμου αποακετυλάση της ιστόνης HDA1.<sup>170</sup> Μελέτες έχουν δείξει επίσης σημαντική μείωση της ακετυλίωσης των ιστονών H3 και H4 σε δείγματα λεμφοκυττάρων από ασθενείς με σχιζοφρένεια.<sup>171</sup> Επίσης, μείωση της ακετυλίωσης της ιστόνης H3 στην λυσίνη 9 και 14 εντοπίστηκε και στους υποκινητές των γονιδίων του ιοντοτρόπου υποδοχέα γλουταμινικού, του ιοντοτρόπου υποδοχέα AMPA τύπου Υπομονάδας 1 (GRIA1) και του γονιδίου ROBO 1 (Round about homolog 1) με αποτέλεσμα την δυσλειτουργική έκφρασή τους.<sup>172</sup> Παρατηρήθηκε επίσης, σε μελέτες που έγιναν σε δείγματα εγκεφάλου ατόμων με σχιζοφρένεια, αυξημένη έκφραση των αποακετυλάσεων των ιστονών συγκριτικά με δείγματα από υγιή άτομα.<sup>173</sup> Πρόσφατα, αναφέρθηκε μία γενικότερη αύξηση της H3K9me2 στον βρεγματικό φλοιό ομάδας ατόμων με σχιζοφρένεια η οποία σχετίστηκε με αύξηση της έκφρασης δύο ενζύμων που καταλύουν το σχηματισμό του, των GLP και SETB1.<sup>174</sup> Η ιστόνη H3 βρέθηκε επίσης υποακετυλιωμένη στην λυσίνη 9 και 14 στον υποκινητή των γονιδίων GAD1, υποδοχέα σεροτονίνης 5-HT2 και των γονιδίων που σχετίζονται με την μυελίνη, τη βασική πρωτεΐνη της μυελίνης και UDP-γλυκοζυλοτρανσφεράση, σε νεαρά άτομα με σχιζοφρένεια συγκριτικά με δείγματα ελέγχου αντίστοιχης ηλικίας. Στα άτομα αυτά παρατηρήθηκε μείωση της έκφρασης των γονιδίων που προαναφέρθηκαν.<sup>175</sup>

#### 5.3.2 Μεθυλίωση ιστονών

Το 2005, ο Akbarian και οι συνεργάτες του παρουσίασαν την πρώτη μελέτη που αποδεικνύει την ύπαρξη επιγενετικών τροποποιήσεων που σχετίζονται με τη σχιζοφρένεια σε μεταθανάτια δείγματα εγκεφάλου. Στην έρευνα αυτή αναφέρονται υψηλά επίπεδα μεθυλίωσης H3R17 που οδηγούν σε μείωση της έκφρασης μεταβολικών ενζύμων στον προμετωπιαίο φλοιό μίας ομάδας ασθενών με σχιζοφρένεια.<sup>176</sup> Ακολούθως, ολοένα και περισσότερες μελέτες ακολούθησαν με

σκοπό να δοθούν περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τις επιγενετικές τροποποιήσεις και τον ρόλο τους στην σχιζοφρένεια. Ο Huang και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν σε μεταθανάτια δείγματα προμετωπιαίου φλοιού ασθενών με σχιζοφρένεια, χαμηλά επίπεδα «ανοιχτής» χρωματίνης και H3K4me3 ενώ παρατηρήθηκαν υψηλά επίπεδα H3K27me3, που αποτελεί σημάδι καταστολής της έκφρασης, όλα αυτά σε συνδυασμό με μειωμένα επίπεδα mRNA του γονιδίου GAD1 στον εγκέφαλο ασθενών.<sup>177</sup> Σε άλλη έρευνα, τα επίπεδα της δι-μεθυλίωσης της ιστόνης H3 στη λυσίνη 9 βρέθηκαν ασυνήθιστα υψηλά σε ασθενείς με σχιζοφρένεια σε σχέση με τα φυσιολογικά δείγματα. Η ίδια έρευνα υπογράμμισε επίσης την αρνητική σχέση της συγκεκριμένης μεθυλίωσης με την ηλικία έναρξης της ασθένειας.<sup>178</sup> Αλλαγμένη τρι-μεθυλίωση της ιστόνης H3 στη λυσίνη 4 παρατηρήθηκε επίσης στο γονίδιο DISC (Disrupted-in-Schizophrenia 1), ένα σημαντικό γονίδιο κινδύνου της σχιζοφρένειας.<sup>179</sup> Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η μείωση στην έκφραση των μεταβολικών γονιδίων CRYM, CYTOC/CYC1, MDH και OAT στον προμετωπιαίο φλοιό μίας ομάδας ασθενών με σχιζοφρένεια αποδόθηκε σε υψηλά επίπεδα μεθυλίωσης της ιστόνης H3 στην αργινίνη 17.<sup>180</sup>

#### 5.4 Μη κωδικά RNAs

Τα miRNAs θεωρούνται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος και τα τελευταία χρόνια έχει βρεθεί ότι η μη φυσιολογική έκφραση ή δραστηριότητα ορισμένων miRNAs πιθανόν κατέχει σημαντικό ρόλο στην αιτιολογία της σχιζοφρένειας και γενικότερα των σοβαρών ψυχιατρικών διαταραχών. Η πρώτη σημαντική έρευνα που κατέδειξε τον ρόλο της αλλαγμένης έκφρασης των miRNAs στην ανάπτυξη ψύχωσης, πραγματοποιήθηκε από τον Perkins και τους συνεργάτες του, οι οποίοι ανακάλυψαν 16 miRNAs να εκφράζονται διαφορετικά σε μεταθανάτια δείγματα εγκεφαλικού ιστού από ασθενείς με σχιζοφρένεια.<sup>181</sup> Επιπλέον, βρέθηκε μία συνολική αύξηση της έκφρασης των miRNAs σε μεταθανάτια δείγματα άνω κροταφικής έλικας σε ασθενείς που έπασχαν από τη διαταραχή σε σχέση με τα υγιή δείγματα ελέγχου.<sup>182</sup> Συγκεκριμένα, σε μία έρευνα 21 ατόμων με σχιζοφρένεια και 21 ατόμων χωρίς κάποια ψυχική διαταραχή, εντοπίστηκε αύξηση της έκφρασης του miR-181b με αποτέλεσμα την απορρύθμιση και μείωση της έκφρασης των γονιδίων στόχων του, του αισθητήρα ασβεστίου (VSNL1) και της υπομονάδας ιοντοτροπικού υποδοχέα γλουταμικού AMPA (GRIA2), για τα οποία έχει αναφερθεί συσχέτιση με την σχιζοφρένεια.<sup>183</sup> Για να διαλευκανθεί εάν οι αλλαγές αυτές προκαλούνται σαν απόκριση σε περιβαλλοντικά ερεθίσματα, διεξάχθηκαν πειράματα κατά τα οποία σε ποντίκια που κυοφορούσαν, χορηγήθηκε το ανοσοδιεγερτικό polyI:C το οποίο λειτουργεί σαν ένας ισχυρός επαγωγέας της μητρικής ανοσολογικής ενεργοποίησης, με αποτέλεσμα σημαντικές διαφορές στην έκφραση miRNAs στον εγκέφαλο των απογόνων οι οποίοι παρουσιάζουν μη φυσιολογικά μοντέλα συμπεριφοράς (απότομες συναισθηματικές αλλαγές και μειωμένη μνήμη εργασίας) παρόμοια με αυτά που παρατηρούνται σε ασθενείς με σχιζοφρένεια.<sup>184</sup> Σε άλλη έρευνα με 13 άτομα που πάσχουν από τη διαταραχή εντοπίστηκαν 16 τύποι miRNAs τα οποία εμφανίζουν διαφορετική έκφραση σε σχέση με 21 υγιή άτομα που χρησιμοποιήθηκαν σαν δείγματα ελέγχου.<sup>185</sup> Μετά από περαιτέρω ανάλυση, διαπιστώθηκε μία γενικότερη αύξηση της βιοσύνθεσης των miRNAs η οποία αποδόθηκε στην αύξηση της έκφρασης των γονιδίων DGCR8 και Dicer 1. Με

ποσοτική RT-PCR επιβεβαιώθηκε η αλλαγή στην έκφραση έξι miRNAs: miR-328, miR-17-5p, miR-134, miR-652, miR-382 και miR-107.<sup>186</sup> Μία άλλη ομάδα ανέφερε την απορρύθμιση επτά ακόμα miRNAs στον προμετωπιαίου φλοιό ασθενών: miR-132, miR-132-3p, miR-212, miR-544, miR-34a, miR-7 και miR-154-3p. Σε μεταθανάτια δείγματα ραχιοπλάγιου προμετωπιαίου φλοιού ασθενών με σχιζοφρένεια, παρατηρήθηκε απορρύθμιση του miR-132 επιφέροντας αλλαγή της έκφρασης των γονιδίων-στόχων του, συμπεριλαμβανομένων των γονιδίων DNMT3A, GATA2 και DPYSL3, τα συμμετέχουν στην ανάπτυξη του νευρικού συστήματος, και η μη φυσιολογική έκφρασή τους έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη σχιζοφρένειας.<sup>187</sup> Επίσης, το miR-195 φαίνεται να ρυθμίζει την έκφραση διάφορων γονιδίων των οποίων η έκφραση και λειτουργία απορρυθμίζεται σε ασθενείς με σχιζοφρένεια, όπως τα GABRA1, GRIN1, HTR2C, DRD1, GMR7 και FGF2.<sup>188</sup> Η διαγραφή του 22q11 έχει βρεθεί να διαταράσσει την βιογένεση και λειτουργία του miRNA του εγκεφάλου miR-185 σε περιοχές του εγκεφάλου που σχετίζονται με σχιζοφρένεια.<sup>189</sup> Η μείωση της έκφρασης του miR-181 αναφέρεται να επηρεάζει αρνητικά την ανάπτυξη της δένδριτικής σπονδυλικής στήλης στους νευρώνες του υπόκαμπου. Επίσης είναι γνωστό ότι αλληλεπιδρά με τα μέλη της οικογένειας πρωτεϊνών RhoGTPase, Cdc42, Rac1 και RhoA, και με την ειδική για την σπονδυλική στήλη των νευρώνων πρωτεΐνη Duo. Οι παραπάνω πρωτεΐνες είναι σημαντικές για τον σχηματισμό και διατήρηση της νευρωνικής σπονδυλικής στήλης και παρουσιάζουν μειωμένα επίπεδα έκφρασης στη φαιά ουσία του εγκεφάλου σε ασθενείς με σχιζοφρένεια.<sup>190</sup>

Η μη φυσιολογική έκφραση των lncRNAs έχει συσχετιστεί με την παθογένεση της σχιζοφρένειας. Το lncRNA Gomafu αλληλεπιδρά με διάφορες πρωτεΐνες ματίσματος, όπως η SF1 και QK1, και συμμετέχει στο εναλλακτικό μάτισμα των γονιδίων DISC1 και ERBB4, όπου και τα δύο εμπλέκονται στην παθογένεση της σχιζοφρένειας.<sup>191</sup> Έτσι, η απορρύθμιση του Gomafu προκαλεί μη φυσιολογικό εναλλακτικό μάτισμα σε ασθενείς με σχιζοφρένεια ενώ συνδέθηκε στενά με την εμφάνιση παρανοϊκής σχιζοφρένειας.<sup>192</sup> Η απορρύθμιση της λειτουργίας των lncRNAs ενοχοποιήθηκε επίσης για την πρώιμη εμφάνιση της σχιζοφρένειας.<sup>193</sup> Μέσω αλληλούχησης RNA (RNA sequencing), σε μεταθανάτια δείγματα ασθενών, ανακαλύφθηκαν 35 lncRNAs τα οποία εμφανίζουν διαφορετική έκφραση σε δύο περιοχές του εγκεφάλου, τον ραχιαίο προμετωπιαίο φλοιό και τον πρόσθιο κυκλικό φλοιό, και τα οποία σχετίζονται με την ανάπτυξη των νευρώνων, μεταβολικές διεργασίες, μυελίνωση και διαφοροποίηση ολιγοδενδροκυττάρων.<sup>194</sup> Ταυτόχρονα, σε έρευνα που διεξάχθηκε σε μεταθανάτια δείγματα από την αμυγδαλή 22 ατόμων με σχιζοφρένεια σε σύγκριση με 24 υγιή άτομα, αναγνωρίστηκαν περισσότερα από 200 lncRNAs τα οποία παρουσίαζαν διαφορετική έκφραση.<sup>195</sup> Παρακάτω, στον Πίνακα 5.2 παρουσιάζονται μερικά από τα κυριότερα μη κωδικά RNAs στα οποία έχει παρατηρηθεί διαφορετική έκφραση σε περιπτώσεις σχιζοφρένειας.

<i>ncRNA</i>	<i>Λειτουργία</i>
miR-34a	Μετανάστευση νευρώνων
miR-7	Απόκριση σε στρες, ανάπτυξη δένδροκυττάρων
miR-212	Ανάπτυξη νευρώνων
miR-30a	Ανοσολογική απόκριση, μετανάστευση νευρώνων
miR-130b	Διαφοροποίηση νευρώνων
miR-432	Κυτταρικός πολλαπλασιασμός
miR-137	Γονιδιακή έκφραση, ρύθμιση νευρογένεσης
Gomafu (lncRNA)	Ρύθμιση γονιδιακής έκφρασης
MIAT (lncRNA)	Ανάπτυξη νευρώνων
DLG-2 (lncRNA)	NMDA υποδοχέας (γλουταμινικού)
HOXA-AS2, SPRY4-IT1, MEG3 (lncRNAs)	Ρύθμιση γονιδιακής έκφρασης
AC006129.1 (lncRNA)	Ρύθμιση γονιδιακής έκφρασης

Πίνακας 5.2 Μη φυσιολογικά εκφραζόμενα ncRNAs σε σχιζοφρένεια<sup>168</sup>

### 5.5 Επιγενετικές τροποποιήσεις σχιζοφρένειας σε περιφερικούς ιστούς

Οι έρευνες σε μεταθανάτια δείγματα εγκεφάλου ασθενών που πάσχουν από σχιζοφρένεια παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας και αιτιολογίας της ασθένειας, εν τούτοις η προσπάθεια αυτή έχει να αντιμετωπίσει διάφορους περιορισμούς. Πρώτον, υπάρχουν διάφοροι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την επιγενετική κατάσταση του μεταθανάτιου εγκεφάλου, όπως το φύλο, η ηλικία, η αιτία θανάτου, το pH του ιστού, το μεταθανάτιο διάστημα και το ιστορικό φαρμακευτικής αγωγής.<sup>196</sup> Δεύτερον, πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι οι παρατηρούμενες επιγενετικές τροποποιήσεις μπορεί απλώς να αποτελούν συνέπεια της νόσου και όχι απαραίτητα η υποκείμενη αιτία της. Τρίτον, λόγω του σχετικά μικρού αριθμού δωρητών, οι σχετικές μελέτες διεξάγονται αναγκαστικά σε περιορισμένο αριθμό δειγμάτων χωρίς σημαντική στατιστική ισχύ. Τέλος, να σημειωθεί ότι ενώ οι μελέτες μεταθανάτιων δειγμάτων εγκεφάλου συμβάλλουν στην ανακάλυψη και κατανόηση της αιτιολογίας της διαταραχής και αποτελούν χρήσιμο εργαλείο για την ανακάλυψη νέων φαρμάκων στο μέλλον, δεν βοηθούν απαραίτητα στον εντοπισμό βιοδεικτών για την έγκαιρη διάγνωση της νόσου. Έτσι, ως εναλλακτική λύση, η επιγενετική απορρύθμιση έχει μελετηθεί ευρέως σε περιφερικούς ιστούς, όπως το αίμα, ο ορός, το σάλιο και το οσφρητικό επιθήλιο, τα οποία είναι εύκολα προσβάσιμα και αξιοποιήσιμα σε ζωντανούς ασθενείς. Οι

περιφερικοί ιστοί μπορεί να αποτελέσουν σημαντικούς βιοδείκτες της νόσου και πολλών περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου της σχιζοφρένειας, όπως το στρες, οι ορμόνες, η υποξία, η στέρηση θρεπτικών ουσιών και προφλεγμονωδών κυτοκινών.<sup>197</sup> Αξίζει να σημειωθεί ότι ιδιαίτερα το οσφρητικό επιθήλιο έχει χαρακτηριστεί πρόσφατα ως πολύτιμος ιστός για τον εντοπισμό βιοδεικτών και την επιγονιδιωματική αξιολόγηση όχι μόνο της σχιζοφρένειας, αλλά γενικότερα των εγκεφαλικών διαταραχών. Αρχικά, τα ρινικά κύτταρα είναι εύκολα προσβάσιμα στα διάφορα στάδια ωριμότητας και αποτελούν ένα εξαιρετικό μοντέλο για την μελέτη της νευρικής ανάπτυξης. Επιπλέον, οι οσφρητικές βλάβες είναι συχνό σύμπτωμα των νευροψυχιατρικών καταστάσεων, που μπορεί να οφείλεται σε μοριακή ή κυτταρική απορρύθμιση στο οσφρητικό επιθήλιο. Συγκεκριμένα στις περιπτώσεις της σχιζοφρένειας, βλάβες στην λειτουργία της όσφρησης έχουν συνδεθεί με τα αρνητικά και γνωστικά συμπτώματα.<sup>198</sup> Δεδομένου ότι η έκθεση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου προκαλεί επιγονιδιωματικές αλλαγές στον εγκέφαλο οι οποίες εκδηλώνονται επίσης σε ολόκληρο το σώμα, οι επιγενετικές αυτές αλλαγές καθίστανται ανιχνεύσιμες και στους περιφερικούς ιστούς.<sup>199</sup> Για παράδειγμα, βρέθηκε ότι ο υποκινητής του γονιδίου S-COMT παρουσιάζει παρόμοιο μοτίβο μεθυλίωσης και το αίμα και τον εγκέφαλο.<sup>200</sup> Μία πρόσφατη μελέτη ανέφερε την κοινή απορρύθμιση των ανοσολογικών γονιδίων και των μεταγραφικών ρυθμιστών στο αίμα και τον εγκέφαλο ασθενών με σχιζοφρένεια.<sup>201</sup>

