

# Aportes de la epigenética en la comprensión del desarrollo del ser humano

PAULA BEDREGAL<sup>1</sup>, BEATRIZ SHAND<sup>2,3</sup>,  
MANUEL J. SANTOS<sup>4</sup>, PATRICIO VENTURA-JUNCA<sup>3,5</sup>

## Contribution of epigenetics to understand human development

*Epigenetics refers to the study of how genes produce their effect on the phenotype of the organism. This article is a review on the scope and importance of recently discovered epigenetic mechanisms on human development and their relationship to perinatal epidemiological issues. It shows a general view and present concepts about epigenetics and its contribution to the comprehension of several physiologic and pathological conditions of human beings. Secondly, it analyzes the evidence coming from epidemiological and animal studies, about the influence of events that occur in the perinatal and early postnatal periods on adult life and the possible epigenetic mechanisms involved. Lastly, it underscores the implications of these results of future research and the design of public policies that take into account the importance of events in early life in the future development of individuals.*

(Rev Med Chile 2010; 138: 366-372).

**Key words:** Epigenesis, genetic; Human development; Phenotype.

<sup>1</sup>Departamento de Salud Pública.

<sup>2</sup>Departamento de Neurología.

<sup>3</sup>Centro de Bioética.

Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile.

<sup>4</sup>Facultad de Ciencias Biológicas y Centro de Bioética.

Pontificia Universidad Católica de Chile.

<sup>5</sup>Departamento de Pediatría.

Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Fuente de financiamiento: Concurso de Investigación y Publicaciones 2007-2008. "La UC por el Bien Común. Desafíos y Propuestas para una Sociedad Auténticamente Humana".

Pontificia Universidad Católica de Chile. Vicerrectoría Adjunta de Investigación y Doctorado. Dirección General de Pastoral y Cultura Cristiana.

Recibido el 9 de enero de 2009, aceptado el 6 de agosto de 2009.

Correspondencia a:

Dra. Paula Bedregal

Marcoleta 434

Departamento de Salud Pública.

Escuela de Medicina.

Pontificia Universidad Católica

de Chile.

E-mail: pbedrega@med.puc.cl

### Historia y concepto de epigenética

El término de epigenética fue acuñado por Waddington en 1939<sup>1</sup>, quien la definió como "el estudio de todos los eventos que llevan al desenvolvimiento del programa genético del desarrollo" o el complejo "proceso de desarrollo que media entre genotipo y fenotipo"<sup>2</sup>.

Antes del surgimiento de la epigenética, la relación genes-ambiente era explicado bajo la visión de un "determinismo genético". Ambas concepciones, epigenética y determinismo genético, tienen sus ancestros en los conceptos de epigénesis y preformismo que surgieron en los siglos XVII y XIX<sup>3</sup>. Posteriormente, prevaleció la concepción de que tanto el desarrollo como el fenotipo estaban definidos casi exclusivamente por los genes. A comienzos del siglo XX la Genética era considerada la ciencia de la herencia y la Embriología la

del desarrollo<sup>4</sup>. Waddington trató de demostrar que ambas disciplinas estaban estrechamente ligadas entre sí y con la evolución, de manera que la explicación del desarrollo desde el genotipo al fenotipo tendrían que necesariamente integrar el conocimiento de ambas ciencias.

En las últimas décadas, sus planteamientos se han retomado en una nueva perspectiva. Actualmente se reconoce el papel fundamental que el ambiente extranuclear, extracelular y social ejerce en la modulación de la actividad genética<sup>5</sup>. Los modelos simples aditivos que sugieren que el fenotipo es la suma de los efectos de los genes y del ambiente, no dan respuesta a la realidad<sup>6</sup>. Se propone que los sistemas genéticos son dinámicos o cibernéticos<sup>7</sup>. Al respecto, investigadores<sup>8</sup> han demostrado cómo el nivel socioeconómico modifica la heredabilidad del coeficiente intelectual (CI) de manera no lineal. Estos autores, a diferencia

del planteamiento de otros<sup>9</sup>, mostraron que en familias empobrecidas, 60% de la varianza en el CI es atribuible al ambiente, por el contrario, en familias con alto nivel socioeconómico, 60% de la varianza es atribuible al potencial genético.

