

## AUTISMO Y EPIGENÉTICA. UN MODELO DE EXPLICACIÓN PARA LA COMPRENSIÓN DE LA GÉNESIS EN LOS TRASTORNOS DEL ESPECTRO AUTISTA

CLAUDIA ARBERAS<sup>1</sup>, VÍCTOR RUGGIERI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sección Genética Médica, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, <sup>2</sup>Servicio de Neurología,  
Hospital de Pediatría Prof. Dr. J. P. Garrahan, Buenos Aires

**Resumen** Los trastornos del espectro autista (TEA) se caracterizan por presentar compromiso en la integración social, el desarrollo del lenguaje e intereses restringidos. Se expresan durante la infancia y van variando su expresión clínica a lo largo de los años; estas variaciones pueden relacionarse a los abordajes terapéuticos, drogas utilizadas para modificar conductas y factores ambientales, entre otros. Hasta el momento, las diversas alteraciones genéticas identificadas no son suficientes para explicar la génesis de todos estos procesos, incluso muchas de las mutaciones encontradas también están presentes en personas no afectadas. A través de la comprensión de las bases biológicas y fisiopatológicas de entidades fuertemente asociadas a los TEA como los síndromes de Rett, Frágil X, Angelman y Alcohol fetal, entre otros, es que se ha jerarquizado el rol de los cambios epigenéticos en los trastornos del neurodesarrollo. Los fenómenos epigenéticos son procesos biológicos normales, necesarios para la vida de la célula y del individuo, muy especialmente vinculados con el desarrollo embrionario. Los fenómenos que comprometen los distintos procesos epigenéticos (alteraciones que cambian el funcionamiento o expresión de un gen, sin haber modificado la estructura del ADN) han demostrado también tener importancia en la génesis de los trastornos del neurodesarrollo. Las alteraciones del mecanismo epigenético pueden ser reversibles, lo que podría explicar la variación del fenotipo autista a lo largo del tiempo. En este trabajo analizaremos los mecanismos epigenéticos normales, los trastornos del espectro autista, su asociación con entidades específicas asociadas a mecanismos epigenéticos alterados y posibles abordajes terapéuticos relacionados a estas alteraciones.

**Palabras clave:** autismo, epigenética, síndrome de Rett, Frágil X, síndrome de Angelman

**Abstract** *Autism and epigenetic.* Autism spectrum disorders are characterized by impairment of social integration and language development and restricted interests. Autism spectrum disorders manifest during childhood and may have a varying clinical expression over the years related to different therapeutic approaches, behavior-modifying drugs, and environmental factors, among others. So far, the genetic alterations identified are not sufficient to explain the genesis of all these processes, as many of the mutations found are also present in unaffected individuals. Findings on the underlying biological and pathophysiological mechanisms of entities strongly associated with autism spectrum disorders, such as Rett, fragile X, Angelman, and fetal alcohol syndromes, point to the role of epigenetic changes in disorders of neurodevelopment. Epigenetic phenomena are normal biological processes necessary for cell and thus human life, especially related to embryonic development. Different phenomena that affect epigenetic processes (changes that change operation or expression of a gene, without modifying the DNA structure) have also been shown to be important in the genesis of neurodevelopmental disorders. Alterations in the epigenetic mechanism may be reversible, which may explain the variation in the autism phenotype over time. Here we analyze the normal epigenetic mechanisms, autism spectrum disorders, their association with specific entities associated with altered epigenetic mechanisms, and possible therapeutic approaches targeting these alterations.

**Key words:** autism, epigenetic, Rett syndrome, fragile X syndrome, Angelman syndrome

Los trastornos del espectro autista (TEA), se caracterizan por presentar compromiso en la integración social, el desarrollo del lenguaje, intereses restringidos y conductas estereotipadas. Afectan a 1 de cada 88 personas, siendo el desorden mental hereditario más frecuente, con un claro

predominio en varones (4/1)<sup>1</sup>. Se expresan durante la infancia y sus manifestaciones clínicas van variando a lo largo de los años, estas modificaciones fenotípicas pueden atribuirse, entre otros motivos, al propio crecimiento del niño y su desarrollo cerebral, ser el resultado de los abordajes terapéuticos (relacionado a la plasticidad cerebral), el producto de las drogas utilizadas para modificar conductas, e incluso a distintos factores ambientales.

Desde las descripciones de Kanner en 1943<sup>2</sup> y Asperger en 1944<sup>3</sup> las interpretaciones sobre la génesis

---

**Dirección postal:** Dr. Víctor L. Ruggieri, Servicio de Neurología, Hospital de Pediatría Prof. Dr. J.P.Garrahan, Combate de los Pozos 1881, 1245 Buenos Aires, Argentina

e-mail: victorruggieri@gmail.com

del autismo pasaron desde la inconsistente y dañina culpabilización a los padres, en especial al vínculo inicial de la madre con su niño, hasta las actualmente aceptadas bases neuropsicológicas, neurobiológicas y genéticas<sup>4,5</sup>. Sabemos que el autismo puede estar asociado a diversas enfermedades o síndromes conocidos, ser el fenotipo o expresión de cambios en el sistema nervioso central (SNC) consecuencia de un genotipo alterado específico o de agresiones tempranas del mismo.

Las bases genéticas se han fundado inicialmente en estudios en gemelos que mostraban diferencias significativas entre los dicigóticos respecto a los monocigóticos<sup>6-8</sup>. Si bien es claro que hay una base genética, hasta el momento las diversas alteraciones genéticas (mutaciones, inversiones, etc.) no parecen ser suficientes para explicar en su totalidad la génesis de estos procesos, las variaciones de expresión, aún intrafamiliar, incluso muchas de las mutaciones génicas encontradas en personas con TEA, también están presentes en personas con desarrollo típico. Es probable entonces, que trastornos relacionados a los mecanismos epigenéticos normales permitan comprender el porqué de la variabilidad de expresión, la mejoría o modificación de los síntomas.

El síndrome de Rett (SR), incluido en el DSM IVR, en los Trastornos Generalizados de Desarrollo (TGD), es la única entidad que tiene una base biológica identificada cuyo gen alterado es el MeCP2, responsable de la síntesis de la proteína *Metil CpG binding protein 2<sup>o</sup>*. Esta alteración proteica probablemente nos provea la mejor explicación sobre la importancia de la epigenética en los TGD, dado que esta proteína ejerce un rol modulador de otros genes que en su presencia están silenciados y que cumplen funciones vitales en el normal desarrollo cerebral, como se verá más tarde. A través de la comprensión de las bases biológicas y fisiopatológicas de entidades como los Síndromes de Rett, Frágil X, Angelman y alcohol fetal, entre otros, se ha jerarquizado el rol de los cambios epigenéticos en los trastornos del neurodesarrollo.

