METYLACJA DNA – WPŁYW WYBRANYCH NATURALNYCH SKŁADNIKÓW DIETY

DNA METHYLATION – EFFECT OF SELECTED NATURAL COMPOUNDS OF DIET

Barbara BOBROWSKA-KORCZAK, Katarzyna BIENIEK, Andrzej TOKARZ

Zakład Bromatologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Streszczenie: Metylacja DNA jest odwracalną modyfikacją epigenetyczną regulującą ekspresję genów. Badania wpływu składników diety na procesy epigenetyczne w przyszłości mogą mieć istotne znaczenie w prewencji i wspomaganiu leczenia farmakologicznego różnych chorób, a szczególnie w zmniejszeniu działań niepożądanych terapii. W pracy omówiono rolę folianów, witamin B2, B12 oraz B6, metioniny, wybranych składników mineralnych i związków polifenolowych w utrzymaniu prawidłowego modelu metylacji DNA. Zaburzenia ilościowe i metaboliczne w/w składników w organizmie mogą prowadzić do hypo/hypermetylacji DNA, których skutkiem może być rozwój szeregu chorób, w tym choroby nowotworowej.

Słowa kluczowe: metylacja, DNA, ekspresja genów, dieta

Summary: DNA methylation is an important epigenetic process regulating gene expression. The modulation of DNA methylation by applying various dietary components may prove to be significant in prevention or adjunctive therapies in various diseases including cancer. This paper presents direct evidence that certain dietary factors such as folate, riboflavin, vitamin B12, vitamin B6, methionine, trace elements, polyphenolic compounds, can induce changes in genomic DNA methylation, for example they can cause DNA hypo/hypermethylation leading to an increased risk of cancer.

Key words: methylation, DNA, gene expression, diet

Wykaz stosowanych skrótów: COMT – O-metylotransferaza katecholowa; CpG – cytydyna-fosforan-guanozyna; DNMT – DNA-metylotransferaza; EGCG – galusan epigalokatechiny; HDAC – deacetylaza histonowa; HAT – acetylotransferaza histonowa; ITC – izotiocyjanany; KMSB – α-keeto-γ-metyloselenomaślan; MBD –białka wiążące metylowane CpG; MSC – metyloselenocysteina; MSP – β-metyloselenopirogronian; SAH – S-adenozylo-L-homocysteina; SAM – S-adenozylo-L-mełtionina; SFN – sulforafan; SM –selenometionina.

Termin epigenetyka odnosi się do modyfikacji w ekspresji genów poprzez zmiany w metylacji DNA i strukturze chromatyny [22]. Nutriepigenetyka jest znacznie nowszą od epigenetyki gałęzią nauki. Dziedzina ta zajmuje się współzależnościami pomiędzy składnikami przyjmowanymi z dietą a możliwymi w wyniku tego zmianami zachodzącymi w epigenomie. Z rozwojem nutriepigenetyki wiązane są ogromne nadzieje. Coraz więcej składników diety badanych jest pod kątem potencjalnego zastosowania ich suplementacji w prewencji szeregu chorób, jak również wspomaganiu leczenia farmakologicznego, a szczególnie obniżenia niepożądanych skutków terapii farmakologicznej [22].

Metylacja DNA jest odwracalną modyfikacją epigenetyczną regulującą ekspresję genów. Enzymami niezbędnymi do przeprowadzenia procesu metylacji są DNA-metylotransferazy (DNMT) przenoszące grupy -CH_3 na adeninę bądź cytozynę. Pełnią one funkcję katalityczną podczas addycji grup metylowych do atomu węgla w pozycji C5 pierścienia pirymidynowego cytozyny, do atomu N6 adeniny oraz do N4 cytozyny. Donorem grup metylowych jest S-adenozylo-L-metionina (SAM). W wyniku tej reakcji dochodzi do powstania zmetylowanego DNA i S-adenozylo-L-homocysteiny (SAH) [47, 49].

Metylacja zachodzi w sposób ukierunkowany. Ulegają jej wyłącznie cytozyny zawarte w określonych sekwencjach CpG (cytydyna-fosforan-guanozyna). 60-80% sekwencji CpG organizmów wyższych zawiera zmetylowaną cytozynę. Każda prawidłowa komórka eukariotyczna posiada określony wzorzec metylacji DNA [13, 32, 53].

Dokładny mechanizm prowadzący do wyciszenia aktywności transkrypcyjnej na skutek metylacji cytozyny w regionach CpG nie jest jeszcze poznany, ale potwierdzono już, że związany jest on między innymi ze spadkiem acetylacji histonów. W procesie tym uczestniczą też białka MBD (białka wiążące metylowane CpG) [13, 52, 53].

Przypuszczalny przebieg procesu remodelingu chromatyny na skutek metylacji DNA opiera się na rozpoznawaniu przez MBD zmetylowanej cytozyny w regionach CpG i przyłączaniu się tych białek do 5-MeC. MBD łączą się również z deacetylazami histonowymi (HDAC) i białkami zależnymi od ATP. Całość tych procesów prowadzi do deacetylacji histonów, konsekwencją czego jest utworzenie upakowanej chromatyny, co uniemożliwia transkrypcję. Ciekawym faktem jest, że supresorem transkrypcji mogą być także metylotransferazy DNA poprzez przyłączenie deacetylaz histonowych do zmetylowanych cytozyn [30].

