



Koncepcje nutrigenomiki

Maria Koziolkiewicz

Instytut Biochemii Technicznej, Politechnika Łódzka, Łódź



INNOWACYJNA
GOSPODARKA
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



ŻYWNOŚĆ
ŻYWIENIE
XXI

UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI FUNDUSZ
ROZWOJU REGIONALNEGO



ŻYWIENIE I ŻYWNOŚĆ W XXI W. - WIZJA ROZWOJU POLSKIEGO SEKTORA SPOŻYWCZEGO

Nutrigenomics concepts

Summary

The term *nutrigenomics* refers to the effect of diet on gene expression, while the term *nutrigenetics* refers to the influence of genetic variation (*single nucleotide polymorphisms* and/or *copy number variation*) on the response to a specific diet, functional food or diet supplement. Nutrigenomics and nutrigenetics become an important new research areas because there is growing evidence that diet can influence the long-term risk for metabolic, degenerative or cancer diseases. Various nutrients can influence DNA and chromatin structure, regulation of transcription and signal transduction. Understanding of the diet-gene interactions will allow to redefine current concepts of preventive medicine or dietetics and improve functional food production.

Key words:

nutrigenomics, nutrigenetics, single nucleotide polymorphism, genome, health, dietary components, dietary targets.

1. Wstęp – podstawowe pojęcia

Poznanie sekwencji genomu ludzkiego w sposób zdecydowany wpłynęło na kierunki rozwoju nauk biologicznych. W minionej dekadzie nastąpił znaczący rozwój nie tylko genomiki i proteomiki, ale także dyscyplin łączących nauki o żywności i żywieniu z biologią molekularną: nutrigenomiki i nutrigenetyki. Istnieje wiele przesłanek wskazujących, że w XXI w. te nowe dyscypliny nauk biologicznych będą miały znaczący wpływ na projektowanie i produkcję żywności oraz żywienie.

Nutrigenomika zajmuje się badaniem wpływu bioaktywnych składników diety na ekspresję genów (innymi słowy: na genom,

Adres do korespondencji

Maria Koziolkiewicz,
Instytut Biochemii
Technicznej,
Politechnika Łódzka,
ul. Stefanowskiego 4/10,
90-924 Łódź;
e-mail:
markoz1@autograf.pl

biotechnologia

4 (87) 9–34 2009

transkryptom, proteom i metabolom), a także identyfikuje mechanizmy decydujące o tym, w jaki sposób żywność i żywienie wpływają na stan zdrowia. Przedmiotem szczególnego zainteresowania tej nowej dyscypliny nauki są relacje pomiędzy dietą i genetycznymi predyspozycjami do tzw. chorób cywilizacyjnych, w tym chorób nowotworowych, metabolicznych i chorób układu krążenia. Nutrigenomika w znacznym większym stopniu niż inne „omiki” (genomika, transkryptomika i metabolomika) realizuje koncepcję holistycznego podejścia do problemu ludzkiego zdrowia.

Przedmiotem zainteresowania **nutrigenetyki** jest analiza różnic genetycznych, które istnieją u poszczególnych osobników lub grup etnicznych i mogą decydować o różnicach w sposobie działania składników diety na ich genomy oraz fenotypy. Celem nutrigenetyki jest identyfikacja polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) oraz alleli odpowiedzialnych za zróżnicowane odpowiedzi lub reakcje organizmów na bioaktywne składniki diety. Celem nutrigenetyki jest także rekomendowanie diety odpowiedniej dla nosicieli wykrytych wcześniej i zdefiniowanych alleli. Znajomość tych mechanizmów i indywidualnych uwarunkowań genetycznych pozwoli w przyszłości projektować dietę i/lub żywność funkcjonalną przeznaczoną dla określonych populacji lub pojedynczych osób.

Różnice, jakie istnieją pomiędzy nutrigenomiką a tradycyjnymi naukami o żywieniu w ich podejściu do żywności i jej bioaktywnych składników, łatwo wyjaśnić na przykładzie wiedzy o działaniu witaminy A. Powszechnie wiadomo, że witamina A reguluje proces wzrostu u dzieci i młodzieży, proces odbierania bodźców wzrokowych, reguluje wzrost i funkcjonowanie komórek nabłonka i skóry, ale molekularny mechanizm jej działania (synteza kwasu *all-trans* retinowego – ATRA, aktywacja specyficznych dla kwasu retinowego receptorów jądrowych działających jako czynniki transkrypcyjne oraz regulacja transkrypcji kilkuset genów) nie jest do końca poznany; nie wiadomo jakie geny i w jaki sposób są regulowane przez receptory RXR lub RAR. Nie wiadomo także, jaki wpływ na aktywność receptorów kwasu retinowego mają polimorfizmy pojedynczych nukleotydów w genach kodujących te białka. Podobnie jest ze znajomością mechanizmu działania witaminy D, która jest ligandem receptora jądrowego VDR, również pełniącego funkcję czynnika transkrypcyjnego (1).

Ponieważ nutrigenomika definiowana jest jako dyscyplina naukowa zaledwie od kilku lat, związana z nią terminologia podlega i będzie jeszcze podlegać pewnym zmianom. Niektórzy autorzy postulują, aby termin „genomika żywieniowa” (*nutritional genomics*) obejmował zarówno nutrigenomikę jak i nutrigenetykę (2). Inni używają zamiennie terminów „nutritional genomics” i „nutrigenomics” (3).

Centrum Doskonałości Genomiki Żywieniowej na Uniwersytecie Stanu Kalifornia w Davis (Center of Excellence for Nutritional Genomics at the University of California at Davis. <http://nutrigenomics.ucdavis.edu>) zdefiniowało obszary zainteresowań nutrigenomiki:

1) **rodzaje diety**, które w pewnych warunkach u niektórych osób mogą być czynnikami zwiększającymi ryzyko rozwoju chorób;

2) **związki chemiczne powszechnie występujące w diecie**, które mogą działać bezpośrednio lub pośrednio na genom, zmieniając strukturę chromatyny i/lub ekspresję genów;

3) **równowaga pomiędzy stanem fizjologicznym i patologicznym** zależna od indywidualnych uwarunkowań genetycznych oraz składników diety;

4) **geny, których ekspresja jest regulowana przez składniki diety** – w procesie powstawania i progresji chorób przewlekłych odgrywają one znaczącą rolę;

5) **wykorzystanie wiedzy** na temat genotypu pacjenta, jego zapotrzebowania na określone bioaktywne składniki diety oraz jego nawyków żywieniowych (tzw. dieta personalizowana) w celu zapobiegania, łagodzenia lub leczenia chorób przewlekłych.

Analiza tych zależności pozwala sformułować tezę, że w celu zapobiegania chorobie lub przywracania homeostazy można, a nawet należy stosować odpowiednio dobraną dietę. Sposób żywienia oraz farmakologia mogą stanowić uzupełniające się nawzajem podejścia w usuwaniu lub leczeniu, odpowiednio, stresu metabolicznego lub syndromu metabolicznego (4). Realizacja tej tezy wymaga identyfikacji wczesnych markerów stresu metabolicznego lub choroby oraz opracowania naukowych zasad projektowania żywności funkcjonalnej i diety personalizowanej (4-5).

Żywność funkcjonalna jest definiowana jako żywność zmodyfikowana lub zawierająca modyfikowany składnik, dzięki czemu może mieć działanie prozdrowotne, tzn. może wpływać na stan zdrowia konsumentów w sposób korzystny, ale inny niż to wynika z obecności tradycyjnie pojmowanych składników odżywczych, takich jak białka, węglowodany i tłuszcze. Przykładem żywności funkcjonalnej może być produkt wzbogacony w wapń i w ten sposób hamujący rozwój osteoporozy, lub produkt zawierający zwiększoną ilość błonnika, co może przeciwdziałać rozwojowi nowotworu jelita grubego. Coraz częściej termin **żywność funkcjonalna** jest stosowany w stosunku do produktów zawierających także inne składniki, np. polinienasycone kwasy tłuszczowe omega-3 lub polifenole (5).

Jednakże dostarczenie naukowych dowodów na prozdrowotne działanie żywności funkcjonalnej jest na ogół trudne. Niekiedy wyniki badań są niejednoznaczne; nie udało się np. udowodnić korzystnego wpływu kwasów tłuszczowych omega-3 na zahamowanie rozwoju nowotworów, chorób układu krążenia czy też na długość życia ludzkiego (6). Jedną z możliwych przyczyn niejednoznacznych wyników jest fakt, że w dotychczasowych badaniach nie uwzględniano różnic genetycznych pomiędzy badanymi pacjentami. Innymi słowy: kwasy omega-3 mogą redukować ryzyko nowotworu lub chorób układu krążenia u pewnej części populacji, podczas gdy u osób o innym genotypie nie da się zaobserwować korzystnego działania tych związków. Z jednej strony ważne jest definiowanie tzw. grup kontrolnych w badaniach epidemiologicznych, a z drugiej konieczna staje się identyfikacja molekularnych mechanizmów działania bioaktywnych składników diety.

2. Molekularne mechanizmy działania bioaktywnych składników diety

Analizując molekularne mechanizmy działania bioaktywnych składników diety, należy w pierwszej kolejności uwzględnić fakt, że są one niekiedy metabolizowane w zróżnicowany sposób ze względu na istnienie tzw. polimorfizmów genetycznych. Identyfikacja, klasyfikacja i charakterystyka polimorfizmów jest zadaniem nutrigenetyki (ang. *nutritional genetics*) (7).

Niezależnie od polimorfizmów genetycznych, bioaktywne składniki diety działają przynajmniej na dwóch poziomach procesu ekspresji genów:

1) jako czynniki regulujące strukturę chromatyny, co decyduje o aktywacji lub represji procesu transkrypcji (ang. *nutritional epigenetics*) (7);

2) jako czynniki regulujące w sposób bezpośredni aktywność receptorów jądrowych i pośrednio poziom transkrypcji genów kontrolowanych przez te receptory, które działają jako czynniki transkrypcyjne (ang. *nutritional transcriptomics*) (7).

Istnieje także wiele danych świadczących o wpływie bioaktywnych składników diety na efektywność procesów naprawy DNA i stabilność genomu (8).