Los fenómenos epigenéticos son procesos biológicos normales, necesarios para la vida de la célula y del individuo, especialmente vinculados con el desarrollo embrionario. Así como alteraciones en el código genético, ej.: mutaciones o cambios en la secuencia de ADN pueden generar trastornos del espectro autista (TEA), fenómenos que comprometen los distintos procesos epigenéticos o epimutaciones (alteraciones que cambian el funcionamiento o expresión de un gen, sin haber modificado la secuencia del ADN) han demostrado también tener importancia en la génesis de los trastornos del neurodesarrollo. Es necesario remarcar que las alteraciones del mecanismo epigenético pueden ser congénitas o postnatales, adquiridas o heredables, reversibles o irreversibles. El objetivo de este trabajo es analizar los aspectos moleculares básicos relacionados con los cambios epigenéticos normales, vincular el compromiso de estos mecanismos

con trastornos del espectro autista, los posibles efectos ambientales en la génesis de los mismos, y por último puntualizar posibles tratamientos basados en los actuales conocimientos de la epigenética y el neurodesarrollo.

## Bases biológicas de la epigenética

La epigenética se define como “el estudio de las modificaciones en la transcripción de genes a través de la modulación de la cromatina, que no involucra cambios en la secuencia del ADN”; o como “el estudio de los cambios fenotípicos heredables que no implica mutaciones del ADN”<sup>10</sup>. La interacción del material genético y el ambiente es estudiada por la epigenética, término acuñado por Conrad H. Waddington en 1939<sup>11</sup>.

Los mecanismos epigenéticos incluyen: Modificaciones pos-transcripcionales de las histonas en el nucleosoma, metilación de citosinas del ADN, impronta genómica, interacción del MECP2 con otros genes, síntesis de microARN y distribución de la cromatina en el núcleo celular<sup>12</sup>.

Para la comprensión de estos fenómenos es necesario recordar que el ADN de las células eucarióticas se distribuye formando cuerpos llamados cromosomas. Durante la interfase, el mismo se encuentra expandido y es denominado cromatina.

Este ADN se encuentra asociado a un número de estructuras que le dan soporte, las histonas, las cuales le permiten ejercer sus funciones transcripcionales o actúan como represores del mismo<sup>13-18</sup>. El ADN se enrolla formando un rulo compuesto por 147 pares de bases sobre una estructura proteica de histonas (H2A, H2B, H3 y H4), las cuales se disponen espacialmente conformando octómeros. Cada una de estas histonas posee un N-terminal flexible de 19-39 residuos, denominados cola de la histona. Las modificaciones de las histonas (mecanismo epigenético de las mismas) se producen por diversos cambios post-transcripcionales, como la acetilación, metilación, fosforilación, y ubiquitinación. El estado de las colas de las histonas juega un rol relevante en definir la accesibilidad del ADN a la maquinaria de transcripción<sup>19</sup>. Estos cambios no ocurren en la misma histona al mismo tiempo; no obstante, puede que un nucleosoma contenga diferentes tipos de modificaciones, “código de histonas”, que tienen especial influencia en la transcripción del ADN subyacente. Estos elementos son leídos por las proteínas que se unirán a la cola de las histonas modificadas.

### Acetilación / Deacetilación

Usualmente ocurre en la lisina de la histona, conformando un cambio reversible mediado por las enzimas: Histona Acetil Transferasa (HATs) e Histona Deacetilasa (HDACs). En la acetilación, las cargas positivas (+) de la lisina (K) son neutralizadas, y determina que la cromatina

adopte una conformación prona a la transcripción y la replicación. En consecuencia, la acetilación de la cromatina ejerce control trascricional de la expresión génica<sup>13, 14</sup>.

### Metilación

La lisina de las histonas puede metilarse, en cuyo caso inhibe la acetilación. Este proceso puede incorporar uno, dos o tres grupos metilo (Mono-metilación, Di-metilación y Tri-metilación).

### Ubiquitinación o fosforilación

La incorporación de otras sustancias como la ubiquitina, o los grupos fosfóricos en las serinas, pueden ocurrir también en la cola de las histonas.

Todos estos cambios en los aminoácidos de la cadena de histonas ayudan en el control de la condensación y compactación de la cromatina, y la habilitan para transcribirse, replicarse y repararse. La cromatina altamente condensada se denomina "heterocromatina" y la menos condensada euromatina". Uno de los más destacados procesos de formación de heterocromatina se observa en mamíferos de sexo femenino que poseen dos cromosomas X. Como un proceso destinado a compensar la dosis genética, uno de los cromosomas X deberá inactivarse. La inactivación del X aparece como heterocromatina en las células de interface, y es visualizable directamente en el núcleo como el corpúsculo de Barr<sup>20</sup>.

Cada célula embrionaria de una mujer experimentará una inactivación al azar de uno de sus cromosomas X, el Xm (materno) o el Xp (paterno), lo que podría entenderse como el mecanismo epigenético más básico para el desarrollo normal. Este fenómeno ocurre en el embrión de 4 días después de ocurrida la fertilización, y consiste en la condensación de uno de los 2 cromosomas X y su consecuente inactivación genética. Para que dicho fenómeno ocurra es necesaria la presencia en el cromosoma X de una región específica denominada Centro de inactivación del X. En consecuencia, el cuerpo femenino será un mosaico funcional, donde las células tendrán activo uno u otro cromosoma X, y sus células hijas mantendrán ese patrón de inactivación a lo largo de toda su vida. En este proceso intervienen también las modificaciones de las histonas como la metilación y la hipo-acetilación en distintas regiones de las mismas<sup>19</sup>.