### 5.5.1 DNA μεθυλίωση σε περιφερικούς ιστούς

Υπάρχουν έρευνες οι οποίες αναφέρουν ότι οι αλλαγές στην κατάσταση μεθυλίωσης οι οποίες σχετίζονται με την σχιζοφρένεια, θεωρούνται ότι είναι συντηρημένες και ανιχνεύσιμες στο αίμα των ασθενών.<sup>202</sup> Επίσης, υπάρχει και η εναλλακτική θεωρία που υποστηρίζει ότι μία κατάσταση μεθυλίωσης που ανιχνεύεται στο αίμα πιθανόν να αντανakλά μία κατάσταση μεθυλίωσης μίας αντίστοιχης θέσης στον εγκέφαλο με πιθανή σχέση με την αιτιολογία της ασθένειας. Παρ' όλα αυτά, μέχρι σήμερα δεν έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες οι οποίες να αποδεικνύουν αξιόπιστα και σίγουρα ότι οι δείκτες μεθυλίωσης DNA στο περιφερικό αίμα προβλέπουν την κατάσταση μεθυλίωσης του DNA στον εγκέφαλο.<sup>203</sup> Πρόσφατες μελέτες που έγιναν οι οποίες είχαν στο επίκεντρο ενδιαφέροντος τα υποψήφια γονίδια κινδύνου για τη σχιζοφρένεια, επισήμαναν την ύπαρξη συμφωνίας στην κατάσταση μεθυλίωσης μεταξύ του εγκεφάλου και του περιφερικού αίματος. Συγκεκριμένα, ο υποκινητής του γονιδίου RELN βρέθηκε να είναι υπερμεθυλιωμένος τόσο στο περιφερικό αίμα όσο και σε μεταθανάτια δείγματα εγκεφάλου ασθενών με σχιζοφρένεια, σε σχέση με τα δείγματα ελέγχου.<sup>204,205</sup> Σε μία άλλη μελέτη σε δείγματα σάλιου από ασθενείς που πάσχουν από τη διαταραχή, παρατηρήθηκε υπομεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου MB-COMT, ένα εύρημα το οποίο επιβεβαιώνεται και από μελέτες σε δείγματα εγκεφάλου.<sup>206,207</sup> Η υπερμεθυλίωση του γονιδίου RELN επιφέρει μείωση της έκφρασης της πρωτεΐνης στον εγκέφαλο και επηρεάζει την αξονική και δενδριτική επέκταση και τη νευρωνική μετανάστευση, ενώ η υπομεθυλίωση του γονιδίου MB-COMT αυξάνει τα επίπεδα έκφρασης του προϊόντος του στον εγκέφαλο και θεωρείται ότι διεγείρει τα θετικά συμπτώματα της διαταραχής. Άλλες παρόμοιες μελέτες σε ασθενείς με σχιζοφρένεια αποδεικνύουν την υπερμεθυλίωση των υποδοχέων γλουταμικού GRM2 και GRM5 σε δείγματα περιφερικού αίματος<sup>208</sup>, την



υπερμεθυλίωση του προαγωγέα BDNF σε δείγματα ολικού αίματος<sup>209</sup>, την υπερμεθυλίωση του υποδοχέα σεροτονίνης 5HTR1A σε δείγματα λευκοκυττάρων<sup>210</sup> και υπομεθυλίωση του υποδοχέα σεροτονίνης HTR2A σε δείγματα σάλιου<sup>211</sup>. Όλες οι παραπάνω παρατηρήσεις έχουν επιβεβαιωθεί ταυτόχρονα και από μελέτες σε δείγματα εγκεφάλου.<sup>212</sup>

### 5.5.2 Τροποποίηση ιστονών σε περιφερικούς ιστούς

Η μελέτη της τροποποίησης των ιστονών σε περιφερικούς ιστούς σε περιπτώσεις σχιζοφρένειας βρίσκεται ακόμα σε πολύ πρώιμο στάδιο. Μία πιλοτική έρευνα που πραγματοποιήθηκε με την εφαρμογή των τεχνικών ανοσοκατακρήμνισης χρωματίνης ακολουθούμενη από αλληλούχιση του DNA (ChIP-seq) και μικροσυστοιχιών DNA (microarray), επικεντρώνεται στην μελέτη της τρι-μεθυλίωσης της ιστόνης H3 στη λυσίνη 4 και 27, σε δείγματα οσφρητικών κυττάρων τεσσάρων ατόμων με σχιζοφρένεια και τεσσάρων υγιών ατόμων. Τα αποτελέσματα υπέδειξαν 22 γονίδια των οποίων η αλλαγή της έκφρασής τους που σχετίζεται με την σχιζοφρένεια, να είναι αποτέλεσμα της τρι-μεθυλίωσης της ιστόνης H3. Με εφαρμογή ποσοτικής PCR επιβεβαιώθηκε η αλλαγή της έκφρασης τριών από τα παραπάνω γονίδια: MGST1, DAAM2 και LPXN.<sup>213</sup> Συγκεκριμένα, το γονίδιο DAAM2 αποτελεί ένα σημαντικό βιοδείκτη τόσο για τη διάγνωση της νόσου λόγω των υψηλών επιπέδων έκφρασής του στο ολικό αίμα των ασθενών, όσο και για την κατάσταση της ασθένειας γιατί μετά από πλήρη κλινική ύφεση, τα επίπεδα έκφρασης επιστρέφουν στην αρχική φυσιολογική κατάσταση.<sup>214</sup>

### 5.5.3 Μη κωδικά RNAs σε περιφερικούς ιστούς

#### 5.5.3.1 miRNA

Η ανακάλυψη ότι σε περιπτώσεις σχιζοφρένειας παρατηρείται αλλαγή της έκφρασης μίας πληθώρας miRNAs στον κεντρικό νευρικό σύστημα, οδήγησε στο εύλογο συμπέρασμα ότι ανάλογες αλλαγές θα πρέπει να εντοπίζονται και σε περιφερικούς ιστούς, καθιστώντας τους σημαντικούς βιοδείκτες της νόσου. Έτσι, τα τελευταία χρόνια έχουν λάβει χώρα αρκετές μελέτες που σκοπό έχουν την επιβεβαίωση του παραπάνω συμπεράσματος. Μία τέτοια σχετική έρευνα που υποστηρίζει αυτή την υπόθεση περιλαμβάνει την μελέτη της έκφρασης 7 miRNAs, συμπεριλαμβανομένων των miR-34a, miR-449a, miR-564, miR-432, miR-548d, miR-572 και miR-652, σε δείγματα μονοπύρηνων κυττάρων περιφερικού αίματος, αρχικά σε μία ομάδα με 30 ασθενείς και 30 υγιείς, και μετέπειτα σε μία ομάδα 60 ασθενών και 30 υγιών.<sup>215</sup> Να σημειωθεί ότι το miRNA που παρουσίαζε τη μεγαλύτερη διαφορά στην έκφρασή του είναι το miR-43a και δεδομένου ότι το γονίδιο στόχος του εμπλέκεται στη νευρογένεση και την διαφοροποίηση των νευρώνων, συμπεραίνεται ότι η διαταραχή της έκφρασής του αποτελεί σημαντικό παράγοντα ανάπτυξης σχιζοφρένειας.<sup>216</sup> Μία ακόμα έρευνα, εκτός του miRNA-34a, επικύρωσε επιπλέον τα miR-181b-5p, miR-21-5p, miR-195-5p, miR-137, miR-346 και miR-34a-5p ως σημαντικούς βιοδείκτες της ασθένειας, με υψηλή διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα.<sup>217</sup> Πρόσφατα, μία έρευνα στο περιφερικό αίμα από δέκα ασθενείς με σχιζοφρένεια και δέκα υγιή άτομα, πρότεινε τον συνδυασμό των miR-22-3p, miR-92a-3p και miR-137 ως βιοδείκτη διάγνωσης της σχιζοφρένειας.<sup>218</sup> Η εφαρμογή μικροσυστοιχίας γονιδίων και PCR

πραγματικού χρόνου, σε μονοπύρηνια κύτταρα περιφερικού αίματος από 105 άτομα με σχιζοφρένεια σε σύγκριση με 130 ψυχιατρικά υγιή άτομα, έδειξε μειωμένη έκφραση του miR-132.<sup>219</sup> Το συγκεκριμένο miRNA είχε παρατηρηθεί σε προηγούμενη έρευνα να παρουσιάζει μειωμένη έκφραση στον προμετωπιαίο φλοιό σε περιπτώσεις σχιζοφρένειας, ενισχύοντας έτσι την θεωρία ότι οι αλλαγές στον εγκέφαλο αντικατοπτρίζουν αλλαγές σε περιφερικούς ιστούς.<sup>220</sup> Διαφορετική έκφραση των miRNAs έχει επίσης αναφερθεί και σε δείγματα πλάσματος ασθενών με σχιζοφρένεια. Δύο έρευνες που διεξάχθηκαν σε ομάδες 17 ατόμων με σχιζοφρένεια που έχουν βιώσει πρώτο ψυχωτικό επεισόδιο και 17 υγιών ατόμων και 21 ασθενείς και 21 δείγματα ελέγχου αντίστοιχα, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της έκφρασης του miRNA-223 το οποίο αλληλεπιδρά με τέσσερα γονίδια στόχους, τα INPP5B, RHOB, SKIL και SYNE1. Τα γονίδια αυτά σχετίζονται με την νευρική ανάπτυξη και μετανάστευση νευρώνων, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι το miRNA-223 έχει πιθανόν κάποια σχέση με την αιτιολογία της σχιζοφρένειας.<sup>221,222</sup>

### 5.5.3.2 lncRNAs

Η δυσλειτουργία των lncRNAs πρόσφατα ενοχοποιήθηκε για την παθοφυσιολογία της σχιζοφρένειας ενώ οι αλλαγές στην έκφρασή τους σε περιφερικούς ιστούς μπορούν να χρησιμεύσουν ως βιοδείκτες για την κατάσταση και τα χαρακτηριστικά της διαταραχής. Η μελέτη σε δείγματα μονοπύρηνων κυττάρων περιφερικού αίματος από 19 ασθενείς που βίωσαν το πρώτο ψυχωτικό επεισόδιο σε πρώιμη ηλικία και 18 δείγματα ελέγχου αποκάλυψε δύο lncRNAs τα οποία σχετίστηκαν με την σχιζοφρένεια.<sup>223</sup> Μία άλλη έρευνα επίσης σε δείγματα μονοπύρηνων κυττάρων περιφερικού αίματος από 5 ασθενείς και 5 υγιείς αναφέρει την παρουσία διαφορετικά εκφραζόμενων 125 lncRNAs, από τα οποία 62 έδειξαν αυξημένη και τα 63 μειωμένη έκφραση.<sup>224</sup>

## 5.6 Οι επιγενετικές τροποποιήσεις ως πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι

Όπως έχει αναφερθεί, οι επιγενετικές τροποποιήσεις είναι δυναμικές και αναστρέψιμες και προκαλούν χαρακτηριστικές αλλοιώσεις κατά την ανάπτυξη του εγκεφάλου. Η χρήση συγκεκριμένων μορίων που έχουν την ικανότητα να «επιδιορθώνουν» τις επιγενετικές αυτές δυσλειτουργίες θα μπορούσαν πιθανόν να αξιοποιηθούν ως φάρμακα αποκατάστασης της μη φυσιολογικής έκφρασης των γονιδίων που συμβάλλουν στην εκδήλωση της νόσου.

### 5.6.1 Μεθυλίωση DNA

Ορισμένα στοιχεία ερευνών υποστηρίζουν ότι οι αναστολείς των μεθυλοτρανσφερασών μπορεί να ρυθμίζουν την έκφραση ορισμένων γονιδίων που σχετίζονται με τη σχιζοφρένεια, όπως τα *reelin* και *GAD1*. Η 5'-Αζα-δεοξυκυτιδίνη είναι ένας απομεθυλιωτικός παράγοντας που δρα σαν αναστολέας της DNMT1 και μειώνει την ένταση της μεθυλίωσης στην περιοχή του υποκινητή του γονιδίου *RELN*, με αποτέλεσμα την αύξηση της έκφρασης της πρωτεΐνης *reelin* σε καλλιέργειες νευρικών προγονικών κυττάρων.<sup>225</sup> Οι αναστολείς της DNMT1 ζεβουλαρίνη και δοξορουβικίνη συνέβαλαν επίσης στην αύξηση της έκφρασης των γονιδίων *RELN*



και GAD1 σε πρόδρομα κύτταρα νευρώνων.<sup>226</sup> Πρόσφατα, ένας ακόμη αναστολέας DNMT1, η N-phthalyl-L-tryptophan έδειξε θετική επίδραση σε μοριακές αλλοιώσεις (υπερμεθυλίωση υποκινητών των γονιδίων των GAD67, RELN, BDNF) και συμπεριφορικές δυσλειτουργίες (ελλείματα στην κοινωνική συμπεριφορά) σε ποντίκια με προγεννητική πρόκληση στρες.<sup>227</sup> Οι αναστολείς DNMTs έχουν κλινική χρήση για την θεραπεία του καρκίνου, δεν έχουν όμως εφαρμοστεί μέχρι στιγμής για την θεραπεία της σχιζοφρένειας, εν μέρει κυρίως λόγω της χαμηλής διαπερατότητας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού.<sup>228</sup>

## 5.6.2 Τροποποίηση ιστονών

### 5.6.2.1 Ακετυλίωση ιστονών

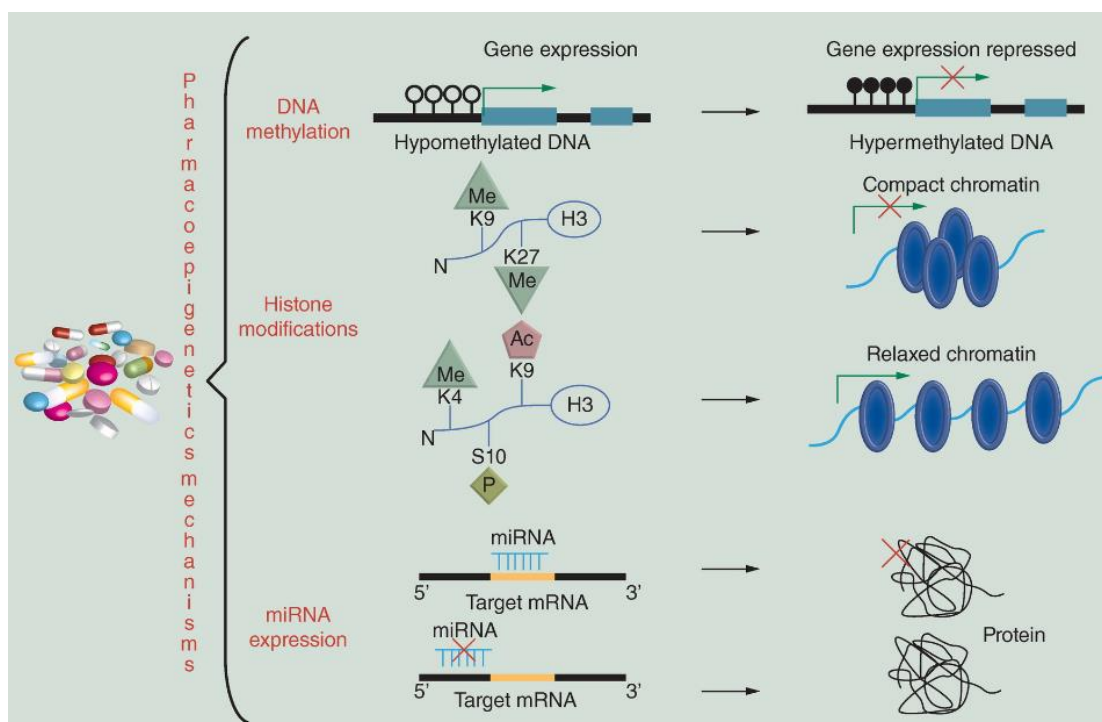
Οι αναστολείς των αποακετυλάσεων των ιστονών (HDACs) έχουν αποκτήσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως μία πιθανή θεραπευτική επιλογή για τις ψυχιατρικές ασθένειες. Οι αποακετυλάσες ταξινομούνται σε 4 οικογένειες: τάξης I (HDAC1, HDAC2, HDAC3 και HDAC8), τάξης II (HDAC4, HDAC5, HDAC 6, HDAC7, HDAC9 και HDAC10), τάξης III (SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 και SIRT7) και τάξης IV (HDAC11).<sup>229</sup> Το βαλπροϊκό οξύ αποτελεί μη εκλεκτικό αναστολέα των HDACs τάξης I και II. Μελέτες σε ζωικά μοντέλα αναφέρουν θετικές επιδράσεις του βαλπροϊκού σε δυσλειτουργίες που μοιάζουν με τις διαταραχές της σχιζοφρένειας.<sup>230</sup> Και σε κλινικό επίπεδο όμως το βαλπροϊκό οξύ έδειξε ευεργετικά αποτελέσματα σε ασθενείς με σχιζοφρένεια και χρησιμοποιείται επίσης συχνά σε ασθενείς που εμφανίζουν μεγάλη ανοχή στις διάφορες θεραπείες.<sup>231</sup> Η δραστική ουσία βορινοστάτη, το MS-275 και το βουτυρικό νάτριο που αποτελούν αναστολείς των HDACs τάξης I και II είχαν επίσης θετικά αποτελέσματα σε δυσλειτουργίες παρόμοιες με αυτές της σχιζοφρένειας σε πειράματα με ζωικά μοντέλα.<sup>232</sup> Κάποιες μελέτες προτείνουν επίσης την αποακετυλάση HDAC10 σαν ένα πιθανό στόχο για την σχιζοφρένεια λόγω ενός μονονουκλεοτιδικού πολυμορφισμού που έχει εντοπιστεί στο γονίδιο της και έχει συνδεθεί με την διαταραχή.<sup>233</sup> Οι αναστολείς των HDACs αποτελούν πολλά υποσχόμενες ενώσεις για την θεραπεία της σχιζοφρένειας και αποκτούν ακόμα μεγαλύτερη σημασία λόγω της πιθανής χρήσης τους για την θεραπεία των ασθενών με ανθεκτικότητα. Παρ' όλα αυτά, δεν έχουν ολοκληρωθεί ακόμα οι κλινικές τους δοκιμές. Πρόσφατα, μελέτες με αναστολή του ενζύμου JQ1 που ανήκει στην οικογένεια αναγνώστών της ακετυλίωσης ιστονών BET παρατήρησαν μία βελτίωση στις μεταγραφικές δυσλειτουργίες των νευρώνων των ασθενών με σχιζοφρένεια, υποδηλώνοντας μία πιθανή δυνατότητα συμμετοχής στην θεραπεία.<sup>234</sup> Από την άλλη πλευρά, σε πειράματα που έγιναν σε ζωικά μοντέλα στα οποία προκλήθηκε φαρμακολογική αναστολή της συγκεκριμένης πρωτεΐνης κατά την περίοδο της εφηβείας είχε σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση δυσλειτουργιών στην ενήλικη ζωή παρόμοιες με την σχιζοφρένεια. Όλες αυτές οι ενδείξεις καθιστούν τα ένζυμα της οικογένειας BET πιθανούς σημαντικούς στόχους θεραπείας, χρίζουν όμως περαιτέρω έρευνας έτσι ώστε να διευκρινιστεί ο ακριβής τους ρόλος στις παραπάνω λειτουργίες.<sup>235</sup>