2.1. Zróżnicowanie genetyczne populacji – polimorfizmy genetyczne

Koncepcja, że choroba może być efektem zaburzenia równowagi w interakcjach pomiędzy genami a składnikami diety nie jest niczym nowym. Pierwszy przykład takiej choroby (galaktozemii) został opisany w 1917 r., a kolejny (fenyloketonuria) w 1934 r. Obie te choroby należą do tzw. chorób jednogenowych. Do chwili obecnej zidentyfikowano ponad 1000 genów człowieka odpowiedzialnych za choroby jednogenowe (1). Do chorób monogenowych należy także rodzinna hipercholesterolemia, która objawia się bardzo wysokim poziomem frakcji LDL cholesterolu (LDL-C). Oblicza się, że na świecie cierpi na nią ok. 10 mln osób, z czego ponad 80% pozostaje niezdiagnozowanych i nie stosuje żadnej terapii. Choroba ta jest spowodowana brakiem aktywnego receptora LDL (LDLR), co powoduje zaburzenia w transporcie cząstek LDL-C do komórek i ich bardzo wysoki poziom w osoczu. Homozygoty pozbawione obu aktywnych alleli genu LDLR zdarzają się raz na milion osób, ale heterozygoty pojawiają się znacznie częściej: raz na 500 osób. W obrębie genu LDLR zidentyfikowano do tej pory ponad 800 mutacji, które są przyczyną występowania bardzo zróżnicowanych fenotypów. Co więcej, przyczyną zróżnicowanego metabolizmu lipoprotein LDL mogą być także mutacje innych genów, co moduluje fenotyp LDLR^{+/+}, dzięki czemu choroba przybiera cięższą lub łagodniejszą postać. Objawy rodzinnej hipercholesterolemii zależą także od diety; znane są przypadki osób, które pomimo tej choroby przeżyły w dobrej formie nawet 70-80 lat. Obecnie pacjenci z rodzinną hipercholesterolemią przyjmują statyny, ale w niektórych krajach można je stosować dopiero po ukończeniu przez pacjenta 18 roku życia. W tej sytuacji u dzieci i nastolatków obciążonych mutacją genu LDLR szczególnie ważna jest odpowiednio dobrana dieta (9).

Jednakże choroby układu krążenia, cukrzyca, większość przypadków otyłości, nowotwory są spowodowane skomplikowanymi interakcjami pomiędzy wieloma genami i czynnikami środowiskowymi, spośród których składniki diety należą do najważniejszych. Analizę zależności pomiędzy bioaktywnymi składnikami diety i ekspresją genów utrudnia dodatkowo zmienność genetyczna populacji spowodowana istnieniem wielu polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) oraz zróżnicowanej liczby kopii genów (CNV, ang. *Copy Number Variation* lub CNP, ang. *Copy Number Polymorphism*) (10).

Ocenia się, że genom ludzki zawiera ok. 10 milionów SNP – średnio co 300 nukleotydów występuje zmiana pojedynczego nukleotydu. Ilość CNP nie jest obecnie znana – ocenia się, że liczba tego typu polimorfizmów wynosi kilkanaście tysięcy. Zmienność genetyczna jest w znacznym stopniu efektem adaptacji organizmów do życia w niesprzyjających warunkach, w tym do niedostatecznej ilości żywności lub żywności toksycznej. SNP są efektem pojawiania się mutacji pojedynczych nukleotydów w DNA i ekspansji tych mutacji w obrębie populacji. Dostępność i rodzaj żywności wpływają na oba te procesy, np. niedobory witamin z grupy B powodują zaburzenia w procesie syntezy DNA, niekorzystnie wpływają na stabilność genomu i zwiększają częstość mutacji. O tym, które z tych mutacji zostaną utrwalone, a zatem o ich selekcji decyduje środowisko poprzez dostępność określonego rodzaju żywności. Tak na przykład zdolność dorosłych osobników do trawienia laktozy (uwarunkowana pojawieniem się odpowiednich SNP w genie laktazy) jest cechą tych społeczności, które miały często, z racji mrozów lub suszy, utrudniony dostęp do żywności, ale udało im się udomowić i hodować bydło (Europa, Afryka), natomiast nie występuje w grupach etnicznych, które takiej hodowli nie prowadziły (np. Japończycy) (11). Dlatego zmienność genetyczna danej populacji zależy w dużym stopniu od historii jej migracji z rejonów południowej Afryki, etapów rozwoju cywilizacyjnego, zamieszkiwanego obecnie regionu geograficznego oraz stopnia jej izolacji w stosunku do innych subpopulacji.

2.1.1. Reduktaza metylenotetrahydrofolianowa – MTHFR

W jaki sposób polimorfizm pojedynczego nukleotydu może zmieniać aktywność enzymu i jak ten efekt przekłada się na metabolizm komórkowy i stabilność genomu? Przykładem najczęściej cytowanym w literaturze jest polimorfizm genu kodującego reduktazę metylenotetrahydrofolianową (MTHFR). Polimorfizm pojedynczego nukleotydu w genie MTHFR (C667→T) powoduje spadek aktywności enzymu, który katalizuje konwersję metylenotetrahydrofolianu do metyloitetrahydrofolianu. Reakcja jest zależna m.in. od ryboflawiny (witaminy B2), która jest kofaktorem MTHFR (2).

Metyloitetrahydrofolian jest niezbędny jako donor grupy metylowej w reakcji konwersji homocysteiny do metioniny. Z tego wniosek, że SNP C667→T u homozy-

got TT jest odpowiedzialny za niższą aktywność enzymu MTHFR, wzrost poziomu homocysteiny (o 14-21%) oraz obniżenie poziomu metioniny. Z kolei pochodna metioniny (S-adenozylometionina) jest niezbędna jako donator grupy metylowej w reakcjach metylacji cytozyny w DNA oraz reakcjach metylacji reszt lizyny w białkach histonowych. Zarówno metylacja cytozyny, jak i metylacja białek histonowych są elementami tzw. epigenetycznej regulacji transkrypcji, czyli jednego z mechanizmów odpowiedzialnych za regulację ekspresji genów (patrz rozdz. 2.2). Tak zatem SNP C667→T może powodować niekorzystny wzrost poziomu homocysteiny i spadek poziomu metioniny oraz S-adenozylometioniny, co może negatywnie wpływać na poziom metylacji cytozyny w DNA oraz/lub poziom metylacji histonów i w ten sposób zaburzać proces ekspresji genów, nie mówiąc już o innych, niekorzystnych skutkach podwyższonego poziomu homocysteiny (czynnik ryzyka w chorobach układu krążenia).

Obniżona aktywność reduktazy MTHFR może być związana z jednej strony z większym ryzykiem defektów cewy nerwowej, zespołu Downa oraz zmian nowotworowych nabłonka szyjki macicy, a z drugiej stwierdzono korelację pomiędzy polimorfizmem C667→T i zmniejszonym ryzykiem innych nowotworów, np. białaczek oraz raka jelita grubego i odbytu. Obniżoną aktywność MTHFR można rekompensować poprzez suplementację diety ryboflawiną lub kwasem foliowym (12), ale SNP C667→T występuje tylko (lub aż) u kilkunastu procent społeczeństwa. Co więcej, ilość homozygot TT mających ten polimorfizm w obu allelach genu MTHFR jest odmienna w różnych populacjach. Nawet w krajach Europy zróżnicowanie pod względem procentowego udziału homozygot TT jest znaczne (2). Stąd powstaje pytanie: czy suplementacja diety ryboflawiną lub kwasem foliowym jest uzasadniona, a jeśli tak – to dla jakiej grupy osób? Odpowiedzi na te pytania poszukiwano niedawno w japońsko-australijskim zespole M. Fenecha (12) (patrz rozdz. 2.5).

2.1.2. Apolipoproteina A – APOA

Wśród zależnych od diety chorób przewlekłych pierwsze miejsce zajmują obecnie choroby układu krążenia (CVD, ang. *Cardiovascular Disease*). Zgodnie z wynikami najnowszych badań, choroby te rozwijają się jako efekt nie tylko zbyt wysokiego poziomu cholesterolu, ale także jako rezultat procesów zapalnych, zależnych od obecności prozapalnych mediatorów, do których należą m.in. cytokiny, reaktywne formy tlenu, prostaglandyny, prostacykliny, tromboksany oraz leukotrieny. Te ostatnie cztery grupy związków (tzw. eikozanoidy) są pochodnymi wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-6 lub omega-3 (PUFA). Eikozanoidy pochodzące od kwasów omega-6 promują procesy zapalne w większym stopniu niż pochodne kwasów omega-3, które są pod tym względem mniej aktywne lub nawet hamują procesy zapalne. Kwasy omega-3 są ligandami czynników transkrypcyjnych, które wiążą się z określonymi sekwencjami DNA i obniżają transkrypcję genów kodujących białka

prozapalne. Jednak biologiczne skutki działania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych są niejednoznaczne: w pewnych sytuacjach mogą promować powstawanie reaktywnych form tlenu, co jest uważane za zjawisko niekorzystne (5).

Tabela 1

Częstość występowania genotypu MTHFR C667→T w różnych grupach etnicznych (2)

Grupa etniczna	(%) udział homozygot TT w populacji
Meksykanie	27-35
Brazylijczycy	7
Afrykańczycy z regionu Sahary	0-1,5
Afroamerykanie	2
Żydzi zamieszkali w Jemenie	2
Toskańczycy	30
Irlandczycy	6
Duńczycy	5
Japończycy	19
Pakistańczycy	4
Chińczycy	16

Ostatnio wykazano, że skutki działania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych zależą od genotypu, a konkretnie od allelu genu kodującego receptor jądrowy PPAR- α , działający jako czynnik transkrypcyjny. Polimorfizm pojedynczego nukleotydu w kodonie 162 genu kodującego PPAR- α sprawia, że wiążące się do niego PUFA powodują spadek stężenia trójglicerydów w osoczu, podczas gdy wiązanie się PUFA do czynnika PPAR- α kodowanego przez „normalny” gen nie powoduje zmiany poziomu trójglicerydów w osoczu (5).

W świadomości społecznej istnieje przekonanie, że wzrost poziomu HDL oraz spadek poziomu LDL obniżają ryzyko chorób układu krążenia. Co więcej, panuje opinia, że niekorzystny dla organizmu spadek poziomu HDL ma związek z większym spożyciem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (13). Tymczasem w najnowszych badaniach wykazano, że poziom HDL jest zależny nie tylko od stężenia PUFA w osoczu, ale także od allelu genu APO A1 kodującego apolipoproteinę A1 – białko wchodzące w skład cząsteczek HDL. Białko to odgrywa istotną rolę w metabolizmie lipidów. W genie kodującym apolipoproteinę A1, w pozycji 75 powyżej miejsca startu transkrypcji występuje czasami polimorfizm pojedynczego nukleotydu określany jako -75G→-75A. Okazało się, że rodzaj allelu genu APO A1 ma wpływ na poziom cząsteczek HDL u kobiet: dla nosicielek allelu -75G/A oraz allelu -75A/A, większe spożycie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych było korzystne i powo-

dowało wzrost poziomu HDL, w przeciwieństwie do kobiet, które były nosicielkami allelu -75G/G. Genotyp GG jest dla kobiet niekorzystny, ponieważ jego występowanie jest skorelowane ze spadkiem poziomu HDL przy wzrastającym spożyciu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (3,13).