Los mecanismos epigenéticos incluyen entonces: acetilación/deacetilación, metilación, impronta genómica, activación o inactivación génica por la proteína MECP2 o por microARN. A continuación analizaremos en detalle cada uno de estos procesos:

### Metilación del ADN

En la cadena de ADN se observa que los nucleótidos citosinas que preceden a las guaninas (conformando

los dinucleótidos CpG), se agrupan en islas, las cuales son pronas a metilarse, lo que determina que el ADN tome una conformación cerrada. Este proceso depende, como ya hemos dicho, de una familia de enzimas, la ADN-Metiltransferasas (DNMTs)<sup>15</sup>. Las islas de CpG no se encuentran ubicadas al azar en el genoma, suelen estar situadas en la región promotora de genes, por lo que esta metilación puede cambiar sustancialmente el grado de transcripción génica. Aproximadamente el 80% de los dinucleótidos CpG están metilados, y los sitios donde este proceso ocurre son dependientes del tipo de gen, célula y tejido específicos, e incluso varía a lo largo de la vida de la célula y del individuo. Las regiones activas de la cromatina, que son capaces de expresarse genéticamente, están usualmente hipometiladas, mientras que las hipermetiladas están empaquetadas conformando cromatina inactiva. Durante el desarrollo embrionario debe producirse el "reseteo" del patrón de metilación de las células germinales, que pierden la metilación y recobran un patrón de metilación *de novo*, que se mantendrá en condiciones normales a lo largo de la vida celular. Este proceso no solo compromete a las células embrionarias sino que también abarca a las células placentarias<sup>16</sup>. Un ejemplo de hipermetilación de una isla de CpG en condiciones patológicas es el Síndrome de Fragilidad del cromosoma X, el cual analizaremos más adelante.

### Impronta genómica

Algunos genes tienen la particularidad de presentar la llamada impronta genómica, son genes distribuidos por todos los cromosomas, que poseen una transcripción mono alélica, a diferencia de los habitual que es bialélica. Es decir que sólo se produce ARNm por parte de una sola de las copias del alelo, la materna o la paterna, específicamente, según se haya determinado en el organismo respectivo. Es decir, que son genes de expresión de acuerdo al origen parental<sup>21</sup>. Este proceso de impronta genómica debe establecerse previo a la fecundación, en los gametos que darán origen al embrión. En la gónada masculina y femenina entonces, estos genes reciben una marca de origen "paterno" o "materno" según sea testículo u ovario respectivamente. La reprogramación del patrón de metilación en las células embrionarias que las hacen capaces de ser totipotenciales, como ya fuera explicado previamente en el proceso de metilación, no va a incluir este patrón específico, propio del *imprinting* genómico ya determinado.

Existen unos 200 genes ubicados en autosomas, que poseen la particularidad de estar "improntados", y en el supuesto caso que deleciones o mutaciones de esa región o locus que hagan desaparecer la "copia activa", el sujeto presentará consecuencias por la falta absoluta de transcripción del alelo "improntado"<sup>16, 17</sup>. En este grupo de enfermedades se encuentran los Síndromes de An-

gelman, Prader Willi, Beckwith-Wiedeman, Silver Russel, entre otros<sup>22, 23</sup>. Estos procesos son cruciales en relación a la salud y la supervivencia del organismo, haciendo de este período una ventana crítica, durante la cual factores ambientales pueden afectar el patrón epigenético normal del embrión en desarrollo.

#### *Función de la proteína MECP2*

Las regiones metiladas suelen ser blanco de proteínas como la Metil CpG binding protein (ej.: MeCP2)<sup>16</sup> una familia de proteínas que específicamente se unen a la secuencia de ADN previamente metilada. La MeCP2 es una proteína altamente transcrita a nivel nuclear, la cual regula el silencio transcripcional de genes al unirse a sus represores<sup>24, 25</sup>. Junto con un represor el Sin3A, recluta histonas deacetiladas. Esta deacetilación de las lisinas de histonas H3 y H4 determina cambios de la cromatina, haciendo inaccesible al ADN a la maquinaria transcripcional. Sin embargo, ésta no parece ser su única función, más aún, se cree que más importante es la de ejercer un rol “modulador transcripcional”, capaz de incrementar y disminuir la transcripción de genes activos, más allá de las regiones promotoras. Sus funciones son esenciales en el desarrollo del SNC, y sus deleciones producen el conocido síndrome de Rett en niñas, así como otros desórdenes a nivel del SNC tanto en niñas como en varones. Si bien su presencia es importante en las neuronas, es aún más trascendente a nivel glial, y sus niveles parecen críticos en la patogénesis del síndrome de Rett, como se analizará más adelante.

#### *Papel de micro ARN*

Pequeñas porciones de ARN, denominados micro-ARN (miARN), son producidas por la ARN polimerasa II, y se calcula que en el ser humano existirían más de 1000 de ellos<sup>28, 29</sup>. Su producción es temporaria y espacialmente regulada, corresponde a secuencias no codificantes de ARN, que controlan en parte la proliferación celular, la apoptosis, y la diferenciación de la expresión celular. Ellos pueden silenciar cromatina, degradar ARNm, o bloquear su translación, jugando un rol relevante en la etiopatogenia del cáncer y en enfermedades del comportamiento y la memoria.

### **Epigenética, cerebro y trastornos del desarrollo**

El funcionamiento normal del genoma está fuertemente ligado a su regulación epigenómica. Las epimutaciones (tal como se denominan las modificaciones del patrón normal de mecanismos epigenéticos), en presencia de una secuencia de ADN normal pueden generar trastor-

nos del neurodesarrollo<sup>30</sup>. Las enfermedades con patrón no-mendeliano de transmisión, pueden ser explicadas, en parte, por trastornos epigenéticos<sup>31</sup>. Algunas de estas teorías son:

- El patrón epigenético es considerablemente más dinámico que la secuencia de ADN, por lo que es posible de sufrir modificaciones a partir de factores ambientales, programas de desarrollo, o fenómenos estocásticos.

- Ciertas señales epigenéticas pueden ser heredadas tras-generacionalmente con la secuencia de ADN y son responsables de algunos rasgos clínicos o enfermedades observables en más de una generación<sup>32</sup>.

- La regulación epigenética es indispensable para el mantenimiento de una función genómica adecuada.

La combinación de estos factores permite una interpretación coherente con los hallazgos epidemiológicos, clínicos y moleculares de enfermedades complejas como los trastornos generalizados del desarrollo<sup>33</sup>.

Como ya se explicó, los grupos metilo que se unen selectivamente al dinucleótido CpG, y son mantenidos por la familia de enzimas DNA metiltransferasa (DNMT), así como la hidroximetilcitosina, recientemente reconocida a nivel de las células de Purkinje y otras células del cerebro, conforman patrones epigenéticos que regulan las funciones neuronales<sup>14-16</sup>.