Początkowo powszechna była opinia, że do przekształcenia histonów niezbędna jest poprzedzająca je metylacja DNA. Jednakże nowsze doniesienia wskazują, że metylacja DNA może zostać zainicjowana przez modyfikację histonów [8]. W związku z tym ekspresja genów podlega kontroli zarówno poprzez metylacy

cję DNA i acetylację/deacetylację histonów. Modyfikacje histonów zachodzą przy udziale deacetylaz oraz acetylotransferaz histonowych (HAT). HAT są koaktywatorami, natomiast HDAC korepresorami transkrypcji [20].

Metylacja DNA jest związana z regulacją ekspresji genów, modulacją struktury chromatyny ale również uczestniczy w takich procesach jak: inaktywacja chromosomu X czy imprinting rodzicielski. Zaburzenia profilu metylacji stwierdzono u pacjentów z chorobami genetycznymi, tj. zespół Pradera-Williego, zespół Angelmana, ale również w chorobach ośrodkowego układu nerwowego (autyzmie, schizofrenii, chorobie Alzheimera, Parkinsona, depresji), układu sercowo-naczyniowego (np. miażdżycy, kardiomiopatii przerostowej) oraz w chorobach nowotworowych [11, 26, 33, 49].

Zmiany globalnego lub miejscowego modelu metylacji DNA mogą oddziaływać na całość procesów związanych z przebiegiem transformacji nowotworowej zachodzących zarówno drogą zmian genetycznych, jak i epigenetycznych [28,31].

Metylacja cytozyny w nici DNA prowadzi do powstania 5-metylocytozyny, która może być spontanicznie zdeaminowana do tyminy. Deaminacja 5-metylocytozyny jest przyczyną zachodzenia tranzycji C→T. Glikozylaza tyminowa DNA posiada niską aktywność naprawczą, która dodatkowo jest hamowana przez DNMT, w związku z czym mutacja ta często pozostaje nienaprawiona, co może prowadzić do negatywnych skutków [15]. Rozpatrując częstotliwość mutacji wykrywanych w komórkach nowotworowych u ludzi aż 25% stanowią tranzycje C→T, w sekwencjach CpG [5].

Nadmierna metylacja nie jest pożądanym zjawiskiem w prawidłowej komórce. Zapobiegać jej powinny liczne mechanizmy, do których zaliczyć można: demetylację DNA, modyfikację struktury chromatyny, czy aktywną transkrypcję. W komórkach rakowych systemy regulacyjne są zaburzone i okazują się niewystarczające. Podczas procesu nowotworzenia dochodzić może do hipermetylacji wysp CpG, sekwencji powtórzonych DNA, genów uczestniczących w kontroli przebiegu cyklu komórkowego (p14, p15, p16), oporności na leki, angiogenezy, różnicowania komórkowego, czy naprawy uszkodzonego DNA [8].

Wpływ hipometylacji na onkogenezę wyraża się nadekspresją onkogenów spowodowaną demetylacją regionów promotorowych tych onkogenów. Należą do nich między innymi geny: C-myc, c-fos, bcl-2, raf [15].

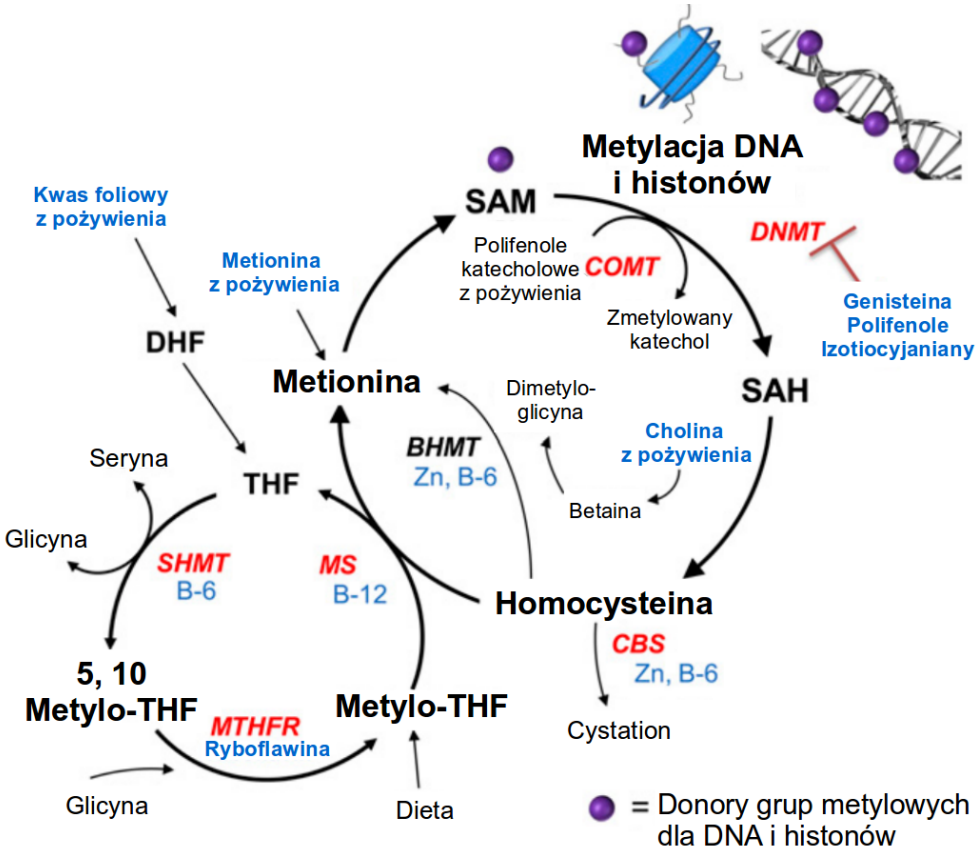
W ciągu ostatnich lat nastąpił znaczący postęp w badaniach umożliwiających zrozumienie zależności pomiędzy dietą a ekspresją niektórych genów oraz ich wpływu na rozwój i przebieg szeregu chorób. Odwracalność zmian epigenetycznych daje nadzieję na wykorzystanie niektórych substancji pochodzących z pożywienia zarówno w zapobieganiu jak i terapii szczególnie nowotworów. W licznych badaniach udowodniono istnienie, co najmniej 4 mechanizmów, zgodnie