2.1.3. Gen lipazy wątrobowej – LIPC

W ostatnich latach zidentyfikowano kilkanaście genów kodujących białka związane z metabolizmem lipidów. W obrębie tych genów odkryto także kilka polimorfizmów pojedynczego nukleotydu, wykazujących znaczny wpływ na poziom lipoprotein w osoczu oraz ewentualne ryzyko chorób układu krążenia. Bardzo duże osiągnięcia na tym polu nutrigenomiki ma J. Ordovas i jego zespół z Tufts University w Bostonie (13). Jednym z takich genów jest gen LIPC kodujący enzym o nazwie lipaza wątrobowa (HL, ang. *Hepatic Lipase*). Enzym ten degraduje trójglicerydy oraz fosfolipidy lipoprotein osocza. Obniżona ekspresja genu LIPC jest skorelowana z podwyższonym poziomem frakcji HDL w osoczu, podczas gdy jego nadekspresja obniża poziom tej frakcji. Poziom ekspresji genu LIPC zależy od polimorfizmu w sekwencji promotorowej: -514C→T. Homozygoty CC mają niższy poziom frakcji HDL niż heterozygoty CT, natomiast najwyższy poziom HDL odnotowano w osoczu homozygot TT, ponieważ polimorfizm -514C→T powoduje zmniejszenie ekspresji genu LIPC. Można byłoby sądzić, że homozygoty TT są uprzywilejowane w stosunku do homozygot CC i heterozygot CT, ponieważ mają podwyższony poziom dobroczynnej frakcji HDL. Tymczasem okazało się, że na interakcje pomiędzy ekspresją genu LIPC a poziomem HDL duży wpływ ma dieta, a dokładniej ilość i rodzaj spożywanego tłuszczu. Opisana prawidłowość ma miejsce wówczas, gdy tłuszcz zawarty w diecie odpowiada mniej niż 30% zapotrzebowania organizmu na energię. W przypadku diety wysokotłuszczowej, gdy spożyty tłuszcz stanowi >30% zapotrzebowania energetycznego homozygot TT, z nieznanego przyczyny, poziom frakcji HDL spada u nich poniżej poziomu oznaczanego u homozygot CC i heterozygot CT (13).

2.1.4. Enzym konwertujący angiotensynę I do angiotensyny II – ACE

Kolejnym potwierdzeniem znaczenia SNP w oddziaływaniach pomiędzy bioaktywnymi składnikami diety a genami, są wyniki badań przeprowadzonych w Singapurze: uczestniczyły w nich kobiety leczone z powodu raka piersi, u których stwierdzono zróżnicowany genetycznie poziom (oraz aktywność) enzymu konwertującego angiotensynę I do angiotensyny II (ACE, ang. *Angiotensin Converting Enzyme*) (14). Allel genu zawierający 287-nukleotydową sekwencję typu Alu w intronie 16 (genotyp I – od słowa *insertion*) oraz SNP A240 (deoksyadenozyna w pozycji 240 genu ACE) odpowiada za niższy o 50% poziom enzymu ACE w osoczu. Allel pozbawiony tej

287-nukleotydowej wstawki (genotyp D – od słowa *deletion*) oraz z tymidyną w pozycji 240 (A240→T) jest odpowiedzialny za podwyższony poziom tego enzymu w osoczu. Korzystną korelację pomiędzy spożywaniem zielonej herbaty (polifenoli zielonej herbaty) i mniejszym ryzykiem raka piersi stwierdzono u kobiet, które miały uwarunkowaną genetycznie wysoką aktywność ACE (genotyp DD oraz SNP A240→T). U kobiet z niską aktywnością tego enzymu nie stwierdzono żadnego działania zielonej herbaty (14). Autorzy traktują wyniki swoich kilkuletnich badań jako wstępne i wymagające potwierdzenia.

2.2. Wpływ składników diety na epigenetyczną regulację ekspresji genów

Termin „epigenetyka” oznacza dziedziczne zmiany w organizacji chromatyny i ekspresji genów – zmiany, które nie są zakodowane w sekwencji DNA. Epigenetyczna informacja jest przekazywana z pokolenia na pokolenie i od niej zależy poziom ekspresji genów. Zmiany ekspresji genów są wywoływane przez szeroko rozumiane sygnały z otoczenia, w tym przez bioaktywne składniki diety (15-16). Mimo że udział bioaktywnych składników diety w tzw. epigenetycznej regulacji transkrypcji zaczęto badać stosunkowo niedawno, a wyników jest niewiele, ich spektakularny charakter sprawił, iż budzą coraz większe zainteresowanie.

O stopniu aktywności transkrypcyjnej genu decyduje poziom metylacji DNA oraz modyfikacje białek histonowych wchodzących w skład chromatyny. Metylacji katalizowanej przez metylotransferazy DNA (DNMT) podlega ok. 75% reszt cytozyny występującej w dinukleotydowych sekwencjach CpG. Spośród kilku znanych metylotransferaz DNA, DNMT3A i DNMT3B są odpowiedzialne za metylowanie DNA w procesie embriogenezy, ponieważ po zapłodnieniu i utworzeniu zygoty następuje znaczna demetylacja DNA wniesionego przez gamety, po czym począwszy od etapu blastocysty następuje tkankowo-specyficzna metylacja *de novo* (17). Z tego powodu we wczesnym etapie embriogenezy dieta matki i środowisko mogą mieć duży wpływ na profil metylacji, a zaburzenia tego procesu mogą prowadzić do utrwalenia nieprawidłowego profilu metylacji DNA. Metylotransferaza DNMT1 jest z kolei odpowiedzialna za „kopiowanie” profilu metylacji w nowo syntezowanych niciach DNA, powstających w procesie replikacji (18). Obecność metylowanych sekwencji CpG w określonych regionach promotorowych oznacza „wyciszenie” transkrypcji odpowiednich genów. Trzeba jednak podkreślić, że sekwencje CpG stanowią tylko 1% genomu, zamiast oczekiwanych 6% (CpG jest jednym z 16 możliwych dinukleotydów, a 1/16 to ok. 6%). Istnieją przypuszczenia, że poziom sekwencji CpG jest zredukowany ze względu na mutageny charakter metylowanej cytozyny, która powoduje tranzykcje C:G→T:A. Aktywne transkrypcyjnie geny znajdują się pod kontrolą promotorów zawierających tzw. wyspy CpG. Są to bogate w guaninę i cytozynę fragmenty DNA wolne od metylowanych reszt cytozyny, liczące od 500 do 4000 par zasad. Genom ludzki zawiera ok. 29 000 wysp CpG; są one związane z ok. 60% genów (18).

Nieprawidłowa metylacja DNA polega na hipermetylacji lub hipometylacji wysp CpG. Hipermetylacja prowadzi do represji transkrypcji, natomiast hipometylacja wywołuje aktywację transkrypcji tych genów, które powinny pozostać wyciszone. Hipermetylacja DNA może występować w regionach promotorowych genów supresorowych i hamować ich ekspresję (epigenetyczne wyciszenie). Z kolei hipometylacja DNA występuje w wielu rodzajach nowotworów i prawdopodobnie wywołuje aktywację protoonkogenów, ale mechanizm tego procesu nie jest znany (18). Istnieje opinia, że metylacja DNA ma chronić genom przed transpozonomi, endogennymi sekwencjami retrowirusowymi i innymi rozproszonymi sekwencjami powtórzonymi. Zmiany profilu metylacji DNA zmieniają się pod wpływem diety, polimorfizmów pojedynczego nukleotydu w określonych genach oraz ekspozycji na czynniki środowiskowe. Niedobory kwasu foliowego, metioniny lub selenu mogą powodować hipometylację DNA, co z kolei może prowadzić do niewłaściwej ekspresji genów oraz niestabilności genetycznej.

Epigenetyczna regulacja transkrypcji jest zależna nie tylko od metylacji DNA, ale także od modyfikacji białek histonowych. Metylacja, acetylacja oraz fosforylacja N-końcowych fragmentów tych białek zmienia strukturę chromatyny czyniąc ją bardziej rozproszoną, co ułatwia dostęp polimerazy RNA i czynników transkrypcyjnych do promotorów określonych genów. Generalnie, acetylacja histonów prowadzi do bardziej otwartej czy też rozproszonej struktury chromatyny, podczas gdy deacetylacja prowadzi do powstania heterochromatyny i wyciszenia genów. Ten swoisty „kod histonowy” znacznie zwiększa potencjał informacyjny DNA. Rodzajem łącznika pomiędzy metylowanymi fragmentami DNA a enzymami odpowiedzialnymi za deacetylację histonów są białka MBD (ang. *Methyl-CpG Binding Proteins*), które wiążą się do metylowanych sekwencji DNA, a następnie „mobilizują” i „przyciągają” w te rejon enzymy katalizujące proces deacetylacji histonów (HDAC, ang. *Histone Deacetylase*). W ten sposób metylowanie cytozyny oraz deacetylacja histonów są ze sobą powiązane (19).

Nieprawidłowy profil modyfikacji DNA oraz histonów może być przyczyną wielu chorób, począwszy od chorób nowotworowych, przez metaboliczne, a kończąc na chorobach neurodegeneracyjnych. Zainteresowanie epigenetyczną regulacją transkrypcji wynika nie tylko z przyczyn poznawczych, ale także z potrzeby poszukiwania nowych rodzajów terapii. Wiele składników diety w sposób bezpośredni lub pośredni wpływa na proces modyfikacji histonów lub metylacji DNA, co prowadzi do zmian w strukturze chromatyny, odpowiedzialnych za hamowanie lub aktywację procesu transkrypcji genów (20). Fakt, że bioaktywne składniki diety pełnią nie tylko funkcję surowca do produkcji energii, ale odgrywają podstawową rolę w procesie regulacji ekspresji genów nietrudno wyjaśnić na gruncie teorii ewolucji. Genomy zwierząt, a w ciągu ostatnich kilku milionów lat także genomy ludzkie, były narażone na działanie substancji pochodzenia roślinnego lub zwierzęcego, toteż wiele genów człowieka ewoluowało w sposób zależny od tych związków i w odpowiedzi na ich obecność w diecie.