La acetilación y deacetilación de las lisinas de las colas de histonas, mediadas por las enzimas HAT y HDAC respectivamente, transforman en activos o inactivos al material genético. El N-terminal *Metil-CpG-binding* –Dominio (MBD) de la Proteína MeCP2, se conecta con los sitios metilados del ADN en combinación con otros factores tales como el co-represor SIN3A, modificando los niveles de transcripción del genoma<sup>25</sup>. Las diferencias fenotípicas en gemelos monocigóticos son fácilmente comprendidas a partir de algunos de estos conceptos. Es sabido que existen diferencias epigenéticas que se acumulan lentamente a lo largo de la vida, y éstas son más numerosas cuanto mayor diferencia exista entre los ambientes de ambos gemelos, y sus estilos de vida<sup>34</sup>. Estudios epidemiológicos dan cuenta de la discordancia en la frecuencia entre ambos sexos que existe para algunas enfermedades psiquiátricas. Esta discrepancia puede explicarse, en parte, debido a que las hormonas sexuales pueden ejercer también cierto control epigenético<sup>35</sup>.

Otro factor a considerar es la edad de comienzo de una condición, de la cual podríamos especular como la consecuencia de la suma a lo largo del tiempo, de factores que superan en un determinado momento el umbral, lo que determina que entonces dicha enfermedad se exprese. Existen numerosas pruebas que demuestran claramente la relación que juegan los factores epigenéticos en el desarrollo neuronal, la diferenciación celular, y la comunicación y plasticidad sináptica, siendo procesos fundamentales en las bases biológicas de la memoria y el aprendizaje<sup>36</sup>.

Ciertas drogas que modifican el patrón epigenético tienen probado efecto sobre el proceso de potenciación a largo término (LTP) (*Long Term Potentiation*), incrementando la eficiencia de la transmisión sináptica en el cerebro de mamíferos<sup>36</sup>. Los inhibidores de la DNMT como la zebularina, afectan la inducción del LTP en el hipocampo del ratón, así como los inhibidores de la HDAC como el butirato sódico o la tricostatina incrementan estos mecanismos en el hipocampo y la amígdala del ratón. Asimismo, existen claras pruebas que el *stress* sostenido durante la gestación es capaz de modificar la respuesta del eje hipotálamo/hipofisario fetal, a través de modificaciones estables en el patrón de metilación de las células del hipotálamo<sup>37</sup>. Estos individuos muestran mayor predisposición para sufrir depresión o ansiedad en la vida adulta, al tener facilitados aquellos circuitos que en condiciones normales deberían estar metilados, es decir bloqueados en su transcripción<sup>38</sup>.

### Mecanismos epigenéticos comprometidos y entidades específicas

A continuación enumeraremos diversos mecanismos epigenéticos comprometidos en entidades médicas específicas, en las cuales el autismo es una manifestación conductual reconocida.

- Papel del MECP2: Mutación del MECP2 – Methyl CP Binding Protein que traslada el ADN metilado en represión del gen. (Síndrome de Rett y otros trastornos del desarrollo)

- Fallo de la impronta genómica específica:
- Síndrome de Angelman – Deleción materna específica – Expresión exclusiva paterna.
- Síndrome de Prader Willi – Deleción paterna específica - Expresión exclusiva materna.
- Hipermetilación del promotor - Pérdida de expresión funcional de la proteína FMRP1- Síndrome de Frágil X.

De todo este grupo analizaremos el papel de MECP2 (síndrome de Rett y otros trastornos del desarrollo) y el papel de la pérdida funcional de la proteína FMRP1 (síndrome de Frágil X) como base para la comprensión de fenómenos epigenéticos involucrados en el autismo.

### Papel del MECP2 en los trastornos del desarrollo. Síndrome de Rett y otros trastornos del desarrollo

La *Methyl CPG binding protein – 2* (MeCP2) es un regulador epigenético fundamental del cerebro en desarrollo<sup>39</sup>. Las mutaciones en el MECP2 podrán generar el síndrome de Rett clásico, trastornos del desarrollo en mujeres y varones, retardo mental ligado al X, encefalopatía neonatal grave (en varones) y autismo, lo que demuestra que el compromiso del MeCP2 puede presentarse con un amplio

espectro de manifestaciones. No obstante, debe tenerse en cuenta que mutaciones de este gen están relacionadas con el 96 % de los Síndrome de Rett clásicos y son raras en otros trastornos, como por ejemplo en el autismo. Por otra parte, no siempre existe una correlación exacta entre mutaciones del MECP2 y la severidad fenotípica, lo que permitiría inferir que la expresión podría depender también de otros factores genéticos, epigenéticos y/o ambientales que actuarían en asociación<sup>24-27, 40</sup>. El MeCP2 es una proteína ubicada en el núcleo, moduladora transcripcional, que se une a regiones metiladas del ADN, concretamente al denucleótido CpG. Al unirse al ADN metilado, puede leer estas marcas epigenéticas del genoma y traducirlas en efectos funcionales que modifican la expresión del gen, modifica la función de genes sin modificar la estructura del mismo (mecanismo epigenético), por lo cual, al no ser un cambio estructural permanente, es reversible y no heredable<sup>41</sup>. Recientemente se ha visto que el MeCP2 también funciona como un modulador transcripcional capaz de regular la estructura de la cromatina, por fuera de las zonas metiladas de los promotores. También se ha visto que interactúa junto a otros genes como el CREB (*cAMP Response Element-Binding Protein*) el cual interviene en el crecimiento, diferenciación y función celular. La expresión del MeCP2 se ubica en numerosos tejidos, siendo muy alta en el cerebro, donde presenta diferencias en relación al grado de maduración neuronal. En el desarrollo embrionario sus niveles de expresión son bajos y se van incrementando conforme el niño crece, llegando a los más altos valores en neuronas post-mitóticas maduras. Este hallazgo permitiría especular que su rol estará más circunscripto a la maduración neuronal que al desarrollo de nuevas neuronas. En niñas con síndrome de Rett se ha visto, a nivel anátomo-patológico, que las neuronas son más pequeñas con reducción en la complejidad de las dendritas. Estos hallazgos se interpretan como un indicador de pobre maduración y déficit en la formación de conexiones y plasticidad sinápticas, estrechamente relacionadas con el aprendizaje y la memoria. Junto con las neuronas, los astrocitos presentan una gran actividad del MeCP2, en condiciones normales, jugando un rol crítico en la patogenia del Síndrome de Rett como soporte de la maduración neuronal. Si bien el déficit de MeCP2 muestra relación con cambios estructurales, su exceso también pareciera inducir defectos por sobreexpresión. Cambios estructurales del gen en zonas críticas para la unión con otros genes pueden determinar una desregulación en la expresión de los mismos con fenotipos muy diversos en gravedad. El MeCP2 controla, entre otros, la síntesis de genes como el BDNF (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*) y el EGR2 (*Early Growth Response 2*), todos ellos relacionados a trastornos del espectro autista.