### 5.6.2.2 Μεθυλίωση ιστονών

Οι μεθυλοτρανσφεράσες των ιστονών χωρίζονται τις μεθυλοτρανσφεράσες λυσίνης (KMTs) και τις μεθυλοτρανσφεράσες αργινίνης (PRMTs). Ο παράγοντας BIX-01294 αποτελεί αναστολέα της G9a μεθυλοτρανσφεράσης λυσίνης και μειώνει τη συνολική μεθυλίωση και την μεθυλίωση H3K9 των υποκινητών ορισμένων γονιδίων που σχετίζονται με τη σχιζοφρένεια.<sup>236</sup> Πειράματα σε ζωικά μοντέλα έδειξαν ότι βλάβες στη λειτουργία των μεθυλοτρανσφερασών προκαλούν φαινοτύπους όμοιους με αυτούς της σχιζοφρένειας. Η δυσλειτουργία της μεθυλοτρανσφεράσης EZH1 προκάλεσε αλλαγή στην ανταπόκριση στην αντιψυχωτική θεραπεία καθώς και σε συμπτώματα που πλήττουν την κοινωνικότητα και την συμπεριφορά.<sup>237</sup> Αντίθετα, η δυσλειτουργία της μεθυλοτρανσφεράσης SETD1A προκάλεσε μείωση της ικανότητας για κοινωνική διάθεση και αλληλεπίδραση.<sup>238</sup> Τέλος, η δυσλειτουργία της μεθυλοτρανσφεράσης SETB1 προκάλεσε εξασθένηση της μνήμης εργασίας. Τα πειραματικά αποτελέσματα που έχουν αναφερθεί έως τώρα επιβεβαιώνουν ότι τα μόρια που στοχεύουν τις μεθυλοτρανσφεράσες μπορεί να συμβάλλουν αποτελεσματικά στην θεραπεία της σχιζοφρένειας.<sup>239</sup>

### 5.7 Οι επιδράσεις των αντιψυχωσικών στην επιγενετική της σχιζοφρένειας

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, ο αποκλεισμός του υποδοχέα ντοπαμίνης D2 δεν καλύπτει όλες τις πτυχές της θεραπευτικής προσέγγισης για τη σχιζοφρένεια. Υπάρχουν αρκετά ευρήματα που υποδεικνύουν ότι ορισμένα αντιψυχωσικά επηρεάζουν τις επιγενετικές τροποποιήσεις που συναντώνται στη σχιζοφρένεια και αυτό έχει επίπτωση και στην ανταπόκριση των ασθενών στις διάφορες θεραπείες.<sup>240</sup> Η επιγονιδιωματική μηχανή έχει εξαιρετικά δυναμική φύση και η αναστρεψιμότητα των επιγενετικών αλλαγών δίνει την δυνατότητα επιδιόρθωσης των δυσλειτουργιών που επιφέρουν και επομένως θεωρείται τα τελευταία χρόνια σαν μία θεραπευτική παρέμβαση μεγάλης σημασίας. Ολοένα και περισσότερες έρευνες υποστηρίζουν ότι τα αντιψυχωσικά φάρμακα έχουν την δυνατότητα να στοχεύουν διάφορες επιγενετικές διεργασίες. Μεμονωμένες μελέτες σε τυπικά αντιψυχωσικά φάρμακα όπως η χλωροπρομαζίνη, αλοπεριδόλη και άτυπα φάρμακα όπως αμισουλπριδίνη, η κλοζαπίνη, η ρισπεριδόνη, η ολανζαπίνη και κουετιαπίνη, υποδηλώνουν ότι μπορούν να τροποποιήσουν το επιγονιδίωμα. (Εικόνα 5.2)



Εικόνα 5.2 Τρόποι επιγενετικής τροποποίησης από αντιψυχωσικά φάρμακα. Τα αντιψυχωσικά μπορούν να προκαλέσουν αλλαγές στην μεθυλίωση (είτε υπομεθυλίωση είτε υπερμεθυλίωση) με αποτέλεσμα αλλαγή στην έκφραση (είτε αύξηση είτε μείωση) των γονιδίων, τροποποιήσεις ιστονών που καταλήγουν είτε συμπυκνωμένη είτε σε χαλαρή μορφή χρωματίνης (καταστολή και ενεργοποίηση γονιδιακής έκφρασης αντίστοιχα) και να υπερεκφράσουν ή να καταστείλουν την έκφραση των miRNAs, επηρεάζοντας κατά συνέπεια και την γονιδιακή έκφραση.<sup>241</sup>

Για παράδειγμα, μεταξύ των τυπικών αντιψυχωσικών, η χλωροπρομαζίνη σε παρατεταμένη θεραπεία αναφέρεται ότι επάγει αντιψυχωσικά αντισώματα τα οποία μπορούν να αντιδράσουν με τις ιστόνες, υποδεικνύοντας την πιθανότητα τροποποίησης της ιστόνης.<sup>242</sup> Επιπλέον η χλωροπρομαζίνη αναφέρεται ότι διαθέτει αυξημένη πρόσβαση στην χρωματίνη ενισχύοντας την αποικοδόμησή της, χωρίς όμως να έχουν διεξαχθεί ειδικές μελέτες για τον εντοπισμό της ακριβούς φύσης των επιγενετικών αλλαγών που επηρεάζονται από το φάρμακο αυτό.<sup>243</sup> Η αλοπεριδόλη έχει βρεθεί να επάγει ολική υπερμεθυλίωση του γονιδιώματος σε λευκοκύτταρα ασθενών με σχιζοφρένεια.<sup>244</sup> Τα άτυπα αντιψυχωσικά φάρμακα και ο τρόπος που επηρεάζουν τις επιγενετικές τροποποιήσεις πρόσφατα έχουν βρεθεί στο επίκεντρο μελέτης. Η κλοζαπίνη βρέθηκε να αναστρέφει την υπερμεθυλίωση του υποκινητή των γονιδίων RELN και GAD1 μέσω της επαγωγής της DNA απομεθυλίωσης και της ταυτόχρονης αύξησης της ακετυλίωσης της ιστόνης H3 στη λυσίνη 9 και 14 στους αντίστοιχους υποκινητές.<sup>245</sup> Στον εγκεφαλικό φλοιό τόσο ανθρώπου όσο και ποντικών, φαίνεται επίσης να αυξάνει την τριμεθυλίωση της ιστόνης H3 στη λυσίνη 4 στον υποκινητή του γονιδίου GAD1.<sup>246</sup> Σε ένα συμβατικό πρωτόκολλο θεραπείας, τα αντιψυχωσικά χορηγούνται ταυτόχρονα με άλλα φάρμακα, με το βαλπροϊκό οξύ να αποτελεί μία από τις συνηθισμένες πρακτικές. Η χορήγηση αντιψυχωσικών, όπως η κλοζαπίνη, η σουλπιριδίνη και η αμισουλπιριδίνη, μαζί με βαλπροϊκό οξύ αυξάνουν την έκφραση των γονιδίων GAD1 και RELN προκαλώντας αλλαγές στην

τροποποίηση της ιστόνης. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι αυξάνουν την ακετυλίωση της ιστόνης και μειώνουν τη μεθυλίωση του DNA.<sup>247</sup>

### 5.7.1 Μελέτες σε ανθρώπους

Ένας λειτουργικός πολυμορφισμός (rs6295) στο γονίδιο του υποδοχέα 5'-HT1A είναι γνωστό ότι σχετίζεται με την αποτυχημένη απόκριση του ασθενή στη χορηγούμενη φαρμακευτική αγωγή. Σε ανάλυση που έγινε σε μία συγκεκριμένη θέση CpG δίπλα στον πολυμορφισμό σε ασθενείς με σχιζοφρένεια έδειξε διαφορά στην μεθυλίωση του DNA, τα αρνητικά συμπτώματα και την απόκριση στην αγωγή πριν και μετά από την αρχική αντιψυχωσική θεραπεία, υποδηλώνοντας μία πιθανή σχέση μεταξύ επιγενετικής παραλλαγής, γενετικού πολυμορφισμού, αρνητικών συμπτωμάτων και απόκριση στα αντιψυχωσικά.<sup>248</sup> Η υπερμεθυλίωση του DNA του υποκινητή του γονιδίου DTNBP1 που έχει αναφερθεί σε ασθενείς με σχιζοφρένεια. Η αντιψυχωσική θεραπεία, κυρίως με τα τυπικά αντιψυχωσικά φάρμακα βρέθηκε να μειώνει τη μεθυλίωση του DNA και κατ' επέκταση να αυξάνει την έκφραση της πρωτεΐνης.<sup>249</sup> Η θεραπεία με ρισπεριδόνη επέφερε αλλαγή της μεθυλίωσης του DNA σε 5.979 θέσεις CpC σε ασθενείς με πρώτο ψυχωτικό επεισόδιο σχιζοφρένειας. Επιπλέον, η αντιψυχωτική θεραπεία με ρισπεριδόνη, ολανζαπίνη και αριπιπραζόλη ανέστρεψε την υπομεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου της ιντερλευκίνης 6 σε άτομα με σχιζοφρένεια.<sup>250</sup> Η κλοζαπίνη είναι το μόνο αντιψυχωσικό φάρμακο που έχει εγκριθεί από τον FDA για την θεραπεία των ασθενών που παρουσιάζουν ανοχή.<sup>251</sup> Οι επιδράσεις της κλοζαπίνης στην μεθυλίωση του DNA μελετήθηκε σε δείγματα περιφερικού αίματος ασθενών με σχιζοφρένεια και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπήρχε σημαντική μείωση της μεθυλίωσης σε περιοχές CpG κοντά στους υποκινητές των γονιδίων που σχετίζονται με το GABA (GAD1) και το γλουταμικό (NMDA, GRIN2A, GRIN2D, GRM7). Αντίθετα, η αύξηση της μεθυλίωσης του γονιδίου CREBBP από την κλοζαπίνη σχετίστηκε με σημαντική βελτίωση στην ανθεκτικότητα των ασθενών στην θεραπεία της σχιζοφρένειας.<sup>252</sup> Σε ότι αφορά την έκφραση των miRNA, μία άλλη μελέτη ανακάλυψε διαφορές στην έκφραση δύο miRNAs, των miR-181b και miR-195-5p μεταξύ της ομάδας ασθενών που παρουσίαζε ανθεκτικότητα και της ομάδας ασθενών με καλή απόκριση στην αντιψυχωτική θεραπεία.<sup>253</sup>

### 5.7.2 Μελέτες σε ζωικά μοντέλα

Τα αντιψυχωτικά κλοζαπίνη και σουλπιρίδη ενίσχυσαν την απομεθυλίωση του υποκινητή των γονιδίων RELN και GAD1 στον φλοιό και το ραβδωτό σώμα ποντικών.<sup>254</sup> Η ολανζαπίνη προκάλεσε αλλαγές στην μεθυλίωση DNA σε γονίδια που κωδικοποιούν υποδοχείς ντοπαμίνης (D1, D2, D5) και σε γονίδια που εμπλέκονται στην μεταφορά και το μεταβολισμό της ντοπαμίνης (SLC18A2 και COMT αντίστοιχα) στον εγκέφαλο ποντικών.<sup>255</sup> Επίσης, η χορήγηση κλοζαπίνης συμβάλλει στην βελτίωση των συμπεριφερικών δυσλειτουργιών και στην επιδιόρθωση της υπερμεθυλίωσης του υποκινητή των γονιδίων RELN, GAD1 και BDNF που σχετίζονται με τη σχιζοφρένεια.<sup>256</sup> Η κλοζαπίνη βρέθηκε επίσης να βοηθάει την μνήμη και τις κοινωνικές αλληλεπιδράσεις, να ομαλοποιεί την αύξηση των επιπέδων των HDAC5 αλλά και να μειώνει την ακετυλίωση της λυσίνης 9 στην ιστόνη H3 στον προμετωπιαίο φλοιό.<sup>257</sup> Η χορήγηση αλοπεριδόλης προκαλεί αύξηση της έκφρασης

των miR-199a, miR-128a και miR-128b στον φλοιό των ποντικών.<sup>258</sup> Η κλοζαπίνη αποδείχθηκε ότι αυξάνει την έκφραση πέντε miRNAs (miR-342-5p, miR-1198, miR-31, miR-329, miR-337-5p), η ολανζαπίνη μειώνει την έκφραση πέντε miRNAs (miR-690, miR-193, miR-218-2, miR-223, miR-544) και η αλοπεριδόλη μειώνει την έκφραση έξι miRNAs (miR-378, miR-22, miR-218-2, miR-339-5p, miR-434 -5p, miR-410).<sup>259</sup> Σε εκχυλίσματα ραβδωτού σώματος εγκεφάλου, παρατηρήθηκε ότι η αλοπεριδόλη μπορεί να επάγει φωσφορυλίωση της ιστόνης H3 στη σερίνη 10 και ακετυλίωση της ιστόνης H3 στη λυσίνη 14 η οποία εντοπίζεται συχνά σε θέσεις γονιδιώματος με ενεργή μεταγραφική δραστηριότητα.<sup>260</sup> Επιπλέον βρέθηκε ότι η έκθεση σε αλοπεριδόλη μπορεί να μεσολαβήσει στην υπερέκφραση των miR-199a, miR-128a και miR-128b.<sup>261</sup>



## 6. Συζήτηση και συμπεράσματα

### 6.1 Διάγνωση και βιοδείκτες

Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα των ερευνών που προσεγγίζουν το επιγενετικό τοπίο της σχιζοφρένειας, καθίσταται σαφές ότι οι αλλαγές στη δομή της χρωματίνης ή της δυναμικής της μεταγραφικής της ρύθμισης έχουν σημαντικό αντίκτυπο στις αιτιολογικές ρίζες, την τρέχουσα κατάσταση και τη μελλοντική πορεία της νόσου. Οι αλλαγές αυτές σε πολλές περιπτώσεις αποτελούν μεταβιβάσιμες πληροφορίες μεταξύ πολλών γενεών της ασθένειας και αντικατοπτρίζουν τόσο τα κληρονομήσιμα συστατικά όσο και τα αποτελέσματα των περιβαλλοντικών ερεθισμάτων, ενώ διαταράσσουν την εύθραυστη ισορροπία των μοριακών δικτύων που ρυθμίζουν τη νευρική συνδεσιμότητα. Για το λόγο αυτό, έχει μεγάλη σημασία να μπορούν τέτοιες τροποποιήσεις να εξακριβώνονται στα άτομα ώστε να δίνεται η ευκαιρία για εξατομικευμένες παρεμβάσεις στο δυναμικό αυτό δίκτυο, κατάλληλες για την εκάστοτε επιγενετική κατάσταση. Ενώ το Διαγνωστικό και Στατιστικό Εγχειρίδιο Ψυχικών διαταραχών (DSM) και η Διεθνής Στατιστική Ταξινόμηση νόσων (ICD) παρέχουν κατευθυντήριες γραμμές για τη διάγνωση και την αξιολόγηση της κλινικής εικόνας και των συμπτωμάτων της ασθένειας, η αναγνώρισή της στους ασθενείς εξακολουθεί να είναι αρκετά πολύπλοκη και χρίζει περαιτέρω διερεύνησης έτσι ώστε να κατανοηθεί καλύτερα η παθοφυσιολογία της. Η ανάγκη αυτή μπορεί να οδηγήσει στην ανακάλυψη της νέας γενιάς θεραπευτικών παρεμβάσεων και μοριακών βιοδεικτών. Στο DSM αναφέρεται ότι τα διαγνωστικά κριτήρια για τη σχιζοφρένεια περιλαμβάνουν παρατεταμένη παρουσία δύο ή περισσότερων από τα παρακάτω συμπτώματα ενεργούς φάσης, καθένα από τα οποία να έχει διάρκεια τουλάχιστον ενός μηνός: αυταπάτες, ψευδαισθήσεις, αποδιοργανωμένη ομιλία, αποδιοργανωμένη και κατατονική συμπεριφορά και αρνητικά συμπτώματα, με τις αυταπάτες, τις ψευδαισθήσεις και την αποδιοργάνωση της ομιλίας να αποτελούν ένα από τα βασικά χαρακτηριστικά που πρέπει να παρατηρηθούν για να γίνει η διάγνωση.<sup>262,263</sup> Παρά τις δεκαετίες ερευνών, η ανακάλυψη επικυρωμένων και αξιόπιστων αντικειμενικών βιολογικών δεικτών, δηλαδή μετρήσιμων σημάτων ενδεικτικών της ασθένειας, για τη σχιζοφρένεια αλλά και γενικότερα για τις νευροψυχιατρικές διαταραχές, δεν έχει ακόμα ολοκληρωθεί. Η έλλειψη αυτή έχει αναγκάσει τους κλινικούς γιατρούς να κάνουν διάγνωση με βάση φαινομενολογικά κριτήρια, όπως συμπτώματα, σημεία και πορείας της ασθένειας, τα οποία αν και αποτελούν ένα χρήσιμο εργαλείο, συνεχίζουν να εγείρουν διαφωνίες σχετικά με την αποτελεσματικότητά τους.<sup>264</sup> Επομένως, τα τρέχοντα διαγνωστικά κριτήρια βασίζονται συχνά σε υποκειμενικά κριτήρια. Τα κλινικά χαρακτηριστικά από μόνα τους έχουν περιορισμένη διαγνωστική αξία, ειδικά κατά τη διάρκεια του πρώτου σταδίου της νόσου με αποτέλεσμα να μην δίνεται η ευκαιρία για έγκαιρη θεραπευτική επέμβαση και πολλές φορές η νευρική έκπτωση να καθίσταται αρκετά επιβλαβής και ακόμα και μη αναστρέψιμη. Επομένως, υπάρχει μεγάλη ανάγκη για βιολογικούς προγνωστικούς παράγοντες που να εξυπηρετούν τον σκοπό αυτό.

