

Epigenetika in samomorilno vedenje

Epigenetics and suicidal behaviour

Katarina Kouter, Alja Videtič Paska

Inštitut za biokemijo,
Medicinska fakulteta,
Univerza v Ljubljani,
Ljubljana, Slovenija

Korespondenca/ Correspondence:

Katarina Kouter,
e: katarina.kouter@mf.uni-lj.si

Ključne besede:

epigenetski mehanizmi;
samomor; metilacija
DNA; miRNA; modifikacije
histonov

Key words:

epigenetic modifications;
suicide; DNA methylation;
miRNA; histone
modification

Prispelo: 13. 10. 2017

Sprejeto: 26. 4. 2018

Izvleček

Samomor je dobro opisan javnozdravstveni problem. Glede na število samomorov se Slovenija že dolgo uvršča v svetovni vrh. Na biološki ravni so bile opravljene številne genetske in biokemijske raziskave živčnih prenašalcev, v zadnjih letih so pogostejše tudi raziskave na področju epigenetike, kamor uvrščamo delovanje nekodirajočih RNA (miRNA), metilacijo DNA in posttranslacijske modifikacije histonov. Mikro RNA so kratke, 19–25 nukleotidov dolge enoverižne molekule RNA, ki se specifično vežejo na mRNA in znižajo izražanje tarčnih genov. Pri žrtvah samomora so zaznali spremembe v izražanju miRNA v povezavi z možganskim nevrotrofnim dejavnikom (BDNF) in njegovim receptorjem (TrkB), transkripcijskimi in rastnimi dejavniki ter poliaminskim sistemom. Metilacija DNA je proces dodajanja metilne skupine na mesto 5C citozina, posledica pa je znižanje prepisovanja genov. S študijami globalnega vzorca metilacije so pri žrtvah samomora prepoznali spremenjene vzorce metilacije promotorskih regij. Številni promotorji so pripadali genom, vpletenim v kognitivne funkcije. Na ravni posameznih genov so spremembe v vzorcu metilacije promotorske regije opazili pri *BDNF* in genu za receptor TrkB, ribosomski RNA in serotoninem receptorju tipa 2A. Histoni so osnovni gradniki jedrnega kromatina; predstavljajo proteinsko osnovo, okoli katere se navije DNA. Tako skupaj tvorijo nukleosom. Histone sestavlja globulni centralni del in N-terminalni rep. Dolžina slednjega je lahko različna in na aminokislinskih ostankih repa so lahko prisotne posttranslacijske modifikacije. Med njimi so najpogostejše acetilacija in metilacija lizinov in argininov, fosforilacija serinov in treoninov, ubikvitinacija in sumoilacija lizinov in ADP-ribozilacija. Pri žrtvah samomora so opazili spremembe modifikacij histonov pri TrkB in poliaminskem sistemu. Številne študije tako povezujejo epigenetske mehanizme s samomorilnim vedenjem.

Abstract

Suicide is a well-defined public health problem. Slovenia is ranked as one of the European leading countries regarding suicide rate. So far, many neurotransmitter systems have been studied on genetic and biochemical levels. In recent years, focus shifted towards research in the field of epigenetics, which includes noncoding RNA (miRNA), DNA methylation, and post-translational histone modification. miRNAs are short, 19 to 25 nucleotides long single-stranded RNA molecules that bind specifically to mRNA and decrease the expression of targeted genes. Suicide victims showed changes in the expression of miRNA associated with brain neurotrophic factor (BDNF) and its receptor (TrkB), transcription and growth factors, and the polyamine system. DNA methylation is the process of adding methyl group to the 5C site of the cytosine and it results in a decrease of gene transcription. Studies of global methylation identified changes in the patterns of promoter methylation in suicide victims. Many promoters belonged to genes involved in cognitive functions. Looking at candidate genes, changes in methylation pattern were observed at genes for BDNF, TrkB, ribosomal RNA, and the type 2A serotonin receptor promoter region. Histones are the core building blocks of chromatin, representing the protein base around which the DNA is coiled and forming nucleosomes. Histones consist of a globular core part and an N-terminal tail of different lengths, which can be post-translationally modified. Most common modifications are lysine and arginine acetylation and methylation, serine and threonine phosphorylation.

on, lysine ubiquitination and sumoylation, and ADP-ribosylation. Histone modifications of TrkB and polyamine system were observed in suicide victims. Numerous studies thus link epigenetic mechanisms to suicidal behaviour.

Citirajte kot/Cite as: Kouter K, Videtič Paska A. [Epigenetics and suicidal behaviour]. *Zdrav Vestn.* 2018;87(9-10):417-28.

DOI: 10.6016/ZdravVestn.2660

1 Uvod

Duševno zdravje opredeljujemo kot počutje, v katerem posameznik uresničuje svoje sposobnosti, je zmožen obvladovati običajne življenjske stresorje, lahko produktivno dela in tako prispeva k svoji skupnosti. Duševne motnje so velik svetovni javnozdravstveni problem. Vsaj desetina oseb naj bi trpela zaradi ene od motenj, kar jih po pogostosti obolenja uvršča takoj za vodilnimi ishemičnimi srčnimi boleznimi. Osebe, ki trpijo zaradi duševnih motenj, imajo zvišano stopnjo smrtnosti; razlog so pogosto kronične bolezni, kot so srčno-žilne bolezni in bolezni dihal, sladkorna bolezen, ter samomor, do katerih pride zaradi spremenjenega življenjskega sloga in slabše zdravniške oskrbe. Primer sta depresija in shizofrenija, pri katerih se pojavi 40-odstotna in 60-odstotna zvišana verjetnost prezgodnje smrti (1). Največje tveganje za pojav samomorilnega vedenja se pojavi pri osebah z mejno osebnostno motnjo, depresijo, shizofrenijo in bipolarno motnjo. Do 15 % oseb z diagnosticirano vsaj eno duševno motnjo umre za posledicami samomora (2). Samomor je kompleksen pojav. Na svetu vsakih 40 sekund ena oseba konča svoje življenje s samomorom; po napovedih SZO pa naj bi se število samomorov še zvišalo. Glede na samomorilni količnik (število žrtev samomora na 100.000 prebivalcev) se Slovenija žal že dolgo uvršča v svetovni vrh; samo v letu 2016 je pri nas zaradi samomora umrlo 371 oseb. Na biološki

ravni, tako biokemijski kot genetski, so bile opravljene že številne raziskave živčnih prenašalcev. Z genetskimi študijami so najpogosteje preučevani serotoniniski, dopaminski in noradrenergični sistem, v zadnjih letih pa je vse več tudi raziskav na področju epigenetike (3-7). Z raziskavami smo tudi na slovenski populaciji pokazali vpletenost genetskega ozadja in sistemov živčnih prenašalcev na samomorilnost (8-14).