z którymi następować może modulacja epigenomu na skutek ekspozycji na czynniki żywieniowe. Z pewnością zaliczyć można do nich wpływ na aktywność enzymów: HDAC, DNMT i HAT, jak również wpływ na dostępność i metabolizm jednostek jednowęglowych (tab. 1) [46].

TABELA 1. Modulacja przez składniki naturalnie występujące w przyrodzie aktywności enzymów uczestniczących w metylacji DNA [46]
TABLE 1. DNMT, HAT, HDAC modulators derived from natural sources

SKŁADNIKI WYKAZUJĄCE DZIAŁANIE NA AKTYWNOŚĆ WYBRANYCH ENZYMÓW UCZESTNICZĄCYCH W METYLACJI DNA		
DNA-metylotransferaza	acetylotransferaza histonowa	deacetylaza histonowa
genisteina	eugenol	merkaptan allilu
galusan epigalokatechiny	kwas anakardowy	ekwol
psammapliny	galusan epigalokatechiny	flawon
kwercetyna	kurkumina	genisteina
fisetyna	kwas galusowy	kwas kawowy
mirycetyna	garcinol	sulforafan
kwas kawowy	kwercetyna	kwas chlorogenowy
kwas chlorogenowy	sangwinaryna	kwas cynamonowy
kurkumina		kwas hydroksycynamonowy
partenolid		kurkumina
		histacyna
		disiarczek diallilu
		S-allylomerkaptocysteina
		kwas ursolowy
		izotiocyjaniany

Składniki diety zaangażowane w tzw. metabolizm jednego atomu węgla odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu prawidłowego modelu metylacji DNA (ryc. 1) [27]. Foliany pełnią ważną funkcję w metylacji DNA, jako kofaktor enzymu syntazy metioninowej. 5-metylo-tetrahydrofolian przenosi grupę metylową na homocysteinę z wytworzeniem metioniny, która ma kluczowe znaczenie jako prekursor SAM. Poziom metioniny może być modulowany również bezpośrednio poprzez wysoką podaż metioniny w diecie wzbogaconej w białko, jak również cholinę. Witamina B_{12}, czyli metylomalonylokobalamina jest istotnym kofaktorem syntazy metioninowej. Witamina B_6 odgrywa ważną rolę jako kofaktor dla niektórych enzymów biorących udział w resyntezie cysteiny, tworzeniu metioniny oraz metabolizmie kwasu foliowego. Ograniczona ilość w diecie metioniny, choliny, folianów bądź witamin B_6 i B_{12} może przyczyniać się do nadmiernej hipometylacji w obrębie konkretnych genów. Ma to związek ze wzrostem ryzyka rozwoju nowotworów [29, 42, 44]. Interesującym zagadnieniem jest pierwszeństwo występowania zmian w metylacji histonów w stosunku do modyfikacji w metylacji DNA na skutek wyczerpania donorów grup metylowych [43].



RYCINA 1. Modulatory metylacji DNA [27]. Modulatory metylacji DNA: foliany, ryboflawina, witaminy B12 oraz B6, metionina, cholina, wybrane składniki mineralne (cynk i selen) i związki polifenolowe. Zastosowane skróty:
BHMT – metylotransferaza betaina-homocysteina
CBS – syntaza β cystationowa
COMT – metylotransferaza O-katecholowa
DHF – dihydrafolian
DNMT –DNA-metylotransferaza
MS – syntaza metioninowa
MTHFR – reduktaza 5,10-metylenotetrahydrofolianowa
SAH – S-adenozylohomocysteina
SAM – S-adenozylometionina
SHMT – hydroksymetylotransferaza serynowa
THF – tetrahydrofolian.
FIGURE 1. Modulators of DNA methylation [27]. Dietary factors that can regulate DNA methylation: riboflavin, vitamin B12, vitamin B6, methionine, choline, trace elements (zinc and selenium), polyphenols

Dużo uwagi w publikacjach naukowych poświęca się badaniom wpływu związków polifenolowych na proces metylacji DNA. Ostatnie badania wskazują, iż genisteina oraz daidzeina wykazują działanie modulatorów aktywności DNMT i metylacji sekwencji promotorowych. Zarówno w przypadku linii komórkowych nowotworów androgenozależnych, jak i androgenoniezależnych prostaty, genisteina (w dawce 20-50 μmol/L) hamuje, zależnie od dawki, aktywność DNMT [21, 24, 25]. Inne izoflawony, takie jak daidzeina również hamują DNMT, ale potencjał inhibicji jest znacznie niższy [17]. Badania kinetyczne sugerują, że genisteina hamuje aktywność metylotransferazy DNA zarówno kompetycyjnie jak i niekompetycyjnie, w zależności od rodzaju substratu. Zahamowanie aktywności DNMT pod wpływem genisteiny skutkuje hipometylacją i reaktywacją wyciszonych genów, np. w raku prostaty: STPp1 oraz białek supresorowych dla nowotworów takich jak BTG3, RASSF1a i p16INK4a [17, 37, 50]. Jednakże w badaniach *in vivo* analizujących wpływ diety wzbogaconej o genisteinę wykazano wzrost poziomu metylacji. Dolinoy i wsp. [12] stwierdzili, że podawanie genisteiny mysim matkom powoduje hipermetylację u potomstwa, co skutkuje wyciszaniem genów, zmianą umaszczenia sierści oraz zmniejszoną otyłością. Day i wsp. [10] wykazali, iż suplementacja genisteiną (w dawce 300 mg/kg diety), przez okres 4 tygodni, diety myszy powoduje hipermetylację wysp CpG w tkance prostaty.