Οι βιοδείκτες της σχιζοφρένειας διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, τους περιφερειακούς, δηλαδή τους βιοδείκτες που εντοπίζονται στο αίμα και αντανakλούν ορισμένες διεργασίες του εγκεφάλου, και στους κεντρικούς, δηλαδή γενετικούς δείκτες που αναγνωρίζουν τον κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου ώστε να πραγματοποιηθεί έγκαιρη διάγνωση. Υπάρχουν και οι βιοδείκτες των συμπτωμάτων

που συμβάλλουν στην αξιολόγηση της προόδου της ασθένειας και της αποτελεσματικότητας της θεραπείας. Ένας από τους πιο αναγνωρισμένους γενετικούς δείκτες είναι μία διαγραφή στην χρωμοσωμική περιοχή 22q11.2, η οποία θεωρείται ότι επηρεάζει μία στις τέσσερις περιπτώσεις σχιζοφρένειας με 30% κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου.<sup>265</sup> Η ενεργοποίηση της μικρογλοίας, φλεγμονής του εγκεφάλου, έχει συνδεθεί με την γνωστική έκπτωση, ενώ η θεωρία της ενέργειας του εγκεφάλου αναφέρει ότι σε περιπτώσεις σχιζοφρένειας πλήττεται η μεταβολική ενέργεια του.<sup>266</sup> Οι αλλαγές σε αυτούς τους δείκτες φλεγμονής έχουν συνδεθεί στενά με τους μηχανισμούς της σχιζοφρένειας. Για παράδειγμα, έχει προταθεί ότι η φλεγμονή παρεμβαίνει σε κυτταρικά μονοπάτια και επάγει το μεταβολισμό της τρυπτοφάνης σε κυνourετικό οξύ σε περιπτώσεις σχιζοφρένειας.<sup>267</sup> Επίσης διάφορες μελέτες που βασίζονται σε νευροαπεικονίσεις έχουν εντοπίσει ισχυρούς υποψήφιους βιοδείκτες που σχετίζονται με την υπερδραστηριότητα της ντοπαμίνης, την υπερκινητικότητα του υπόκαμπου, τη δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού, την δυσλειτουργία του υποδοχέα N-μεθυλ-d-ασπαρτικού και την απώλεια όγκου της φαιάς ουσίας του φλοιού. Μερικοί ακόμα μη επιγενετικοί βιοδείκτες που προτείνονται για περιπτώσεις σχιζοφρένειας αφορούν μειωμένα επίπεδα πυριδοξάλης (Βιταμίνη Β6), νευρικού αυξητικού παράγοντα (NGF) και διαλυτού υποδοχέα ιντερλευκίνης 2 (sIL-2R), καθώς επίσης και σημαντικά αυξημένα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP).<sup>268</sup> Ωστόσο οι παραπάνω βιοδείκτες έχουν αμφισβητηθεί ως προς την χρησιμότητα τους για τη διάγνωση της σχιζοφρένειας στα αρχικά στάδια της νόσου και για την εφαρμογή τους σε προσυμπτωματικούς ασθενείς. Ο εντοπισμός προγνωστικών βιοδεικτών που θα είναι σε θέση να προβλέψουν τον μελλοντικό κίνδυνο εμφάνισης σχιζοφρένειας πριν την έναρξη των συμπτωμάτων είναι καίριας σημασίας. Όπως είναι φανερό μία τέτοιου είδους προσπάθεια έρχεται αντιμέτωπη με πολλά προβλήματα, κυρίως από άποψη χρόνου, σε ό,τι αφορά τις μελέτες σε ανθρώπους. Ως εκ τούτου απαιτούνται ζωικά αναπτυξιακά μοντέλα τα οποία θα βασίζονται στη διερεύνηση των αποτελεσμάτων περιγεννητικών και μεταγεννητικών εκθέσεων σε περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου ή χορήγησης φαρμάκων σε περιφερικούς ιστούς κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης. Μία τέτοια σχετική μελέτη αφορά πειράματα στα οποία ποντίκια υποβλήθηκαν σε χορήγηση τοξικής δισφαινόλης Α (BPA) κατά τη διάρκεια κύησης η οποία είναι γνωστό ότι διαταράσσει τη νευροανάπτυξη με μακροπρόθεσμες επιδράσεις στην συμπεριφορά. Οι απόγονοι μελετήθηκαν σε επίπεδο γονιδιακής έκφρασης και μεθυλίωσης DNA σε υπόκαμπο και περιφερικό αίμα και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μεθυλίωση του γονιδίου BDNF μπορεί να προβλέψει επιγενετικές αλλαγές που προκαλούνται από αντιξοότητες της πρώιμης ζωής και πιθανώς αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο κλινικό βιοδείκτη πρόληψης. Έχουν γίνει έρευνες οι οποίες προτείνουν ορισμένες επιπλοκές που παρουσιάζονται σε ασθενείς με σχιζοφρένεια σαν πιθανούς βιοδείκτες διάγνωσης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτής της κατηγορίας είναι η μη φυσιολογική επεξεργασία ακουστικών πληροφοριών που εμφανίζουν οι ασθενείς με σχιζοφρένεια σε πρώιμα στάδια καθώς η εξέταση της ακουστικής ικανότητας παρέχει αξιόπιστες πληροφορίες για την εγκεφαλική δραστηριότητα.<sup>269</sup> Πριν από την εμφάνιση του πρώτου ψυχωτικού επεισοδίου οι ασθενείς εμφανίζουν κάποια κλινικά χαρακτηριστικά όπως ήπιες σωματικές ανωμαλίες, κακός συντονισμός κινήσεων, ήπιες γνωστικές διαταραχές, κοινωνικές δυσλειτουργίες, άγχος, θλίψη, αστάθεια, ευερεθιστότητα, διαταραχές ύπνου, γνωστική έκπτωση, προβλήματα στην προσοχή και την συγκέντρωση, ήπιες



ψευδαισθήσεις, γενικότερη καχυποψία, σκέψεις μη ρεαλιστικές, χρήση ουσιών και κοινωνική απόσυρση. Δεδομένου όμως ότι τα παραπάνω προνοσηρά και πρόδρομα συμπτώματα είναι γενικά ήπιας φύσης δεν μπορούν να θεωρηθούν αξιόπιστοι βιοδείκτες. Επιπλέον έρευνες δείχνουν ότι οι προσυμπτωματικοί ασθενείς υφίστανται μία σειρά από νευρολογικές διαταραχές που σχετίζονται με παθοφυσιολογικές διεργασίες του εγκεφάλου οι οποίες χωρίζονται σε νευροαναπτυξιακές που περιλαμβάνουν επαγωγικές και σχηματικές συναπτογενετικές ανωμαλίες, και νευροπλαστικές που περιλαμβάνουν ορμονικές επιδράσεις μετά την εφηβεία και διαταραχές σε μυελίνωση και σύναψη. Όλοι οι παραπάνω βιοδείκτες νευροαπεικόνισης, φυσιολογίας ή δειγμάτων αίματος μπορούν να προσφέρουν σημαντικά πλεονεκτήματα σε μελλοντικές μελέτες και να συμβάλουν στον διαχωρισμό των ασθενών με σχιζοφρένεια από τους υγιείς πριν την εμφάνιση των ψυχωτικών συμπτωμάτων κάτι που θα έπαιζε κυρίαρχο ρόλο στην καλύτερη πορεία της νόσου.<sup>270</sup> Μία έρευνα με αντικείμενο μελέτης την μεθυλίωση του DNA στο ολικό αίμα, εντόπισε 1.095 διαφορετικά μεθυλιωμένες περιοχές που σχετίζονται με 1.226 διαφορετικά εκφραζόμενα γονίδια. Οι μισές από τις διαφορετικά εκφραζόμενες περιοχές αναφέρονται σε περιφερικό αίμα ασθενών με σχιζοφρένεια, με τους συγγραφείς να υποστηρίζουν τον πιθανό ρόλο τους στη διάγνωση της διαταραχής. Αρκετές μελέτες έχουν αναφερθεί στην έκφραση των miRNAs στο αίμα ασθενών με σχιζοφρένεια με σκοπό να ανακαλύψουν βιοδείκτες διάγνωσης για την ασθένεια. Πρόσφατα, ανακαλύφθηκαν αρκετά miRNAs με διαφορετική έκφραση στον ορό ασθενών με σχιζοφρένεια, και συγκεκριμένα ανακαλύφθηκαν 11 τέτοια miRNAs που θα μπορούσαν να διαφοροποιήσουν τους ασθενείς με σχιζοφρένεια από τους υγιείς.<sup>271</sup> Επιπλέον, υποστηρίζεται ότι η μη φυσιολογική έκφραση των miRNAs στον ορό ασθενών με σχιζοφρένεια πιθανόν να υποδηλώνει κάποια σχέση μεταξύ των κυκλοφορούντων mRNAs και της κατάστασης της νόσου.<sup>272</sup> Η έκφραση των miR-181b, miR-195, miR-219-2-3p, miR-1308, miR-365, miR-520c-3p και let-7g στον ορό, έχουν αναγνωριστεί ως πιθανοί βιοδείκτες για τη διάγνωση της σχιζοφρένειας.<sup>273</sup> Μία άλλη έρευνα ανέφερε μία ομάδα 7 miRNAs, των hsa-miR-34a, miR-449a, miR-564, miR-432, miR-548d, miR-572 και miR-52 σαν πιθανούς βιοδείκτες διάγνωσης της ασθένειας στο αίμα.<sup>274</sup>

## 6.2 Μελλοντικές προοπτικές

Η σχιζοφρένεια είναι μία νευροψυχιατρική πολυγονιδιακή διαταραχή εξαιρετικά κληρονομήσιμη. Η φαινοτυπική έκφραση της διαταραχής είναι αποτέλεσμα πολύπλοκης αλληλεπίδρασης μεταξύ των γονιδίων κινδύνου και περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως προγεννητικά και μεταγεννητικά συμβάντα, στρεσογόνοι παράγοντες και χρήση ναρκωτικών.<sup>275</sup> Έχει μεγάλη σημασία ο προσδιορισμός βιοδεικτών σε ιστούς και άλλα βιολογικά υγρά οι οποίοι αντανακλούν επιγονιδιωματικές αλλαγές που χαρακτηρίζουν τον εγκέφαλο και σχετίζονται με την κατάσταση της σχιζοφρένειας. Η ανάλυση δειγμάτων περιφερικών ιστών από ασθενείς με σχιζοφρένεια αποκαλύπτει ότι πολλές φορές οι επιγενετικές αλλαγές στους ιστούς αυτούς συμφωνούν με επιγενετικές αλλαγές του κεντρικού νευρικού συστήματος.

Η τροχιά ανάπτυξης της ασθένειας καθιστά δύσκολη την μελέτη του ιστορικού της πριν την έναρξη των συμπτωμάτων. Η έγκαιρη και αποτελεσματική διάγνωση της ασθένειας αποτελεί μία πρόκληση επειδή μέχρι σήμερα δεν έχουν ανιχνευθεί συγκεκριμένοι βιοδείκτες ή κάποια χαρακτηριστικά πριν το πρώτο ψυχωτικό επεισόδιο τα οποία να προδίδουν ότι υποβόσκει κάποια παθολογική κατάσταση. Η έγκαιρη αναγνώριση της ασθένειας και η έναρξη της κατάλληλης θεραπείας συνδέεται στενά με τη βελτίωση της κλινικής εικόνας. Οι επιδημιολογικές μελέτες παρέχουν δεδομένα από διαφορετικούς ανθρώπινους πληθυσμούς τα οποία ορισμένες φορές συμβάλλουν στην αναγνώριση της πρόδρομης φάσης της ασθένειας. Ωστόσο, η εύρεση βιοδεικτών εξειδικευμένων για τα πρώιμα στάδια ανάπτυξης της νόσου αποτελεί επιτακτική ανάγκη τόσο για την έγκαιρη διάγνωση όσο και για την αποτελεσματική θεραπεία. Τέτοια μελέτες παρ' όλα αυτά έχουν μεγάλο βαθμό δυσκολίας και αυτό έγκειται κατά κύριο λόγο στην πολυπλοκότητα της αιτιολογίας της σχιζοφρένειας και στο ετερογενές γενετικό της υπόβαθρο που αλληλεπιδρά με τους διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου. Δυσκολίες συναντώνται ακόμα και σε οικογένειες που έχουν κάποιο ιστορικό σχιζοφρένειας.<sup>276</sup> Μία ακόμα βασική αιτία για την δυσκολία εύρεσης αντικειμενικών δεικτών διάγνωσης είναι αδιαμφισβήτητη η απουσία των κατάλληλων μοντέλων ασθενειών τα οποία θα προδίδουν τα κατάλληλα πρώιμα σημάδια για την αναγνώριση της ανάπτυξης και των συμπτωμάτων της σχιζοφρένειας. Η δυσκολία αυτή έγκειται στο ότι η μοντελοποίηση νευροψυχιατρικών διαταραχών πρώιμου σταδίου είναι εξαιρετικά δύσκολη καθώς πρέπει να πληροί κάποιες προϋποθέσεις: 1. Πρέπει να διατηρεί αξιόπιστα τους γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την ασθένεια, 2. Πρέπει να αναπαράγει πιστά τις νευρικές δυσλειτουργίες που είναι ειδικές για τα πρώτα στάδια της νόσου και 3. Πρέπει να λαμβάνει υπόψη ηθικές και πρακτικές εκτιμήσεις.<sup>277</sup>

Οι επιγενετικές τροποποιήσεις κατέχουν κρίσιμο ρόλο στην νευροανάπτυξη και μπορούν να ρυθμίζουν ένα μεγάλο αριθμό γονιδίων ταυτόχρονα. Επομένως τα τελευταία χρόνια έχει αναπτυχθεί η θεωρία ότι οι επιγενετικοί μηχανισμοί διαμεσολαβούν την αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων μέσω δυναμικής τροποποίησης του γονιδιώματος.<sup>278</sup> Ο ρόλος των επιγενετικών μηχανισμών στην ανάπτυξη σχιζοφρένειας βρίσκεται ακόμα υπό διερεύνηση. Οι πληροφορίες που έχει στα χέρια της μέχρι σήμερα η επιστημονική κοινότητα για την κατανόηση του ρόλου των επιγενετικών τροποποιήσεων στην σωστή ανάπτυξη του νευρικού συστήματος καθώς και των διάφορων παρεκκλίσεων τους που έχουν εντοπιστεί σε περιπτώσεις σχιζοφρένειας προέρχονται κυρίως από πειράματα σε ζωικά αναπτυξιακά μοντέλα και λιγότερο από μελέτες σε ανθρώπους. Οι μέχρι τώρα μελέτες έχουν επικεντρωθεί κυρίως στη μεθυλίωση του DNA, τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των ιστονών και την έκφραση των miRNAs.