2 Epigenetika

Duševne motnje so zelo kompleksne bolezni, na katere vpliva kombinacija dednih in okoljskih dejavnikov. Z genetiko lahko razložimo le del tveganja za njihov pojav. Kot povezovalni vmesni člen, ki prepleta okoljske in genetske dejavnike, pa deluje epigenetika. Z izrazom epigenetika opisujemo spremembe v izražanju genov, ki niso posledica sprememb zaporedja DNA, so pa lahko mitotsko ali mejotsko dedne (medgeneracijska epigenetska dednost). Epigenetika deluje na različnih ravneh uravnavanja izražanja genov. Poznamo tri ključne mehanizme epigenetskega uravnavanja; delovanje nekodirajočih RNA, metilacija DNA in posttranslacijske modifikacije histonov (15). Epigenetski procesi so pomembni za razvoj in diferenciacijo celic med embriogenezo, pomembno vlogo pa igrajo tudi v odrasli dobi. Epigenetski mehanizmi omogočajo celicam ohraniti

svojo identiteto in se prilagajati na okolje ter kažejo visoko tkivno specifičnost. Epigenetsko stanje celice je tako deloma reverzibilno in se lahko spremeni pod vplivom okoljskih dejavnikov (16).

2.1 Mikro RNA

Nekodirajoče RNA sestavljata skupini dolgih in kratkih molekul RNA, pri čemer v slednjo sodi tudi mikro RNA (miRNA). V družino miRNA uvrščamo kratke, 19–25 nukleotidov dolge enoverižne molekule RNA, ki se specifično vežejo na mRNA in znižajo izražanje tarčnih genov (17). Prvo miRNA so odkrili pred več kot dvajsetimi leti, ko so Ambros in sodelavci (1993) ob preučevanju razvojnih stopenj gliste *C. elegans* opazili, da *lin-4* z neustrezno represijo proteina LIN-14 moti časovno uravnavanje razvoja živali. Ob nadaljnjem preučevanju so ugotovili, da produkt gena *lin-4* ni bila mRNA, torej protein, temveč dva kratka odseka RNA, dolga 22 in 61 nukleotidov. Krajši odsek je danes poznan kot prva miRNA *lin-4* (18). Do odkritja druge miRNA *let-7*, ki je ravno tako vpletena v razvojni krog glist, je preteklo kar nekaj let (19). Zaradi evlucijske ohranjenosti regije in homologije je *let-7* pripomogla k odkrivanju miRNA v drugih organizmih. Tako so sedaj znane številne miRNA pri živalih in rastlinah, zbrane v bazi miRBase (dostopna na spletnem naslovu <http://www.mirbase.org>). Trenutno baza vsebuje 2588 zaporedij humanih zrelih miRNA (20).

Rastlinske in živalske miRNA kljub isti vlogi posttranslacijskega uravnavanja genov verjetno izhajajo iz dveh ločenih mehanizmov, ki sta se v evoluciji razvila neodvisno. Razlike se med drugim pojavljajo pri vpletenih encimih, mestu vezave miRNA in mehanizmu delovanja. Opis miRNA se tako nanaša na živalske miRNA (21).

Zrele miRNA so endogenega izvora. Kodirane so lahko v intronih ali eksonih drugih genov in so z genom pod kontrolo skupnega promotora. Lahko pa jih je kodiranih tudi več skupaj v enem t. i. policistronskem transkriptu, ki nosi informacijo za nastanek več ločenih miRNA (22). Več kot polovica človeških genov, ki nosijo zapis za izražanje proteinov, ima vsaj eno potencialno vezavno mesto za miRNA (23).

Z gena se z RNA-polimerazo II, ki se veže na DNA, ki kodira zapis za miRNA, najprej prepíše primarna miRNA (pri-miRNA), ki je dolga preko 1000 baz in vsebuje številne lasnice (to je sekundarna struktura RNA, pri kateri se veriga zvije in ob tem pride do parjenja baz, ki se nahajajo na isti verigi). Znotraj jedra encim Drosha razreže pri-miRNA na okoli 70 baz dolge prekurzorske RNA (pre-miRNA). Preko encima Eksportin 5 se pre-miRNA iz jedra prenesejo v citoplazmo, kjer encim Dicer iz njih tvori okoli 45 baz velik miRNA dupleks, sestavljen iz miRNA in njene komplementarne verige, imenovane miRNA* (22). Proteini družine Argonavti in miRNA dupleks se združijo, kar vodi v nastanek z RNA inducirane kompleksa za utišanje genov (*angl.* RNA-induced silencing complex, RISC). Sledi razvitje dupleksa in nastanek zrele miRNA, njena komplementarna veriga pa se običajno razgradi (24). Komplementarna veriga se v nekaterih primerih ohrani in prevzame regulacijsko vlogo (25). Razliko med miRNA in komplementarno verigo miRNA* določajo kemijsko-fizikalne lastnosti; miRNA ima nižjo termično stabilnost 5'-konca in se začne z uracilom kot preferenčnim nukleotidom (26). Kompleks zrele miRNA in RISC se veže na 3'-neprevedeno regijo tarčne mRNA (22).

Proteini družine Argonavti, ki tvorijo aktivni del RISC, lahko mRNA režejo, omogočijo vezavo represorjev translaci-

je ali pa onemogočajo translacijo. Vezava RISC-miRNA in mRNA ni nujno povsem komplementarna. Tako lahko posamezna miRNA uravnava do 100 različnih mRNA. Za vezavo miRNA na tarčno mRNA je ključen predel med drugim in sedmim nukleotidom miRNA, ki skrbi za prepoznavo tarče (23).

Upravnavane pa so tudi miRNA same. Polimorfizmi posameznih nukleotidov (SNP, *single nucleotide polymorphism*) v kodirajoči regiji miRNA lahko spremenijo specifičnost vezave miRNA na tarčo ali njeno zorjenje v zrelo miRNA (27). Nukleozidne modifikacije 5'-konca pre-miRNA (primer je O-metilacija, ob dodatku metilne skupine na 2-hidroksi mesto riboze nastane metoksi skupina) pa lahko vodijo v moteno procesiranje z encimom Dicer (28).

Izražanje miRNA kaže visoko časovno in prostorsko dinamiko. Motnje vzorca tako vodijo v številne motnje in bolezenska stanja, med njimi tudi v duševne motnje (29).