Badania eksperymentalne wskazują, że w warunkach *in vitro* galusan epigalokatechiny (EGCG) jest skutecznym inhibitorem DNMT [18]. EGCG może zostać zmetylowany przy udziale O-metylotransferazy katecholowej z wykorzystaniem jako substratu S-adenozylometioniny. Demetylacja SAM skutkuje zwiększeniem stężenia S-adenozylohomocysteiny, która pełni funkcję inhibitora DNMT. COMT (O-metylotransferaza katecholowa) i DNMT należą do tej samej rodziny metylotransferaz zależnych od SAM i wykazują podobieństwo kluczowych elementów swojej struktury. EGCG może działać jako mieszany (kompetycyjny oraz niekompetycyjny) inhibitor COMT [4]. Badania z użyciem sond molekularnych wykazały, że EGCG wchodzi także w interakcje z miejscem aktywnym DNMT1 działając jako inhibitor kompetycyjny [4]. W badaniach *in vitro* zaobserwowano, że EGCG powoduje zależne od dawki i czasu odwrócenie hipermetylacji genów supresorowych dla nowotworów w kilku rodzajach raka [3, 19]. Zastosowanie EGCG w raku prostaty powoduje ponowne uaktywnienie genów wyciszonych przez metylację [3].

Interesującą obserwacją jest ujawnienie, że związana z zastosowaniem EGCG silna bezpośrednia inhibicja metylacji jest zależna od obecności jonów Mg^{2+}. Wyniki badań *in vitro* wskazują, że obecność jonów Mg^{2+} (w stężeniu około 2 mM) radykalnie potęguje moc blokowania reakcji metylacji DNA zależnej od DNMT1 przez EGCG. Wykazano wpływ jonów Mg^{2+} na siłę działania również innych związków polifenolowych. Przytoczyć tutaj można przykład mirycetyny (posiadającej resztę kwasu pirogalowego). Mirycetyna, w obecności jonów Mg^{2+}, wykazuje silniejszy potencjał inhibicyjny wobec DNMT i skuteczność działania od kwercetyny i fise-

tyny. Przypuszcza się, że na wysokie powinowactwo EGCG do miejsca katalitycznego w ludzkim DNMT1 największy wpływ ma obecność reszty kwasu galowego. W przeciwieństwie do EGCG i mirycetyny, polifenole pozbawione reszty kwasu galowego bądź pirogalowego, takie jak katechina, epikatechina, kwercetyna i fisetyna, nie mają możliwości wchodzenia w interakcje z Mg^{2+} lub Glu1265. W konsekwencji tego, powyższe polifenole katecholowe prawdopodobnie wykazują słabszy bezpośredni potencjał inhibicji DNMT, jednakże poza tym mogą wywierać silną pośrednią inhibicję DNMT poprzez tworzenie SAH podczas metylacji przez COMT [35].

Izotiocyjanany (ITC) są składnikami aktywnymi występującymi w warzywach z rodziny *Brassicaceae* (Kapustowate), takich jak brokuły, brukselka, kalafior i kapusta. Najważniejszą substancją aktywną należącą do ITC jest sulforafan (SFN) [16]. Działanie chemoprewencyjne sulforanu przypisuje się różnym mechanizmom. W badaniach *in vitro* wykazano, iż metabolity SFN hamują aktywność deacetylaz histonowych. Efekt ten wykazywały najsilniej pochodna z grupą N-acetylocysteinową (SFN-NAC) i cysteiną (SFN-Cys) [45]. Modelowanie molekularne analizujące miejsce aktywne enzymu HDAC dostarczyło dowodów na działanie SFN-Cys jako inhibitora kompetycyjnego [40]. W badaniach prowadzonych na komórkach raka prostaty: BPH1, LnCaP i PC3 potwierdzono, iż sulforafan hamuje aktywność HDAC, zwiększając jednocześnie ogólną acetylację histonów, nasilając interakcję acetylowanego histonu H4 z białkiem p21 i promotorem Bax, indukując p21 i Bax mRNA, zwiększając stężenie tych białek i zatrzymując cykl komórkowy [6, 39]. Co ciekawe sulforafan obniża poziom ekpresji różnych klas deacetlaz w sposób selektywny, zależny od stopnia zaawansowania choroby nowotworowej [6].

Działanie SFN na modyfikacje epigenetyczne nie ogranicza się wyłącznie do regulacji na poziomie HDAC. Ostatnie badania świadczą, że SFN może wpływać na nieprawidłowo zmetylowane geny również poprzez modulację ekspresji DNMT. Meeran i wsp. [38], w badaniach prowadzonych z zastosowaniem komórek raka piersi (MDA-MB-231, MCF7; kontrola komórki MCF10A), wykazali, że SFN istotnie, zależnie od dawki, obniża ekspresję DNMT1 i DNMT3a; w analizowanym przypadku sulforafan miał niewielki wpływ bądź żadnego na aktywność DNMT3b.