Un avance en la comprensión de la relación entre genes y ambiente se produjo con los descubrimientos de las bases moleculares epigenéticas que controlan la activación y silenciamiento de los genes<sup>10</sup>. Holliday propuso por primera vez en 1987, el posible rol de la epigenética en la herencia de enfermedades<sup>11</sup>. Holliday distinguió funciones de los genes en dos niveles: primero, en la transmisión del material genético de generación en generación, lo que sería el campo de la genética; segundo, cómo ellos funcionan durante el desarrollo de un organismo desde la fertilización del óvulo hasta el adulto, lo que sería el campo de la epigenética. Actualmente se define como epigenética al *estudio de los cambios en la función de los genes que son heredables por mitosis y/o meiosis, que no entrañan una modificación en la secuencia del DNA y que pueden ser reversibles*<sup>12</sup>.

La herencia de las modificaciones epigenéticas se da en dos niveles. El primero se refiere a la transmisión de estos cambios a través de la división mitótica de las células en el proceso de diferenciación celular. El segundo corresponde a los cambios epigenéticos que pueden también transmitirse de una generación a otra a través de la meiosis. La posibilidad de que caracteres adquiridos puedan transmitirse a la descendencia tiene una importancia de consecuencias difíciles de prever tanto en la herencia de enfermedades y de patrones de comportamiento como en la comprensión de la evolución. Las modificaciones de la secuencia del ADN han sido denominadas clásicamente "mutaciones" y a las modificaciones epigenéticas "epimutaciones". La programación epigenética define el estado de expresión de los genes (estado epigenético). Éste puede ser alterado por diversas condiciones ambientales que influirán en el fenotipo de un organismo y en su comportamiento. Así, las epimutaciones al ser influidas por el ambiente y ser reversibles abren un amplio campo para intervenciones de prevención y tratamiento

### Mecanismos epigenéticos

Hoy se han descubierto tres mecanismos que controlan la expresión de los genes a nivel molecu-

lar. Uno de los primeros mecanismos descubiertos y estudiados es la metilación de la citosina de los pares de nucleótidos citosina-guanina del ADN. En 1969, Griffith y Mahler plantearon que la metilación tendría un papel relevante en la memoria de largo plazo en el cerebro<sup>13</sup>. A contar de 1975, varios investigadores propusieron modelos de metilación del ADN<sup>14</sup>, como un mecanismo de control de los genes, sin contar con evidencia empírica hasta la década 1980-89<sup>15</sup>. El proceso de metilación se produce fundamentalmente en el proceso de mitosis celular como parte del proceso de diferenciación. Un ejemplo sorprendente es el caso del cromosoma X en mamíferos femeninos. Tempranamente en el desarrollo, uno de los cromosomas X se inactiva, mientras el otro permanece activo. Esto ocurre por procesos de metilación y demetilación del ADN<sup>16</sup>. Hay asimismo evidencia que el proceso de metilación y demetilación puede también ocurrir en la etapa post mitótica de la célula<sup>17</sup>. Esto significa que el estado epigenético puede ser cambiado sin que haya división celular o en células que no se dividan.

Un segundo mecanismo epigenético en estudio es la modificación química de las histonas de la cromatina, tales como la acetilación. La cromatina puede cambiar en su densidad y permitir el acceso a los genes y su expresión, a través de este proceso. La metilación del ADN y la acetilación de las histonas son procesos que funcionan en forma coordinada<sup>18</sup>. Uno de los ejemplos de esta coordinación es el proceso de descondensación de la cromatina y de demetilación del pronúcleo masculino en el cigoto y su importancia para el desarrollo.

Un tercer mecanismo estrechamente vinculado con los procesos epigenéticos, es el descubrimiento reciente de pequeños ARNs no codificadores denominado microARNs que son importantes en la regulación de la activación y silenciamiento de los genes. Estos funcionan en estrecha relación con la metilación del ADN y las modificaciones de la cromatina<sup>19</sup>.

