

## NOWE KIERUNKI W BADANIACH ŻYWIENIOWYCH – NUTRIGENOMIKA

Marek Pieszka, Mariusz P. Pietras

Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy, Dział Żywnienia Zwierząt i Paszoznawstwa,  
32-083 Balice k. Krakowa

*W minionej dekadzie nastąpił znaczący rozwój nie tylko genomiki i proteomiki, ale także dyscyplin łączących nauki o żywności i żywieniu z biologią molekularną: nutrigenetyki i nutrigenomiki. Nutrigenomika jest nauką zajmującą się wpływem bioaktywnych składników diety na ekspresję genów oraz uwarunkowanymi genetycznie różnicami w reakcjach organizmu na składniki pokarmowe obecne w codziennej diecie. Przedmiotem zainteresowania nutrigenomiki jest badanie zależności między żywieniem a odpowiedzią organizmu na poziomie ekspresji genów. W badaniach nutrigenomicznych poddawane są analizie różnice genetyczne, u osobników lub ras, które mogą decydować o sposobie działania składników diety (Kogut, 2009). Celem nutrigenetyki jest identyfikacja polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) oraz alleli odpowiedzialnych za zróżnicowanie odpowiedzi lub reakcje organizmów na bioaktywne składniki diety. Znajomość tych mechanizmów i indywidualnych uwarunkowań genetycznych pozwoli w przyszłości projektować dietę i żywność funkcjonalną przeznaczoną dla określonych populacji lub pojedynczych osób. Techniki genomiczne mogą sprzyjać rozwojowi dziedziny zajmującej się żywnością funkcjonalną, która pozwala (WHO Statistical Information System, 2009) korzystnie zmieniać ekspresję genów poszczególnych osobników (Kersten, 2008) oraz wprowadzić „odżywianie spersonalizowane”, w którym ilość przyjmowanych składników odżywczych jest zoptymalizowana w oparciu o indywidualny profil genetyczny tak, aby ograniczyć ryzyko wystąpienia chorób oraz/lub ulepszyć ogólną efektywność diety. W artykule podjęto próbę przeglądu ostatnich badań, w których wykorzystano techniki genomiczne – analizę ekspresji genu lub analizę zmienności genetycznej – w celu odkrycia mechanizmów działania żywności funkcjonalnej na czynniki ryzyka chorób układu krążenia, nowotworowych, metabolicznych i innych. Ponadto opisano zależności pomiędzy dietą i jej bioaktywnymi składnikami a funkcjonowaniem genów, szlaków metabolicznych i sygnałowych.*

### **Żywność funkcjonalna a nutrigenomika**

Żywność funkcjonalna została po raz pierwszy zdefiniowana i opisana przez Japończyków w 1991 roku. W 1998 roku Komisja Europejska – Functional Food Science in Europe opracowała definicję żywności funkcjonalnej, według której żywność może być określana jako funkcjonalna, jeśli naukowo udowodniono jej korzyści zdrowotne ponad odpowiednio wystarczający efekt żywieniowy oraz że posiada ona składniki działające w zakresie poprawy jednej lub więcej funkcji człowieka, wpły-

wając korzystnie na stan zdrowia i samopoczucia lub na obniżenie ryzyka choroby. Żywność funkcjonalną zdefiniowano także jako podobną do żywności konwencjonalnej, konsumowanej jako część codziennej diety i poza podstawową funkcją odżywczą mającą udowodniony, korzystny wpływ na fizjologię i/lub ograniczającą ryzyko chorób przewlekłych.

Podziału żywności funkcjonalnej możemy dokonać ze względu na sposób oddziaływania fizjologicznego w organizmie: na żywność zmniejszającą ryzyko chorób krążenia, chorób nowotworowych czy osteoporozy, żywność regulującą właściwe funkcjonowanie przewodu pokarmowego oraz żywność przeznaczoną dla osób obciążonych stresem. Innego podziału możemy dokonać ze względu na przeznaczenie dla sportowców, kobiet w ciąży, niemowląt, dla młodzieży w okresie dojrzewania oraz dla osób w starszym wieku. Ponadto żywność możemy podzielić na żywność naturalną – bogatą w jakiś składnik odżywczy, żywność wzbogaconą, w której składniki prozdrowotne zostały dodane oraz żywność pozbawioną czynników antyżywnościowych.

Coraz częściej termin żywność funkcjonalna jest stosowany w stosunku do produktów zawierających wielonienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny *n-3*, fitosterole, polifenole, błonnik, wyselekcjonowane szczepy bakterii kwasu mlekowego i inne (Ferguson i Philpott, 2008) (tab. 1).