W dotychczasowych badaniach wskazuje się, że kwas foliowy, selen, genisteina (fitoestrogen soi), polifenole, a także arsen mają wpływ na poziom metylacji DNA (21). Kwas foliowy jest niezbędny dla normalnej syntezy DNA, ponieważ konwersja deoksyurydylanu do tymidylanu wymaga redukcji 5,10-metylenotetrahydrofolianu do 5-metylotetrahydrofolianu katalizowanej przez reduktazę metylenotetrahydrofolianową (MTHFR). Efektem niskiego poziomu kwasu foliowego może być również zaburzona metylacja DNA. Dieta pozbawiona kwasu foliowego, metioniny (jako prekursora S-adenozylometioniny, która jest donorem grup metylowych), choliny i witaminy B12 prowadziła u zwierząt doświadczalnych do hipometylacji DNA wielu genów, jak również do hipermetylacji DNA niektórych genów w hepatocytach. Stosunkowo wcześniej, bo już w połowie lat 90. ubiegłego wieku dostrzeżono związek pomiędzy polimorfizmami SNP w genie kodującym MTHFR (C677T oraz A1298C), obniżoną aktywnością tego enzymu oraz deficytem donorów grup metylowych (22).

Polimorfizmy genu MTHFR powodują zmieniony metabolizm kwasu foliowego i jego pochodnych, zwiększony poziom homocysteiny oraz hipometylację DNA. Wyniki kilku badań interwencyjnych wskazują, że suplementacja diety kwasem foliowym nie zmienia poziomu metylacji DNA lub zmiany są niewielkie. Pojawiły się także obserwacje świadczące o tym, że niski poziom kwasu foliowego w diecie chronił zwierzęta doświadczalne przed rakiem jelita grubego. Do podobnych konkluzji doszli van Guelpen i wsp. na podstawie badań populacji szwedzkiej (23).

W przeprowadzonych badaniach *in vitro* oraz *in vivo* wskazuje się, że poziom metylacji DNA zależy także od selenu. Dieta pozbawiona selenu prowadzi do hipometylacji DNA w wątrobie i jelicie grubym. Mechanizm działania selenu i jego wpływ na poziom metylacji DNA nie są dokładnie znane. Wzrost poziomu selenu zmniejsza poziom homocysteiny i korzystnie zmienia stosunek S-adenozylometioniny (SAM) i S-adenozylhomocysteiny (SAH), co z kolei zwiększa efektywność procesu metylacji cytozyny (24).

Wśród związków pochodzenia roślinnego jest wiele takich, które modulują aktywność metylotransferaz DNA (DNMT). Jednym z nich jest EGCG – galusan epigalokatechiny. W wielu eksperymentach wykazano, że w zakresie stężeń 0,2-20 μM związek ten hamuje DNMT wiążąc się bezpośrednio z centrum aktywnym enzymu. Podane stężenia są osiągalne zarówno w przewodzie pokarmowym, jak i w osoczu. Również inne katechiny i polifenole hamują aktywność metylotransferaz DNA, wśród nich katechina, epigalokatechina i epikatechina oraz kwercetyna, fisetina i myricetyna. Być może aktywność tych związków wynika stąd, że konkurują one z cytozyną o grupy metylowe, ponieważ mogą być metylowane przez metylotransferazę katecholową (COMT, ang. *Catechol-O-Methyltransferase*), a to może prowadzić do uszczuplenia puli donorów grup metylowych i zaburzeń w procesie metylacji DNA (22).

Składniki diety mogą także zmieniać aktywność deacetylaz histonowych (HDAC). Do inhibitorów tej klasy enzymów należą: maślany, siarczek diallilu (źródło: czosnek), sulforafan (źródło: brokuły) (25). Jednakże resweratrol (obecny w winogro-

nach, czerwonym winie, itd.) jest aktywatorem enzymu SIRT1 należącego do tzw. sirtuin (SIRT1-7), które są określane jako deacetylazy białkowe, ponieważ spectrum ich substratów wykracza daleko poza histony (26). Sirtuina SIRT1 obniża aktywność białka p53, deacetyluje receptor PPAR γ oraz jego koaktywator 1 α , co ułatwia metabolizm tłuszczów. Ponadto SIRT1 korzystnie reguluje sekrecję insuliny oraz zwiększa liczbę i wielkość mitochondriów, aktywując metabolizm komórkowy. Czynnikiem aktywującym sirtuiny jest także niskokaloryczna dieta (albo ograniczenie ilości kalorii; CR, ang. *Calorie Restriction*) i wysiłek fizyczny (27-28). Resweratrol mógłby pomóc w zapobieganiu otyłości oraz negatywnym objawom procesu starzenia, ale jego niska biodostępność i możliwość oddziaływania z wieloma innymi niż SIRT1 cząsteczkami docelowymi ogranicza jego aktywność biologiczną. Stąd ciągła potrzeba poszukiwań innych, podobnych do resweratrolu, aktywatorów sirtuin (29-30).

Badania dotyczące wpływu diety na zmiany epigenetyczne są trudne. Do niedawna dodatkowym utrudnieniem był brak odpowiedniego modelu do badań *in vivo*. Obecnie takim modelem są żółte myszy *agouti*. Gen odpowiedzialny za żółty kolor ich futerka koduje cząsteczkę sygnałową, która stymuluje produkcję żółtego pigmentu. Allele genu *agouti* odpowiadające za żółty kolor powstają spontanicznie w wyniku insercji retrotranspozonu w obrębie *locus agouti*. Żółte myszy są podatne na nowotwory i otyłość, co, jak się wydaje, jest skorelowane z obecnością retrotranspozonu. Okazało się, że można „wyciszyć” aktywność retrotranspozonu zwiększając udział donorów grup metylowych w diecie myszy (kwas foliowy, witamina B12 oraz cholina). Zaobserwowano wyraźną zależność pomiędzy tego typu dietą, zwiększonym poziomem metylacji DNA w obrębie retrotranspozonu oraz coraz bardziej brązowym kolorem futerka myszy i normalną wagą (bez objawów otyłości). Myszy *agouti* stały się obiektem badań w wielu laboratoriach biologii molekularnej i nutrigenomiki. Szczególnie interesujące są wyniki badań nad wpływem diety matek *agouti* na kolor futerka i fenotyp ich potomstwa (31-33).

2.3. Wpływ bioaktywnych składników diety na aktywność receptorów jądrowych i regulację transkrypcji

Bioaktywne składniki diety mogą wpływać na proces ekspresji genów w sposób bezpośredni, działając jako ligandy receptorów jądrowych. Białka te występują w cytoplazmie, ale związane z odpowiednimi ligandami wnikają do jądra komórkowego i wiążą się z określonymi sekwencjami nukleotydów położonymi na nici DNA w sąsiedztwie promotora. W ten sposób receptory jądrowe stają się czynnikami transkrypcyjnymi; związane z DNA mogą stanowić rodzaj platformy dla innych białek uczestniczących w procesie regulacji transkrypcji; są to korepresory hamujące proces transkrypcji lub koaktywatory zdolne do aktywacji tego procesu (34). Kompleksy receptorów jądrowych i korepresorów pośrednio lub bezpośrednio katali-

zują procesy modyfikacji białek histonowych wchodzących wraz z DNA w skład chromatyny (deacetylacja, demetylacja, defosforylacja), co prowadzi do jej kondensacji i represji transkrypcji. Jednakże receptory jądrowe mogą także wiązać się z koaktywatorami, które z kolei katalizują proces dekondensacji chromatyny. Utworzenie tzw. rozproszonej chromatyny jest niezbędne do rozpoczęcia transkrypcji, ponieważ ogólne czynniki transkrypcyjne i polimeraza RNA muszą mieć dostęp do promotora i innych sekwencji DNA regulujących proces syntezy RNA.

Tabela 2

Niektóre receptory jądrowe i ich ligandy (wg 34-35)

Receptory hormonów sterydowych (klasyczne receptory jądrowe) i ich ligandy	
receptor glukokortykoidów (GR)	glukokortykoidy
receptor mineralokortykoidów (MR)	mineralokortykoidy
receptor progesteronu (PR)	progesteron
receptor androgenów (AR)	androgeny
receptory estrogenów (ER α , ER β)	estrogeny
TR α , β	trójiodotyronina
RXR α , β , γ	kwasy 9-cis-retinowy
RAR α , β , γ	kwasy retinowe (np. ATRA)
VDR	1 α , 25-dihydroksywitamina D ₃ , kwasy żółciowe
receptory sensorowe	
PPAR α , β , γ	kwasy tłuszczowe, eikozanoidy
LXR α , β	oksysterole
FXR	kwasy żółciowe
PXR	ksenobiotyki (w tym leki), steroidy, kwasy żółciowe
CAR	ksenobiotyki (w tym leki), steroidy

RAR – receptor retinoidów, VDR – receptor witaminy D, LXR, ang. *Liver X Receptor*; FXR, ang. *Farnesoid X Receptor*, PXR, ang. *Pregnane X Receptor*, CAR, ang. *Constitutive Androstane Receptor*; ATRA, ang. *All Trans-Retinoic Acid*. Pogrubioną czcionką zaznaczono receptory tworzące heterodimery z receptorem RXR.

Na podstawie analizy genomu ludzkiego wykazano istnienie genów kodujących 48 receptorów jądrowych. Część z nich istnieje w postaci kilku izoform. W tabeli 2 podano przykłady najlepiej poznanych receptorów jądrowych. Część z nich to tzw. klasyczne receptory jądrowe o wysokim powinowactwie do ligandów, którymi są m.in. glukokortykoidy, mineralokortykoidy, hormony sterydowe, kwas retinowy, hormony tarczycy oraz witamina D. Niektóre spośród receptorów klasycznych mogą być aktywowane przez bioaktywne składniki diety, np. receptor estrogenów (ER) oraz receptor androgenu (AR) są aktywowane przez izoflawony soi (genisteinę i dai-

dzeinę), prawdopodobnie ze względu na ich podobieństwo strukturalne do tych hormonów (36). Analiza oddziaływań bioaktywnych związków pochodzenia roślinnego i receptorów jądrowych jest trudna, a wyniki są czasami niejednoznaczne, ponieważ niektóre substancje, np. izoflawony soi, mogą aktywować kilka różnych receptorów jądrowych (37).