2.2 Metilacija DNA

Metilacija DNA je proces dodajanja metilne skupine na mesto 5C citozina, ki jo katalizirajo DNA-metiltransferaze in je najpogostejša epigenetska sprememba pri sesalcih. Družino DNA-metiltransferaz sestavljajo DNA-metiltransferaza 1, 3A in 3B. DNA-metiltransferaza 1 je odgovorna za vzdrževanje že obstoječega vzorca metilacije, medtem ko DNA-metiltransferazi 3A in 3B sodelujeta tudi pri *de novo* metilaciji še prej nemetilirane DNA (30). Zaradi kovalentne vezave metilne skupine na citozin je metilirano stanje precej stabilno. Donor metilne skupine je S-adenozilmetionin (31). Metilirani citozini se večinoma nahajajo v dinukleotidnem zaporedju citozin – fostat – gvanozin (CpG). V človeškem genomu jih je

28 milijonov, od tega je 80 % metiliranih. Regije, bogate z zaporedji CpG, imenujemo CpG-otočki. V človeškem genomu se nahaja približno 45.000 CpG-otočkov. Običajno so dolgi 1000 do 2000 baz in ležijo v promotorskih regijah. CpG-otočki običajno niso metilirani in služijo kot vezavna mesta za transkripcijske dejavnike. Vezavna mesta za transkripcijske dejavnike se nahajajo po celotnem genomu, a so z izjemo CpG-otočkov v promotorskih regijah običajno metilirana (32). Dodajanje metilne skupine spremeni biofizikalne lastnosti DNA. Posledica metilacije DNA je znižanje izražanja genov, saj je zaradi metilne skupine onemogočena vezava aktivatorjev prepisovanja. Drug mehanizem znižanja izražanja je rekrutacija CpG-metil vezavnih proteinov, ki se vežejo na DNA, nanje pa se vežejo transkripcijski korepresorji. Poznani pa so tudi mehanizmi demetilacije, ki so lahko aktivni ali pasivni. Aktivna demetilacija poteka ob delovanju encimov iz družine TET (encimi, poimenovani po translokaciji med 10. in 11. kromosomom, *angl.* ten-eleven translocation) in TDG (timin DNA glikozilaza), ki metilirane citozine preko procesa oksidacije, izrezovanja oksidiranih oblik metilcitozina in dodatnih popravljalnih mehanizmov zamenjajo z nemetiliranimi citozini. Pri pasivni demetilaciji pa se ob pomnoževanju DNA citozini novonastale verige ne metilirajo. Metilacija je normalno in nujno stanje celice, zato lahko motnje uravnavanja vzorca metilacije vodijo v poškodbe DNA in bolezenska stanja (33,34). V centralnem živčnem sistemu je metilacija DNA ključna za osnovne celične procese in kompleksna vedenja, predvsem za sinaptično plastičnost, ki vpliva na spomin in učenje ter druge kognitivne procese. Metilacija DNA je vpletena v dinamične spremembe v izražanju genov, ki so potrebne za dolgotrajne spremembe v

plastičnosti. Tako naj bi bila med drugim povezana s shizofrenijo, odvisnostjo, depresijo, motnjami, povezanimi s stresom, in samomorilnim vedenjem (35). Nekaj zdravil za nevropsihiatrične motnje, ki so že v uporabi, kaže svoj vpliv tudi na spremembo vzorca metilacije (36). Študije so bile opravljene predvsem na živalskih modelih in humanih celičnih linijah, kažejo pa vpletenost zdravil pri zdravljenju bipolarnih motenj, shizofrenije in depresije (olanzapin (37,38), litij (39), triciklična antidepresiva amitriptilin (40,41) in imipramin (42), escitalopram (43), in natrijev butirat (44)).

2.3 Histoni in modifikacije histonov

Histoni so osnovni gradniki jedrnega kromatina; predstavljajo proteinsko osnovo, okoli katere se navije DNA in tako skupaj tvorijo nukleosom. Posamezen nukleosom je sestavljen iz osmih histonskih podenot (dva histona H₂A, H₂B, H₃ in H₄), okoli katerih se navije 147 baznih parov dolg odsek DNA, ter enega povezovalnega histona H₁. Z izjemo H₁ imajo histoni globulni centralni del in N-terminalni rep različnih dolžin, na katerem so prisotne posttranslacijske modifikacije aminokislinskih ostankov (45). Zgradbo nukleosomov sta prva predpostavila Kornberg in Thomas (1974) kot heteromer, sestavljen iz dveh H₃-H₄ enot, ob dveh straneh pa se pripenja še dimer H₂A-H₂B (46). Globulni centralni del histona sestavljajo trije alfa heliksi, ki so med seboj povezani z dvema zankama (47). DNA se na histone veže s fosfodiestrskim ogrodjem. Vezava poteka preko treh do šestih vodikovih vezi in tako ni odvisna od zaporedja baz DNA (48). Histoni kažejo visoko evolucijsko ohranjenost, a kljub temu obstajajo v več oblikah z razlikami v delovanju in stabilnosti histonov. H₃ in H₄ sta visoko

ohranjena z redkimi variacijami. Histon z najvišjim številom različnih oblik je H₂A. Te se ločijo glede na C-terminalni rep in lokacijo v genomu (49).

Aminokislinski ostanki, ki sestavljajo N-terminalni rep histona, so izpostavljeni številnim posttranslacijskim modifikacijam, ki so vpletene v procese mitoze, mejoze, transkripcijske aktivacije in represije transkripcije, popravilu DNA ter spreminjanju strukture kromatina. Med njimi so najpogostejše in najbolj preučevane acetilacija in metilacija lizinov in argininov, fosforilacija serinov in treoninov, ubikvitinacija in sumoilacija lizinov in ADP-ribozilacija (50).

Modifikacije katalizirajo številni encimi, ki se v grobem delijo v družine histonskih acetiltransferaz, histonskih deacetilaz, histonskih metiltransferaz in histonskih kinaz. Številni encimi kažejo visoko stopnjo specifičnosti za aminokislino na natančno določeni poziciji v N-terminalnem repu (51). Nekatera zdravila, ki se uporabljajo pri zdravljenju duševnih motenj, inhibirajo histonske deacetilaze. Primer sta valproat in valproična kislina, ki se uporabljata pri zdravljenju bipolarnih motenj in kot dopolnilno zdravljenje shizofrenije. Potekajo tudi številne predklinične in klinične študije, ki preučujejo delovanje inhibitorjev histonskih deacetilaz na zdravljenje depresije (poleg prej omenjenih učinkovin tudi natrijev butirat, voriostat, entinostat in drugi) (52-56).

Poznamo dva glavna mehanizma, s katerima histonske modifikacije preko strukture in funkcije kromatina kažejo epigenetski vpliv. Prvi mehanizem, ki poteka preko spremembe naboja, vključuje acetilacijo in fosforilacijo N-terminalnih repov, pri čemer modifikaciji nevtralizirata pozitivni naboj histona, kar spremeni afiniteto vezave negativno nabite DNA in razrahlja vezavo (57). Drugi mehanizem pa je delovanje posttransla-

cijskih modifikacij histona, ki povzročijo nastanek prepoznavnih mest za vezavo in interakcijo dodatnih proteinov (51).