Actualmente se sabe que las modificaciones epigenéticas participan en un importante número de procesos, como por ejemplo en la adquisición de memoria inmunológica de los linfocitos T<sup>20</sup>, en las bases neurobiológicas de la memoria, el aprendizaje y en la respuesta al estrés mediada por el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal<sup>21</sup>. También se han asociado mecanismos epigenéticos a

enfermedades psiquiátricas como la esquizofrenia y la depresión<sup>22</sup>. Otras enfermedades en que se está estudiando estos mecanismos son el cáncer y algunas neurológicas.

Los cambios epigenéticos asociados con las enfermedades se producirían a lo largo de la vida. Sin embargo, la labilidad del estado epigenético de los primeros estadios del desarrollo lleva a plantear la hipótesis que la asociación de los eventos adversos al inicio de la vida con una predisposición a enfermedades esté mediado por mecanismos epigenéticos<sup>15,23</sup>. Las evidencias de los trabajos en animales aportados por el grupo de Meaney y Gluckman hacen plausible este planteamiento.

### **Eventos del período prenatal y su impacto en el desarrollo y la enfermedad**

Existen numerosos estudios epidemiológicos referentes a la asociación entre eventos prenatales y enfermedades que se presentan durante el desarrollo precoz como en la vida adulta. Esto ha estimulado a investigar si existen mecanismos epigenéticos que expliquen esta asociación así como la búsqueda de medidas de prevención y de eventuales tratamientos sobre estos procesos potencialmente reversibles<sup>24</sup>.

#### **Nutrición y dieta de la embarazada**

A modo de ejemplo, estudios epidemiológicos longitudinales han mostrado que existe una asociación importante entre la condición nutricional materna y la presencia a corto plazo de retardo de crecimiento intrauterino (RCIU) y a más largo plazo, de algunas enfermedades crónicas del adulto como enfermedades cardiovasculares, obesidad y diabetes<sup>25</sup>. Se han descubierto modificaciones epigenéticas como son la metilación del ADN y modificaciones a las histonas asociados a estos eventos. Hay evidencias que estos mecanismos pudieran ser las bases moleculares que explican la predisposición a estas enfermedades<sup>26,27,29</sup>.

#### **Maltrato y estrés materno**

Otro problema estudiado es la asociación entre el maltrato sufrido por la madre durante el embarazo y el RCIU. A largo plazo se ha visto que estos niños tienen una respuesta alterada al estrés, por fallas en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA), en particular con alteraciones en

las respuestas autonómicas<sup>28</sup>. Recientemente se ha estudiado además la asociación entre depresión materna prenatal y alteraciones en el eje HHA en niños, encontrándose que un mecanismo que explicaría las alteraciones en los niños es la metilación del gen NR3C1 (receptor de glucocorticoides), el cual es sensible al estado anímico de la madre<sup>29</sup>.

#### **Cultivo de embriones *in vitro***

En animales, el cultivo de embriones *in vitro* puede producir modificaciones epigenéticas. Por ejemplo, la fertilización asistida en roedores se asocia a cambios en los marcadores epigenéticos, en la expresión génica y en el desarrollo potencial de los roedores<sup>30,31</sup>. En humanos, se han observado anomalías en la metilación del ADN asociadas a técnicas de reproducción asistida, como inyección intracitoplasmática y fertilización *in vitro*<sup>32</sup> (FIV). Los síndromes de Beckwith-Wiedemann<sup>33</sup> y Angelman<sup>34</sup>, producidos por alteraciones epigenéticas, han mostrado que tienen 3 a 6 veces más riesgo de ocurrir en niños nacidos por FIV<sup>35</sup>.

### **Eventos del período post-natal precoz que pueden influir el desarrollo y la predisposición a enfermedades**

Al igual que en el período prenatal, hay evidencias en estudios en animales y diversos estudios epidemiológicos en humanos, que asocian eventos en el período post natal precoz con patologías y comportamientos en la vida adulta<sup>36,37</sup>.