Existen estudios orientados a reconocer estos mecanismos de acción y se están desarrollando terapias efectivas en el tratamiento de estas encefalopatías, que

justamente se basan en la posibilidad de reversibilidad de los síntomas, tal como se observa en algunos modelos animales en donde estos ensayos parecen, aunque de un modo transitorio, revertir el cuadro clínico<sup>42</sup>.

## Síndrome de X-Frágil

El síndrome de X Frágil (SXF) es la causa hereditaria más frecuente identificada de deshabilidad intelectual, trastorno de espectro autista y trastornos del aprendizaje. Se asocia a una expansión inestable de trinucleótido repetido CGG que se ubica en la región 5' del gen FRM1, cuyo locus está ubicado en el extremo distal del brazo largo del cromosoma Xq28<sup>43</sup>. Este alelo según sea el número de copias se clasifica en Normal (5-40 copias), Zona gris o intermedia (45-54 copias), Premutación (55-200 copias) y Mutación completa (> 200 copias), esta última relativa al diagnóstico de síndrome de X Frágil. Mientras la mutación completa compromete a 1 de cada 4 000 varones y 1 de cada 6 000 mujeres, la premutación afecta a 1 en 260 a 800 varones y 1 en 260 mujeres<sup>44</sup>. La mutación completa presenta usualmente hipermetilación de la isla de CpG, lo que resulta en el silenciamiento completo del gen, que se expresa usualmente en varones quienes tienen el fenotipo clásico con compromiso cognitivo. Las mujeres pueden tener un fenotipo menos grave, debido a la transcripción del alelo correspondiente al otro cromosoma X, donde no se encuentra la mutación respectiva.

El autismo ha sido descrito en el síndrome de X Frágil, así como también en los niños que portan la premutación. Se estima que la prevalencia de autismo puede variar entre el 15 y 47%, según las series evaluadas, siendo su diagnóstico estable en el tiempo. Aquellos varones con síndrome de X Frágil con la mutación completa muestran en un 90% de los casos signos clínicos compatibles, aunque no siempre cumplen con los criterios estrictos de diagnóstico de los TEA (según ADI-R y ADOS). Los pacientes con SXF, debido a la mutación completa muestran carencia de la proteína correspondiente FRMP<sup>145</sup>. Los ratones KO (*Knock Out*) para el gen FRM1 presentan una exagerada respuesta mGluR-LTD<sup>46</sup>.

En mamíferos los mGluRs componen una familia de ocho subtipos, cada uno de los cuales se subdivide en tres, de acuerdo a la vía de traducción de señales que comparten. El mGluR 1 y 5 activan la síntesis de proteína en la sinapsis, y a nivel del hipocampo es responsable de la Depresión de Tiempo Largo (LTD) (*Long Time Depression*) una forma de plasticidad sináptica. La proteína FRMP regula el desarrollo a nivel citoplasmático neuronal, siendo mayor en la región post-sináptica glutaminérgica. Esta proteína se acopla al ARN de los poli-ribosomas ubicados en la base de las espinas dendríticas, donde mediaría el control sináptico. Por etiquetado celular se ha comprobado que actuaría como represor de la síntesis

proteica, lo que permite suponer que el mGluR y la FRMP juegan un rol antagónico entre sí, regulando de ese modo al ARNm de la sinapsis. Ante la falta de FRMP la síntesis proteica queda de cierto modo "liberada" o sin freno y esto generaría la base de la enfermedad. (Fenotipo por exceso de plasticidad sináptica)

La "teoría del mGluR" hace referencia a que el aumento de la proteína sintetizada en el ratón KO Fmr1 puede ser restablecida a niveles normales del ratón salvaje por la reducción selectiva de la señal mGluR<sup>47</sup>. Esto se refleja además en la reducción de receptores sinápticos (AMPA y NMDA), inmadurez en la elongación dendrítica y la presencia de descargas epileptiformes. Por ejemplo, en drosófilas KO dfmr1 tienen alteración del comportamiento en el apareamiento, con evidentes señales de defecto en la memoria durante el cortejo y alteraciones estructurales en el cuerpo de hongo (parte del SNC que regula las conductas sexuales)<sup>48</sup>. Dichos patrones son:

1) Los machos KO tienen frente a hembras vírgenes receptivas un cortejo menos vigoroso que su contraparte salvaje.

2) Presentan intacta la supresión del cortejo cuando se enfrenta a una hembra no receptiva (que rechaza al macho). Es decir que es capaz de aprender.

3) Tiene alterada la memoria de supresión ya que muestra un cortejo infantil frente a hembras no receptivas, es decir que no recuerda aquello que aprendió.

Cuando se expone a estas mosquitas a un inhibidor del mGluR, como el MPEP (2 Methyl-6-(phenylethynyl) pyridine), se produce un rescate farmacológico que es máximo cuando éste se inicia en el período de larva, incluyendo la reversión de los cambios anatómicos<sup>48</sup>. Siguiendo este principio biológico, intentos terapéuticos están en progreso a fin de mejorar parte de la sintomatología propia de esta condición, como la ansiedad, los problemas de coordinación, los trastornos de aprendizaje; estos se encuentran en etapas preliminares en seres humanos.

## Mecanismos epigenéticos y TEA

Los síntomas propios del autismo se presentan típicamente durante la infancia temprana. En este período crítico, que corresponde a una fase dinámica del desarrollo cerebral, crecen las neuronas, maduran las inhibiciones y las señales, se mielinizan los axones y la plasticidad sináptica es puesta en marcha mediante el interjuego de programas complejos de moléculas, sumado a los efectos del medio ambiente y del aprendizaje.

La disrupción de alguno de estos procesos podría hipotéticamente conducir a los síntomas propios de los TEA<sup>33</sup>. Como referíamos, los TEA se expresan durante la infancia, persisten en la vida adulta y van variando su expresión clínica a lo largo de los años. Estas variaciones

fenotípicas podrían relacionarse a factores epigenéticos (por ejemplo: los abordajes terapéuticos, drogas utilizadas para modificar conductas y factores ambientales, entre otros). Si bien los TEA tienen una fuerte base genética en relación a otros síndromes psiquiátricos, las alteraciones en la secuencia del ADN permanecen en estudio. Evidencias a favor de una contribución de posibles genes imprintados, sumados a la transmisión paterna en los TEA, junto a la ausencia de marcadores genéticos específicos identificados, han jerarquizado el papel de factores epigenéticos en la etiopatogenia posible de estos trastornos<sup>49</sup>.