Vsaka posamezna modifikacija histonov igra svojo vlogo, hkrati pa so pomembne tudi njihove kombinacije. Pravilno zaporedje oziroma sočasnost specifičnih modifikacij vodi v spremembo stanja kromatina, modifikacije pa se lahko nahajajo znotraj enega histona ali kot kombinacija različnih histonov.

Označevalci odprtega in transkripcijsko aktivnega kromatina so acetilacija in trimetilacija lizina 4, lizina 36 in lizina 79 na histonu 3. Obratno so z nižanim izražanjem povezane znižana stopnja acetilacije in visoka stopnja metilacije lizina 9 in lizina 27 na histonu 3 ter lizina 20 na histonu 4 (58). Učinek modifikacije pa je vsekakor odvisen tudi od razmer, v katerih se celica nahaja, in kombinacije ostalih epigenetskih modifikacij. Primer je raznolik vpliv metilacije lizinov na histonu 3. Metilacija lizina 9 običajno deluje zaviralno na izražanje, lahko pa tudi aktivira izražanje genov, ki se nahajajo v bližini histona. Ravno tako lahko acetilacija aktivira ali zavre izražanje gena, kar je odvisno od ostalih prisotnih modifikacij (51,57). Prepisovanje genov tako ni odvisno le od ene prisotne modifikacije, temveč od končnih razmer in trenutnih kombinacij modifikacij. Histonske modifikacije so že bile povezane s številnimi bolezenskimi stanji (59), med drugimi tudi z depresijo, shizofrenijo in bipolarno motnjo (60).

3 Epigenetika samomorilnega vedenja

3.1 Samomor in miRNA

Možganski nevrotrofni dejavnik (*angl.* brain-derived neurotrophic factor, BDNF) in njegov receptor TrkB (*angl.*

tropomyosin receptor kinase B) so pogosto preučevali v povezavi z duševnimi motnjami; študije kažejo znižano izražanje receptorja pri žrtvah samomora. Maussion in sodelavci (2012) so opravili analizo izražanja miRNA v prefrontalnem korteksu (Brodmannovo področje 10) pri moških kontrolnih osebah in žrtvah samomora s prej potrjenim znižanim izražanjem TrkB-T1 (TrkB-T1 je poseben receptor brez tirozinske kinaze, izražen predvsem v astrocitih; gre za eno od treh izoform gena *NTRK2* (*angl.* neurotrophic receptor tyrosine kinase 2)). Opazili so zvišano izražanje hsa-miR-185* (komplementarna miRNA veriga) in hsa-miR-491-3p pri žrtvah samomora z znižanim izražanjem TrkB-T1. S pomočjo računalniškega modeliranja so *in silico* identificirali pet možnih vezavnih mest na 3'-neprevedeni regiji TrkB-T1 mRNA, preko katerih se hsa-miR-185* lahko veže nanjo, za hsa-miR-491-3p pa niso našli nobenega. Zvišanost hsa-miR-185* v prefrontalnem korteksu žrtev samomora so potrdili še na večji, naključno izbrani skupini žrtev samomora, pri kateri so ravno tako ugotovili negativno korelacijo z izražanjem TrkB-T1. Rezultate analize so želeli ponoviti na malih možganih, vendar niso opazili korelacije, kar kaže na specifično izražanje te vrste miRNA (61).

Globalno znižano izražanje miRNA so opazili pri depresivnih žrtvah samomora v prefrontalnem korteksu (Brodmannovo področje 9). Izražanje enaindvajsetih miRNA je bilo statistično značilno znižano, miRNA so bile pogosto vpletene v celično diferenciacijo in rast (hsa-miR-142-5p, hsa-miR-13, hsa-miR-489, hsa-miR-148b, hsa-miR-101, hsa-miR-324-5p, hsa-miR-301a, hsa-miR-146a, hsa-miR-335, hsa-miR-494, hsa-miR-20b, hsa-miR-376a*, hsa-miR-190, hsa-miR-155, hsa-miR-660, hsa-miR-130a, hsa-miR-27a,

hsa-miR-497, hsa-miR-10a, hsa-miR-20a in hsa-miR-142-3p). Za nekatere od naštetih miRNA so že poznane validirane tarče v podatkovni zbirki miRecords, dostopni na spletnem naslovu <http://c1.accurascience.com/miRecords/>. Med validirane tarče spadajo številni transkripcijski in rastni dejavniki (hsa-miR-137 E2F6 (E2 faktor 6) (62)), proteini, vključeni v sinaptično plastičnost, in živčni prenašalci, DNA-metiltransferaza (hsa-miR-148b (63)), jedrni proteini; tudi transmembranski proteini in proteini, vpleteni v signalizacijo hsa-miR-137 CDK6 (od ciklina odvisna kinaza 6) (62). Skupina devetindvajsetih miRNA pa je kazala visoko stopnjo koregulacije izražanja v skupini žrtev samomora, v skupini kontrolnih oseb pa ne, kar nakazuje na dodatno reorganizacijo poti miRNA (64,65).

Lopez in sodelavci (2014) so v predhodnih raziskavah potrdili vpletenost poliaminskega sistema v samomorilno vedenje. Poliaminski sistem je vpleten v številne celične procese, predvsem v modulacijo celičnega cikla in ionskih kanalov ter odziva na stres. Zaradi svoje kationske narave lahko predstavniki poliaminskega sistema (putreskin, spermin, spermidin in agmatin) medsebojno delujejo z negativno nabito DNA in tako vplivajo na izražanje genov (66). Pri žrtvah samomora se pojavi znižano izražanje gena *SAT1* (spermidin/spermin N1-acetiltransferaza 1) in *SMOX* (spermin oksidaza). Z dodatno raziskavo so želeli preveriti, ali na znižano izražanje obeh genov v prefrontalnem korteksu (Brodmannovo področje 44) pri depresivnih žrtvah samomora vpliva uravnavanje z miRNA. Preučili so izražanje desetih miRNA (miR-124a, miR-139-5p, miR-195, miR-198, miR-320c, miR-33b, miR-34a, miR-34c-5p, miR-497 in miR-873), določenih na podlagi računalniške analize, ki so imele ustrezna

zaporedja za vezavo na 3'-neprevedeno regijo mRNA obeh genov. Pri žrtvah samomora so opazili zvišano izražanje štirih miRNA (miR-34c-5p, miR-139-5p, miR-195 in miR-320c). Te miRNA so do sedaj že preučevali na področju rakavih bolezni in nevrodegenerativnih motenj. Ugotovili so tudi negativno korelacijo med izražanjem genov in dvema miRNA (*SAT1* – miR-34c-5p in miR-320c ter *SMOX* – miR-139-5p in miR-320c). Oba preiskovana gena kažeta negativno korelacijo z miR-320c, ki je po podatkih miR-Base edina evolucijsko slabo ohranjena miRNA in je tako izražena le pri višjih primatih (67).