Los primeros estudios han mostrado la asociación entre la calidad de la vida familiar —en particular el vínculo materno— y el desarrollo de diferencias individuales en el comportamiento y en la presencia de enfermedades a lo largo de la vida. La hipótesis explicativa propuesta señala que las enfermedades crónicas emergerían como respuestas alteradas al estrés. Un vínculo materno débil o deficiente, se asocia en la descendencia a un incremento de las respuestas autonómicas y endocrinas en la adultez, como también alteraciones en las respuestas al procesamiento de estímulos amenazantes<sup>38</sup>, lo que es concordante con lo observado en roedores y primates<sup>39</sup>. Entre las enfermedades que se podrían favorecer por este mecanismo están: la obesidad visceral, hipertensión arterial, intolerancia a la glucosa, depresión, trastornos ansiosos, adicciones y enfermedad coronaria<sup>29,40</sup>.

Otra evidencia epidemiológica proviene de la asociación observada entre la pobreza y el desarrollo emocional y cognitivo de los niños. Este efecto está mediado por la calidad de las interacciones padres-hijos<sup>41</sup>. Si se controla este efecto, desaparece esta relación. La pobreza, por su parte, se asocia con mayor variabilidad en el apego y con conductas punitivas. En este sentido, el impacto de la pobreza sobre el desarrollo de los niños estaría mediado por la manera en que la madre vive esta situación. Del mismo modo, parece mediar en este efecto el alto estrés vivido durante la transición del embarazo a la crianza.

Se reconoce una asociación entre depresión, estados ansiosos de la madre y desarrollo emocional y cognitivo de los hijos. Estos problemas de salud maternos se han asociado a interacciones padres-hijos menos sensibles, es decir, a una menor calidad del vínculo.

Uno de los programas de investigación que ha aportado luces sobre los mecanismos epigenéticos en el período postnatal es el encabezado por Michael Meaney. En el año 1988, este investigador y su grupo publicaron el primero de una serie de experimentos que culminaron proponiendo el mecanismo por el cual la conducta materna, en ratas, afecta la respuesta al estrés de sus crías<sup>42,43</sup>. Este estudio mostró que las crías de ratas manipuladas que se mantenían la mayor parte del tiempo con sus madres, en contraste con ratas en su ambiente natural, donde están expuestas a largos períodos de ausencia de la madre, tenían elevados niveles del receptor de glucocorticoides (GR) a nivel hipotalámico y en el lóbulo frontal y, como consecuencia de ello, un mayor *feedback* negativo del sistema HHA. Estas ratas tenían 50% de aumento en los niveles del ARNm del GR a nivel hipocampal, explicado por la variante del GR 1-7<sup>44</sup>. Todo lo anterior se reflejaba en menores niveles de factor liberador de corticotrofina (CRF) en el hipotálamo, es decir, menor respuesta endocrina al estrés. Posteriormente, el grupo confirmó que en estas ratas la respuesta al estrés se encuentra disminuida a nivel del *locus coeruleus*<sup>45</sup> y que los niveles de noradrenalina extracelulares son menores en el sistema nervioso central<sup>46</sup>. En el año 2000 se identificó un aumento de los receptores GABA—que participan en el *feedback* negativo del eje HHA— a nivel del *locus coeruleus* y en el núcleo central y basolateral de la amígdala en ratas manipuladas<sup>47</sup>. Este efecto se asocia con un aumento

de la expresión del ARN, de las subunidades alfa 1 y gamma 2 del receptor de GABA en ese nivel. En suma, las ratas que se mantuvieron por un período más prolongado junto a sus madres tienen— a través de múltiples mecanismos— una respuesta disminuida al estrés.