Kurkumina (diferuloilometan) jest aktywnym składnikiem Ostryżu długiego (*Curcuma longa, Zingiberaceae*) uprawianego w Azji, Australii i Ameryce Południowej. Uznawana jest za jeden z najsilniejszych i najbardziej obiecujących związków o działaniu przeciwnowotworowym. Wyniki badań sugerują, że kurkumina może być supresorem na kilku etapach nowotworzenia: inicjacji, promocji i progresji [23, 46].

Jak dotąd istnieje niewiele badań analizujących wpływ stosowania kurkuminy na mechanizm metylacji DNA. Istnieją przypuszczenia, że kurkumina działa blokująco na grupy tiolowe obecne w DNMT1, w wyniku czego następuje inhibicja metylacji DNA. Liu i wsp. [36] badając na komórkach typu MV4-11 mechanizmy leczenia leukemii, wykazali, iż kurkumina w dawkach 3 i 30 μM obniża poziom me-

tylacji DNA o około 15-20%; co ciekawe podobny wynik uzyskano dla decitabiny. Prowadzone badania miały na celu sprawdzenie możliwości obniżenia działań niepożądanych stosowanych już terapii poprzez wprowadzenie do leczenia kurkuminy.

Kurkumina wykazuje selektywny wpływ na aktywność deacetylaz histonowych. Shu i wsp. [48] stwierdzili, iż traktowanie komórek raka prostaty (LNCaP) kurkuminą (w dawce 5 μM) skutkuje wzrostem ekspresji HDAC 1, 4, 5, 8, ale obniżeniem HDAC3. Całkowita aktywność HDAC pozostawała jednak obniżona. Podobne wyniki badań uzyskali również inni autorzy [22].

Zarówno w badaniach in vivo, jak i in vitro wykazano, iż kurkumina jest specyficznym inhibitorem białka p300/CBP, natomiast nie stwierdzono jej działania w przypadku enzymów PCAF, HTM. Zahamowanie aktywności HAT wiąże się ze strukturalną modyfikacją białka p300, uniemożliwiającą jego połączenie się z białkami histonowymi czy kofaktorem acetyloCoA. Obniżenie aktywności białka p300 wywołane działaniem kurkuminy przyczynia się do zahamowania NF-κB. W 2004 roku Balasubramanyam i wsp. [1, 2] wykazali, że kurkumina blokuje *in vivo* acetylację p53 powiązaną z p300 oraz znacząco ogranicza acetylację białka HIV-Tat, jak również proliferację wirusa. Indukcja hipoacetylacji histonów spowodowana podawaniem kurkuminy osobom cierpiącym na glejaka mózgu aktywuje apoptozę powiązaną z poly(ADP) polimerazą rybozy oraz kaspazą 3 [46].

Oprócz opisanego wcześniej magnezu, również inne pierwiastki śladowe mogą pośrednio lub bezpośrednio wpływać na proces metylacji DNA.

Cynk pełni rolę kofaktora dla kilku enzymów szlaku transsulfuracji metioniny, który stanowi kluczowy szlak wytwarzający donory grup metylowych, takie jak SAM czy betaina. Metylotransferaza betaino-homocysteinowa oraz syntaza metioninowa są kolejnymi enzymami, których aktywność uzależniona jest od obecności cynku (ryc. 1) [14]. Hydroksymetylotransferaza seryny będąca głównym enzymem metabolizującym kwas foliowy i przenoszącym grupy metylowe z seryny do cyklu metioninowego jest regulowana przez zależne od cynku czynniki transkrypcyjne, w tym czynnik transkrypcyjny 1. Powyższe dane dają silne podstawy ku temu, aby uznać cynk za istotny składnik pokarmowy uczestniczący w utrzymywaniu prawidłowego stanu metylacji w komórce. Niedobór cynku może powodować deficyt grup metylowych, podobnie jak w przypadku niskiej podaży innych donorów grup metylowych, takich jak kwas foliowy. W konsekwencji tego dochodzić może do zaburzeń poziomu ekspresji niektórych genów oraz wzrostu ryzyka wystąpienia wad rozwojowych [51].

Z badań wynika, iż niedobór w diecie selenu skutkuje występowaniem globalnej hipometylacji DNA. Davis i wsp. [9] wykazali, że niedobór selenu w diecie szczurów (Fischer 344) traktowanych dimetylohydrazyną (DMH, w dawce 25 mg/kg) wywołuje hipometylację DNA w okrężnicy (bez zmian w wątrobie), obniża w wątrobie aktywność DNA metylotransferazy i metylotransferazy betaino-homocysteinowej. Xiang i wsp. [54] wykazali, że nieorganiczny selen powoduje zmniej-

szenie aktywności HDAC, wzrost acetylacji histonów i reaktywację GSTp1. Jednocześnie selenek sodu zmniejszał ekspresję DNMT1 oraz zmetylowanego H3K9 powiązanych z promotorem GSTp1.