Τα επιγενετικά φάρμακα δρουν στοχεύοντας κυρίως τους ρυθμιστές του επιγενετικού μηχανισμού βρίσκονται ακόμα υπό διερεύνηση. Αν και ορισμένες μελέτες αποκάλυψαν ότι τα μόρια που αποτελούν επιγενετικούς ρυθμιστές, όπως οι μεθυλοτρανσφεράσες DNA ή οι αναστολείς των HDAC, μπορεί να έχουν θεραπευτικές ιδιότητες, δεν χρησιμοποιούνται ακόμα στην θεραπεία κατά της σχιζοφρένειας και απαιτούν επαλήθευση μέσω ζωικών μοντέλων πριν από τις κλινικές δοκιμές. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η περίπτωση των ενζύμων της οικογένειας BET. Σχετικές μελέτες σε ζώα αναφέρουν ότι η αναστολή των

πρωτεϊνών BET κατά την εφηβεία προκαλεί μετέπειτα ανάπτυξη δυσλειτουργιών που μοιάζουν με συμπτώματα της σχιζοφρένειας, υπογραμμίζοντας τον κρίσιμο ρόλο της ακετυλίωσης των ιστονών στην ανάπτυξη σχιζοφρένειας αλλά και στην θεραπεία της νόσου. Πολλές μελέτες έχουν δείξει επίσης ότι τα αντιψυχωσικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της σχιζοφρένειας επηρεάζουν την επιγενετική ρύθμιση η οποία διαταράσσεται με αποτέλεσμα να μεταβάλλεται η έκφραση των γονιδίων. Στην παρούσα φάση δεν έχει διαλευκανθεί πλήρως ποιες επιγενετικές ρυθμίσεις είναι απαραίτητες για το καλύτερο αποτέλεσμα των αντιψυχωσικών. Στο μέλλον η εφαρμογή τεχνικών όπως ChIP-seq, RNA-seq και ολική μεθυλίωση γονιδιώματος πιθανόν να δώσουν περισσότερο φως στον ακριβή τρόπο με τον οποίο επιδρούν τα αντιψυχωσικά στην επιγενετική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης.

Ο ρόλος της επιγενετικής απορρύθμισης στην σχιζοφρένεια αποτελεί συχνό αντικείμενο μελέτης σε κλινικό επίπεδο. Υπάρχει μία σειρά στοιχείων από μελέτες σε ανθρώπους και ζώα, *in vitro* και *in silico*, που υποδηλώνουν την ικανότητα τόσο των άτυπων όσο και των τυπικών αντιψυχωσικών φαρμάκων να επηρεάζουν άμεσα την έκφραση και δραστηριότητα των επιγενετικών ρυθμιστών και καταδεικνύουν τον σαφή ρόλο τους τροποποίηση του επιγονιδιώματος του οργανισμού. Επομένως, ο ρόλος των αντιψυχωσικών και η συνδυαστική δράση τους χρίζει μεγάλης σημασίας για περαιτέρω έρευνες έτσι ώστε να κατανοηθεί πλήρως η συμβολή τους στην επιγενετική της σχιζοφρένειας. Ενώ στις μελέτες αυτές λαμβάνονται υπόψη μία σειρά δημογραφικών μεταβλητών όπως η ηλικία, το φύλο και το μεταθανάτιο διάστημα, συχνά αγνοείται το ιστορικό της φαρμακευτικής αγωγής, συμπεριλαμβανομένης της δοσολογίας, της συνδυαστικής θεραπείας και της διάρκειας της αγωγής, παράγοντες που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τον επιγενετικό μηχανισμό. Για το σκοπό αυτό είναι απαραίτητος ο κατάλληλος σχεδιασμός μελέτης έτσι ώστε να αποφευχθεί η επιρροή από άλλα φάρμακα και να διευκρινιστεί τελικά πόσες και ποιες από τις αλλοιώσεις και τις τροποποιήσεις που έχουν αναφερθεί στην σχιζοφρένεια είναι πραγματικής σημασίας για μία όσο το δυνατόν αποτελεσματικότερη θεραπεία στο μέλλον. Συνοψίζοντας, οι μελλοντικές μελέτες οι οποίες θα μπορέσουν να κατανοήσουν τα επιγονιδιωματικά χαρακτηριστικά και να ερμηνεύσουν τις πληροφορίες που παρέχει η παρακολούθησή τους στους περιφερικούς ιστούς, θα δημιουργήσουν μια πιο καθαρή εικόνα της αιτιολογικής βάσης της ασθένειας και θα υποστηρίξουν τις διάφορες ιατρικές στρατηγικές που εφαρμόζονται στο πλαίσιο αντιμετώπισης της σχιζοφρένειας, και πιθανόν και άλλων ψυχιατρικών και συμπεριφορικών συνδρόμων.<sup>279</sup>

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Lee D., Seo J., Jeong H.C., Lee H., Lee S.B. The Perspectives of Early Diagnosis of Schizophrenia Through the Detection of Epigenomics-Based Biomarkers in iPSC-Derived Neurons. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2021, 14: 756613
2. Charlson F.J., Ferrari A.J., Santomauro D.F., Diminic S., Stockings E., Scott J.G., McGrath J.J., Whiteford H.A. Global epidemiology and burden of schizophrenia: Findings from the Global Burden of Disease Study 2016. *Schizophrenia Bulletin*. 2018, 44:1195–1203
3. Giegling I., Hartmann A.M., Genius J., Benninghoff J., Moller H.J., Rujescu D. Systems biology and complex neurobehavioral traits. *Pharmacopsychiatry*. 2008, 41(Suppl 1): vS32–6
4. Ross C.A., Margolis R.L., Reading S.A., Pletnikov M. Coyle J.T. Neurobiology of schizophrenia. *Neuron*. 2006, 52:139–53
5. McDonald C., Murray R.M. Early and late environmental risk factors for schizophrenia. *Brain Research Reviews*. 2000, 31:130–7
6. Gebicke-Haerter P. Epigenetics of Schizophrenia. *Pharmacopsychiatry*. 2012, 45(S 01), S42–S48
7. Sawa A., Snyder S.H. Schizophrenia: diverse approaches to a complex disease. *Science*. 2002, 296 (5568), 692–695
8. Owen M.J., Sawa A., Mortensen P.B. Schizophrenia. *The Lancet*. 2016, 388:86–97
9. Shorter K.R. & Miller B.H. Epigenetic mechanisms in schizophrenia. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2018, 118(1-2), 1–7
10. Picchioni M.M. & Murray R.M. Schizophrenia. *British Medical Journal*. 2017, 335(7610), 91–95
11. Owen M.J., Sawa A., Mortensen P.B. Schizophrenia. *The Lancet*. 2016, 388:86–97
12. Shorter K.R. & Miller B.H. Epigenetic mechanisms in schizophrenia. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2018, 118(1-2), 1–7
13. Carrion R.E., Correll C.U., Auther A.M., Cornblatt B.A. A Severity-Based Clinical Staging Model for the Psychosis Prodrome: Longitudinal Findings From the New York Recognition and Prevention Program. *Schizophrenia Bulletin*. 2017, 43:64–74
14. George M., Maheshwari S., Chandran S., Manohar J.S., Sathyanarayana Rao T.S. Understanding the schizophrenia prodrome. *Indian Journal of Psychiatry*. 2017, 59:505–509
15. Brown AS. Epidemiologic studies of exposure to prenatal infection and risk of schizophrenia and autism. *Developmental Neurobiology*. 2012, 72(10):1272–1276
16. Jones C.A., Watson D.J., Fone K.C. Animal models of schizophrenia. *British Journal of Pharmacology*. 2011, 164(4):1162–1194

17. Tseng K.Y., Chambers R.A., Lipska B.K. The neonatal ventral hippocampal lesion as a heuristic neurodevelopmental model of schizophrenia. *Behavioural Brain Research*. 2009, 204(2):295–305
18. Howland J.G., Hannesson D.K., Phillips A.G. Delayed onset of prepulse inhibition deficits following kainic acid treatment on postnatal day 7 in rats. *European Journal of Neuroscience*. 2004, 20(10):2639–2648
19. Jones C.A., Watson D.J., Fone K.C. Animal models of schizophrenia. *British Journal of Pharmacology*. 2011;164(4):1162–1194
20. Laursen T. M., Nordentoft M. & Mortensen P. B. Excess early mortality in schizophrenia. *Annual Review of Clinical Psychology*. 2014, 10, 425–448
21. Harvey P. D. Assessing disability in schizophrenia: tools and contributors. *The Journal of Clinical Psychiatry*. 2014, 75, e27
22. Meltzer H.Y. Suicidality in schizophrenia: a review of the evidence for risk factors and treatment options. *Current Psychiatry Reports*. 2002, 4:279–83
23. Lieberman JA, First MB, Psychotic disorders, *New England Journal of Medicine*, volume 379, p. 274. Copyright 2018, Massachusetts Medical Society
24. McDonald C., Murphy K.C. The new genetics of schizophrenia. *Psychiatric Clinics of North America*. 2003, 26(1):41–63
25. McGrath J. Saha S. Chant D. & Welham J. Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. *Epidemiologic Reviews*. 2008, 30, 67–76
26. Hoang U., Stewart R. & Goldacre M. J. Mortality after hospital discharge for people with schizophrenia or bipolar disorder: retrospective study of linked English hospital episode statistics, 1999–2006. *British Medical Journal*. 2011, 343, d5422
27. Cannon M., Jones P.B. & Murray R.M. Obstetric complications and schizophrenia: historical and metaanalytic review. *The American Journal of Psychiatry*. 2002, 159, 1080–1092
28. Beck A.T., Rector N.A., Stolar N., Grant P. Schizophrenia: Cognitive Theory, Research, and Therapy. New York, New York: Guilford Press. *Biological Contributions*. 2009, pp. 30–61
29. Malaspina D., Fenning S.H., Heiman D., Nahon D., Feldman D., Susser E.S. Advancing paternal age and the risk of schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*. 2001, 58, 361–367
30. Petersen L., Mortensen P.B. & Pedersen C.B. Paternal age at birth of first child and risk of schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry*. 2011, 68, 82–88
31. Castle D.J. & Murray R.M. The neurodevelopmental basis of sex differences in schizophrenia. *Psychological Medicine*. 1991, 21, 565–575
32. Castle D., Sham P. & Murray R. Differences in distribution of ages of onset in males and females with schizophrenia. *Schizophrenia Research*. 1998, 33, 179–183
33. Eranti S.V., MacCabe J.H., Bundy H. & Murray R.M. Gender difference in age at onset of schizophrenia: a meta-analysis. *Psychological Medicine*. 2013, 43, 155–167
34. Kirkbride J.B., Fearon P., Morgan C., Dazzan P., Morgan K., Tarrant J., Lloyd T., Holloway J., Hutchinson G., Leff J.P., Mallett R.M., Harrison G.L., Murray



- R.M., Jones P.B. Heterogeneity in incidence rates of schizophrenia and other psychotic syndromes: findings from the 3-center AESOP study. *Archives of General Psychiatry*. 2006, 63, 250–258
35. Kirkbride J.B., Fearon P., Morgan C., Dazzan P., Morgan K., Murray R.M., Jones P.B. Neighbourhood variation in the incidence of psychotic disorders in Southeast London. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*. 2007, 42, 438–445
  36. Pedersen C.B. & Mortensen P.B. Evidence of a dose–response relationship between urbanicity during upbringing and schizophrenia risk. *Archives of General Psychiatry*. 2001, 58, 1039–1046
  37. Cantor-Graae E. & Selten J.P. Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review. *The American Journal of Psychiatry*. 2005, 162, 12–24
  38. Boydell J., van Os J., McKenzie K., Allardyce J., Goel R., McCreadie R.G., Murray R.M. Incidence of schizophrenia in ethnic minorities in London: ecological study into interactions with environment. *British Medical Journal*. 2001, 323, 1336–1338
  39. Murray R.M., Paparelli A., Morrison P.D., Marconi A. & Di Forti M. What can we learn about schizophrenia from studying the human model, drug-induced psychosis? *American Journal of Medical Genetics*. 2013, 162, 661–670
  40. Morrison P.D., Zois V., McKeown D.A., Lee T.D., Holt D.W., Powell J.F., Kapur S., Murray R.M. The acute effects of synthetic intravenous Δ9-tetrahydrocannabinol on psychosis, mood and cognitive functioning. *Psychological Medicine*. 2009, 39, 1607–1616
  41. Schoeler T., Monk A., Sami M.B, Klamerus E., Foglia E., Brown R., Camuri G., Altamura A.C., Murray R., Bhattacharyya S. Differential effects of continued versus discontinued cannabis use on outcome in patients with psychosis: a meta-analysis. *Lancet Psychiatry*. 2016, 3(3):215-25
  42. Di Forti M., Morgan C., Dazzan P., Pariante C., Mondelli V., Marques R.T., Handley R., Luzi S., Russo M., Paparelli A., Butt A., Stilo S.A., Wiffen B., Powell J., Murray R.M. High-potency cannabis and the risk of psychosis. *British Journal of Psychiatry*. 2009, 195, 488–491
  43. Stilo S.A. & Murray R.M. The epidemiology of schizophrenia: replacing dogma with knowledge. *Dialogues in Clinical Neuroscience*. 2010, 12, 305–315
  44. Howes O.D. & Murray R.M. Schizophrenia: an integrated sociodevelopmental-cognitive model. *The Lancet*. 2014, 383, 1677–1687
  45. Bogerts B., Falkai P., Greve B., Schneider T., Pfeiffer U. The neuropathology of schizophrenia: past and present. *The Journal für Hirnforschung*. 1993, 34, 193–205
  46. Lavretsky H. History of Schizophrenia as a Psychiatric Disorder. In: Mueser KT, Jeste DV, editors. *Clinical Handbook of Schizophrenia*. New York, New York: Guilford Press, 2008. pp. 3–12
  47. Stahl S.M. Beyond the dopamine hypothesis of schizophrenia to three neural networks of psychosis: Dopamine, serotonin, and glutamate. *CNS Spectrums*. 2018, 23:187–19
  48. Gründer G, Cumming P. The neurobiology of schizophrenia. Elsevier, 2016. The dopamine hypothesis of schizophrenia: current status; pp. 109–124

49. Patel K.R., Cherian J., Gohil K., Atkinson D. Schizophrenia: overview and treatment options. *The Journal of Physical Therapy Science*. 2014, 39(9):638–645
50. Boley A.M., Perez S. M., Lodge D.J. A fundamental role for hippocampal parvalbumin in the dopamine hyperfunction associated with schizophrenia. *Schizophrenia Research*. 2014, 157 238–243
51. Mueser K.T., Jeste D.V. *Clinical handbook of schizophrenia*. Guilford Publications, 2011
52. Little R., Dmello D. A cannabinoid hypothesis of schizophrenia: pathways to psychosis—innovations in clinical neuroscience. *Innovations in Clinical Neuroscience*. 2022, 19:38
53. Eggers A.E. A serotonin hypothesis of schizophrenia. *Medical Hypotheses*. 2013, 80(6):791–794
54. Patel K.R., Cherian J., Gohil K., Atkinson D. Schizophrenia: overview and treatment options. *The Journal of Physical Therapy Science*. 2014, 39(9):638–645
55. Mendizabal I., Berto S., Usui N., Toriumi K., Chatterjee P., Douglas C., Huh I., Jeong H., Layman T., Tamminga C.A., Preuss T.M., Konopka G., Yi S.V. Cell type-specific epigenetic links to schizophrenia risk in the brain. *Genome Biology*. 2019, 20:135
56. Birnbaum R., Weinberger D.R. Genetic insights into the neurodevelopmental origins of schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience*. 2017, 18:727–740
57. Tse M.T., Piantadosi P.T., Floresco S.B. Prefrontal cortical gamma-aminobutyric acid transmission and cognitive function: drawing links to schizophrenia from preclinical research. *Biological Psychiatry*. 2015, 77(11):929–939
58. Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2014.6
59. McOmish C.E., Burrows E.L., Hannan A.J. Identifying novel interventional strategies for psychiatric disorders: integrating genomics, ‘enviromics’ and gene-environment interactions in valid preclinical models. *British Journal of Pharmacology*. 2014;171(20):4719–4728
60. Sullivan P.F. Questions about DISC1 as a genetic risk factor for schizophrenia. *Molecular Psychiatry*. 2013, 18(10):1050–1052
61. Jaaro-Peled H. Gene models of schizophrenia: DISC1 mouse models. *Progress in Brain Research*. 2009, 179:75–86
62. Clapcote S., Lipina T., Millar J., Mackie S., Christie S., Ogawa F., Lerch J.P., Trimble K., Uchiyama M., Sakuraba Y., Kaneda H., Shiroishi T., Houslay M.D., Hnekelman R.M., Sled J.G., Gondo Y., Porteous D.J., Roder J.C. Behavioral phenotypes of Disc1 missense mutations in mice. *Neuron*. 2007;54(3):387–402
63. Bassett A.S., Chow E.W., Husted J., Weksberg R., Caluseriu O., Webb G.D., Gatzoulis M.A. Clinical features of 78 adults with 22q11 deletion syndrome. *American Journal of Medical Genetics*. 2005, 138(4):307–313
64. Karayiorgou M., Simon T.J., Gogos J.A.. 22q11.2 Microdeletions: linking DNA structural variation to brain dysfunction and schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience*. 2010,11(6):402–416