El síndrome de Rett permite una comprensión clara de la importancia del *MECP2* en la génesis del autismo<sup>9, 24-26</sup>. Las mutaciones de este gen han sido detectadas raramente en el autismo clásico, pero sí se han visto aumentos significativos del promotor de metilación del gen *MECP2*, en la corteza frontal de varones autistas comparados con niños control y esto estaba inversamente correlacionado con la expresión de la proteína<sup>27</sup>. Asimismo, se encontró un promotor de metilación aberrante en el gen *MECP2* en el ADN de mujeres con autismo.

En ratas la pérdida de *MBD1* genera autismo (disminución de la interacción social, ansiedad, déficit de aprendizaje). Otro hallazgo interesante es la identificación de una nueva mutación la *¡Jumonji AT-rich* dominio interactivo LC (*JARID1C*), la cual se cree es una enzima que desmetila la histona específica Di y Tri metilada (*H3K4*), y que además cumple un papel represor transcripcional para genes asociados a los TEA como son: el *SCNA*, *CACNA1H*, *BDNF* y *SLC18A1*<sup>50, 51</sup>.

Podríamos decir que el autismo es un "sinapsopatía" donde interactúan el *mGlu5* con numerosas proteínas post-sinápticas y muchos de sus genes ya han sido identificados como candidatos en los trastornos del espectro autista. Entre ellos se incluyen *Homer*, *SHANK*, *Neurologinas* y *Neurexin*, así como otros genes responsables de síndromes genéticos en los que existe claramente una mayor incidencia de autismo como el gen *FRM1* del síndrome de X frágil, los genes del complejo esclerosis tuberosa (*Hamartin* y *Tuberin*), el *PTEN* involucrado en el síndrome *Bannayan-Ruvalcaba*, el *MeCP2* del síndrome de Rett y el *UBE3A* del síndrome de *Angelman*<sup>52</sup>.

Por último, la observación de mejoría en las conductas sociales en niños autistas durante episodios febriles se ha relacionado con una desregulación en el *Locus Coeruleus-Noradrenérgico (LC-NA)*, el cual posee un sistema de regulación fuertemente vinculado con patrones epigenéticos de control. Este hallazgo hace sospechar que en el TEA la trama neuronal estaría posiblemente intacta, no así los mecanismos epigenéticos de control, pasibles de ser "transitoriamente modificados" por un evento ambiental como representa el episodio febril<sup>53-54</sup>.

## Factores ambientales capaces de modificar el patrón epigenético normal

Durante los últimos años se ha incrementado nuestro conocimiento sobre el posible efecto de los factores ambientales en la salud y la enfermedad. Es sabido, que muchos de los factores ambientales son capaces de generar cambios durante el desarrollo embrionario directamente, produciendo malformaciones congénitas por disrupción directa de los mecanismos embrionarios normales, (ej.: *talidomida* y malformaciones de miembros). Por otro lado es sabido que algunos factores químicos, no-disruptivos, pueden producir cambios en el embrión y el feto que se van a evidenciar cuando éste llegue a la vida adulta (ej.: los niños nacidos con bajo peso tienen mayor riesgo de sufrir durante la vida adulta enfermedad coronaria, ACV, diabetes tipo II, síndrome metabólico y osteoporosis)<sup>55, 56</sup>. Durante el desarrollo embrionario de los mamíferos, las madres transfieren los factores ambientales como los recursos nutricios a su embrión o feto por medio de la placenta, o la lactancia<sup>57-59</sup>. El tamaño de la cría está vinculado en parte directamente con el tamaño de la madre, aunque algunos otros factores de crecimiento pueden jugar un papel destacado. Tal es el caso de los factores de crecimiento que presentan un patrón de *imprinting*, pasible de ser modificado por errores genéticos como por factores ambientales. Ejemplos de esta última condición son: los síndromes de *Beckwith-Wiedeman* y *Silver Russel*<sup>22, 23</sup>.

Se ha dispensado atención a la subalimentación durante el embarazo y el desarrollo de enfermedades en la juventud o adultez. No obstante, pareciera ser tan importante esta variable como la sobre exposición a nutrientes que también puede ser generador de potenciales enfermedades en la vida adulta<sup>60</sup>. Se ha visto además que el período peri-concepcional es de gran vulnerabilidad.

En ratas que habían sido expuestas a una dieta pobre en proteínas antes de la implantación embrionaria, mostraban mayor índice de malformaciones que las normo alimentadas, y si llegaban a nacer tenían bajo peso de recién nacidas y desarrollaban hipertensión en la adultez. Existen ratas que muestran distinto color de pelaje conforme reciban por parte del ambiente distintos estímulos, aunque genéticamente sean idénticas para ese carácter<sup>61</sup>.

En el hombre se ha visto un aumento en la incidencia de hipertensión en la vida adulta en relación con el desbalance dietético de la madre en el período de gestación, que afecta el eje *angiotensina / renina* y la adecuada funcionalidad de los nefrones<sup>62</sup>. Por otra parte, la exposición a tóxicos como: alcohol, tabaco, cocaína y marihuana, entre otros, tienen efectos sobre el *SNC* en desarrollo, y si bien no todos los niños muestran características físicas alteradas al nacer, muchos trabajos demuestran mayor índice de trastornos en el aprendizaje, déficit en los ni-

veles de atención, y mayor predisposición en la juventud para consumir estos tóxicos que la población general<sup>63-65</sup>.

### Tratamientos que actúan sobre los patrones epigenéticos

La posibilidad de modificar los patrones epigenéticos, presentes en un amplio número de condiciones diversas, que van desde el envejecimiento, las enfermedades oncológicas, las enfermedades neuropsicológicas u otras afecciones comunes de la vida adulta como la hipertensión, los ACV, la obesidad, síndrome metabólico, etc., son en la actualidad objeto de importantes investigaciones<sup>65</sup>.

Existe un gran desarrollo de técnicas dirigidas a evaluar los patrones de metilación del genoma y otras formas de modificaciones epigenéticas en diferentes individuos, enfermedades, edades, tejidos, etc. Estos estudios prometen incrementar nuestro conocimiento al respecto, y en consecuencia abren un gran campo de investigación en relación a las posibles conductas preventivas; dietarias, farmacológicas, entre otras, que permitirían revertir los procesos epigenéticos patológicos.