Zostało potwierdzone, że α-ketokwasowe metabolity selenu oraz związki organiczne selenu hamują aktywność HDAC w komórkach raka prostaty. W diecie głównymi formami organicznego selenu są metyloselenocysteina (MSC) i selenometionina (SM). Formy te mogą być metabolizowane przez β/γ liazę z utworzeniem metyloselenolu, lub ulegać transaminacji/utlenianiu wytwarzając α-ketokwasy. Metyloselenol został zaproponowany jako domniemany aktywny metabolit odpowiedzialny za modulację sygnałów komórkowych oraz wpływ na szlaki prowadzące do apoptozy [55]. Jednocześnie α-ketokwasy, takie jak MSP (ß-metyloselenopirogronian) czy KMSB (α-keto-γ-metyloselenomaślan) mogą wykazywać działanie epigenetyczne. Przykładowo, MSP powstający w wyniku transaminacji MSC i KMSB tworzony na skutek transaminacji SM, hamują aktywność HDAC, zwiększają poziom acetylacji histonów i aktywność promotora p21 oraz indukują zatrzymanie cyklu komórkowego i apoptozę w komórkach raka jelita grubego nawet w stężeniu 2 μmol/L [34,41].

Bardzo ważnym zagadnieniem, jest fakt, iż profil epigenetyczny przekazywany potomstwu zależy od wpływu czynników środowiskowych, w tym dietetycznych.

Badanie Cooney'a i wsp. [7] miało na celu ustalenie, czy przyjmowanie przez matkę pokarmów będących bogatymi źródłami grup metylowych zwiększa metylację DNA oraz czy kształtuje zależny od metylacji, fenotyp u potomstwa. Dwóm grupom myszy zarówno przed zapłodnieniem, jak i podczas ciąży, podawano pokarm o różnych ilościach grup metylowych, natomiast trzecia, której nie podawano pożywienia wzbogaconego o grupy metylowe, stanowiła grupę kontrolną. Potomstwo tych myszy różniło się fenotypem, który był kształtowany przez zmiany epigenetyczne i wpływał na stan zdrowia oraz przeżywalność w okresie 2 lat od narodzin [7]. Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów można wnioskować, że suplementacja produktami będącymi donorami grup metylowych podnosi poziom metylacji DNA oraz zmienia fenotyp potomstwa. Fakt ten wskazuje na znaczenie stosowania suplementacji donorami grup $–CH_3$, które to mogą wywoływać silne zmiany w profilu metylacji DNA i fenotypie, a przez to wykazywać długotrwały wpływ na stan zdrowia [7]. W związku z tym normy określające odpowiednie dla zdrowia i długowieczności proporcje i ilości składników odżywczych mogące wpływać na proces metylacji DNA powinny być starannie analizowane. Ma to na celu ustanowienie odpowiednich wytycznych dla kobiet ciężarnych, które określałyby optymalne dawki składników pokarmowych zalecanych ciężarnym [7].

Modyfikacje epigenetyczne wpływające na zdrowie zachodzą na każdym etapie życia. Stosując odpowiednie żywienie można kierować nimi w taki sposób, aby poprawić ogólny stan zdrowia i długość życia ludzi. Dodatkowo warto podkreślić, iż zmiany epigenetyczne mogą być podobnie jak genetyczne przekazywane z pokolenia na pokolenie [7].

Zrozumienie dokładnego działania aktywnych biologicznie składników diety jest zadaniem trudnym i złożonym. Wiele z tych związków wykazuje działanie plejotropowe, co może być uznawane zarówno jako zaleta, jak i wada. Dla wielu składników diety relatywna ocena wpływu oddziaływania genetycznego i epigenetycznego nie została dostatecznie określona. Co ważniejsze, istnieje wyraźna potrzeba przeprowadzenia badań dotyczących dawkowania, metabolizmu, czasu działania oraz specyficzności tkankowej. Jest możliwe, że dawki skuteczne w mechanizmach epigenetycznych okażą się zbyt niskie dla modulowania mechanizmów genetycznych i vice versa. Wyznaczenie odpowiedzi w zależności od dawki, wraz z ustaleniem potencjalnej toksyczności jest szczególnie ważne przed wydaniem jakichkolwiek rekomendacji żywieniowych bądź leczniczych.

LITERATURA

[1] Balasubramanyam K, Altaf M, Varier R, Swaminathan V, Ravindran A, Sadhale P, Kundu. Polyisoprenylated benzophenone, garcinol, a natural histone acetyltransferase inhibitor, represses chromatin transcription and alters global gene expression. J Biol Chem 2004; **279**: 33716-33726.

[2] Balasubramanyam K, Varier R, Altaf M, Swaminathan V, Siddappa N, Ranga U, Kundu T. Curcumin, a novel p300/CREB binding protein-specific inhibitor of acetyltransferase, represses the acetylation of histone/nonhistone proteins and histone acetyltransferase-dependent chromatin transcription. J Biol Chem 2004; **279**: 51163-51171.

[3] Berletch J, Liu C, Love W, Andrews L, Katiyar S, Tollefsbol T. Epigenetic and genetic mechanisms contribute to telomerase inhibition by EGCG. J Cell Biochem 2008; **103**: 509-519.

[4] Chen D, Wang C, Lambert J, Ai N, Welsh W, Yang C. Inhibition of human liver catechol-O-methyltransferase by tea catechins and their metabolites: structure-activity relationship and molecular-modeling studies. Biochem Pharmacol 2005; **69**: 1523-1531.

[5] Chen J, Zheng Y, West M, Tang M. Carcinogens preferentially bind at methylated CpG in the p53 mutational hot spots. Cancer Res 1998; **58**: 2070-2075.

[6] Clarke D, Hsu A, Yu Z. Differential effects of sulforaphane on histone deacetylases, cell cycle arrest and apoptosis in normal prostate cells versus hyperplastic and cancerous prostate cells. Mol Nutr Food Res 2011; **55**: 999-1009.