65. Karl T, Duffy L., Scimone A., Harvey R.P., Scofield P.R. Altered motor activity, exploration and anxiety in heterozygous neuregulin 1 mutant mice: implications for understanding schizophrenia. *Genes, Brain and Behavior*. 2007, 6(7):677–687
66. Engel M., Snikeris P., Jenner A., Karl T., Huang X.F., Frank E. Neuregulin 1 prevents phencyclidine-induced behavioral impairments and disruptions to GABAergic signaling in mice. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2015, 18(7)
67. Mei L., Xiong W. Neuregulin 1 in neural development, synaptic plasticity and schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience*. 2008, 9(6):437–452
68. Jones C.A., Watson D.J., Fone K.C. Animal models of schizophrenia. *British Journal of Pharmacology*. 2011, 164(4):1162–1194
69. Kruger D., Howell J., Hebert B., Olausson P., Taylor J.R., Nairn A.C. Assessment of cognitive function in the heterozygous reeler mouse. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006, 189(1):95–104
70. Jones C.A., Watson D.J., Fone K.C. Animal models of schizophrenia. *British Journal of Pharmacology*. 2011, 164(4):1162–1194
71. Agid O., Arenovich T., Sajeew G., Zipursky R.B., Kapur S., Foussias G., Remington, G. An algorithm-based approach to first-episode schizophrenia: response rates over 3 prospective antipsychotic trials with a retrospective data analysis. *The Journal of Clinical Psychiatry*. 2011, 72 (11), 1439–1444
72. Potkin S.G., Kane J.M., Correll C.U., Lindenmayer J.P., Agid O., Marder S.R., Olfson M., Howes O.D. The neurobiology of treatment-resistant schizophrenia: Paths to antipsychotic resistance and a roadmap for future research. *NPJ Schizophrenia*. 2020, 6:1
73. AlAqeel B., Margolese H.C. Remission in schizophrenia: critical and systematic review. *Harvard Review of Psychiatry*. 2012, 20 (6), 281–297
74. Meltzer H.Y. Treatment-resistant schizophrenia—the role of clozapine. *Current Medical Research and Opinion*. 1997, 14 (1), 1–20
75. Perkins D.O., Gu H., Boteva K., Lieberman J.A. Relationship between duration of untreated psychosis and outcome in first-episode schizophrenia: a critical review and meta-analysis. *The American Journal of Psychiatry*. 2005, 162 (10), 1785–1804
76. Jaenisch R., Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nature Genetics*. 2003; 33:245–54
77. Begolli R., Sideris N., Giakountis A. LncRNAs as chromatin regulators in Cancer: from molecular function to clinical potential. *Cancers (Basel)* 11, 2019
78. Qi C., Xu C.-J., Koppelman G.H. The role of epigenetics in the development of childhood asthma. *Expert Review of Clinical Immunology*. 2019
79. Cromby J., Chung E., Papadopoulos D., & Talbot C. Reviewing the epigenetics of schizophrenia. *Journal of Mental Health*. 2016, 1–9
80. Föcking M., Doyle B., Munawar N., Dillon E.T., Cotter D., Cagney G. Epigenetic factors in schizophrenia: mechanisms and experimental approaches. *Molecular Neuropsychiatry*. 2019, 5, 6–12
81. Wróblewski A., Strycharz J., Świdarska E., Drewniak K., Drzewoski J., Szemraj J., Kasznicki J., Śliwińska A. Molecular insight into the interaction

- between epigenetics and leptin in metabolic disorders. *Nutrients*. 2019, 11, 1872
82. Ma D.K., Marchetto M.C., Guo J.U., Ming G.L., Gage F.H., Song H. Epigenetic choreographers of neurogenesis in the adult mammalian brain. *Nature Neuroscience*. 2010, 13:1338–44
  83. Rutten B.P., Mill J. Epigenetic mediation of environmental influences in major psychotic disorders. *Schizophrenia Bulletin*. 2009, 35:1045–56
  84. Jaffe A. E., Shin J., Collado-Torres L., Leek J.T., Tao R., Li C., Yuan G., Jia Y., Maher B.J., Hyde T.M., Kleinman J.E., Weinberger, D. R. Developmental regulation of human cortex transcription and its clinical relevance at single base resolution. *Nature Neuroscience*. 2015, 18(1), 154e161
  85. Quintanal-Villalonga Á., Molina-Pinelo S. Epigenetics of lung cancer: a translational perspective. *Cellular Oncology*. 2019
  86. Chen S., Yang J., Wei Y., Wei X. Epigenetic regulation of macrophages: from homeostasis maintenance to host defense. *Cellular and Molecular Immunology*. 2019
  87. Lyko F. The DNA methyltransferase family: a versatile toolkit for epigenetic regulation. *Nature Reviews Genetics*. 2017, 19, 81–92
  88. Khavari B. and Cairns M.J. Epigenomic Dysregulation in Schizophrenia: In Search of Disease Etiology and Biomarkers. *Cells*. 2020, 9(8): 1837
  89. Begolli R., Sideris N., Giakountis A. LncRNAs as chromatin regulators in Cancer: from molecular function to clinical potential. *Cancers (Basel)* 11, 2019
  90. Schubeler D. Function and information content of DNA methylation. *Nature*. 2015, 517:321–6
  91. Rasmussen K.D., Helin K. Role of TET enzymes in DNA methylation, development, and cancer. *Genes and Develop* 2016, 30, 733–750
  92. Chen S., Yang J., Wei Y., Wei X. Epigenetic regulation of macrophages: from homeostasis maintenance to host defense. *Cellular & Molecular Immunology*. 2019
  93. Shanmugam M.K., Arfuso F., Arumugam, Chinnathambi A., Jinsong B., Warriar S.Ç., Wang L.Z., Kumar A.P., Ahn K.S., Sethi G., Lakshmanan M. Role of novel histone modifications in cancer. *Oncotarget*. 2018, 9, 11414–11426
  94. Thomas E.A. Histone Posttranslational Modifications in Schizophrenia. *Neuroepigenomics in Aging and Disease*. 2017, 237–254
  95. Hałasa M., Wawruszak A., Przybyszewska A., Jaruga A., Guz M., Kałafut J., Stepulak A., Cybulski M. H3K18Ac as a marker of Cancer progression and potential target of anti-cancer therapy. *Cell*. 2019, 8, 485
  96. Li Y., Li Z., Dong L., Tang M., Zhang P., Zhang C., Cao Z., Zhu Q., Chen Y., Wang H., Wang T., Lv D., Wang L., Zhao Y., Yang Y., Wang H., Zhang H., Roeder R.G., Zhu W.-G. Histone H1 acetylation at lysine 85 regulates chromatin condensation and genome stability upon DNA damage. *Nucleic Acids Research*. 2019, 46,7716–7730
  97. Borodinova A.A., Kuznetsova M.A., Alekseeva V.S., Balaban P.M. Histone acetylation determines transcription of atypical protein kinases in rat neurons. *Scientific Reports*. 2019,9, 4332

98. Chen X., Duan H., Xiao L., Gan J. Genetic and epigenetic alterations underlie oligodendroglia susceptibility and white matter etiology in psychiatric disorders. *Frontiers in Genetics*. 2018, 9, 565
99. Von Knethen A., Brüne B. Histone deacetylation inhibitors as therapy concept in Sepsis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, 20
100. Chen X., Duan H., Xiao L., Gan J. 2018. Genetic and epigenetic alterations underlie oligodendroglia susceptibility and white matter etiology in psychiatric disorders. *Frontiers in Genetics*. 2018, 9, 565
101. Qin J., Wen B., Liang Y., Yu W., Li H. Histone modifications and their role in colorectal Cancer (Review). *Pathology and Oncology Research*. 2019)
102. De Batista I., Helguero, L.A. Biological processes and signal transduction pathways regulated by the protein methyltransferase SETD7 and their significance in cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2018, Ther. 3, 19
103. Banerjee T., Chakravarti D. A peek into the complex realm of histone phosphorylation. *Molecular Cell Biology*. 2011, 31:4858–73
104. Jambhekar A., Dhall A., Shi Y. Roles and regulation of histone methylation in animal development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2019, 20, 625–641
105. Yan N., Mu K., An X.F., Li L., Qin Q., Song R.H., Yao Q.M., Shao X.Q., Zhang J.A. Aberrant histone methylation in patients with graves' disease. *International Journal of Endocrinology*. 2019
106. Peter, C.J. Akbarian S. Balancing histone methylation activities in psychiatric disorders. *Trends in Molecular Medicine*. 2011, 17, 372–379
107. Wu L., Zee B.M., Wang Y., Garcia B.A., Dou Y. The RING finger protein MSL2 in the MOF complex is an E3 ubiquitin ligase for H2B K34 and is involved in crosstalk with H3 K4 and K79 methylation. *Molecular Cell*. 2011, 43:132–44
108. Fuchs G., Oren M. Writing and reading H2B monoubiquitylation. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2014, 1839:694–701
109. Setten R.L., Rossi J.J., Han S. The current state and future directions of RNAi based therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2019
110. Zotti M., Dos Santos E.A., Cagliari D., Christiaens O., Taning C.N.T., Smagghe G. RNA interference technology in crop protection against arthropod pests, pathogens and nematodes. *Pest Management Science*. 2018, 74, 1239–1250
111. Geaghan M., Cairns M.J. MicroRNA and Posttranscriptional Dysregulation in Psychiatry. *Biological Psychiatry*. 2015, 78:231–239
112. Lu Q., Wu R., Zhao M., Garcia-Gomez A., Ballestar E. miRNAs as therapeutic targets in inflammatory disease. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2019
113. Lu Q., Wu R., Zhao M., Garcia-Gomez A., Ballestar E. miRNAs as therapeutic targets in inflammatory disease. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2019
114. Derrien T., Johnson R., Bussotti G., Tanzer A., Djebali S., Tilgner H., Guernec G., Martin D., Merkel A., Knowles D.G., et al. The GENCODE v7

- catalog of human long noncoding RNAs: Analysis of their gene structure, evolution, and expression. *Genome Research*. 2012, 22:1775–1789)
115. Begolli R., Sideris N., Giakountis A. LncRNAs as chromatin regulators in Cancer: from molecular function to clinical potential. *Cancers (Basel)* 11, 2019)
  116. Sun J., Wang C. Long non-coding RNAs in cardiac hypertrophy. *Heart Failure Reviews*. 2019
  117. Yuan H., Mischoulon D., Fava M., Otto M.W. Circulating microRNAs as biomarkers for depression: many candidates, few finalists. *Journal of Affective Disorders*. 2018, 233, 68–78
  118. Mercer T.R., Mattick J.S. Structure and function of long noncoding RNAs in epigenetic regulation. *Nature Structural & Molecular Biology*. 2013, 20:300–307
  119. Tsai M.C., Manor O., Wan Y., Mosammaparast N., Wang J.K., Lan F., Shi Y., Segal E., Chang H.Y. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science*. 2010, 329:689–693
  120. Khalil A.M., Guttman M., Huarte M., Garber M., Raj A., Rivea Morales D., Thomas K., Presser A., Bernstein B.E., van Oudenaarden A., et al. Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 2009, 106:11667–11672
  121. Ng S.Y., Bogu G.K., Soh B.S., Stanton L.W. The long noncoding RNA RMST interacts with SOX2 to regulate neurogenesis. *Molecular Cell*. 2013, 51:349–359
  122. Li S. & Tollefsbol T.O. DNA methylation methods: global DNA methylation and methylomic analyses. *Methods*. 2021, 187:28–43
  123. Nakato, R., & Sakata, T. Methods for ChIP-seq analysis: A practical workflow and advanced applications. *Methods*. 2020
  124. Nersisyan S., Shkurnikov M., Poloznikov A., Turchinovich A., Burwinkel B., Anisimov N., Tonevitsky A. A Post-Processing Algorithm for miRNA Microarray Data. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020, 21(4): 1228
  125. Pritchard C.C., Cheng H.H., Tewari M. MicroRNA profiling: approaches and considerations. *Nature Reviews Genetics*. 2012, 13(5): 358–369
  126. Friston K.J., Frith C.D. Schizophrenia: A disconnection syndrome? *Journal of Clinical Neuroscience*. 1995; 3:89–97
  127. Umbricht D., Krljes S. Mismatch negativity in schizophrenia: A meta-analysis. *Schizophrenia Research*. 2005; 76:1–23
  128. Viana J., Hannon E., Dempster E., Pidsley R., Macdonald R., Knox O., Spiers H., Troakes C., Al-Saraj S., Turecki G., Schalkwyk L.C., Mill J. Schizophrenia-associated methylomic variation: molecular signatures of disease and polygenic risk burden across multiple brain regions. *Human Molecular Genetics*. 2017, 26 (1), 210–225
  129. Dempster E., Viana J., Pidsley R., Mill J. Epigenetic studies of schizophrenia: Progress, predicaments, and promises for the future. *Schizophrenia Bulletin*. 2013, 39:11–16

130. Hoffmann A., Sportelli V., Ziller M., Spengler D. Epigenomics of major depressive disorders and schizophrenia: Early life decides. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017, 18:1711
131. Mirnics K., Middleton F.A., Marquez A., Lewis D.A., Levitt P. Molecular characterization of schizophrenia viewed by microarray analysis of gene expression in prefrontal cortex. *Neuron*. 2000, 28:53–67
132. Lee G.H., D’Arcangelo G. New insights into reelin-mediated signaling pathways. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2016, 10, 122
133. Qureshi I.A., Mehler M.F. Emerging roles of non-coding RNAs in brain evolution, development, plasticity and disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2012, 13:528–541
134. Magri C., Giacomuzzi E., La Via L., Bonini D., Ravasio V., Elhussiny M.E.A., Orizio F., Gangemi F., Valsecchi P., Bresciani R., Barbon A., Vita A., Gennarelli M. A novel homozygous mutation in GAD1 gene described in a schizophrenic patient impairs activity and dimerization of GAD67 enzyme. *Scientific Reports*. 2018, 8, 15470
135. Veldic M., Caruncho H.J., Liu W.S., Davis J., Satta R., Grayson D.R., Guidotti A., Costa E. DNA-methyltransferase 1 mRNA is selectively overexpressed in telencephalic GABAergic interneurons of schizophrenia brains. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004, 101, 348–353
136. Guidotti A., Auta J., Davis J.M., Di-Giorgi-Gerevini V., Dwivedi Y., Grayson D.R., Impagnatiello F., Pandey G., Pesold C., Sharma R., Uzunov D., Costa E. Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: A postmortem brain study. *Archives Of General Psychiatry*. 2000, 57:1061–1069
137. Abdolmaleky H.M., Cheng K.H., Russo A., Smith C.L., Faraone S.V., Wilcox M., Shafa R., Glatt S.J., Nguyen G., Ponte J.F., Thiagalingam S., Tsuang M.T. Hypermethylation of the reelin (RELN) promoter in the brain of schizophrenic patients: A preliminary report. *American Journal of Medical Genetics Part B*. 2005, 134b:60–66
138. Grayson D.R., Jia X., Chen Y., Sharma R.P., Mitchell C.P., Guidotti A., Costa E. Reelin promoter hypermethylation in schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005, 102:9341–9346
139. Tochigi M., Iwamoto K., Bundo M., Komori A., Sasaki T., Kato N., Kato T. Methylation status of the reelin promoter region in the brain of schizophrenic patients. *Biological Psychiatry*. 2008, 63:530–533
140. Guidotti A., Ruzicka W., Grayson D.R., Veldic M., Pinna G., Davis J.M., Costa E. S-adenosyl methionine and DNA methyltransferase-1 mRNA overexpression in psychosis. *NeuroReport*. 2007, 18:57–60
141. Guidotti A., Grayson D.R., Caruncho H.J. Epigenetic RELN Dysfunction in Schizophrenia and Related Neuropsychiatric Disorders. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2016, 10:89
142. Mitchell A.C., Jiang Y., Peter C., Akbarian S. Transcriptional regulation of GAD1 GABA synthesis gene in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Schizophrenia Research*. 2015, 167:28–34



- 143.Labouesse M.A., Dong E., Grayson D.R., Guidotti A., Meyer U. Maternal immune activation induces GAD1 and GAD2 promoter remodeling in the offspring prefrontal cortex. *Epigenetics*. 2015, 10:1143–1155
- 144.Lewis D.A., Hashimoto T., Volk D.W. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience*. 2005, 6:312–324
- 145.Kordi-Tamandani D.M., Sahranavard R., TorkamanzehiA.. Analysis of association between dopamine receptor genes' methylation and their expression profile with the risk of schizophrenia. *Psychiatric Genetics*. 2013. 23(5), 183–1870
- 146.Nishioka M., Bundo M., Kasai K., Iwamoto K. DNA methylation in schizophrenia: Progress and challenges of epigenetic studies. *Genome Medicine*. 2012, 4:96
- 147.Mill J., Dempster E., Caspi A., Williams B., Moffitt T., Craig I. Evidence for monozygotic twin (MZ) discordance in methylation level at two CpG sites in the promoter region of the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene. *American Journal of Medical Genetics*. 2006, 141:421–425
- 148.Abdolmaleky H.M., Cheng K.H., Faraone S.V. et al. Hypomethylation of MB-COMT promoter is a major risk factor for schizophrenia and bipolar disorder. *Human Molecular Genetics*. 2006, 15(21), 3132–3145
- 149.Walton E., Liu J., Hass J., White T., Scholz M., Roessner V., Gollub R., Calhoun V.D., Ehrlich S. MB-COMT promoter DNA methylation is associated with working-memory processing in schizophrenia patients and healthy controls. *Epigenetics*. 2014, 9:1101–1107
- 150.Sesack S.R., Hawrylak V.A., Matus C., Guido M.A., Levey A.I. Dopamine Axon Varicosities in the Prelimbic Division of the Rat Prefrontal Cortex Exhibit Sparse Immunoreactivity for the Dopamine Transporter. *The Journal of Neuroscience*. 1998, 18:2697–2708
- 151.Glahn D.C., Ragland J.D., Abramoff A., Barrett J., Laird A.R., Bearden C.E., Velligan D.I. Beyond hypofrontality: A quantitative meta-analysis of functional neuroimaging studies of working memory in schizophrenia. *Human Brain Mapping*. 2005, 25:60–69
- 152.Carrard A., Salzmann A., Malafosse A., Karege F. Increased DNA methylation status of the serotonin receptor 5HTR1A gene promoter in schizophrenia and bipolar disorder. *Journal of Affective Disorders*. 2011, 132(3), 450–453
- 153.Kordi-Tamandani D.M., Dahmardeh N., Torkamanzehi A. Evaluation of hypermethylation and expression pattern of GMR2, GMR5, GMR8, and GRIA3 in patients with schizophrenia. *Gene*. 2013, 515(1), 163–166
- 154.Iwamoto K., Bundo M., Yamada K., Takao H., Iwayama-Shigeno Y., Yoshikawa T., Kato T. DNA methylation status of SOX10 correlates with its downregulation and oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia. *The Journal of Neuroscience*. 2005, 25:5376–5381
- 155.Richetto J., Meyer U. Epigenetic Modifications in Schizophrenia and Related Disorders: Molecular Scars of Environmental Exposures and Source of Phenotypic Variability. *Biological Psychiatry*. 2021, 89:215–226
- 156.Iwamoto K., Bundo M., Yamada K., Takao H., Iwayama-Shigeno Y., Yoshikawa T., Kato T. DNA methylation status of SOX10 correlates with its