Izražanje *SAT1* pri žrtvah samomora in depresiji so preučevali tudi Pantazatos in sodelavci (2017). Med kontrolnimi osebami, žrtvami samomora z depresijo in pri osebah z depresijo, ki niso umrle za posledicami samomora, niso opazili razlik glede izražanja miRNA v prefrontalnem korteksu (Brodmannovo področje 9). V obeh skupinah oseb z depresijo so sicer opazili nizko izražanje *SAT1*, vendar to ni posledica miRNA (68). Delo so nadaljevali na istih skupinah preiskovancev in možganski regiji, za katero so s sekvenciranjem celotnega transkriptoma RNA zaznali spremembe v izražanju petintridesetih genov. Na delu preiskovancev so s sekvenciranjem preverili tudi izražanje miRNA, s katerim pa niso zaznali nobenih sprememb na ravni izražanja miRNA (69).

Z nedavno opravljeno študijo pa so pokazali spremenjeno izražanje miRNA v regiji *locus coeruleus*, tj. regiji možganskega debla, kjer se sintetizira večina noradrenalina v možganih. Primerjava med kontrolnimi osebami in žrtvami samomora z depresijo je pokazala trinajst miRNA s spremenjenim izražanjem. Od tega jih je bilo pri žrtvah samomora z depresijo deset zvišano izraženih (hsa-miR-17-5p, hsa-miR-20b-5p, hsa-miR-

-106a-5p, hsa-miR-330-3p, hsa-miR-541-3p, hsa-miR-582-5p, hsa-miR-890, hsa-miR-99b-3p, hsa-miR-550-5p in hsa-miR-1179), pri treh pa je bilo izražanje znižano (hsa-miR-409-5p, hsa-let-7g-3p in hsa-miR-1197). S pomočjo računalniškega modeliranja so *in silico* poiskali potencialne tarče, na katere bi se miRNA lahko vezale in jih skupaj s pripadajočimi miRNA uvrstili v kompleksno regulacijsko mrežo. Ta je vsebovala poti, ki so pogosto vpletene v depresijo in samomorilno vedenje: signalizacija protein kinaze A, fosfolipaze C, glukokortikoidov, signalna pot ERK/MAPK (*angl.* mitogen-activated protein kinase) nevrotrufni dejavniki, GABAergična signalizacija in glutamatergična signalizacija. Rezultate računalniško pridobljene regulacijske mreže so preverili na vzorcih, na katerih so testirali izražanje nekaterih predvidenih tarčnih genov, ki so kodirali proteine. Izražanje naslednjih genov, povezanih z depresijo in samomorilnostjo, je bilo pri žrtvah samomora znižano: *RELN* (relin), *GSK-3 β* (glikogen sintaza kinaza 3 β), *MAOA* (monoamin oksidaza A), *CHRM1* (muskarinski acetilholinski receptor M1) in *PLCB1* (1-fosfatidilinozitol-4,5-bifosfat fosfodiesteraza beta-1) (70).

3.2 Samomor in metilacija DNA

Nekatere študije po smrti, opravljene na možganih žrtev samomora, kažejo na povezavo med epigenetskimi spremembami in samomorilnim vedenjem. Z razvojem sekvenciranja naslednje generacije, ki omogoča masovno vzporedno določanje zaporedij DNA, je sekvenciranje DNA postalo hitrejše in dostopnejše (71). Prav to je omogočilo študije globalnega vzorca metilacije. Labonte in sodelavci (2013) so preučevali vzorce metilacije hipokampusu in pri žrtvah sa-

momora prepoznali 366 promotorskih regij, ki so imele drugačen vzorec metilacije kot kontrolne osebe, bodisi hipotalami ali hipermetiliran. Številni promotorji so pripadali genom, vpletenim v kognitivne funkcije (72). Z analizo globalne metilacije ventralnega prefrontalnega korteksa pri žrtvah samomora z depresijo so pokazali zvišano stopnjo metilacije kot pri kontrolnih osebah (73). Schneider in sodelavci (2015) so pri moških žrtvah samomora preiskovali vzorec metilacije v prefrontalnem korteksu. Žrtve samomora so imele nižjo celokupno stopnjo metilacije preko celotne DNA, pri primerjavi različno metiliranih regij pa so pri žrtvah samomora opazili višjo stopnjo metilacije kot pri kontrolnih osebah (74). V drugi študiji so pri depresivnih žrtvah samomora preučevali astrocitne označevalce; to so geni z zvišanim izražanjem v astrocitih, zvezdasto oblikovanih celicah glia. Ob pregledu metilacije preko celotnega genoma so v prefrontalnem korteksu opazili znižano stopnjo metilacije različno metiliranih regij DNA pri depresivnih žrtvah samomora (7).

Z drugimi študijami so se raziskovalci usmerili v preučevanje vzorca metilacije izbranih kandidatnih genov. Ena prvih študij je bila opravljena na slovenskih preiskovancih. Ob preučevanju stopnje metilacije promotorja *BDNF* v Wernickovem področju so pri žrtvah samomora opazili zvišano stopnjo metilacije nekaterih CpG-dinukleotidov. Zvišana stopnja metilacije se je odlikavala v znižanem izražanju *BDNF* mRNA (75).

S študijami so pokazali še zvišano stopnjo metilacije promotorja rRNA (ribosomalna RNA) v hipokampusu (76), promotorja *HTR2A* (serotoninski receptor tipa 2A) v frontalnem režnju (77) in promotorja gena za TrkB v frontalnem korteksu (78) pri žrtvah samomora.

Metilacija je tkivno specifična, zato se vzorec metilacije preučuje v najbolj relevantnem tkivu za bolezen. To je tudi ena večjih omejitev epigenetskih študij duševnih motenj, saj se izvajajo na vzorcih različnih možganskih regij, odvzetih po smrti; torej je preučevanje mogoče šele po smrti. V študije tako vključujejo tudi periferna tkiva, kot je kri, ki je lažje dostopna. Namen takih preiskav je razjasniti, kako se procesi centralnega živčnega sistema odlikavajo na krvi. Pri globalni analizi metilacije zdravih preiskovancev so opazili posamezne korelacije metiliranosti med možganskimi regijami in krvjo pri posameznikih (79).

Korelacijo metilacijskega stanja citozinov med možgani in krvjo so opazili tudi na živalskem modelu. Metilacijski status določenih mest v krvi bi tako lahko deloval kot biooznačevalec in kot tak imel veliko vrednost za klinično uporabo v prihodnosti (80).