[7] Cooney C, Dave A, Wolff G. Maternal methyl supplements in mice affect epigenetic variation and DNA. J Nutr 2002; **132**: 2393-2400.

[8] Das P, Singal R. DNA methylation and cancer. J Clin Oncol 2004; **22**: 4632-4642.

[9] Davis CD, Uthus EO. Dietary folate and selenium affect dimethylhydrazine-induced aberrant crypt formation, global DNA methylation and one-carbon metabolism in rats. J Nutr 2003; **133**: 2907-2914.

[10] Day JK, Bauer AM, Desbordes C, Zhuang Y, Kim B, Newton LG, Nehra V, Forsee KM, Macdonald RS, Besch-Williford C, Hui-Ming Huang T, Lubahn DB. Genistein alters methylation patterns in mice. J Nutr 2002; **132**: 2419S-2423S.

[11] Dmitrzak-Węglarz M, Hauser J. Mechanizmy epigenetyczne w chorobach psychicznych, zaburzeniach funkcji poznawczych. Psychiatria 2009; **6**: 51-60.

[12] Dolinoy DC, Weidman JR, Waterland RA, Jirtle RL: Maternal genistein alters coat color and protects avy mouse offspring from obesity by modifying the fetal epigenome. Environ Health Perspect 2006; **114**: 567-572.

[13] Esteller M, Ballestar E. The impact of chromatin in human cancer: linking DNA methylation to gene silencing. Carcinogenesis 2002; **23**: 1103-1109.

[14] Evans J, Huddler D, Jiracek J, Castro C, Millian N, Garrow T, Ludwig M. Betaine-homocysteine methyltransferase: zinc in a distorted barrel. Structure 2002; **10**: 1159-1171.

[15] Fabianowska-Majewska K. Role of DNA methylation in cancerogenesis. Acta Haematol Pol 2000; **31**: 399-406.
[16] Fahey JW, Zhang Y, Talalay P. Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. Proc Natl Acad. Sci USA 1997; **94**: 10367-10372.
[17] Fang M, Chen D, Sun Y, Jin Z, Christman J, Yang C. Reversal of hypermethylation and reactivation of p16INK4a, RAR β and MGMT genes by genistein and other isoflavones from soy. Clin Cancer Res 2005; **11**: 7033-7041.
[18] Fang M, Chen D, Yang CS. Dietary polyphenols may affect DNA methylation. J Nutr 2007; **137**: 223-228.
[19] Fang M, Wang Y, Ai N, Hou Z, Sun Y, Lu H, Welsh W, Yang C. Tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits DNA methyltransferase and reactivates methylation-silenced genes in cancer cell lines. Cancer Res 2003; **63**: 7563-7570.
[20] Flis S, Flis K, Spławiński J. Epigenetic modifications and cancer. Int J Oncol 2007; **57**: 427-434.
[21] Fritz W, Wang J, Eltoum I, Lamartiniere C. Dietary genistein down-regulates androgen and estrogen receptor expression in the rat prostate. Mol Cell Endocrinol 2002; **186**: 89-99.
[22] Gerhauser C. Cancer chemoprevention and nutri-epigenetics: state of the art and future challenges. Top Curr Chem 2012; **360**: 1-60.
[23] Goel A, Aggarwal B. Curcumin, the golden spice from indian saffron, is a chemosensitizer and radiosensitizer for tumors and chemoprotector and radioprotector for normal organs. Nutr Cancer 2010; **62**: 919-930.
[24] Hamilton-Reeves JM, Rebello SA, Thomas W, Slaton JW, Kurzer MS. Isoflavone-rich soy protein isolate suppresses androgen receptor expression without altering estrogen receptor-beta expression or serum hormonal profiles in men at high risk of prostate cancer. J Nutr 2007; **137**: 1769-1775.
[25] Handayani R, Rice L, Cui Y, Medrano T, Samedi V, Baker H, Szabo N, Shiverick K. Soy isoflavones alter expression of genes associated with cancer progression, including interleukin-8, in androgen -independent PC-3 human prostate cancer cells. J Nutr 2005; **136**: 75-82.
[26] Hiltunen M, Turunen M, Häkkinen T, Rutanen J, Hedman M, Mäkinen K, Turunen A, Aalto-Setalä K, Ylä-Herttuala S. DNA hypomethylation and methyltransferase expression in atherosclerotic lesions. Vasc Med 2002; **7**: 5-11.
[27] Ho E, Beaver L, Williams D. Dietary factors and epigenetic regulation for prostate cancer prevention. Adv Nutr 2011; **2**: 497-510.
[28] Illingworth R, Bird A. CpG islands-'a rough guide'. FEBS Lett 2009; **583**: 1713-1720.
[29] James JS, Pogribny IP, Pogribna M, Miller BJ, Jemigan S, Melnyk S. Mechanisms of DNA damage, DNA hypomethylation, and tumor progression in the folate/methyl-deficient rat model of hepatocarcinogenesis. J Nutr 2003; **133**: 3740-3747.
[30] Jones P, Takai D. The role of DNA methylation in mammalian epigenetics. Science 2001; **293**: 1068-1070.
[31] Kieć-Wilk B. The role of DNA methylation in etiopathology of coronary heart diseases. Kardiol Pol 2010; **68**: 202-207.
[32] Kostka G, Urbanek K. DNA methylation – alternative mechanism of chemical carcinogenesis. Rocz Pan Zakl Hig 2005; **56**: 1-14.
[33] Kwinta Ł. Epigenetics of melanoma. Współcz Onkol 2008; **12**: 45-50.
[34] Lee J, Nian H, Cooper A, Sinha R, Dai, Bisson W, Dashwood R, Pinto J. α-Keto acid metabolites of naturally occurring organoselenium compounds as inhibitors of histone deacetylase in human prostate cancer cells. Cancer Prev Res 2009; **2**: 683-693.
[35] Lee W, Shim J, Zhu B. Mechanisms for the inhibition of DNA methyltransferases by tea catechins and bioflavonoids. Mol Pharmacol 2005; **68**: 1018-1030.
[36] Liu Z, Xie Z, Jones W, Pavlovicz RE, Liu S, Yu J, Li P, Lin J, Fuchs JR, Marcucci G, Li C, Chan KK. Curcumin is a potent DNA hypomethylation agent. Bioorg Med Chem Lett 2009; **19**: 706-709.
[37] Majid S, Dar A, Shahryari V, Hirata H, Ahmad A, Saini S, Tanaka Y, Dahiya A, Dahiya R. Genistein reverses hypermethylation and induces active histone modifications in tumor suppressor gene B-cell translocation gene 3 in prostate cancer. Cancer 2009; **116**: 66-76.