Druga grupa receptorów jądrowych to tzw. receptory sensorowe. Mają one niskie powinowactwo do swoich ligandów, ale mogą wiązać się z wieloma substancjami obecnymi w żywności. Do ligandów należą substraty oraz produkty pośrednie i końcowe szlaków metabolicznych, np. kwasy tłuszczowe, oksysterole, eikozanoidy, witaminy, ale także substancje kancerogenne i toksyny. Z punktu widzenia nutrigenomiki receptory sensorowe są najbardziej interesującą grupą receptorów jądrowych. Są nie tylko „sensorami” metabolicznego statusu komórek i organizmu, ale przede wszystkim są odpowiedzialne za metaboliczną adaptację komórek, tkanek, organów i całego organizmu. Do tej grupy należą m.in. receptory PPAR, odpowiedzialne za metabolizm energetyczny oraz receptory LXR i FXR, które wraz z receptorem RXR są ściśle związane z metabolizmem cholesterolu. Receptor RXR wiążąc kwas 9-cis-retinowy zachowuje się jak receptor klasyczny, ale kwas 9-cis-retinowy nie jest jego naturalnym ligandem – naturalny endogenny ligand tego receptora pozostaje nieznany. Receptorem specyficznym dla steroli i ksenobiotyków jest receptor PXR (ang. *Pregnane X Receptor*), znany także jako SXR.

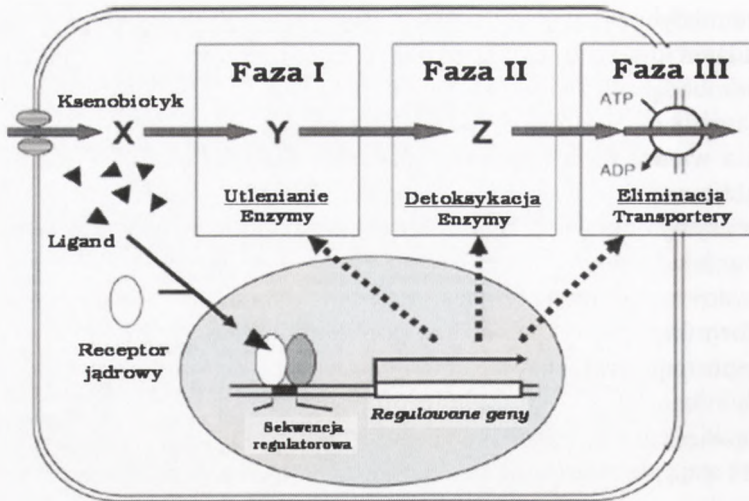
Receptory aktywowane proliferatorem peroksysomów (PPAR, ang. *Peroxisome Proliferator Activated Receptors* – α , β , γ) kontrolują szlaki metaboliczne odpowiedzialne za metabolizm lipidów. Pierwszymi zidentyfikowanymi ligandami tych receptorów były substancje znane jako aktywatory proliferacji peroksysomów, stąd nazwa receptorów. PPAR α jest obecny w tkankach wykazujących wysoką aktywność w procesach degradacji tłuszczów: wątrobie, mięśniach i brązowej tkance tłuszczowej, podczas gdy PPAR γ jest aktywny w białej tkance tłuszczowej, jelicie, śledzionie i mięśniach. Receptory te wiążą się z DNA jako heterodimery PPAR:RXR i rozpoznają specyficzną sekwencję złożoną z dwóch heksamerów AGGTCA rozdzielonych jednym dowolnym nukleotydem (tzn. sekwencję AGGTCA n AGGTCA). Obecnie wiadomo, że receptory PPAR są aktywowane przez wiele związków chemicznych, do których należą m.in. nienasycone kwasy tłuszczowe, niektóre eikozanoidy, a także herbicydy. Ligandami PPAR α są także fibraty (leki obniżające poziom cholesterolu i trójglicerydów), a ligandami receptora PPAR γ – tiazolidinediony zwiększające wrażliwość wątroby oraz komórek tłuszczowych na insulinę i stosowane jako leki przeciwcukrzycowe w leczeniu cukrzycy insulinoopornej. Działania receptorów PPAR α i PPAR γ są ze sobą ściśle związane: PPAR α reguluje proces utleniania lipidów w komórkach wątroby, a PPAR γ odpowiada za gromadzenie kwasów tłuszczowych w adipocytach (34). Na podstawie najnowszych wyników badań wskazuje się, że zaburzenia w funkcjonowaniu receptorów PPAR mają związek nie tylko z cukrzycą i otyłością, ale także indukują stany zapalne. Stosowane obecnie leki: fibraty i tiazolidinediony są agonistami, odpowiednio, receptora PPAR α i PPAR γ . Brak natomiast le-

ków, które miałyby podwójne działanie, jako agoniści jednocześnie obu tych receptorów. Badania kliniczne tego typu preparatów zostały wstrzymane ze względu na toksyczność badanych związków. Tym bardziej istotne jest badanie zależności między działaniem receptorów PPAR a dietą, chociaż złożoność tych interakcji jest ogromna, a wiedza na ich temat – niewielka (38).

Aktywacja receptorów jądrowych prowadzi do inicjacji transkrypcji genów kodujących enzymy odpowiedzialne za metabolizm ksenobiotyków, w tym leków oraz bioaktywnych składników diety. Istnieją 3 klasy tych enzymów: enzymy katalizujące fazę aktywacji ksenobiotyków (faza I), enzymy odpowiedzialne za detoksykację aktywnych form ksenobiotyków (faza II) poprzez łączenie ich (koniugację) z endogennymi akceptorami oraz enzymy katalizujące eliminację zneutralizowanych, nieaktywnych koniugatów z komórek (faza III). Substratami enzymów fazy I są m.in. te same związki, które są ligandami receptorów jądrowych. Produkty działania enzymów fazy I stają się substratami enzymów fazy II, a utworzone przez nie koniugaty są rozpoznawane jako substraty przez białka fazy III. W ten sposób niewielkie ilości ksenobiotyków (w tym kancerogenów), różnego rodzaju produktów pośrednich i metabolitów mogą indukować ekspresję enzymów, odpowiedzialnych za ich metabolizm, inaczej mówiąc: w ten sposób uruchamiane są mechanizmy adaptacyjne organizmu.

Receptor PXR rozpoznaje i wiąże leki oraz ksenobiotyki (39). Wiele substancji roślinnych obecnych w warzywach, ekstraktach ziół itp. może również aktywować ten receptor, np. hyperforyna, która jest aktywnym składnikiem ekstraktu z dziurawca oraz leku przeciwdepresyjnego o nazwie Deprim, witamina E, sulforafan obecny w brokułach i innych warzywach kapustnych, genisteina oraz daidzeina obecne w nasionach soi, β -karoten, witamina D (choć witamina D jest także specyficznym ligandem receptora VDR). W przypadku hyperforyny, taka aktywacja receptora PXR oznacza, że stosowanie Deprimu może mieć wpływ na metabolizm innych leków zażywanych w tym samym czasie. Hyperforyna aktywuje receptor PXR, który indukuje transkrypcję genu kodującego enzym fazy I o symbolu CYP3A (jest to izoforma 3A cytochromu P450). Enzym ten metabolizuje ok. 50% leków przepisywanych na receptę, a zatem jego podwyższony poziom, będący efektem działania hyperforyny, może mieć wpływ na skuteczność działania innych leków.

Stosunkowo dobrze poznano mechanizm aktywacji czynnika transkrypcyjnego Nrf2 przez izotiocyjaniany warzyw kapustnych, a wśród nich sulforafan obecny w dużych ilościach w kiełkach brokułów. Mechanizm prozdrowotnego działania sulforafanu i izotiocyjaniatów należy do najlepiej poznanych i jest szeroko opisywany (40-43). Czynniki Nrf2 nie należy do receptorów jądrowych, ale działa w podobny sposób: znajduje się w cytoplazmie w kompleksie białkowym Keap1-Nrf2; uwolniony z niego wchodzi do jądra komórkowego, wiąże się z sekwencją nukleotydów określaną jako ARE (ang. *Antioxidant Response Element*) i w ten sposób aktywuje proces transkrypcji genów znajdujących się pod kontrolą sekwencji ARE, tzn. genów kodujących niektóre enzymy fazy II: np. reduktazę chinonową oraz transferazę



Rys. Metabolizm ksenobiotyków regulują receptory jądrowe, które są aktywatorami transkrypcji genów kodujących enzymy fazy I, II i III. Receptory te są aktywowane przez specyficzne ligandy (wg 47).

S-glutationową. Sulforafan aktywuje proces transkrypcji tych genów, ponieważ jest odpowiedzialny za dysocjację kompleksu Keap1-Nrf2 i/lub fosforylację czynnika Keap1 katalizowaną przez kinazy białkowe MAPK (ang. *Mitogen-Activated Protein Kinases*). Mechanizm ten odkryto w latach 90. ubiegłego wieku, ale ostatnio zidentyfikowano również inne aktywności sulforafanu, m.in. możliwość hamowania deacetylaz historynowych (40-43).

Na podstawie tych danych można byłoby sądzić, że im bardziej izotiocyjaniany aktywują czynnik Nrf2 – tym lepiej, bo w ten sposób aktywowana jest transkrypcja genów kodujących enzymy fazy II odpowiedzialne za detoksykację wielu toksyn i kancerogenów. Tymczasem na podstawie najnowszych danych sugeruje się, że białko Keap1 jest białkiem supresorowym, a negatywna regulacja czynnika Nrf2, tzn. hamowanie jego aktywności jest w pewnych okolicznościach korzystne. Konstytutywna aktywacja tego czynnika może prowadzić do oporności wielolekowej komórek nowotworowych. Potwierdzeniem regulatorowej funkcji kompleksu Keap1-Nrf2 są niedawne odkrycia mutacji punktowych białka Keap1 oraz czynnika Nrf2 u chorych na raka płuc. Mutacje te prawdopodobnie zmieniają konformację białka i utrudniają tworzenie kompleksu Keap1-Nrf2. Fakt ten także ostrożnie podchodzić do stosowania przez długi czas dużych dawek czynników chemoprewencyjnych, takich jak sulforafan (44).

Receptory jądrowe regulują metabolizm lipidów, kwasów tłuszczowych, cholesterolu i innych związków o aktywności biologicznej, są także odpowiedzialne za metabolizm ksenobiotyków, w tym leków i kancerogenów. Nie ulega wątpliwości, że uczestniczą w patogenezie chorób metabolicznych i nowotworowych. Niektóre

leki mogą regulować działanie receptorów (np. fibraty i tiazolidinediony). Podobne działanie wykazują także niektóre składniki diety (1). Można mieć nadzieję, że w erze postgenomowej, dzięki możliwościom, jakie oferuje rozwój nutrigenomiki, metabolomiki i bioinformatyki, możliwe będzie przynajmniej częściowe poznanie tej sieci zależności i interakcji pomiędzy receptorami jądrowymi, ksenobiotykami i składnikami diety, a wówczas możliwa będzie bardziej skuteczna prewencja nowotworów i chorób metabolicznych (45,46).