Los mismos autores mostraron que el efecto en la cría de la separación prolongada de la madre, es exactamente el opuesto: éstas mostraron una respuesta exagerada al estrés<sup>48</sup>, aumento de los niveles de CRF en la amígdala, núcleo parvocelular del hipotálamo y *locus coeruleus*<sup>49</sup>. Esta respuesta exagerada tuvo también un correlato conductual: las ratas separadas precozmente de sus madres presentan, siendo adultas, menores conductas de alimentación y exploración ante lo desconocido y mayores respuestas de sobresalto al estímulo acústico<sup>50</sup>. En el año 2008<sup>51</sup>, el grupo de Meaney publicó el mecanismo subyacente a la modificación selectiva de la expresión del gen de GR en estos animales, identificando una mayor expresión del gen de GR en el hipocampo.

Desde el año 1997, se publicó además otro tipo de experimentos en ratas. En primer lugar se identificó dos patrones de conductas maternas: con alto o bajo *licking/grooming*—*arched back nursing* (LG-ABN). Las madres con alto LG-ABN, son aquellas que se mantienen la mayor parte del tiempo de amamantamiento, con el dorso arqueado (optimizando el amamantamiento) y acicalando a sus crías<sup>52</sup>. En este punto es importante mencionar la observación de que el comportamiento maternal de una rata es sostenido en el tiempo, en relación con sus sucesivas camadas, pero puede ser influenciado por estímulos medioambientales (las madres sometidas a estrés tienen menor comportamiento LG-ABN).

El grupo de Meaney mostró en 1997, que las madres con alto LG-ABN tenían crías cuya respuesta al estrés siendo adultos era significativamente menor<sup>53</sup>. Mostraban menores niveles plasmáticos de ACTH y corticoides ante el estrés, aumento de la expresión del GR a nivel hipocampal, menores niveles de CRF hipotalámico, del receptor del CRF a nivel de *locus coeruleus* y aumento del receptor GABA en el núcleo central y basocelular de la amígdala y en el *locus coeruleus*. La respuesta conductual ante el estrés, también varía entre crías de madres con alto o bajo LG-ABN<sup>54</sup>. Las crías de madres con alto LG-ABN mostraban menor respuesta de sobresalto, mayores conductas

de alimentación y exploración ante lo desconocido. Los mismos autores, a través de la cría cruzada de camadas entre dos madres con patrones conductuales completamente distintos, confirmaron que la respuesta al estrés es dependiente de la crianza y no de la información genética<sup>55</sup>.

El año 2004, el mismo grupo publicó el mecanismo subyacente a las modificaciones en la expresión del GR, en las crías de madres con bajo o alto LG-ABN: se trata de un diferente grado de metilación del ADN y de la acetilación de histonas asociadas al gen del GR, asociadas a una diferente unión del factor de transcripción NGF1-A al promotor del gen del GR, en uno u otro grupo<sup>56</sup>.

Confirmaron de esta manera, la existencia de una modificación epigenética, en la base de las distintas respuestas al estrés entre ambos grupos de ratas. En el mismo estudio, mostraron que estas modificaciones epigenéticas son reversibles<sup>57</sup>. En el año 2007, mostraron además que la metilación del exon 1-7 del gen de GR, al cual se une el factor de transcripción, es distinta entre las ratas hijas de madres con alto y bajo LG. Las ratas con madres con bajo LG presentan mayor metilación del gen del GR (en el exon 1-7) y por lo tanto menor unión del factor de transcripción NGF1-A. Como consecuencia de la menor expresión de este gen, se evidenciaron menores niveles de GR a nivel hipocámpal y, con esto, un menor *feedback* negativo al sistema HHA, es decir, una mayor respuesta al estrés.

Se hipotetiza que las madres acicaladoras expresan más los genes relacionados con actividad metabólica celular, los relacionados con el receptor glutamato, aquellos vinculados con factores de crecimiento y con plasticidad sináptica dependiente de la experiencia. Variaciones en el cuidado materno se asocian con diferencias en el desarrollo sináptico en el hipocampo incluyendo sistemas neurales que median el aprendizaje y la memoria. Hasta ahora, el mecanismo explicativo es la metilación del DNA y cambios en la estructura de la cromatina en sitios relevantes de los promotores.