- downregulation and oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia. The Journal of Neuroscience. 2005, 25:5376–5381
157. Bathina S., Das U.N. Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. Archives of Medical Science. 2015, 11:1164–1189
  158. Amoli M.M., Khatami F., Arzaghi S.M., Enayati S., Nejatisafa A.-A. Over-expression of TGF- $\beta$ 1 gene in medication free Schizophrenia. Psychoneuroendocrinology. 2019, 99:265–270
  159. Swathy B., Banerjee M. Understanding epigenetics of schizophrenia in the backdrop of its antipsychotic drug therapy. Epigenomics. 2017, 9:721–736
  160. Kordi-Tamandani D.M., Sahranavard R., Torkamanzehi A. DNA methylation and expression profiles of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and dopamine transporter (DAT1) genes in patients with schizophrenia. Molecular Biology Reports. 2012, 39:10889–10893
  161. Causing C.G., Gloster A., Aloyz R., Bamji S.X., Chang E., Fawcett J., Kuchel G., Miller F.D. Synaptic Innervation Density Is Regulated by Neuron-Derived BDNF. Neuron. 1997, 18:257–267
  162. Nishioka M., Bundo M., Kasai K., Iwamoto K. DNA methylation in schizophrenia: Progress and challenges of epigenetic studies. Genome Medicine. 2012, 4:96
  163. Rakyan V.K., Down T.A., Balding D.J., Beck S. Epigenome-wide association studies for common human diseases. Nature Reviews Genetics. 2011, 12:529–541
  164. Mill J., Tang T., Kaminsky Z., Khare T., Yazdanpanah S., Bouchard L., Jia P., Assadzadeh A., Flanagan J., Schumacher A., et al. Epigenomic profiling reveals DNA-methylation changes associated with major psychosis. American Journal of Human Genetics. 2008, 82:696–711
  165. Wockner L.F., Noble E.P., Lawford B.R., Young R.M., Morris C.P., Whitehall V.L., Voisey J. Genome-wide DNA methylation analysis of human brain tissue from schizophrenia patients. Translational Psychiatry. 2014, 4:e339
  166. Nishioka M., Bundo M., Koike S., Takizawa R., Kakiuchi C., Araki T., Kasai K., Iwamoto K. Comprehensive DNA methylation analysis of peripheral blood cells derived from patients with first-episode schizophrenia. Journal of Human Genetics. 2013, 58:91–97
  167. Eichenauer H. & Ehlert U. The association between prenatal famine, DNA methylation and mental disorders: a systematic review and meta-analysis. Clinical epigenetics, 2023. 15:152
  168. Gürel Ç., Kuşçu G. C., Yavaşoğlu A., & Avcı Ç. B. The Clues in Solving The Mystery of Major Psychosis: The Epigenetic Basis of Schizophrenia and Bipolar Disorder. Neuroscience & Biobehavioral Reviews. 2020, 113, 510-61
  169. Schroeder F.A., Gilbert T.M., Feng N., Taillon B.D., Volkow N.D., Innis R.B., Hooker J.M., Lipska B.K. Expression of HDAC2 but Not HDAC1 Transcript Is Reduced in Dorsolateral Prefrontal Cortex of Patients with Schizophrenia. ACS Chemical Neuroscience. 2017; 8:662–668
  170. Tang B., Dean B., Thomas E.A. Disease- and age-related changes in histone acetylation at gene promoters in psychiatric disorders. Translational Psychiatry. 2011; 1:e64
  171. Sharma R.P., Grayson D.R., Gavin D.P. Histone deacetylase 1 expression is increased in the prefrontal cortex of schizophrenia subjects: Analysis of the

- National Brain Databank microarray collection. *Schizophrenia Research*. 2008; 98:111–117
- 172.Sharma R.P., Rosen C., Kartan S., Guidotti A., Costa E., Grayson D.R., Chase K. Valproic acid and chromatin remodeling in schizophrenia and bipolar disorder: preliminary results from a clinical population. *Schizophrenia Research*. 2006
  - 173.Tang B., Jia H., Kast R.J., Thomas E.A. Epigenetic changes at gene promoters in response to immune activation in utero. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2013, 30, 168–175
  - 174.Sharma R.P., Grayson D.R., Gavin D.P. Histone deacetylase 1 expression is increased in the prefrontal cortex of schizophrenia subjects: analysis of the National Brain Databank microarray collection. *Schizophrenia Research*. 2008, 98, 111–117
  - 175.Chase K.A., Gavin D.P., Guidotti A., Sharma R.P. Histone methylation at H3K9: evidence for a restrictive epigenome in schizophrenia. *Schizophrenia Research*. 2013, 149:15–20
  - 176.Akbarian S., Ruehl M.G., Bliven E., Luiz L.A., Peranelli A.C., Baker S.P., et al. Chromatin alterations associated with down-regulated metabolic gene expression in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Archives Of General Psychiatry*. 2005, 62:829–40
  - 177.Huang H.S., Matevossian A., Whittle C., Kim S.Y., Schumacher A. Baker S.P., Akbarian S. Prefrontal dysfunction in schizophrenia involves mixed-lineage leukemia 1-regulated histone methylation at GABAergic gene promoters. *The Journal of Neuroscience*. 2007, 27:11254–62)
  - 178.Gavin D.P., Rosen C., Chase K., Grayson D.R., Tun N., Sharma R.P. Dimethylated lysine 9 of histone 3 is elevated in schizophrenia and exhibits a divergent response to histone deacetylase inhibitors in lymphocyte cultures. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*. 2009, 34, 232–237
  - 179.Connor C.M., Dincer A., Straubhaar J., Galler J.R., Houston I.B., Akbarian S. Maternal immune activation alters behavior in adult offspring, with subtle changes in the cortical transcriptome and epigenome. *Schizophrenia Research*. 2012, 140, 175–184
  - 180.Akbarian S., Ruehl M.G., Bliven E., Luiz L.A., Peranelli A.C., Baker S.P., Roberts R.C., Bunney W.E., Jr., Conley R.C., Jones E.G., Tamminga C.A., Guo Y. Chromatin alterations associated with down-regulated metabolic gene expression in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry*. 2005, 62:829–840
  - 181.Perkins D.O., Jeffries C.D., Jarskog L.F., Thomson J.M., Woods K., Newman M.A., Parker J.S., Jin J., Hammond S.M. microRNA expression in the prefrontal cortex of individuals with schizophrenia and schizoaffective disorder. *Genome Biology*. 2007,8, R27
  - 182.Beveridge N.J., Gardiner E., Carroll A.P., Tooney P.A., Cairns M.J. Schizophrenia is associated with an increase in cortical microRNA biogenesis. *Molecular Psychiatry*. 2010, 15, 1176–1189
  - 183.Beveridge N.J., Tooney P.A., Carroll A.P., Gardiner E., Bowden N., Scott R.J., Tran N., Dedova I., Cairns M.J. Dysregulation of miRNA 181b in the temporal cortex in schizophrenia. *Human Molecular Genetics*. 2008, 17:1156–1168

184. Hollins S.L., Zavitsanou K., Walker F.R., Cairns M.J. Alteration of imprinted Dlk1-Dio3 miRNA cluster expression in the entorhinal cortex induced by maternal immune activation and adolescent cannabinoid exposure. *Translational Psychiatry*. 2014, 4: e452
185. Santarelli D.M., Beveridge N.J., Tooney P.A., Cairns M.J. Upregulation of dicer and microRNA expression in the dorsolateral prefrontal cortex Brodmann area 46 in schizophrenia. *Biological Psychiatry*. 2011, 69:180–187
186. Kim A.H., Reimers M., Maher B., Williamson V., McMichael O., McClay J.L., van den Oord E.J., Riley B.P., Kendler K.S., Vladimirov V.I. MicroRNA expression profiling in the prefrontal cortex of individuals affected with schizophrenia and bipolar disorders. *Schizophrenia Research*. 2010, 124:183–191
187. Miller B.H., Zeier Z., Xi L., Lanz T.A., Deng S., Strathmann J., Willoughby D., Kenny P.J., Elsworth J.D., Lawrence M.S., et al. MicroRNA-132 dysregulation in schizophrenia has implications for both neurodevelopment and adult brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2012, 109:3125–3130
188. Miller B.H., Zeier Z., Xi L., Lanz T.A., Shibing D., Strathmann J., Willoughby D., Kenny P.J., Elsworth J.D., Lawrence M.S., Roth R.H., Edbauer D., Kleiman R.J., Wahlestedt C. MicroRNA-132 dysregulation in schizophrenia has implications for both neurodevelopment and adult brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012, 109(8), 3125–3130
189. Forstner A.J., Degenhardt F., Schratt G., Nöthen M.M. MicroRNAs as the cause of schizophrenia in 22q11. 2 deletion carriers, and possible implications for idiopathic disease: a mini-review. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2013, 6, 47
190. Mellios N., Huang H.S., Baker S.P., Galdzicka M., Ginns E., Akbarian S. Molecular determinants of dysregulated GABAergic gene expression in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Biological Psychiatry*. 2009, 65(12), 1006–1014
191. Barry G., Briggs J.A., Vanichkina D.P., Poth E.M., Beveridge N.J., Ratnu V.S., Nayler S.P., Nones K., Hu J., Bredy T.W., Nakawaga S., Rigo F., Taft R.J., Cairns M.J., Blackshaw S., Wolvetang E.J., Mattick J.S. The long non-coding RNA GomaFu is acutely regulated in response to neuronal activation and involved in schizophrenia-associated alternative splicing. *Molecular Psychiatry*. 2014, 19:486–494
192. Barry G., Briggs J.A., Vanichkina D.P., Poth E.M., Beveridge N.J., Ratnu V.S., Nayler S.P., Nones K., Hu J., Bredy T.W., Nakagawa S., Rigo F., Taft R.J., Cairns M.J., Blackshaw S., Wolvetang E.J., Mattick J.S. The long non-coding RNA GomaFu is acutely regulated in response to neuronal activation and involved in schizophrenia-associated alternative splicing. *Molecular Psychiatry*. 2014, 19, 486–494
193. Ren Y., Cui Y., Li X., Wang B., Na L., Shi J., Wang L., Qiu L., Zhang K., Liu G., Xu Y. A co-expression network analysis reveals lncRNA abnormalities in peripheral blood in early-onset schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2015, 63, 1–5
194. Hu J., Xu J., Pang L., Zhao H., Li F., Deng Y., Liu L., Lan Y., Zhang X., Zhao T., Xu C., Xu Ch., Xiao Y., Li X. Systematically characterizing dysfunctional

- long intergenic non-coding RNAs in multiple brain regions of major psychosis. *Oncotarget*. 2016, 7:71087–71098
195. Liu Y., Chang X., Hahn C.G., Gur R.E., Sleiman P.A.M., Hakonarson H. Non-coding RNA dysregulation in the amygdala region of schizophrenia patients contributes to the pathogenesis of the disease. *Translational Psychiatry*. 2018, 8:44
  196. McCullumsmith R.E., Meador-Woodruff J.H. Novel approaches to the study of postmortem brain in psychiatric illness: Old limitations and new challenges. *Biological Psychiatry*. 2011, 69:127–133
  197. Richetto J., Meyer U. Epigenetic Modifications in Schizophrenia and Related Disorders: Molecular Scars of Environmental Exposures and Source of Phenotypic Variability. *Biological Psychiatry*. 2020
  198. Borgmann-Winter K., Willard S.L., Sinclair D., Mirza N., Turetsky B., Berretta S., Hahn C.G. Translational potential of olfactory mucosa for the study of neuropsychiatric illness. *Translational Psychiatry*. 2015, 5:e527
  199. Sullivan P.F., Fan C., Perou C.M. Evaluating the comparability of gene expression in blood and brain. *American journal of medical genetics*. 2006, 141b:261–268
  200. Murphy B.C., O'Reilly R.L., Singh S.M. Site-specific cytosine methylation in S-COMT promoter in 31 brain regions with implications for studies involving schizophrenia. *American journal of medical genetics*. 2005, 133b:37–42
  201. Hess J.L., Tylee D.S., Barve R., de Jong S., Ophoff R.A., Kumarasinghe N., Tooney P., Schall U., Gardiner E., Beveridge N.J., Scott R.J., Yasawardene S., Perera A., Mendis J., Carr V., Kelly B., Cairns M., Tsuang M.T., Glatt S.J. Transcriptome-wide mega-analyses reveal joint dysregulation of immunologic genes and transcription regulators in brain and blood in schizophrenia. *Schizophrenia Research*. 2016, 176:114–124
  202. Aberg K.A., Xie L.Y., McClay J.L., Nerella S., Vunck S., Snider S., Beardsley P.M., van den Oord E.J. Testing two models describing how methylome-wide studies in blood are informative for psychiatric conditions. *Epigenomics*. 2013, 5:367–377
  203. Walton E., Hass J., Liu J., Roffman J.L., Bernardoni F., Roessner V., Kirsch M., Schackert G., Calhoun V., Ehrlich S. Correspondence of DNA Methylation Between Blood and Brain Tissue and Its Application to Schizophrenia Research. *Schizophrenia Bulletin*. 2016, 42:406–414
  204. Nabil Fikri R.M., Norlelawati A.T., Nour El-Huda A.R., Hanisah M.N., Kartini A., Norsidah K., Nor Zamzila A. Reelin (RELN) DNA methylation in the peripheral blood of schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research*. 2017, 88:28–37
  205. Abdolmaleky H.M., Cheng K.H., Russo A., Smith C.L., Faraone S.V., Wilcox M., Shafa R., Glatt S.J., Nguyen G., Ponte J.F., Thiagalingam S., Tsuang M.T. Hypermethylation of the reelin (RELN) promoter in the brain of schizophrenic patients: A preliminary report. *American Journal of Medical Genetics*. 2005, 134b:60–66
  206. Nohesara S., Ghadirivasfi M., Mostafavi S., Eskandari M.R., Ahmadkhaniha H., Thiagalingam S., Abdolmaleky H.M. DNA hypomethylation of MB-COMT promoter in the DNA derived from saliva in schizophrenia and bipolar disorder. *Journal of Psychiatric Research*. 2011, 45:1432–1438

207. Abdolmaleky H.M., Cheng K.H., Faraone S.V., Wilcox M., Glatt S.J., Gao F., Smith C.L., Shafa R., Aeali B., Carnevale J., Pan H., Papageorgis P., Ponte J.F., Sivaraman V., Tsuang M.T., Thiagalingam S. Hypomethylation of MB-COMT promoter is a major risk factor for schizophrenia and bipolar disorder. *Human Molecular Genetics*. 2006, 15:3132–3145
208. Kordi-Tamandani D.M., Dahmardeh N., Torkamanzehi A. Evaluation of hypermethylation and expression pattern of GMR2, GMR5, GMR8, and GRIA3 in patients with schizophrenia. *Gene*. 2013, 515:163–166
209. Ikegame T., Bundo M., Sunaga F., Asai T., Nishimura F., Yoshikawa A., Kawamura Y., Hibino H., Tochigi M., Kakiuchi C., Sasaki T., Kato T., Kasai K., Iwamoto K. DNA methylation analysis of BDNF gene promoters in peripheral blood cells of schizophrenia patients. *Journal of Neuroscience Research*. 2013, 77:208–214
210. Carrard A., Salzmann A., Malafosse A., Karege F. Increased DNA methylation status of the serotonin receptor 5HTR1A gene promoter in schizophrenia and bipolar disorder. *Journal of Affective Disorders*. 2011, 132:450–453
211. Ghadirivasfi M., Nohesara S., Ahmadkhaniha H.R., Eskandari M.R., Mostafavi S., Thiagalingam S., Abdolmaleky H.M. Hypomethylation of the serotonin receptor type-2A Gene (HTR2A) at T102C polymorphic site in DNA derived from the saliva of patients with schizophrenia and bipolar disorder. *American Journal of Medical Genetics*. 2011, 156b:536–545
212. Abdolmaleky H.M., Yaqubi S., Papageorgis P., Lambert A.W., Ozturk S., Sivaraman V., Thiagalingam S. Epigenetic dysregulation of HTR2A in the brain of patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophrenia Research*. 2011, 129:183–190
213. Kano S., Colantuoni C., Han F., Zhou Z., Yuan Q., Wilson A., Takayanagi Y., Lee Y., Rapoport J., Eaton W., Cascella N., Ji H., Goldman D., Sawa A. Genome-wide profiling of multiple histone methylations in olfactory cells: Further implications for cellular susceptibility to oxidative stress in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*. 2013, 18:740–742
214. Kuzman M.R., Medved V., Terzic J., Krainc D. Genome-wide expression analysis of peripheral blood identifies candidate biomarkers for schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research*. 2009, 43:1073–1077
215. Lai C.Y., Yu S.L., Hsieh M.H., Chen C.H., Chen H.Y., Wen C.C., Huang Y.H., Hsiao P.C., Hsiao C.K., Liu C.M., Yang P.C., Hwu H.G., Chen W.J. MicroRNA expression aberration as potential peripheral blood biomarkers for schizophrenia. *PLoS ONE*. 2011, 6: e21635
216. Kim A.H., Reimers M., Maher B., Williamson V., McMichael O., McClay J.L., van den Oord E.J., Riley B.P., Kendler K.S., Vladimirov V.I. MicroRNA expression profiling in the prefrontal cortex of individuals affected with schizophrenia and bipolar disorders. *Schizophrenia Research*. 2010, 124:183–191
217. Liu S., Zhang F., Wang X., Shugart Y.Y., Zhao Y., Li X., Liu Z., Sun N., Yang C., Zhang K., Yue W., Yu X. Diagnostic value of blood-derived microRNAs for schizophrenia: Results of a meta-analysis and validation. *Scientific Reports*. 2017, 7:15328