2.4. Wpływ bioaktywnych składników diety na szlaki sygnałowe (przekazywanie sygnałów)

Od kilkunastu lat pojawia się coraz więcej dowodów świadczących o tym, że flawonoidy, kwasy fenolowe, izotiocyjaniiny, terpeny oraz niskocząsteczkowe związki zawierające siarkę działają nie tylko jako antyoksydanty, ale także inhibitory wielu białek enzymatycznych oraz regulatory wewnątrzkomórkowych szlaków przekazywania sygnałów (48). Wpływ bioaktywnych składników diety na działanie wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych jest jednym z lepiej poznanych mechanizmów działania tych związków, co nie oznacza, że stan wiedzy na ten temat jest zadowalający.

Wśród najintensywniej badanych związków pochodzenia naturalnego znajdują się resweratrol, kurkumina, sulforafan, genisteina oraz jeden z polifenoli zielonej herbaty – galusan epigalokatechiny (EGCG). Potwierdzenie wielowymiarowej biologicznej aktywności EGCG, a także kurkuminy i resweratrolu wpłynęło w ostatnich latach na rozwój badań w tej dziedzinie i poszukiwanie innych, równie aktywnych związków oraz ekstraktów o złożonym składzie. Wzrosło zainteresowanie roślinami stosowanymi w tradycyjnej medycynie chińskiej i indyjskiej.

Działanie związków pochodzenia naturalnego prowadzi często do zatrzymania cyklu komórkowego lub indukcji apoptozy. Chociaż w warunkach *in vitro* związki te wykazują zdolność zmiatania wolnych rodników i są określane jako antyoksydanty, *in vivo* indukują stres oksydacyjny oraz aktywują ekspresję białek proapoptotycznych z rodziny bcl-2 (np. Bax lub Bak). Efektem jest aktywacja mitochondrialnego szlaku apoptotycznego i śmierć komórek (48).

Bioaktywne składniki diety mogą także hamować aktywność czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, który jest elementem wielu szlaków sygnałowych. W ten sposób działają m.in. kwercetyna, sulforafan, sylimaryna, kurkumina, diallilodisiarczki. Istnieje wiele dowodów na to, że czynnik NF- κ B jest zaangażowany w proces kancerogenezy: kancerogeny stymulują jego aktywność, a związki pochodzenia naturalnego – hamują. Z tego względu hamowanie aktywności czynnika NF- κ B przez związki pochodzenia roślinnego jest uznawane za przejaw ich aktywności przeciwnowotworowej (49). Związki pochodzenia naturalnego mogą także hamować wiązanie czynników wzrostu do ich błonowych receptorów lub aktywować membranowe recepto-

ry śmierci i w ten sposób indukować zewnętrzny szlak apoptozy. Ostatnio zaproponowano mechanizm działania fitozwiązków na białka membranowe: jest to, być może, efekt wtórny spowodowany reorganizacją lipidów błonowych, czyli reorganizacją tzw. tratw lipidowych (48,50).

Uważa się, że niższe stężenia tych samych bioaktywnych składników diety mogą hamować cykl komórkowy, np. indukują czynnik transkrypcyjny AP-1, co prowadzi do wzrostu ekspresji białka p21. Białko to hamuje aktywność kinaz CDK (CDK, ang. *Cyclin-Dependent Kinases*), które są odpowiedzialne za proces fosforylacji białka supresorowego Rb. Zahamowanie fosforylacji białka Rb hamuje proces replikacji DNA (czyli fazę S cyklu komórkowego). Hamowanie podziałów komórkowych daje komórkom czas na dokonanie naprawy uszkodzeń DNA, a zatem jest do pewnego stopnia zjawiskiem korzystnym, ponieważ zapobiega mutacjom (48).

Mimo niewątpliwych sukcesów w tym obszarze badań, ich wyniki mają, jak dotychczas, niewielki wpływ na projektowanie i produkcję żywności funkcjonalnej (51). Innymi słowy: postęp dokonujący się w naukach podstawowych nie przekłada się na korzyści praktyczne, tak szybko jakby tego chcieli konsumenci.

Z czego wynika ten stan rzeczy? Otóż przytłaczająca większość badań jest prowadzona w warunkach *in vitro*, na modelowych komórkach nowotworowych. Nowoczesne technologie (m.in. wysoce wydajne metody skriningu, techniki chromatograficzne i metody spektroskopowe, mikromacierze DNA, cytometria przepływowa) pozwalają na identyfikację molekularnych mechanizmów działania związków pochodzenia naturalnego. Często jednak nie jest brana pod uwagę ich biodostępność oraz możliwość modyfikowania przez enzymy fazy I i II (utlenianie i/lub detoksyfikacja). W badaniach *in vitro* stosuje się zwykle stężenia wyższe od tzw. stężeń fizjologicznych. Aktywność badanych związków jest zróżnicowana nie tylko z powodu polimorfizmów genetycznych, ale także ze względu na zróżnicowaną osobniczo florę bakteryjną przewodu pokarmowego. Należy także brać pod uwagę złożone zależności pomiędzy szlakami metabolicznymi i sygnałowymi oraz specyficzność tkankową i komórkową (36).

2.5. Wpływ bioaktywnych składników diety na efektywność procesów naprawy DNA

Powszechnie wiadomo, że procesy syntezy i naprawy DNA są regulowane przez niektóre witaminy i minerały (1). Stanowią one m.in. kofaktory enzymów katalizujących replikację DNA, jego metylację i naprawę. Jednak dopiero niedawno opracowano nowe, czułe metody detekcji uszkodzeń chromosomów ludzkich limfocytów hodowanych w obecności określonych związków, w tym składników diety (8). Dzięki temu można określić skutki ich niedoboru lub nadmiaru widoczne na poziomie molekularnym w postaci uszkodzonych chromosomów. Widocznym efektem tych uszkodzeń są nieprawidłowości w strukturze potomnych jąder komórkowych

powstających w procesie kariokinezy: są to tzw. mikrojądra powstające w wyniku pęknięć chromosomów, mostki nukleoplazmatyczne będące markerami rearanzacji chromosomów, „pączki” jądrowe (ang. *nuclear buds*) powstające w wyniku amplifikacji genów oraz komórki nekrotyczne i apoptotyczne.

Kilka lat temu wykazano, że wysoki poziom kwasu foliowego, witaminy B12, niacyny, witaminy E, retinolu i wapnia chroni genom przed uszkodzeniami, podczas gdy duże dawki ryboflawiny (czyli witaminy B2), kwasu pantotenowego oraz biotyny zwiększają ryzyko uszkodzeń genomu i jego niestabilności (52). Na podstawie analizy skutków wywołanych przez β -karoten wykazano, że w zależności od poziomu tego związku w hodowli limfocytów, miał miejsce spadek lub wzrost liczby mikrojąder w analizowanych preparatach. Ten wynik wyraźnie wskazuje, że w przypadku β -karotenu stosunkowo łatwo jest przekroczyć optymalny poziom, powyżej którego wzrasta częstotliwość uszkodzeń DNA.

Do grupy witamin chroniących stabilność genomu należy m.in. kwas foliowy. Spadek stężenia kwasu foliowego w osoczu z 120 nmol/litr do 12 nmol/litr ma takie działanie na genom jak promieniowanie jonizujące o dawce 0,2 Gy (podczas gdy dopuszczalna roczna dawka promieniowania wynosi dla człowieka 1 miliGy). Zazwyczaj stężenie kwasu foliowego w osoczu wynosi 10-30 nmol/litr, co zapobiega anemii, ale nie chroni przed uszkodzeniami genomu (53). Jeśli niedobory lub nadmiar dotyczą nie jednego, ale kilku różnych składników diety, można się spodziewać kumulacji lub synergizmu niepożądanych efektów. Fenech i jego zespół zaobserwowali, że niski poziom kwasu foliowego powodował zwiększony poziom uszkodzeń DNA, a efekt ten był jeszcze silniejszy w wyniku podawania (dodatkowo) ryboflawiny. Jednakże niekorzystne skutki niedoboru kwasu foliowego można było zniwelować podając wapń (8). Zespół Fenecha porównał konsekwencje niedoboru kwasu foliowego i/lub ryboflawiny oraz skutki polimorfizmu C667→T genu MTHFR analizując uszkodzenia DNA ludzkich limfocytów hodowanych w warunkach *in vitro* (12).

Polimorfizm C667→T jest przyczyną niższej aktywności reduktazy MTHFR i ma związek ze zmniejszonym ryzykiem wielu nowotworów, m.in. białaczek oraz raka jelita grubego, ale może także zwiększać ryzyko defektu cewy nerwowej i zespołu Downa. Ze względu na mniejszą pulę donora grup metylowych (SAM – S-adenozylometioniny), polimorfizm C667→T może prowadzić do obniżonej metylacji cytozyny, zwiększonego poziomu uracylu w DNA i niestabilności genomu. Kimura i wsp. badali wpływ niskiego (20 nmol/l; LF) albo wysokiego (100 nmol/l; HF) poziomu kwasu foliowego, niskiego (0 nmol/l; LR) albo wysokiego (500 nmol/l; HR) poziomu ryboflawiny na stabilność genomu limfocytów pochodzących od osób z genotypem CC albo TT (12).

Pomiędzy kwasem foliowym i ryboflawiną oraz polimorfizmami genu MTHFR istnieją złożone zależności. Niektóre z nich przedstawiono w tabeli 2, opracowanej na podstawie danych zawartych w pracy Kimury i wsp. (12). Stwierdzono m.in., że przy niskich stężeniach kwasu foliowego nadmiar ryboflawiny może być genotoksyczny (szczególnie w przypadku genotypu MTHFR (CC)). Wysoki poziom ryboflawiny może

w tym przypadku raczej aktywować syntezę metioniny niż syntezę tymidylanu (stąd poziom uracylu w DNA i poziomy uszkodzeń genomu są podwyższone).