### Implicancias

El concepto de epigenética y la investigación asociada a ésta, han instalado un paradigma nuevo que supera la dicotomía genética y ambiente a favor de modelos de desarrollo humano más

holísticos, bioecológicos<sup>58</sup>. Factores genéticos como ambientales se vinculan de manera probabilística y dinámica a lo largo de la vida; y es fundamental conocer cómo se da esta relación en diferentes contextos. Esto permitirá comprender mejor los problemas de salud y las diferencias en las trayectorias de desarrollo humano. Este nuevo paradigma nos plantea desafíos epistemológicos y metodológicos para capturar esta relación en modelos explicativos de carácter cibernéticos o dinámicos<sup>59</sup>.

La relevancia del ambiente para el período prenatal y postnatal tiene también implicancias para las políticas públicas. Las estrategias de promoción del desarrollo humano, entre éstas el reforzamiento de vínculos primarios, y la reducción de la violencia, no sólo tendrían un impacto generacional sino transgeneracional. Desde esta perspectiva, para el ser humano que se desarrolla en condiciones adversas, el fortalecimiento de vínculos saludables puede constituirse en una forma de superar la inequidad en salud producto del impacto de determinantes genéticos y sociales<sup>60</sup>. Esto implica volver a reflexionar sobre la calidad de nuestra relación con el medio ambiente y sobre nuestras relaciones sociales, en que la persona humana es y debe ser el centro.

### Referencias

1. Waddington H. Development as an epigenetic process. En: *An introduction to modern genetics*. Allen and Unwin: London, 1939.
2. Waddington CH. The pupal contraction as an epigenetic crisis in *Drosophila*. *Proc zool Soc Lond A* 1941; 111: 181-8.
3. Needham J. *A History of Embryology*, Abelard-Schuman: New York, 1959.
4. Gilbert SF. Induction and the origins of developmental genetics. In Gilbert SF (ed): *A Conceptual History of Modern Embryology*. New York: Plenum Press, 2001; pp 181-206.
5. Shonkoff JP, Phillips DA (Editors) *From Neurons to Neighborhoods. The Science of Early Childhood Development*. Washington DC: National Academy Press; 2000.
6. Meaney M. Nature, nurture, and the disunity of knowledge. *Ann NY Acad Sci* 2002; 935: 50-61.
7. Gottesman I, Hanson DR Human development: Biological and genetic processes. *Annu Rev Psychol* 2005; 56: 263-86.
8. Turkheimer E, Haley A, Waldron M, D'Onofrio B,