218. Ma J., Shang S., Wang J., Zhang T., Nie F., Song X., Heping Z., Zhu C., Zhang R., Hao D. Identification of miR-22-3p, miR-92a-3p, and miR-137 in peripheral blood as biomarker for schizophrenia. *Psychiatry Research*. 2018, 265:70–76
219. Yu H.C., Wu J., Zhang H.X., Zhang G.L., Sui J., Tong W.W., Zhang X.Y., Nie L.L., Duan J.H., Zhang L.R., Lv L. Alterations of miR-132 are novel diagnostic biomarkers in peripheral blood of schizophrenia patients. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2015, 63:23–29
220. Miller B.H., Zeier Z., Xi L., Lanz T.A., Deng S., Strathmann J., Willoughby D., Kenny P.J., Elsworth J.D., Lawrence M.S., Roth R.H., Edbauer D., Kleiman R.J., Wahlestedt C. MicroRNA-132 dysregulation in schizophrenia has implications for both neurodevelopment and adult brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012, 109:3125–3130
221. Beveridge N.J., Gardiner E., Carroll A.P., Tooney P.A., Cairns M.J. Schizophrenia is associated with an increase in cortical microRNA biogenesis. *Molecular Psychiatry*. 2010, 15:1176–1189
222. Zhao Z., Jinde S., Koike S., Tada M., Satomura Y., Yoshikawa A., Nishimura Y., Takizawa R., Kinoshita A., Sakakibara E., Sakurada H., Yamagishi M., Nishimura F., Inai A., Nishioka M., Eriguchi Y., Araki T., Takaya A., Kan C., Umeda M., Shimazu A., Hashimoto H., Bundo M., Iwamoto K., Kakiuchi C., Kasai K. Altered expression of microRNA-223 in the plasma of patients with first-episode schizophrenia and its possible relation to neuronal migration-related genes. *Translational Psychiatry*. 2019, 9:289
223. Ren Y., Cui Y., Li X., Wang B., Na L., Shi J., Wang L., Qiu L., Zhang K., Liu G., Xu Y. A co-expression network analysis reveals lncRNA abnormalities in peripheral blood in early-onset schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2015, 63:1–5
224. Chen S., Sun X., Niu W., Kong L., He M., Li W., Zhong A., Lu J., Zhang L. Aberrant Expression of Long Non-Coding RNAs in Schizophrenia Patients. *Medical Science Monitor* 2016, 22:3340–3351
225. Mitchell C.P., Chen Y., Kundakovic M., Costa E., Grayson D.R. Histone deacetylase inhibitors decrease reelin promoter methylation in vitro. *Journal of Neurochemistry*. 2005, 93:483–492
226. Kundakovic M., Chen Y., Costa E., Grayson D.R. DNA methyltransferase inhibitors coordinately induce expression of the human reelin and glutamic acid decarboxylase 67 genes. *Molecular Pharmacology*. 2007, 71:644–653
227. Dong E., Locci V., Gatta E., Grayson D.R., Guidotti A. N-Phthalyl-L-Tryptophan (RG108), like Clozapine (CLO), Induces Chromatin Remodeling in Brains of Prenatally Stressed Mice. *Molecular Pharmacology*. 2019, 95:62–69
228. Yoo C.B., Cheng J.C., Jones P.A. Zebularine: A new drug for epigenetic therapy. *Biochemical Society Transactions*. 2004, 32:910–912
229. Seto E., Yoshida M. Erasers of histone acetylation: The histone deacetylase enzymes. *Cold Spring Harb. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2014, 6: a01871
230. Guidotti A., Dong E., Tueting P., Grayson D.R. Modeling the molecular epigenetic profile of psychosis in prenatally stressed mice. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 2014, 128:89–101



231. Sanguesa E., Cirujeda C., Concha J., Padilla P.P., Garcia C.B., Ribate M.P. Pharmacokinetic interactions between clozapine and valproic acid in patients with treatment-resistant schizophrenia: Does UGT polymorphism affect these drug interactions? *Chemico-Biological Interactions*. 2022, 364:110042
232. Latusz J., Mackowiak M. Early-life blockade of NMDA receptors induces epigenetic abnormalities in the adult medial prefrontal cortex: Possible involvement in memory impairment in trace fear conditioning. *Psychopharmacology*. 2020, 237:231–248
233. Kebir O., Chaumette B., Fatjo-Vilas M., Ambalavanan A., Ramoz N., Xiong L., Mouaffak F., Millet B., Jaafari N., DeLisi L.E., Levinson D., Joobor R., Fananas L., Rouleau G., Dubertret C., Krebs M.O. Family-based association study of common variants, rare mutation study and epistatic interaction detection in HDAC genes in schizophrenia. *Schizophrenia Research*. 2014, 160:97–103
234. Farrelly L.A., Zheng S., Schrode N., Topol A., Bhanu N.V., Bastle R.M., Ramakrishnan A., Chan J.C., Cetin B., Flaherty E., Shen L., Gleason K., Tamminga C.A., Garcia B.A., Li H., Brennand K.J., Maze I. Chromatin profiling in human neurons reveals aberrant roles for histone acetylation and BET family proteins in schizophrenia. *Nature Communications*. 2022, 13:2195
235. Bilecki W., Wawrzczak-Bargiela A., Majcher-Maslanka I., Chmelova M., Mackowiak M. Inhibition of BET Proteins during Adolescence Affects Prefrontal Cortical Development: Relevance to Schizophrenia. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, 22:8710
236. Chase K.A., Feiner B., Ramaker M.J., Hu E., Rosen C., Sharma R.P. Examining the effects of the histone methyltransferase inhibitor BIX-01294 on histone modifications and gene expression in both a clinical population and mouse models. *PLoS ONE*. 2019, 14:e0216463
237. Johnstone A.L., O'Reilly J.J., Patel A.J., Guo Z., Andrade N.S., Magistri M., Nathanson L., Esanov R., Miller B.H., Turecki G., Brothers S.P., Zeier Z., Wahlestedt C.. EZH1 is an antipsychotic-sensitive epigenetic modulator of social and motivational behavior that is dysregulated in schizophrenia. *Neurobiology of Disease*. 2018, 119:149–158
238. Nagahama K., Sakoori K., Watanabe T., Kishi Y., Kawaji K., Koebis M., Nakao K., Gotoh Y., Aiba A., Uesaka N., Kano M. Setd1a Insufficiency in Mice Attenuates Excitatory Synaptic Function and Recapitulates Schizophrenia-Related Behavioral Abnormalities. *Cell Reports*. 2020, 32:108126
239. Bharadwaj R., Peter C.J., Jiang Y., Roussos P., Vogel-Ciernia A., Shen E.Y., Mitchell A.C., Mao W., Whittle C., Dincer A., et al. Conserved higher-order chromatin regulates NMDA receptor gene expression and cognition. *Neuron*. 2014, 84:997–1008
240. Micale V., Di Bartolomeo M., Di Martino S., Stark T., Dell'Osso B., Drago F., D'Addario C. Are the epigenetic changes predictive of therapeutic efficacy for psychiatric disorders? A translational approach towards novel drug targets. *Pharmacology & Therapeutics*. 2022, 241:108279
241. Swathy B. & Banerjee M. Understanding epigenetics of schizophrenia in the backdrop of its antipsychotic drug therapy. *Epigenomics*. 2017, 9,5

242. Canoso R.T., De Oliveira R.M. Characterization and antigenic specificity of chlorpromazine-induced antinuclear antibodies. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1986, 108(3), 213–216
243. Loncar-Stevanović H., Vujović Z., Džajić A., Lazić D., Jakulić S., Jovanović T. The influence of selenium and neuroleptics on the rat brain nuclear regulatory mechanism in carcinogenesis. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*. 1997, 17(3–4), 331–337
244. Melas P.A., Rogdaki M., Ösby U., Schalling M., Lavebratt C., Ekström T.J. Epigenetic aberrations in leukocytes of patients with schizophrenia: association of global DNA methylation with antipsychotic drug treatment and disease onset. *The FASEB Journal*. 2012, 26(6), 2712–2718
245. Dong E., Nelson M., Grayson D., Costa E, Guidotti A. Clozapine and sulpiride but not haloperidol or olanzapine activate brain DNA demethylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008, 105(36), 13614–13619
246. Akbarian S., Ruehl M.G., Bliven E. Luiz L.A., Peranelli A.M., Baker S.T., Roberts R.S., Bunney W.E., Conley R.C., Jones E.G., Tamminga C.A., Guo Y. Chromatin alterations associated with down-regulated metabolic gene expression in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Archives Of General Psychiatry*. 2005, 62(8), 829–840
247. Dong E., Nelson M., Grayson D., Costa E, Guidotti A. Clozapine and sulpiride but not haloperidol or olanzapine activate brain DNA demethylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008, 105(36), 13614–13619
248. Tang H., Dalton C.F., Srisawat U., Zhang Z.J., Reynolds G.P. Methylation at a transcription factor-binding site on the 5-HT1A receptor gene correlates with negative symptom treatment response in first episode schizophrenia. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2014, 17:645–649
249. Abdolmaleky H.M., Pajouhanfar S., Faghankhani M., Joghataei M.T., Mostafavi A., Thiagalingam S. Antipsychotic drugs attenuate aberrant DNA methylation of DTNBP1 (dysbindin) promoter in saliva and post-mortem brain of patients with schizophrenia and Psychotic bipolar disorder. *American Journal of Medical Genetics Part*. 2015, 168:687–696
250. Venugopal D., Shivakumar V., Subbanna M., Kalmady S.V., Amaresha A.C., Agarwal S.M., Narayanaswamy J.C., Banerjee M., Debnath M., Venkatasubramanian G. Impact of antipsychotic treatment on methylation status of Interleukin-6 [IL-6] gene in Schizophrenia. *J. Psychiatry Research*. 2018, 104:88–95
251. Nucifora F.C., Jr., Woznica E., Lee B.J., Cascella N., Sawa A. Treatment resistant schizophrenia: Clinical, biological, and therapeutic perspectives. *Neurobiology of Disease*. 2019, 131:104257
252. Kinoshita M., Numata S., Tajima A., Yamamori H., Yasuda Y., Fujimoto M., Watanabe S., Umehara H., Shimodera S., Nakazawa T., Kikuchi M., Nakaya A., Hashimoto H., Imoto I., Hashimoto R., Ohmori T.. Effect of Clozapine on DNA Methylation in Peripheral Leukocytes from Patients with Treatment-Resistant Schizophrenia *International Journal of Molecular Sciences*. 2017, 18:632

253. Alacam H., Akgun S., Akca H., Ozturk O., Kabukcu B.B., Herken H. miR-181b-5p, miR-195-5p and miR-301a-3p are related with treatment resistance in schizophrenia. *Psychiatry Research*. 2016, 245:200–206
254. Dong E., Nelson M., Grayson D.R., Costa E., Guidotti A. Clozapine and sulpiride but not haloperidol or olanzapine activate brain DNA demethylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008, 105:13614–13619
255. Melka M.G., Castellani C.A., Laufer B.I., Rajakumar R.N., O'Reilly R., Singh S.M. Olanzapine induced DNA methylation changes support the dopamine hypothesis of psychosis. *Molecular Psychiatry*. 2013, 1:19
256. Dong E., Locci V., Gatta E., Grayson D.R., Guidotti A. N-Phthalyl-L-Tryptophan (RG108), like Clozapine (CLO), Induces Chromatin Remodeling in Brains of Prenatally Stressed Mice. *Molecular Pharmacology*. 2019, 95:62–69
257. Aoyama Y., Mouri A., Toriumi K., Koseki T., Narusawa S., Ikawa N., Mamiya T., Nagai T., Yamada K., Nabeshima T. Clozapine ameliorates epigenetic and behavioral abnormalities induced by phencyclidine through activation of dopamine D1 receptor. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2014, 17:723–737
258. Song H.T., Sun X.Y., Zhang L., Zhao L., Guo Z.M., Fan H.M., Zhong A.F., Niu W., Dai Y.H., Zhang L., Y., Shi Z., Liu X.P., Lu J. A preliminary analysis of association between the down-regulation of microRNA-181b expression and symptomatology improvement in schizophrenia patients before and after antipsychotic treatment. *Journal of Psychiatric Research*. 2014, 54:134–140
259. Santarelli D.M., Liu B., Duncan C.E., Beveridge N.J., Tooney P.A., Schofield P.R., Cairns M.J. Gene-microRNA interactions associated with antipsychotic mechanisms and the metabolic side effects of olanzapine. *Psychopharmacology*. 2013, 227:67–78
260. Li J., Guo Y., Schroeder F.A., Youngs R.M., Schmidt T.W., Ferris C., Konradi C., Akbarian S. Dopamine D2-like antagonists induce chromatin remodeling in striatal neurons through cyclic AMP-protein kinase A and NMDA receptor signalling. *Journal of Neurochemistry*. 2004, 90(5), 1117–1131
261. Perkins D.O., Jeffries C.D., Jarskog L.F., Thomson M., Woods K., Newman M.A., Parker J.S., Jin J., Hammond S.M. microRNA expression in the prefrontal cortex of individuals with schizophrenia and schizoaffective disorder. *Genome Biology*. 2007, 8(2), 1
262. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5®)* 5th ed. American Psychiatric Pub, Washington, DC, USA: 2013
263. World Health Organization. *International Classification of Diseases for Mortality and Morbidity Statistics (11th Revision)* World Health Organization; Geneva, Switzerland, 2018
264. Bhati M.T. Defining psychosis: the evolution of DSM-5 schizophrenia spectrum disorders. *Current Psychiatry Reports*. 2013, 15:409. 10.1007/s11920-013-0409-9
265. Bassett A.S., Chow E.W. Schizophrenia and 22q11.2 deletion syndrome. *Current Psychiatry Reports*. 2008, 10:148–157

- 266.Davison J., O’Gorman A., Brennan L., Cotter D.R. A systematic review of metabolite biomarkers of schizophrenia. *Schizophrenia Research*. 2018, 195:32–50
- 267.Tanaka M., Szabó Á., Spekker E., Polyák H., Tóth F., Vécsei L. Mitochondrial Impairment: A Common Motif in Neuropsychiatric Presentation? The Link to the Tryptophan-Kynurenine Metabolic System. *Cells*. 2022, 11:2607
- 268.Kraguljac N.V., McDonald W.M., Widge A.S., Rodriguez C.I., Tohen M., Nemeroff C.B. Neuroimaging biomarkers in schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry*. 2021, 178 509–521
- 269.Perez V.B., Tarasenko M., Miyakoshi M., Pianka S.T., Makeig S.D., Braff D.L., Swerdlow N.R., Light G.A. Mismatch negativity is a sensitive and predictive biomarker of perceptual learning during auditory cognitive training in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. 2017, 42 2206–2213
- 270.Lieberman J.A., Perkins D., Belger A., Chakos M., Jarskog F., Boteva K., Gilmore J. The early stages of schizophrenia: speculations on pathogenesis, pathophysiology, and therapeutic approaches. *Biological Psychiatry*. 2001, 50 884–897
271. Magwai T., Shangase K.B., Oginga F.O., Chiliza B., Mpofana T. and Xulu K.R. DNA Methylation and Schizophrenia: Current Literature and Future Perspective. *Cells*. 2021, 10(11): 2890
- 272.Wang J., WangY., Yang J., Huang Y. microRNAs as novel biomarkers of schizophrenia (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2014, 8(6), 1671–1676
- 273.Shi W., Du J., Qi Y., Liang G., Wang T., Li S., Xie S., Zeshan B., Xiao Z. Aberrant expression of serum miRNAs in schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research*. 2012, 46(2), 198–204
- 274.Lai C.Y., Yu S.L., Hsieh M.H., Chen C.H., Chen H.Y., Wen C.C., Huang Y.H., Hsiao P.C., Hsia C.K., Liu C.M., Yang P.C., Hwu H.G., Chen W.J. MicroRNA expression aberration as potential peripheral blood biomarkers for schizophrenia. *PLoS ONE*. 2011, 6(6), e21635
- 275.Abdolmaleky H.M., Smith C.L., Faraone S.V., Shafa R., Stone W., Glatt S.J., Tsuang M.T. Methylomics in psychiatry: modulation of gene-environment interactions may be through DNA methylation. *American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)* 2004, 127B:51–59
- 276.Wawrzczak-Bargieła A., Bilecki W. and Maćkowiak M. Epigenetic Targets in Schizophrenia Development and Therapy. *Brain Sciences*. 2023, 13(3): 426
- 277.Lee D., Seo J., Jeong H.C., Lee H., Lee S.B. The Perspectives of Early Diagnosis of Schizophrenia Through the Detection of Epigenomics-Based Biomarkers in iPSC-Derived Neurons. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2021, 14: 756613
- 278.Shorter K.R. and Miller B.H. Epigenetic Mechanisms in Schizophrenia. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2015, 118(0): 1–7
- 279.Wawrzczak-Bargieła A., Bilecki W. and Maćkowiak M. Epigenetic Targets in Schizophrenia Development and Therapy. *Brain Sciences*. 2023, 13(3): 426

Υπεύθυνη Δήλωση Συγγραφέα:

Δηλώνω ρητά ότι, σύμφωνα με το άρθρο 8 του Ν.1599/1986, η παρούσα εργασία αποτελεί αποκλειστικά προϊόν προσωπικής μου εργασίας, δεν προσβάλλει κάθε μορφής δικαιώματα διανοητικής ιδιοκτησίας, προσωπικότητας και προσωπικών δεδομένων τρίτων, δεν περιέχει έργα/εισφορές τρίτων για τα οποία απαιτείται άδεια των δημιουργών/δικαιούχων και δεν είναι προϊόν μερικής ή ολικής αντιγραφής, οι πηγές δε που χρησιμοποιήθηκαν περιορίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές και μόνον και πληρούν τους κανόνες της επιστημονικής παράθεσης.