Podsumowując, polimorfizm C667→T oraz poziom ryboflawiny (nadmiar lub niedobór) mają mniejsze znaczenie dla stabilności genomu niż niedobór kwasu foliowego. Niski poziom kwasu foliowego (20 nmol/l) powoduje wzrost poziomu uszkodzeń genomu bez względu na rodzaj genotypu i poziom ryboflawiny, natomiast wysoki poziom kwasu foliowego (100 nmol/l) chroni genom przed uszkodzeniami. Rekomendowana dzienna dawka kwasu foliowego wynosi obecnie 600 µg/dzień, podczas gdy przez ostatnich 40 lat wartość ta (zalecana przez dietetyków) wynosiła 200-400 µg/dzień (54). W badaniach przeprowadzonych w Nowej Zelandii wskazuje się, że równie ważny dla stabilności genomu jest poziom selenu. Jego poziom w osoczu krwi powinien wynosić przynajmniej 100 ng/ml (55).

Te badania mają istotne znaczenie, ponieważ wyjaśniają molekularne podstawy wcześniejszych obserwacji, że nadmiar niektórych witamin (zażywanych np. w postaci syntetycznych preparatów witaminowych) może być szkodliwy, a w przypadku dłuższego czasu stosowania może nawet prowadzić do nowotworów. Zaslugą zespołu Fenecha jest także opracowanie dobrego modelu eksperymentalnego (ludzkie limfocyty i analiza ilościowa różnego rodzaju uszkodzeń genomu), który można stosować w badaniach wpływu bioaktywnych składników diety na stabilność genomu (8,52,53).

Zdefiniowanie optymalnych zakresów stężeń witamin, niezbędnych dla zachowania stabilności genomu jest z pewnością wyzwaniem dla nutrigenomiki. Rekomendowane w przeszłości dzienne dawki witamin są to dawki zapobiegające powstawaniu określonych chorób (w przypadku witaminy C – skorbutu, w przypadku kwasu foliowego – anemii i w przypadku niacyny – pelagry). W krajach rozwiniętych choroby te praktycznie nie występują, natomiast choroby neurodegeneracyjne i cywilizacyjne są coraz bardziej powszechne. Mechanizmy ich powstawania nie zostały dostatecznie poznane, ale uszkodzenia DNA z pewnością mają swój udział w ich etiologii (56). Zdaniem Fenecha konsekwencją tych uszkodzeń, a następnie niestabilności genomu są nowotwory, choroby neurodegeneracyjne oraz niepłodność (56).

Tabela 3

Wpływ genotypu MTHFR (TT lub CC), poziomu kwasu foliowego (wysokiego: HF lub niskiego: LF) oraz poziomu ryboflawiny (wysokiego: HR lub niskiego: LR) na metylację DNA, poziom uracylu w DNA oraz ryzyko nowotworów

Genotyp +dieta	Aktywność MTHFR	Poziom metylacji DNA	Poziom uracylu w DNA	Ryzyko nowotworu
1	2	3	4	5
MTHFR (TT)	niska	niski	niski	zwiększone: hipometylacja
MTHFR (TT) LRHF	niska	wysoki	niski	zmniejszone
MTHFR (TT) LRLF	niska	niski	wysoki	zwiększone: hipometylacja, aneuploidia

1	2	3	4	5
MTHFR (CC)	wysoka	wysoki	niski	zmniejszone
MTHFR (CC) HRLF	wysoka	wysoki	wysoki	zwiększone: aneuploidia
MTHFR (CC) HRHF	wysoka	wysoki	niski	zmniejszone

Na podstawie badań zespołu Fenecha przeprowadzonych w warunkach *in vitro* na ludzkich limfocytach pobranych od nosicieli genotypu MTHFR (CC) i MTHFR (TT).

Natomiast w tabeli 4 przedstawiono dane na temat niedoborów kilku witamin i mikroelementów w społeczeństwie amerykańskim. W niektórych przypadkach te niedobory dotyczą 15-20% społeczeństwa. W tabeli 4 znalazły się informacje na temat tych mikroskładników, których niedobory mogą prowadzić do uszkodzeń DNA i w konsekwencji do rozwoju nowotworów. Na podstawie wyników najnowszych badań naukowych dotyczące molekularnych mechanizmów działania niektórych bioaktywnych składników diety wskazuje się na konieczność opracowania nowych norm dotyczących ich spożycia i zawartości w diecie. Przykładem może być witamina E, kojarzona dotychczas raczej jako regulator płodności niż czynnik chroniący DNA przed uszkodzeniami. Tymczasem niedobór witaminy E powoduje wzrost uszkodzeń DNA i dwukrotnie zwiększa ryzyko raka jelita grubego.

W tabeli 4 nie podano informacji na temat skutków niedoboru witaminy D, ale istnieje coraz więcej danych na ten temat, szczególnie u osób czarnoskórych żyjących w klimacie umiarkowanym. Niedobór tej witaminy ma wyraźny związek z nowotworami, schizofrenią i stwardnieniem rozsianym. Wielu ekspertów uważa, że rekomendowana dzienna dawka witaminy D powinna być zwiększona, przynajmniej dla niektórych subpopulacji (57).

O stabilności genomu decydują także różnego rodzaju mutageny (np. aflatoksyna B1, ochratoksyna A, aminy heterocykliczne, policykliczne węglowodory aromatyczne) oraz tzw. antymutageny obecne w żywności (flawonoidy, witamina C, karotenoidy, błonnik pokarmowy). Są one stosunkowo dobrze poznane. Najnowsze opracowanie na ten temat ukazało się w ubiegłym roku w „Annual Review of Nutrition” (58).

Tabela 4

Niedobory witamin i minerałów jako przyczyna uszkodzeń DNA (wg 1)

Witamina/minerał	(%) populacji (USA) z niedoborem wit./minerału	Rodzaj uszkodzenia DNA	Skutek/choroba
1	2	3	4
kw. foliowy	10	pęknięcia chromosomów	rak jelita, choroby serca, dysfunkcja mózgu
wit. B12	4	nieznany	rak jelita, choroby serca, dysfunkcja mózgu

1	2	3	4
wit. B6	10	nieznany	rak jelita, choroby serca, dysfunkcje mózgu
wit. C	15	utlenienie zasad nukleinowych	zaćma (4x)*, nowotwory
wit. E	20	utlenienie zasad nukleinowych	rak jelita (2x)*, choroby serca (1,5x)*, upośledzenie odporności
żelazo	7% (19% dla kobiet w wieku 12-50 lat)	pęknięcia DNA, utlenienie zasad	nowotwory, dysfunkcje mózgu
cynk	18	pęknięcia DNA, utlenienie zasad	nowotwory, dysfunkcje mózgu
niacyna	2	upośledzenie naprawy DNA	utrata pamięci, zaburzenia neurologiczne

* – wartość podana w nawiasie oznacza ile razy, w wyniku niedoboru witamin, wzrasta ryzyko wystąpienia danej choroby.

3. Przyszłość nutrigenomiki

Zadaniem nutrigenomiki na najbliższe lata są badania zależności pomiędzy dietą i jej bioaktywnymi składnikami a funkcjonowaniem genów, szlaków metabolicznych i sygnałowych. Dotychczasowe osiągnięcia tej nowej dyscypliny nauki pozwoliły sformułować hipotezy o interakcjach pomiędzy składnikami diety a ekspresją genów, w niektórych przypadkach wyjaśnić je na poziomie molekularnym, a także zdefiniować nowe biomarkery, których identyfikacja lub pomiar ułatwią ocenę zagrożenia lub poprawy stanu zdrowia (59). Te dotychczasowe, wstępne badania mają duże znaczenie. Dzięki nim polifenole, glukozyzyny, izotiocyjany, terpeny i wiele innych związków – to już nie tylko antyoksydanty, które „zmiatają” wolne rodniki. Udowodniono, że te substancje mogą wpływać na aktywność czynników transkrypcyjnych oraz enzymów, które modyfikują strukturę chromatyny lub są odpowiedzialne za naprawę uszkodzeń DNA. Stało się jasne, że informacja zawarta w DNA może ulegać modyfikacjom, za które w pewnym stopniu odpowiedzialny jest rodzaj diety. Bioaktywne składniki diety są cząsteczkami sygnałowymi, które przenoszą informacje ze środowiska zewnętrznego i wpływają (w sensie ilościowym i jakościowym) na proces ekspresji genów. Geny są w tym przypadku cząsteczkami docelowymi (ang. *dietary targets*), które odbierają informację płynącą ze środowiska zewnętrznego.

W Stanach Zjednoczonych, Japonii, Nowej Zelandii oraz w niektórych krajach Unii Europejskiej powstały pierwsze centra doskonałości oraz konsorcja współpracujących ze sobą instytutów naukowych zajmujących się nutrigenomiką i/lub nutrigenetyką (tab. 5). Oczekiwania i nadzieje związane z rozwojem nutrigenomiki są duże, ale droga do sukcesu i realizacja celu, jakim jest poprawa zdrowia ludzi, jest bardzo daleka. Nie ulega wątpliwości, że badania będą kosztowne, ale problemem są nie tylko fundusze; także właściwy sposób organizacji badań i analizy danych, wy-

bór właściwych metodologii, badania kliniczne, dobór zdrowych ochotników (co nie jest łatwe, biorąc pod uwagę polimorfizmy SNP i CNP) (4).

Właściwe wykorzystanie wyników badań będzie także zależało w dużej mierze od edukacji oraz przygotowania specjalistów, którzy będą łącznikami pomiędzy nauką, producentami żywności (w tym żywności funkcjonalnej) oraz społeczeństwem. Pojawi się potrzeba kształcenia „dietetyków nowej generacji”, którzy będą musieli nie tylko rozumieć genetyczne podłoże chorób metabolicznych, ich biochemiczne i fizjologiczne konsekwencje, ale także wykorzystać tę wiedzę w codziennej pracy z pacjentami, projektując ich dietę, aktywność fizyczną i styl życia. W wielu krajach już dziś istnieją firmy oferujące identyfikację polimorfizmów genetycznych oraz formułowanie na tej podstawie zaleceń dietetycznych skierowanych do konkretnych osób poddających się tego typu badaniom. Jednakże obecny stan wiedzy nie upoważnia do takich działań. Nasza wiedza na temat złożoności interakcji między dietą a genami jest znikoma. Doceniając korzyści, jakie może przynieść zastosowanie wyników badań z zakresu nutrigenomiki, należy przeciwdziałać rozpowszechnianiu wstępnych wyników, gdyż może to niekorzystnie wpłynąć na społeczny odbiór nutrigenomiki, a tym samym spowodować trudności w rozwoju tej dyscypliny naukowej.