- Gottesman II. Socioeconomic status modifies heritability of IQ in young children. *Psychol Sci* 2003; 14: 623-8.
9. Labuda M, Defries FC, Plomin R, Fulker DW. Longitudinal stability of cognitive ability from infancy to early childhood: Genetic and environmental etiologies. *Child Development* 1986; 147: 1142-50.
  10. Holliday R. Epigenetics. A historical overview. *Epigenetics* 2006; 1: 76-80.
  11. Holliday R. The inheritance of epigenetic defects. *Science* 1987; 238: 163-70.
  12. Holliday R. Epigenetics comes of age in the twenty first century. *Journal of Genetics* 2002; 81: 1-4.
  13. Griffith JS, Mahler HR. DNA tickering theory of memory. *Nature* 1969; 223: 580-2.
  14. Riggs AD. X Inactivation, differentiation and DNA methylation. *Cytogenetic. Cell Genet* 1975; 14: 9-25.
  15. Razin A, Riggs AO. DNA methylation and gene function. *Science*. 1980 210: 604-10.
  16. Riggs AD. Chromosome inactivation, differentiation, and DNA methylation revisited, with a tribute to Susumu Ohno. *Cytogenet Genome Res* 2002; 99: 17-24.
  17. Holliday R. Epigenetics: an overview. *Dev Genet* 2005; 15: 453-7.
  18. Vaissière T, Sawan C, Herczeg Z. Epigenetic interplay between histone modifications and DNA methylation in gene silencing. *Mutat Res* 2008; 659: 40-8.
  19. Saetrom P, Snøve O Jr, Rossi JJ. Epigenetics and microRNAs. *Pediatr Res* 2007; 61: 17R-23R.
  20. Rousseaux Reynoird N, Escoffier E. Epigenetic reprogramming of the male genome during gametogenesis and in the zygote. *Reprod Biomed Online* 2008; 16: 492-503.
  21. Miller CA, Campbell SL, Sweatt JD. DNA methylation and histone acetylation work in concert to regulate memory formation and synaptic plasticity. *Neurobiol Learn Mem* 2008; 89: 599-603.
  22. Stuffrein-Roberts S, Joyce PR. Role of epigenetics in mental disorders. *Aust N Z J Psychiatry* 2008; 42: 97-107.
  23. Mcewen BS. Understanding the potency of stressful early life experiences on brain and body function. *Metabolism* 2008 ;57: S11-5.
  24. 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 3: 61-73.
  25. Barker D. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci* 1998; 95: 115-28.
  26. Drake AJ, Walker BR. The intergenerational effects of fetal programming: Non-genomic mechanisms for the inheritance of low birth weight and cardiovascular risk. *J Endocrinol* 2004; 180: 1-16.
  27. Meaney MJ, Szyf M, Seckl JR. Epigenetic mechanisms of perinatal programming of hypothalamic-pituitary-adrenal function and health. *Trends Mol Med* 2007; 13: 269-77.
  28. Teicher MH, Andersen SL, Polcari A, Anderson CM, Navalta CP. Developmental neurobiology of childhood stress and trauma. *Psychiatric Clinics of North America* 2002; 25: 397-426.
  29. Oberlander TF, Weinberg J, Papsdorf M, Grunau R, Misri S, Devlin AM. Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and infant cortisol stress responses. *Epigenetics* 2008; 3: 97-106.
  30. Thompson JG, Mitchell M, Kind KL. Embryo culture and long-term consequences. *Reprod Fertil Dev* 2007; 19: 43-52.
  31. Rivera RM, Stein P, Weaver JR. Manipulations of mouse embryos prior to implantation result in aberrant expression of imprinted genes on day 9.5 of development. *Hum Mol Genet* 2008;17:1-14.
  32. Huntriss J, Picton HM. Epigenetic consequences of assisted reproduction and infertility on the human pre-implantation embryo. *Human Fertility* 2008, 11: 85-94.
  33. Debaun MR, Niemitz EL, Feinberg AP. Association of in Vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 156-60.
  34. Cox G. Intracytoplasmatic sperm injection may increase the rise of imprinting defects. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 162-4.
  35. Gomes MV, Gomes CC, Pinto W Jr. Methylation pattern at the KvDMR in a child with Beckwith- Wiedemann syndrome conceived by ICSI. *Am J Med Genet A* 2007; 15; 143: 625-9.
  36. Bebbington PE, Bhugra D, Brugha, T. Psychosis, victimisation and childhood disadvantage: Evidence from the second British National Survey of Psychiatric Morbidity. *British Journal of Psychiatry* 2004; 185: 220-6.
  37. Canetti L, Bachar E, Galili-Weisstub E, De-Nour AK, Shalev AY. Parental bonding and mental health in adolescence. *Adolescence* 1997; 32: 381-94.
  38. Mcewen BS, Steller E. Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. *Arch Intern Med* 1993; 153: 2093-101.
  39. Bennett AJ, Lesh KP, Helis A. Early experience and serotonin transporter gene variation interact to influence primates CNS function. *Mol Psychiatry* 2002; 7: 118-22.
  40. Felitti VJ, Anda RF, Nordenberg D. Relationship of childhood abuse and household dysfunction to many of the leading causes of death in adults. The Adverse Childhood Experiences (ACE) Study. *American Journal of Preventive Medicine* 1998; 14: 245-58.