3.3 Samomor in modifikacije histonov

Na področju problematike samomorilnega vedenja v povezavi z modifikacijami histonov je bilo do sedaj opravljenih le nekaj študij. Ernst in sodelavci (2009) so na podlagi rezultatov živalskih modelov depresije preučevali metilacijo lizina 27 na histonu 3 (H₃K₂₇) TrkB-T1 v orbitalnem frontalnem korteksu (Brodmannovo področje 10; BA10) in malih možganih. Pri žrtvah samomora so opazili zvišano stopnjo metilacije lizina 27 na histonu 3 v področju BA10. Metilacija lizina je negativno korelirala z izražanjem TrkB-T1 (81).

Fiori in sodelavci (2010) so preučevali histonske modifikacije v povezavi s poliaminskim sistemom. Pri dveh genih, SMS (spermin sintaza) and SMOX, so poleg polimorfizmov promotorske regije in vzorca metilacije DNA preučili tudi

stopnjo metilacije lizina 27 na histonu 3 v prefrontalnem korteksu (Brodmannovo področje 8 in 9; BA8 in BA9). Razlik med stopnjo metilacije lizina 27 na histonu v promotorski regiji obeh genov med žrtvami samomora in kontrolnimi osebami niso opazili. Prav tako niso ugotovili povezave med metilacijo lizina in izražanjem genov ali metilacijo DNA (82).

Delo so nadaljevali na SAT1, za katero so v predhodnih študijah opazili znižano izražanje mRNA. Stopnja trimetilacije lizina 27 na histonu 3 se v prefrontalnem korteksu (BA9 in BA10) žrtev samomora in kontrolnih oseb ni razlikovala, prav tako niso opazili povezave z znižanim izražanjem SAT1 (83).

V frontalnem korteksu (Brodmannovo področje 44) so na podlagi predhodne ugotovitve zvišanega izražanja štirih poliaminskih genov preučevali še trimetilacijo lizina 4 na histonu 3 za naslednje gene: ARG2 (arginaza II), AMD1 (S-adenozilmetionin dekarboksilaza), OAZ1 in OAZ2 (ornitin dekarboksilaza antincim 1 in 2). Zvišano stopnjo trimetilacije lizina 4 na histonu 3 so potrdili za OAZ1 pri žrtvah samomora (84).

4 Zaključek

Področje samomorilnega vedenja zaradi svoje kompleksnosti še vedno ni celostno preučeno. Razvoj novih tehnologij je omogočil preučevanje epigenetskih sprememb, ki skupaj z že bolje preučeni genetskim ozadjem tvori jasnejšo sliko dednih dejavnikov samomorilnega vedenja. Raziskave kažejo visoko prepletenost prostorskega in časovnega uravnavanja izražanja miRNA, metilacije DNA in posttranslacijskih modifikacij histonov. Te tvorijo obširne regulacijske mreže, ki lahko spreminjajo celično signalizacijo in tako prispevajo k pojavi psihopatologij. Zaradi dinamične narave epigenoma bi se nanj teoretično

dalo vplivati in ga spreminjati; epigenom je tako potencialna tarča za farmakologijo. Čeprav lahko s preučevanjem epigenetike razložimo le del sprememb v izražanju genov, so te vseeno pomemben košček mozaika biološkega ozadja duševnih motenj.

5 Zahvala

Delo je nastalo v okviru raziskovalnega programa št. P1-0390, projekta št. J3-7132 in projekta mladi raziskovalec, ki jih je sofinancirala Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije iz državnega proračuna.

Literatura

1. World Health Organization. Mental health action plan 2013–2020 2013 [cited 2017 Jul 4]. Available from: http://www.who.int/mental_health/publications/action_plan/en/
2. Chesney E, Goodwin GM, Fazel S. Risks of all-cause and suicide mortality in mental disorders: a meta-review. *World Psychiatry*. 2014 Jun;13(2):153–60.
3. Bondy B, Buettner A, Zill P. Genetics of suicide. *Mol Psychiatry*. 2006 Apr;11(4):336–51.
4. Sadkowski M, Dennis B, Clayden RC, Elsheikh W, Rangarajan S, Dejesus J, et al. The role of the serotonergic system in suicidal behavior. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2013;9:1699–716.
5. Varga G, Szekely A, Sasvari-Szekely M. Candidate gene studies of dopaminergic and serotonergic polymorphisms. *Neuropsychopharmacologia Hungarica : a Magyar Pszichofarmakologiai Egyesulet lapja = official journal of the Hungarian Association of Psychopharmacology*. 2011;13(2):93–101.
6. Kim YK, Hwang JA, Lee HJ, Yoon HK, Ko YH, Lee BH, et al. Association between norepinephrine transporter gene (SLC6A2) polymorphisms and suicide in patients with major depressive disorder. *J Affect Disord*. 2014 Apr;158:127–32.
7. Nagy C, Suderman M, Yang J, Szyf M, Mechawar N, Ernst C, et al. Astrocytic abnormalities and global DNA methylation patterns in depression and suicide. *Mol Psychiatry*. 2015 Mar;20(3):320–8.
8. Pregelj P, Nedic G, Paska AV, Zupanc T, Nikolac M, Balažic J, et al. The association between brain-derived neurotrophic factor polymorphism (BDNF Val66Met) and suicide. *J Affect Disord*. 2011 Feb;128(3):287–90.
9. Pungercic G, Videtic A, Pestotnik A, Pajnic IZ, Zupanc T, Balazic J, et al. Serotonin transporter gene promoter (5-HTTLPR) and intron 2 (VNTR) polymorphisms: a study on Slovenian population of suicide victims. *Psychiatr Genet*. 2006 Oct;16(5):187–91.
10. Uršič K, Zupanc T, Paska AV. Analysis of promoter polymorphism in monoamine oxidase A (MAOA) gene in completed suicide on Slovenian population. *Neurosci Lett*. 2018 Apr;673:111–5.
11. Videtic A, Peternej TT, Zupanc T, Balazic J, Komel R. Promoter and functional polymorphisms of HTR2C and suicide victims. *Genes Brain Behav*. 2009 Jul;8(5):541–5.
12. Videtic A, Zupanc T, Pregelj P, Balazic J, Tomori M, Komel R. Suicide, stress and serotonin receptor 1A promoter polymorphism -1019C>G in Slovenian suicide victims. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2009 Jun;259(4):234–8.
13. Zupanc T, Pregelj P, Paska AV. Tryptophan hydroxylase 2 (TPH 2) single nucleotide polymorphisms, suicide, and alcohol-related suicide. *Psychiatr Danub*. 2013 Sep;25 Suppl 2:S332–6.
14. Zupanc T, Pregelj P, Tomori M, Komel R, Paska AV. TPH2 polymorphisms and alcohol-related suicide. *Neurosci Lett*. 2011 Feb;490(1):78–81.
15. van Vliet J, Oates NA, Whitelaw E. Epigenetic mechanisms in the context of complex diseases. *Cell Mol Life Sci*. 2007 Jun;64(12):1531–8.
16. Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet*. 2003 Mar;33(3s Suppl):245–54.
17. Ambros V. microRNAs: tiny regulators with great potential. *Cell*. 2001 Dec;107(7):823–6.
18. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993 Dec;75(5):843–54.
19. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 2000 Feb;403(6772):901–6.
20. miRBase database: University of Manchester; [cited 2017 4 Jul]. Available from: <http://www.mirbase.org>
21. Millar AA, Waterhouse PM. Plant and animal microRNAs: similarities and differences. *Funct Integr Genomics*. 2005 Jul;5(3):129–35.
22. Lee Y, Jeon K, Lee JT, Kim S, Kim VN. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *EMBO J*. 2002 Sep;21(17):4663–70.
23. Friedman RC, Farh KK, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*. 2009 Jan;19(1):92–105.
24. Kawamata T, Seitz H, Tomari Y. Structural determinants of miRNAs for RISC loading and slicer-independent unwinding. *Nat Struct Mol Biol*. 2009 Sep;16(9):953–60.