Existen drogas que pueden controlar procesos de acetilación/deacetilación a través del bloqueo selectivo de las enzimas involucradas. Estas drogas han sido utilizadas con éxito en el tratamiento de ciertos tumores, y en el tratamiento de enfermedades neurológicas. El ácido valproico, y las benzodiacepinas por ejemplo, son en esencia inhibidores de la histona deacetilasa (HDAC), por lo que permiten la conservación del ADN en estado "activo", en regiones específicas del SNC. Existe un gran desarrollo farmacológico dirigido a crear drogas que produzcan inhibición de la histona metil transferasa. (HMT)<sup>66,67</sup>. Otras drogas con actividad útil son las histonas demetilases, que también permitirían la activación de genes de supresión tumoral silenciados por la metilación<sup>68</sup>. Un inhibidor no selectivo de la monoamino-oxidasa como la tranilcipromina, usado como antidepresivo, tiene funciones inhibitorias de la metilación de la lisina (lisina específica demetilasa- LSD)<sup>61</sup>.

Mientras que la mayoría de los factores ambientales no afectan la secuencia del ADN, sí afectan su expresión a través de las modificaciones que ejercen en los patrones epigenéticos normales. Se han descrito cambios epigenómicos en relación a contaminantes ambientales (químicos agrícolas como el vinclozolin), factores nutricionales (folatos), tóxicos inorgánicos (arsénico), drogas (cocaína, alcohol, nicotina). Algunos de estos cambios comprometen las células somáticas, mientras que otros alteran el patrón epigenético de las células germinales trascendiendo el defecto en forma transgeneracional. No solo somos, por lo tanto, la consecuencia de nuestra dotación genética (ADN), sino que también somos la

consecuencia de las conductas, hábitos y ambiente de nuestros padres, o incluso nuestros abuelos.

El reconocimiento de factores epigenéticos alterados en entidades específicas asociadas consistentemente con autismo permite comprender parte de los mecanismos que podrían estar desencadenando estos trastornos, y probablemente a futuro desarrollar terapéuticas específicas para cada uno de ellos. Finalmente, estos conocimientos pueden ofrecer claves para generar mejores hábitos de vida, que conduzcan a disminuir la incidencia de enfermedades neuropsiquiátricas y oncológicas, entre otras.

**Conflicto de intereses:** Ninguno para declarar.

### Bibliografía

1. Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network Surveillance Year 2008 Principals Investigators; Centers for Disease Control and Prevention (32 collaborators). Prevalence of autism spectrum disorders: Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 14 Sites, United States, 2008. *MMWR Surveill Summ* 2012; 61: 1-19.
2. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *Nev Child* 1943; 2: 217-50.
3. Asperger H. Die 'Autistischen Psychopathe' im Kindesalter. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten* 1944; 117: 76-136.
4. Ruggieri V. Bases neurobiológicas de los trastornos del espectro autista. Correlato neuropsicológico e importancia de la intervención temprana. En: Valdez D, Ruggieri V (Comps.) Autismo – Del diagnóstico al tratamiento. Buenos Aires: Editorial Paidós 2011, p 147-74.
5. Ruggieri V, Arberas C. Trastornos generalizados del desarrollo. Aspectos clínicos y genéticos. *Medicina (B Aires)* 2007; 67: 569-85.
6. Folstein S. Twin and adoption studies in child and adolescent psychiatric disorders. *Curr Opin Pediatr* 1996; 86: 339-47.
7. Bayley A, Palferman S, Heavay L, Le Couteur A. Autism: The phenotype in relatives. *J Autism Develop Disorders* 1998; 28: 369-92.
8. Le Couteur A, Bailey A, Goode S, et al. A broader phenotype of autism: The clinical spectrum in twins. *J Child Psychology Psychiatry* 1996; 37: 785-801.
9. Amir R, van den Veyver I, Wan M, et al. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nature Genet* 1999; 23: 185-8.
10. Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nature Genet* 2003; Supp 33: 245-54.
11. Waddington C. The genetic control of wing development in *Drosophila*. *J Genet* 1940; 41: 75-80.
12. McQuown SC, Wood MA. Epigenetic regulation in substance use disorders. *Curr Psychiatry Rep* 2010; 2: 145-53.
13. Barrett RM, Wood MA. Beyond transcription factors: the role of chromatin modifying enzymes in regulating transcription required for memory. *Learn Mem* 2008; 15: 460-7.
14. Haig D: The (dual) origin of epigenetics. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2004; 69: 67-70.
15. Berger SL, Kouzarides T, Shiekhattar R, Shilatifard A. An