41. Repetti RL, Taylor SE, Seeman TE. Risky families: family social environments and the mental and physical health of the offspring. *Psychol Bull* 2002; 128: 330-66.
42. Meaney MJ, Aitken DH, Bhatnagar S, Van Berkel CH, Sapolsky RM. Postnatal handling attenuates neuroendocrine, anatomical and cognitive impairment related to the aged hippocampus. *Science* 1988; 238: 766-8.
43. Francis D, Diorio J, La Plante P, Weaver S, Seckl JR, Meaney MJ. The role of early environmental events in regulating neuroendocrine development. *Ann NY Acad Sci* 1996; 794: 136-52.
44. O'Donnell D, Larocque S, Seckl JR, Meaney MJ. Postnatal handling alters glucocorticoid, but not mineralocorticoid mRNA expression in adult rats. *Mol Brain Res* 1994; 26: 242-8.
45. Pearson D, Sharma S, Plosky Pm, Pfaus JG, Meaney MJ. The effect of postnatal environment on stress-induced changes on hippocampal FOS-like immunoreactivity in adult rats. *Soc Neurosci Abstr* 1997; 23: 1849.
46. Liu D, Caldji C, Sharma S, Plotsky PM, Meaney MJ. The effects of early life events on in vivo release of norepinephrine in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and hypothalamic-pituitary-adrenal response during stress. *J Neuroendocrinol* 2000; 12: 5-12.
47. Caldji C, Francis D, Sharma S, Ploosky PM, Meaney MJ. The effects of early rearing environment on the development of GABAA and central benzodiazepine receptor levels and novelty-induced fearfulness in the rat. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22: 219-29.
48. Plotsky PM, Meaney MJ. Early, post-natal experience alters hypothalamic corticotrophin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Mol Brain Res* 1993; 18: 195-200.
49. Ladd CO, Owens MJ, Nemeroff CB. Persistent changes in corticotrophin-releasing factor neuronal systems induced by maternal deprivation. *Endocrinology* 1996; 137: 1212-8.
50. Valentino RJ, Curtis AL, Page ME, Pavcovich LA, Florin-Lechner SM. Activation of the locus cereuleus brain noradrenergic system during stress: circuitry, consequences and regulation. *Adv Pharmacol* 1998; 42: 781-4.
51. Mc Cormick JA, Lyons V, Jacobson MD, Noble J, Diorio J, Nyirendam et al. 5-Heterogeneity of glucocorticoid receptor messenger RNA is tissue specific: differential regulation of variant transcripts by early-life events. *Molecular Endocrinology* 2000; 14: 506-17.
52. Stern JM. Offspring-induced nurturance: animal-humane parallels. *Dev Psychobiol* 1997; 31:19-37.
53. Liu D, Diorio J, Tannenbaum B, Caldji C, Francis D, Freedman A, et al. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* 1997; 277: 1659-62.
54. Caldji C, Tannenbaum S, Sharma S, Francis D, Plotsky PM, Meaney MJ. Maternal care during infancy regulates the development of neural system mediating the expression of behavioral fearfulness in adulthood in the rat. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95: 5335-40.
55. Francis D, Meaney MJ, Maternal care and the development of stress responses. *Curr Opin Neurobiol* 1999; 9: 128-34.
56. Weaver Ic, Cervoni N, Champagne F, D'alessio A, Sharma S, Seckl J, et al. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature Neuroscience* 2004; 7: 847-54.
57. Szyf M, Weaver IC, Champagne FA, Diorio J, Meaney MJ. Maternal programming of steroid receptor expression and phenotype through DNA methylation in the rat. *Frontiers of Neuroendocrinology* 2005; 26: 139-62.
58. Brofenbrenner U. *The ecology of human development*. Cambridge, MA: Harvard University Press; 1979.
59. Almeida Filho N. Complejidad y transdisciplinariedad en el campo de la salud colectiva: evaluación de conceptos y aplicaciones. *Salud Colectiva* 2006; 2: 123-46.
60. Marmot M, Wilkinson R (Eds). *Social Determinants of Health* 2nd edition. Oxford: Oxford University Press. 2001.