Tabela 5

Wybrane konsorcja nutrigenomiki działające w Europie, Stanach Zjednoczonych, Japonii i Nowej Zelandii (wg 4)

Konsorcjum	Kraj	Zadania	Adres strony internetowej
Centrum Doskonałości Genomiki Żywieniowej	USA	dieta spersonalizowana; interakcje dieta-geny	www.nutrigenomics.ucdavis.edu
Holenderskie Konsorcjum Nutrigenomiki	Holandia	syndrom metaboliczny, wczesne biomarkery	www.nutrigenomics.nl/ngc
Sieć Doskonałości w Nutrigenomice (NUGO)	EU	utworzenie Europejskiej Sieci Badań Nutrigenomicznych	www.nugo.org
Centrum Doskonałości Nutrigenomiki	Nowa Zelandia	choroba Crohna	www.nutrigenomics.org.nz
Functional Food Genomics	Japonia	biomarkery i bioaktywne składniki diety	
Sieć Nutrigenomiki	Niemcy	choroby metaboliczne, interakcje dieta-geny	www.nutrigenomik.de

Przykłady bioaktywnych składników diety, które modulują aktywność receptorów jądrowych, szlaki sygnałowe, procesy epigenetyczne oraz procesy naprawy DNA

Bioaktywne składniki diety, które aktywują receptory jądrowe		
składnik	rodzaj receptora jądrowego	źródło literaturowe
kwasy retinowe	receptor kwasu retinowego	(34,35)
kwasy 9-cis retinowe	receptor kwasu retinowego	(34,35)
witamina D	receptor witaminy D (VDR)	(34,35)
genisteina, daidzeina, baicaleina, kwercetyna	receptor węglowodorów aromatycznych (AHR) i PPAR	(39,60)
hyperforyna, witamina E, sulforafan	receptor steroidów i ksenobiotyków (PXR/SXR)	(38)
sulforafan i inne izotiocyjaniany	receptor Nrf2	(41)
Bioaktywne składniki diety, które modulują procesy epigenetyczne		
składnik	mechanizm działania	źródło literaturowe
epigallocatechina, fisetina, kwercetyna, myricetyna	inhibitory metylotransferazy DNA	(21)
diallilodisiarceki, sulforafan	inhibitor deacetylazy histonowej (HDAC)	(25)
galusan epigallocatechiny	inhibitor metylotransferazy DNA (DNMT1)	(22)
kwasy foliowe, genisteina	modulatory metylacji DNA	(21)
resweratrol	aktywator deacetylazy SIRT1	(26)
Składniki diety, które zapobiegają uszkodzeniom DNA i regulują stabilność genomu		
kwasy foliowe	hamuje pęknięcia nici DNA	(57,58)
witamina C	hamuje utlenianie zasad nukleinowych	(1)
witamina E	hamuje utlenianie zasad nukleinowych	(1)
wapń	hamuje pęknięcia chromosomów	(57)
cholina	zapobiega uszkodzeniu DNA	(57)
magnez	zapobiega uszkodzeniu jądrowego i mitochondrialnego DNA	(57)
Składniki diety, które modulują szlaki sygnałowe		
kurkumina	supresja czynnika NF-κB	(49)
genisteina	supresja czynnika NF-κB	(49)
resweratrol	supresja czynnika NF-κB	(49)
kwasy elagowe	supresja czynnika NF-κB	(49)
sulforafan	supresja czynnika NF-κB	(49)

Praca powstała w ramach realizacji projektu „Żywność i żywienie w XXI w. – wizja rozwoju polskiego sektora spożywczego” finansowanego z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007-2013.

Literatura

1. Kaput J., Rodriguez R. L., (2004), *Physiol. Genomics*, 16, 166-177.
2. Stover P. J., (2006), *Am. J. Clin. Nutr.*, 83(suppl), 436S-425S.
3. Debusk R. M., Fogarty C. P., Ordovas J. M., Korman K. S., (2005), *J. Am. Diet. Assoc.*, 105, 589-598.
4. Afman L., Muller M., (2006), *J. Am. Diet. Assoc.*, 106, 569-576.
5. Ferguson L. R., (2009), *J. Am. Diet. Assoc.*, 109, 452-458.
6. Hooper L., Thompson R. L., (2006), *BMJ*, 332, 752-760.
7. Stover P. J., Caudill M. A., (2008), *J. Am. Diet. Assoc.*, 108, 1480-1487.
8. Fenech M., (2008), *Food Chem. Toxicol.*, 46, 1365-1370.
9. Civeira F., (2004), *Atherosclerosis*, 173, 55-68.
10. Perry G. H., Dominy N. J., Claw K. G., Lee A. S., Fiegler H., Redon R., Werner J., Villanea F. A., Moun-tain J. L., Misra R., Carter N. P., Lee C., Stone A. C., (2007), *Nat. Genet.*, 39, 1256-1260.
11. Tishkoff S. A., Reed F. A., Ranciaro A., (2007), *Nat Genet.*, 39, 31-40.
12. Kimura M., Umegaki K., Higuchi M., Thomas P., Fenech M., (2004), *J. Nutr.*, 134, 48-56.
13. Corella D., Ordovas J. M., (2005), *Annu. Rev. Nutr.*, 25, 341-390.
14. Yuan J.-M., Koh W.-P., Sun C.-L., Lee H.-P., Yu M. C., (2005), *Carcinogenesis*, 26, 1389-1394.
15. Wolffe A. P., Matzke M. A., (1999), *Science*, 286, 481-486.
16. Jaenisch R., Bird A., (2003), *Nat. Genet.*, 33 (supl), 245-254.
17. Reik W., Dean W., Walter J., (2001), *Science*, 293, 1089-1093.
18. Herceg Z., (2007), *Mutagenesis*, 22, 91-103.
19. Moss T. J., Wallrath L. L., (2007), *Mutat. Res.*, 618, 163-174.
20. Kirk H., Cefalu W. T., Ribnicki D., Liu Z., Eilertsen K. J., (2008), *Met. Clin. Exp.*, 57, S16-S23.
21. Mathers J. C., (2006), *Mech. Ageing Dev.*, 127, 584-589.
22. Johnson I. T., Belshaw N. J., (2008), *Food Chem. Toxicol.*, 46, 1346-1359.
23. van Guelpen B., Hultdin J., Johansson I., Hallmans G., Sterling R., Riboli E., Winkvist A., Palm-qvist R., (2006), *Gut*, 55, 1461-1466.
24. Davis C. D., Uthus E. O., (2003), *J. Nutr.*, 133, 2907-2914.
25. Dashwood R. H., Myzak M. C., Ho E., (2006), *Carcinogenesis*, 27, 344-349.
26. North B. J., Verdin E., (2004), *Genome Biology*, 5, 224-236.
27. Sinclair D. A., (2005), *Mech. Ageing Dev.*, 126, 987-1002.
28. Guarente L., Picard F., (2005), *Cell*, 120, 473-482.
29. Porcu M., Chiarugi A., (2005), *Trends Pharmacol. Sci.*, 26, 94-103.
30. Alcain F. J., Villalba J. M., (2009), *Expert Opinion Ther. Pat.*, 19, 403-414.
31. Wolff G. L., Kodell R. L., Moore S. R., Cooney C. A., (1998), *FASEB J.*, 12, 949-957.
32. Dolinoy D. C., Weidman J. R., Waterland R. A., Jirtle R. L., (2006), *Environ. Health Perspect.*, 114, 567-572.
33. Dolinoy D. C., Weidman J. R., Jirtle R. L., (2007), *Reprod. Toxicol.*, 23, 297-307.
34. Desvergne B., Michalik L., Wahli W., (2006), *Physiol. Rev.*, 86, 465-514.
35. Makishima M., (2005), *J. Pharmacol. Sci.*, 97, 177-183.
36. Steiner C., Arnold S., Scalbert A., Manach C., (2008), *Br. J. Nutr.*, 99, E-Suppl. 1, ES78-ES108.
37. Shay N. F., Banz W. J., (2005), *Annu. Rev. Nutr.*, 25, 297-315.
38. Stienstra R., Duval C., Muller M., Kersten S., (2007), *PPAR Research*, 2007, 1-10.
39. Zhou C., Verma S., Blumberg B., (2009), *Nucl. Rec. Signal.*, 7, e001.
40. Fahey J. W., Zhang Y., Talalay P., (1997), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 10367-10372.
41. Myzak, M. C., Dashwood, R. H., (2006), *Cancer Lett.*, 233, 208-218.
42. Zhang Y., Talalay P., Cho C. G., Posner G. H., (1992), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 2399-2403.
43. Zhang Y., Kensler T. W., Cho C. G., Posner G. H., Talalay P., (1994), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 3147-3150.
44. Hayes J. D., McMahon M., (2009), *Trends Biochem. Sci.*, 34, 176-188.
45. Yu S., Kong A. N., (2007), *Curr. Cancer Drug Targets.*, 7, 416-424.
46. Mandlekar S., Hong J. L., Kong A. N., (2006), *Curr. Drug Metab.*, 7, 661-675.

47. Nakata K., Tanaka Y., Nakano T., Adachi T., Tanaka H., Kaminuma T., Ishikawa T., (2006), *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 21, 437-457.
48. Chen C., Kong A. T., (2005), *Trends Pharmacol. Sci.*, 26, 318-326.
49. Anand P., Kunnumakara A. B., Sundaram C., Harikumar K. B., Tharakan S. T., Lai O. S., Sung B., Aggarwal B., (2008), *B. Pharm. Res.*, 25, 2097-2116.
50. Adachi S., Nagao T., Ingolfsson H. I., Maxfield F. R., Andersen O. S., Kopelovich L., Weinstein I. B., (2007), *Cancer Res.*, 67, 6493-6501.
51. Horst B., Williamson G., (2008), *Curr. Opinion Biotechnol.*, 19, 73-82.
52. Fenech M., Baghurst P., Luderer W., Turner J., Record S., Ceppi M., Bonassi S., (2005), *Carcinogenesis*, 26, 991-999.
53. Fenech M., (2001), *Mutat. Res.*, 475, 57-67.
54. Willet W. C., (2000), *Oncologist*, 5, 393-404.
55. Ferguson L. R., Philpott M., Karunasinghe N., (2004), *Toxicology*, 198, 147-159.
56. Fenech M., (2002), *Food Chem. Toxicol.*, 40, 1113-1117.
57. Ames B. N., (2006), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103, 17589-17594.
58. Ferguson L. R., Philpott M., (2008), *Annu. Rev. Nutr.*, 28, 313-329.
59. Davis C. D., Milner J. A., (2007), *Acta Pharmacol Sin.*, 28, 1262-1273.
60. Nguyen L. P., Bradfield C. A., (2008), *Chem. Res. Toxicol.*, 21, 102-116.