[38] Meeran S, Patel S, Tollefsbol T. Sulforaphane causes epigenetic repression of hTERT expression in human breast cancer cell lines. PLoS One 2010; **5**: 71-113.
[39] Myzak MC, Hardin K, Wang R, Dashwood RH, Ho E. Sulforaphane inhibits histone deacetylase activity in BPH-1, LnCaP and PC-3 prostate epithelial cells. Carcinogenesis 2006; **27**: 811-819.
[40] Myzak MC, Karplus A, Chung F, Dashwood RH. A novel mechanism of chemoprotection by sulforaphane: inhibition of histone deacetylase. Cancer Res 2004; **64**: 5767-5774.
[41] Nian H, Bisson W, Dashwood W, Pinto J, Dashwood R. α-Keto acid metabolites of organoselenium compounds inhibit histone deacetylase activity in human colon cancer cells. Carcinogenesis 2009; **30**: 1416-1423.
[42] Pogribny I, James S, Jernigan S, Pogribna M. Genomic hypomethylation is specific for preneoplastic liver in folate/methyl deficient rats and does not occur in non-target tissues. Mutat Res 2004; **548**: 53-59.
[43] Pogribny IP, Muskhelishvili L, Tryndyak VP, Rusyn I, Ross SA. Methyl deficiency, alterations in global histone modifications, and carcinogenesis. J Nutr 2007; **137**: 216-222.
[44] Pogribny I, Ross S, Wise C, Pogribna M, Jones E, Tryndyak V, James J, James Y, Poirier L. Irreversible global DNA hypomethylation as a key step in hepatocarcinogenesis induced by dietary methyl deficiency. Mutat Res 2006; **593**: 80-87.
[45] Rajendran P, Williams D, Ho E, Dashwood RH. Metabolism as a key to histone deacetylase inhibition. Crit Rev Biochem Mol Biol 2011; **46**: 181-199.
[46] Reuter S, Gupta S, Park B, Goel A, Aggarwal B. Epigenetic changes induced by curcumin and other natural compounds. Genes Nutr 2011; **6**: 93-108.
[47] Salozhin S, Prokhorchuk E, Georgiev G. Methylation of DNA-one of the major epigenetic markers. Biochemistry 2005; **70**: 525-532.
[48] Shu L, Khor TO, Lee JH, Boyanapalli SSS, Huang Y, Wu TY, Saw CL, Cheung KL, Kong AT. Epigentic CpG demethylation of the promoter and reactivation of the expression of Neurog 1 by curcumin in prostate LNCaP cells. AAPS J 2011; **13**: 606-614.
[49] Szutowski M, Łukasik M, Karmalska J. Effect of DNA methylation on genome function. Biul Wydz Farm WUM 2009; **2**: 13-18.
[50] Vardi A, Bosviel R, Rabiau N, Adjakly M, Satih S, Dechelotte P, Boiteux J, Fontana L, Bignon Y, Guy L, Bernard-Gallon D. Soy phytoestrogens modify DNA methylation of GSTP1, RASSF1A, EPH2 and BRCA1 promoter in prostate cancer cells. In Vivo 2010; **24**: 393-400.
[51] Wallwork JC, Duerre JA: Effect of zinc deficiency on methionine metabolism, methylation reactions and protein synthesis in isolated perfused rat liver. J Nutr 1984; **115**: 252-262.
[52] Watson R, Goodman J. Epigenetics and DNA methylation come of age in toxicology. Toxicol Sci 2002; **67**: 11-16.
[53] Worm J, Guldberg P. DNA methylation: an epigenetic pathway to cancer and a promising target for anticancer therapy. J Oral Pathol Med 2002; **31**: 443-449.
[54] Xiang N, Zhao R, Song G, Zhong W. Selenite reactivates silenced genes by modifying DNA methylation and histones in prostate cancer cells. Carcinogenesis 2008; **29**: 2175-2181.
[55] Zeng H, Wu M, Botnen J. Methylselenol, a selenium metabolite, induces cell cycle arrest in G1 phase and apoptosis via the extracellular-regulated kinase 1/2 pathway and other cancer signaling genes. J Nutr 2009; **139**: 1613-1618.

Redaktor prowadzący – Michał Nowicki

Otrzymano: 30.01.2014
Przyjęto: 26.03.2014
Barbara Bobrowska-Korczak
Zakład Bromatologii Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Banacha 1, 01-092 Warszawa
e-mail: barbara.bobrowska@wum.edu.pl