- operational definition of epigenetics. *Genes Dev* 2009; 23: 781-3.
16. Allis CD, Jenuwein T, Reinberg D. Epigenetics: Overview and concepts. In: Caparros ML (eds.), Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Press 2007; p 23-62.
  17. Levenson JM, Sweatt JD. Epigenetic mechanisms of memory formation. *Nat Rev Neurosci* 2005; 6: 108-18.
  18. Hecceg Z, Hernandez-Vargas H. New concepts of old epigenetic phenomena and their implications for selecting specific cell populations for epigenomic research. *Epigenomics* 2012; 3: 383-6.
  19. Turner BM: Cellular memory and the histone code. *Cell* 2002; 111: 285-91.
  20. MohandasT, Sparkes R, Shapiro L. Reactivation of an inactive human X chromosome: evidence for X inactivation by DNA methylation. *Science* 1981; 211: 393-6.
  21. Zang Y, Rohde C, Reinhardt R, Voelcker-Rehage C, Jeltsch A. Non-imprinted allele-specific DNA methylation on human autosomes. *Genome Biol* 2009; 10: 138-50.
  22. Weksberg R, Shuman Ch, Beckwith B. Beckwith-Wiedemann Syndrome. *Eur J Hum Genet* 2010; 18: 8-14.
  23. Wakeling E, Abu Amero S, Alders M, et al. Epigenotype-phenotype correlations in Silver-Russel syndrome. *J Med Genet* 2010; 47: 760-8.
  24. Boyes J, Bird A. DNA methylation inhibits transcription indirectly via a methyl-CpG binding protein. *Cell* 1991; 64: 1123-34.
  25. Na E, Nelson E, Kavalali E, Monteggia L. The impact of MeCP2 loss- or gain-of-function on synaptic plasticity. *Neuropsychopharmacology* 2013; 38: 212-9.
  26. Zachariah R, Rastegar M. Linking epigenetics to human disease and Rett syndrome: the emerging novel and challenging concepts in MeCP2 research. *Neural Plast* 2012; 2012:415825. doi: 10.1155/2012/415825. Epub 2012 Feb 9.
  27. Hendrich B, Bird A. Identification and characterization of a family of mammalian methyl-CpG binding proteins. *Moll Cell Biol* 1998; 18: 6538-47.
  28. Szulwach K, Li X, Smrt R, Li, et al. Cross talk between microRNA and epigenetic regulation in adult neurogenesis. *J Cell Biol* 2010; 189: 127-41.
  29. Bartel D. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-97.
  30. Zhao X, Pak Ch, Smrt RD, Jin P. Epigenetics and neural developmental disorders. *Epigenetics* 2007; 2: 126-38.
  31. Santos-Rebouças CB, Pimentel MM. Implication of abnormal epigenetic patterns for human diseases. *Eur J Hum Genet* 2007; 15: 10-7.
  32. Skinner M, Guerrero-Bosagna C. Environmental signals and transgenerational epigenetics. *Epigenomics* 2009; 1: 111-7.
  33. Tuchman R. Desconstruyendo los trastornos del espectro autista: perspectiva clínica. *Rev Neurol* 2013; 56 (Supl 1): 3-11.
  34. Bell J, Spector T. A twin approach to unraveling epigenetics. *Trends Genet* 2011; 27: 116-25.
  35. Baron-Cohen S. The extreme male brain theory of autism. *Trends Cognitive Science* 2002; 6: 248-54.
  36. Szyf M. Epigenetics, DNA methylation, and chromatin modifying drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2009; 49: 243-63.
  37. Murgatroyd C, Wu Y, Bockmühl Y, Spengler D. Genes learn from stress: How infantile trauma programs us for depression. *Epigenetics* 2010; 5: 194-9.
  38. Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N Engl J Med* 2008; 359: 61-71.
  39. LaSalle JM. The Odyssey of MeCP2 and parental imprinting. *Epigenetics* 2007; 2: 5-10.
  40. Yasui DH, Peddada S, Bieda MC, et al. Integrated epigenomic analyses of neuronal MeCP2 reveal a role for long-range interaction with active genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 4: 1916-21.
  41. Allan AM, Liang X, Luo Y, et al. The loss of methyl-CpG binding protein 1 leads to autism-like behavioral Deficits. *Hum Mol Genet* 2008; 7: 2047-57.
  42. Guy J, Gan J, Selfridge J, Cobb S, Bird A. Reversal of neurological defects in a mouse model of Rett syndrome. *Science* 2007; 23: 1143-7.
  43. Sherman S, Pletcher BA, Driscoll DA. Fragile X syndrome: diagnostic and carrier testing. *Genet Med* 2005; 7: 584-7.
  44. Hagerman PJ. The Fragile X prevalence paradox. *J Med Genet* 2008; 45: 498-9.
  45. Hagerman RJ, Rivera SM, Hagerman PJ. The fragile X family of disorders: A model for autism and targeted treatments. *Current Pediatric Rev* 2008; 4: 40-52.
  46. Healey A, Rush R, Ocail T. Fragile X Syndrome: An update on developing Treatment modalities. *ACS Chem Neurosci* 2011; 2: 402-10.
  47. Emmitte KA. mGlu5 negative allosteric modulators: a patent review (2010-2012). *Expert Opin Ther Pat* 2013; 4: 393-408.
  48. Dölen G, Bear MF. Courting a cure for fragile X. *Neuron* 2005; 45: 642- 4.
  49. Schanen NC. Epigenetics of autism spectrum disorders. *Human Mol Genet* 2006; 15: 138-50.
  50. Adegbola A, Gao H, Sommer S, Browning M. A novel mutation in JARID1C/SMCX in a patient with autism spectrum disorder (ASD). *Am J Med Genet* 2008; 146A: 505-11.
  51. Ramos P, Sajuthi S, Langefeld C, Walker S. Immune function genes CD99L2, JARID2 and TPO show association with autism spectrum disorder. *Mol Autism* 2012; 3: 4-9.
  52. Autism Genetic Resource Exchange. En: <http://resaerch.agre.org>; consultado el 12/3/2013.
  53. Mehler MF, Purpura DP. Autism, fever, epigenetics and the locus coeruleus. *Brain Res Rev* 2008; 59: 388-94.
  54. Mehlera M, Purpuraa D. Autism, fever, epigenetics and the locus coeruleus. *Brain Res Rev* 2009; 59: 388-92.
  55. Quinlan J, Lemire M, Hudson T, et al. A common variant of the PAX2 gene is associated with reduced newborn kidney size. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 1915-21.
  56. Vehaskari VM. Developmental origins of adult hypertension: new insights into the role of the kidney. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 490-5.
  57. Kuzawa CW, Gluckman PD, Hanson MA, Beedle AS. Evolution, developmental plasticity, and metabolic disease. In: Stearns SC, Koella JC, eds. Evolution in health and disease. 2nd ed. Oxford, England: Oxford University Press 2008; p 253-64.
  58. Monk D, Arnaud P, Apostolidou S, et al. Limited evolutionary conservation of imprinting in the human placenta. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 6623-8.
  59. Maccani MA, Marsit CJ. Epigenetics in the placenta. *Am J Reprod Immunol* 2009; 62: 78: 1-10.
  60. McGowan P, Meaney M, Szyf M. Diet and the epigenetic (re)programming of phenotypic differences in behavior. *Brain Res* 2008; 1237: 12-24.
  61. Wolff G, Kodell R, MoorenS, Cooney C. Maternal epigenetics and Methyl supplements affect agouti gene expression in Avy/a mice. *Faseb J* 1998; 12: 949-57.
  62. Vehaskari VM, Aviles DH, Manning J. Prenatal programming of adult hypertension in the rat. *Kidney Int* 2001; 59: 238-45.

63. Kaminen-Ahola N, Ahola A, Maga M, et al. Maternal ethanol consumption alters the epigenotype and phenotype of offspring in a mouse model. *Plos genetics* 2010; 6: 1-10.
64. Resendiz M, Chen Y, Oztürk N, Zhou F. Epigenetic medicine and fetal alcohol spectrum disorders. *Epigenetics* 2013; 5: 73-86.
65. Ravnskjaer K. Keystone Symposia on Epigenomics and Chromatin Dynamics. *Epigenetics* 2012; 7: 522-23.
66. Kubota T, Miyake K, Hirasawa T, Nagai K, Koide T. Novel etiological and therapeutic strategies for neurodiseases: epigenetic understanding of gene-environment interactions. *J Pharmacol Sci* 2010; 113: 3-8.
67. Gül Dölen. Mark F. Bear. Fragile x syndrome and autism: from disease model to therapeutic targets. *J Neurodevelopmental Disord* 2009; 1: 133-40.
68. Costa F. Epigenomics in cancer management. *Cancer Manag Res* 2010; 2: 255-65.