25. Okamura K, Phillips MD, Tyler DM, Duan H, Chou YT, Lai EC. The regulatory activity of microRNA* species has substantial influence on microRNA and 3' UTR evolution. *Nat Struct Mol Biol.* 2008 Apr;15(4):354–63.
26. Hu HY, Yan Z, Xu Y, Hu H, Menzel C, Zhou YH, et al. Sequence features associated with microRNA strand selection in humans and flies. *BMC Genomics.* 2009 Sep;10(1):413.
27. Sun G, Yan J, Noltner K, Feng J, Li H, Sarkis DA, et al. SNPs in human miRNA genes affect biogenesis and function. *RNA.* 2009 Sep;15(9):1640–51.
28. Xhemalce B, Robson SC, Kouzarides T. Human RNA methyltransferase BCDIN3D regulates microRNA processing. *Cell.* 2012 Oct;151(2):278–88.
29. Li Y, Kowdley KV. MicroRNAs in common human diseases. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2012 Oct;10(5):246–53.
30. Bestor TH. The DNA methyltransferases of mammals. *Hum Mol Genet.* 2000 Oct;9(16):2395–402.
31. Prokhorchouk E, Defossez PA. The cell biology of DNA methylation in mammals. *Biochim Biophys Acta.* 2008 Nov;1783(11):2167–73.
32. Illingworth RS, Bird AP. CpG islands—'a rough guide'. *FEBS Lett.* 2009 Jun;583(11):1713–20.
33. Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev.* 2002 Jan;16(1):6–21.
34. Kohli RM, Zhang Y. TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation. *Nature.* 2013 Oct;502(7472):472–9.
35. Gräff J, Mansuy IM. Epigenetic codes in cognition and behaviour. *Behav Brain Res.* 2008 Sep;192(1):70–87.
36. Pidsley R, Mill J. Epigenetic studies of psychosis: current findings, methodological approaches, and implications for postmortem research. *Biol Psychiatry.* 2011 Jan;69(2):146–56.
37. Mill J, Tang T, Kaminsky Z, Khare T, Yazdanpanah S, Bouchard L, et al. Epigenomic profiling reveals DNA-methylation changes associated with major psychosis. *Am J Hum Genet.* 2008 Mar;82(3):696–711.
38. Melka MG, Castellani CA, Rajakumar N, O'Reilly R, Singh SM. Olanzapine-induced methylation alters cadherin gene families and associated pathways implicated in psychosis. *BMC Neurosci.* 2014 Sep;15(1):112.
39. Asai T, Bundo M, Sugawara H, Sunaga F, Ueda J, Tanaka G, et al. Effect of mood stabilizers on DNA methylation in human neuroblastoma cells. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2013 Nov;16(10):2285–94.
40. Perisic T, Zimmermann N, Kirmeier T, Asmus M, Tuorto F, Uhr M, et al. Valproate and amitriptyline exert common and divergent influences on global and gene promoter-specific chromatin modifications in rat primary astrocytes. *Neuropsychopharmacology.* 2010 Feb;35(3):792–805.
41. Zimmermann N, Zschocke J, Perisic T, Yu S, Holsboer F, Rein T. Antidepressants inhibit DNA methyltransferase 1 through reducing G9a levels. *Biochem J.* 2012 Nov;448(1):93–102.
42. Le François B, Soo J, Millar AM, Daigle M, Le Guisquet AM, Leman S, et al. Chronic mild stress and antidepressant treatment alter 5-HT1A receptor expression by modifying DNA methylation of a conserved Sp4 site. *Neurobiol Dis.* 2015 Oct;82:332–41.
43. Melas PA, Rogdaki M, Lennartsson A, Björk K, Qi H, Witasz A, et al. Antidepressant treatment is associated with epigenetic alterations in the promoter of P11 in a genetic model of depression. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2012 Jun;15(5):669–79.
44. Wei Y, Melas PA, Wegener G, Mathé AA, Lavebratt C. Antidepressant-like effect of sodium butyrate is associated with an increase in TET1 and in 5-hydroxymethylation levels in the Bdnf gene. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2014 Oct;18(2):pyu032.
45. Sun H, Kennedy PJ, Nestler EJ. Epigenetics of the depressed brain: role of histone acetylation and methylation. *Neuropsychopharmacology.* 2013 Jan;38(1):124–37.
46. Kornberg RD, Thomas JO. Chromatin structure; oligomers of the histones. *Science.* 1974 May;184(4139):865–8.
47. Arents G, Moudrianakis EN. The histone fold: a ubiquitous architectural motif utilized in DNA compaction and protein dimerization. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995 Nov;92(24):11170–4.
48. Davey CA, Sargent DF, Luger K, Maeder AW, Richmond TJ. Solvent mediated interactions in the structure of the nucleosome core particle at 1.9 Å resolution. *J Mol Biol.* 2002 Jun;319(5):1097–113.
49. Mariño-Ramírez L, Kann MG, Shoemaker BA, Landsman D. Histone structure and nucleosome stability. *Expert Rev Proteomics.* 2005 Oct;2(5):719–29.
50. Rothbart SB, Strahl BD. Interpreting the language of histone and DNA modifications. *Biochim Biophys Acta.* 2014 Aug;1839(8):627–43.
51. Peterson CL, Laniel MA. Histones and histone modifications. *Curr Biol.* 2004 Jul;14(14):R546–51.
52. Kazantsev AG, Thompson LM. Therapeutic application of histone deacetylase inhibitors for central nervous system disorders. *Nat Rev Drug Discov.* 2008 Oct;7(10):854–68.
53. Wang Y, Xia J, Helfer B, Li C, Leucht S. Valproate for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016 Nov;11:CD004028.
54. Miśtak P, Pańczyszyn-Trzewik P, Sowa-Kućma M. Histone deacetylases (HDACs) as therapeutic target for depressive disorders. *Pharmacol Rep.* 2018 Apr;70(2):398–408.
55. Machado-Vieira R, Ibrahim L, Zarate CA Jr. Histone deacetylases and mood disorders: epigenetic programming in gene-environment interactions. *CNS Neurosci Ther.* 2011 Dec;17(6):699–704.
56. Fuchikami M, Yamamoto S, Morinobu S, Okada S, Yamawaki Y, Yamawaki S. The potential use of histone deacetylase inhibitors in the treatment of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2016 Jan;64:320–4.
57. Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. *Nature.* 2000 Jan;403(6765):41–5.
58. Li B, Carey M, Workman JL. The role of chromatin during transcription. *Cell.* 2007 Feb;128(4):707–19.

59. Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol.* 2010 Oct;28(10):1057–68.
60. Nestler EJ, Peña CJ, Kundakovic M, Mitchell A, Akbarian S. Epigenetic Basis of Mental Illness. *Neuroscientist.* 2016 Oct;22(5):447–63.
61. Maussion G, Yang J, Yerko V, Barker P, Mechawar N, Ernst C, et al. Regulation of a truncated form of tropomyosin-related kinase B (TrkB) by Hsa-miR-185* in frontal cortex of suicide completers. *PLoS One.* 2012;7(6):e39301.
62. Kozaki K, Imoto I, Mogi S, Omura K, Inazawa J. Exploration of tumor-suppressive microRNAs silenced by DNA hypermethylation in oral cancer. *Cancer Res.* 2008 Apr;68(7):2094–105.
63. Duursma AM, Kedde M, Schrier M, le Sage C, Agami R. miR-148 targets human DNMT3b protein coding region. *RNA.* 2008 May;14(5):872–7.
64. Smalheiser NR, Lugli G, Rizavi HS, Torvik VI, Turecki G, Dwivedi Y. MicroRNA expression is down-regulated and reorganized in prefrontal cortex of depressed suicide subjects. *PLoS One.* 2012;7(3):e33201.
65. Xiao F, Zuo Z, Cai G, Kang S, Gao X, Li T. miRecords: an integrated resource for microRNA-target interactions. *Nucleic Acids Res.* 2009 Jan;37(Database issue):D105–10.
66. Fiori LM, Turecki G. Implication of the polyamine system in mental disorders. *J Psychiatry Neurosci.* 2008 Mar;33(2):102–10.
67. Lopez JP, Fiori LM, Gross JA, Labonte B, Yerko V, Mechawar N, et al. Regulatory role of miRNAs in polyamine gene expression in the prefrontal cortex of depressed suicide completers. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2014 Jan;17(1):23–32.
68. Pantazatos SP, Andrews SJ, Dunning-Broadbent J, Pang J, Huang YY, Arango V, et al. Isoform-level brain expression profiling of the spermidine/spermine N1-Acetyltransferase1 (SAT1) gene in major depression and suicide. *Neurobiol Dis.* 2015 Jul;79:123–34.
69. Pantazatos SP, Huang YY, Rosoklija GB, Dwork AJ, Arango V, Mann JJ. Whole-transcriptome brain expression and exon-usage profiling in major depression and suicide: evidence for altered glial, endothelial and ATPase activity. *Mol Psychiatry.* 2017 May;22(5):760–73.
70. Roy B, Wang Q, Palkovits M, Faludi G, Dwivedi Y. Altered miRNA expression network in locus coeruleus of depressed suicide subjects. *Sci Rep.* 2017 Jun;7(1):4387.
71. Shendure J, Ji H. Next-generation DNA sequencing. *Nat Biotechnol.* 2008 Oct;26(10):1135–45.
72. Labonté B, Suderman M, Maussion G, Lopez JP, Navarro-Sánchez L, Yerko V, et al. Genome-wide methylation changes in the brains of suicide completers. *Am J Psychiatry.* 2013 May;170(5):511–20.
73. Haghghi F, Xin Y, Chanrion B, O'Donnell AH, Ge Y, Dwork AJ, et al. Increased DNA methylation in the suicide brain. *Dialogues Clin Neurosci.* 2014 Sep;16(3):430–8.
74. Schneider E, El Hajj N, Müller F, Navarro B, Haaf T. Epigenetic Dysregulation in the Prefrontal Cortex of Suicide Completers. *Cytogenet Genome Res.* 2015;146(1):19–27.
75. Keller S, Sarchiapone M, Zarrilli F, Videtic A, Ferraro A, Carli V, et al. Increased BDNF promoter methylation in the Wernicke area of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry.* 2010 Mar;67(3):258–67.
76. McGowan PO, Sasaki A, Huang TC, Unterberger A, Suderman M, Ernst C, et al. Promoter-wide hypermethylation of the ribosomal RNA gene promoter in the suicide brain. *PLoS One.* 2008 May;3(5):e2085.
77. Abdolmaleky HM, Yaqubi S, Papageorgis P, Lambert AW, Ozturk S, Sivaraman V, et al. Epigenetic dysregulation of HTR2A in the brain of patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophr Res.* 2011 Jul;129(2-3):183–90.
78. Ernst C, Deleva V, Deng X, Sequeira A, Pomarenski A, Klempner T, et al. Alternative splicing, methylation state, and expression profile of tropomyosin-related kinase B in the frontal cortex of suicide completers. *Arch Gen Psychiatry.* 2009 Jan;66(1):22–32.
79. Davies MN, Volta M, Pidsley R, Lunnon K, Dixit A, Lovestone S, et al. Functional annotation of the human brain methylome identifies tissue-specific epigenetic variation across brain and blood. *Genome Biol.* 2012 Jun;13(6):R43.
80. Aberg KA, Xie LY, McClay JL, Nerella S, Vunck S, Snider S, et al. Testing two models describing how methylome-wide studies in blood are informative for psychiatric conditions. *Epigenomics.* 2013 Aug;5(4):367–77.
81. Ernst C, Chen ES, Turecki G. Histone methylation and decreased expression of TrkB.T1 in orbital frontal cortex of suicide completers. *Mol Psychiatry.* 2009 Sep;14(9):830–2.
82. Fiori LM, Turecki G. Genetic and epigenetic influences on expression of spermine synthase and spermine oxidase in suicide completers. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2010 Jul;13(6):725–36.
83. Fiori LM, Turecki G. Epigenetic regulation of spermidine/spermine N1-acetyltransferase (SAT1) in suicide. *J Psychiatr Res.* 2011 Sep;45(9):1229–35.
84. Fiori LM, Gross JA, Turecki G. Effects of histone modifications on increased expression of polyamine biosynthetic genes in suicide. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2012 Sep;15(8):1161–6.