Tabela 1. Składniki diety zapobiegające uszkodzeniom DNA i regulujące stabilność genomu  
Table 1. Dietary components that prevent damage to DNA and regulate the stability of the genome

Składnik Component	Mechanizm Action	Źródło literatury Source of literature
Kwas foliowy	Hamuje pęknięcia DNA	Ames, 2006; Ferguson i Philpott, 2008
Witamina C	Hamuje utlenianie zasad nukleinowych	Kaput i Rodriguez, 2004
Witamina E	Hamuje utlenianie zasad nukleinowych	Kaput i Rodriguez, 2004
Wapń	Hamuje pęknięcia chromosomów	Ames, 2006
Cholina	Zapobiega uszkodzeniom DNA	Ames, 2006
Magnez	Zapobiega uszkodzeniu jądrowego i mitochondrialnego DNA	Ames, 2006

Tabela 2. Niedobory witamin i minerałów jako przyczyna uszkodzeń DNA (za Kaput i Rodriguez, 2004)  
Table 2. Deficiencies of vitamins and minerals as the cause of DNA damage

Składnik Component	Rodzaj uszkodzenia DNA Type of DNA damage	Skutek/choroba The effect/disease
Kwas foliowy	Pęknięcia DNA	Rak jelita, choroby serca, dysfunkcje mózgu
Witamina B <sub>12</sub>	nieznany	Rak jelita, choroby serca, dysfunkcje mózgu
Witamina B <sub>6</sub>	nieznany	Rak jelita, choroby serca, dysfunkcje mózgu
Witamina E	Utlenianie zasad nukleinowych	Rak jelita, choroby serca, upośledzenie odporności
Witamina C	Utlenianie zasad nukleinowych	Zaćma, nowotwory
Żelazo	Pęknięcia DNA, utlenienie zasad	Nowotwory, dysfunkcje mózgu
Cynk	Pęknięcia DNA, utlenienie zasad	Nowotwory, dysfunkcje mózgu

Dostarczenie naukowych dowodów na prozdrowotne działanie żywności funkcjonalnej jest trudne. Niekiedy wyniki badań są niejednoznaczne i nie dają pewności co do skuteczności korzystnego oddziaływania kwasów PUFA *n-3* na organizm (Hooper i in., 2006). Jedną z możliwych przyczyn niejednoznacznych wyników jest fakt, że w dotychczasowych badaniach nie uwzględniono różnic genetycznych pomiędzy badanymi osobami. Konieczna staje się identyfikacja molekularna mechanizmów działania bioaktywnych składników diety. Kwasy PUFA *n-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. Należy przytoczyć fakt, że w populacji Eskimosów, których dieta obfita jest w ryby będące bogatym źródłem długołańcuchowych kwasów tłuszczowych PUFA *n-3*, obserwuje się istotne zmniejszenie zapadalności na choroby układu krążenia. Na całym świecie choroby sercowo-naczyniowe (CVD) są główną przyczyną śmierci. W 2005 roku z powodu CVD zmarło 17,5 mln ludzi, co stanowiło 30% wszystkich zgonów na świecie (WHO Statistical Information System, 2009). Istnieje wiele rodzajów żywności funkcjonalnej obniżającej poziom lipidów, które mogłyby pomóc w zapobieganiu i leczeniu CVD.

Działanie żywności funkcjonalnej polega między innymi na obniżaniu poziomu cholesterolu, wzmacnianiu układu odpornościowego i przywracaniu właściwego działania układu pokarmowego. Produkcja żywności funkcjonalnej polega na wzbogacaniu środków spożywczych w substancje bioaktywne lub eliminacji związków niepożądanych, a także na stosowaniu zamienników składników niepożądanych, np. tłuszczu.

Do najczęściej spotykanych tego typu produktów należą fermentowane produkty mleczne lub zawierające dodatek bakterii probiotycznych, tłuszcze do smarowania pieczywa zawierające estry fitosteroli i fitostanoli, napoje wzbogacone o zawartość witamin A, C i E lub wapń i magnez, wołowina wzbogacona w skoniugowany kwas linolowy (CLA), jaja wzbogacone w wielonienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny *n-3*. 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.

Dotychczasowe wyniki badań wskazują także na zmienność w odpowiedzi na żywność funkcjonalną, która prawdopodobnie ma związek z dawką bądź proporcją związku bioaktywnego, czasem trwania obserwacji, stanem zdrowia, dietą oraz innymi czynnikami (Stover i Caudill, 2008).

Badania nutrigenomiczne opisują zarówno wpływ diety na ekspresję genów, jak i wpływ zmienności genetycznej na odpowiedź na dietę. Po pierwsze, skutki działania diety na ekspresję genów dotyczą zmian w tempie transkrypcji różnych genów z powodu obecności specyficznych składników bioaktywnych. Po drugie, zmienność genetyczna, jak np. polimorfizm pojedynczego nukleotydu (SNP) występuje w regionach promotorowych ogromnej liczby genów. Niektóre z SNP-ów wpływają na aktywność transkrypcyjną genów skutkując wewnątrzsobniczymi różnicami w ilości białka produkowanego przez gen. Inne SNP-y mogą wpływać na funkcję genu, np. powodując zmianę jego strukturalnych, a tym samym funkcjonalnych własności (Johnson i Bielschaw, 2008).

### **Molekularne mechanizmy działania bioaktywnych składników diety**

Analizując molekularne mechanizmy działania bioaktywnych składników diety, należy uwzględnić fakt, że mogą być one metabolizowane w zróżnicowany sposób ze względu na istnienie tzw. polimorfizmów genetycznych. Identyfikacja, klasyfikacja i charakterystyka tych polimorfizmów są zadaniami nutrigenetyki. Niezależnie od polimorfizmów genetycznych bioaktywne składniki działają przynajmniej na dwóch poziomach procesu ekspresji genów:

- jako czynniki regulujące strukturę chromatyny, co decyduje o aktywacji lub represji procesu transkrypcji;
- jako czynniki regulujące w sposób bezpośredni aktywność receptorów jądrowych i pośrednio poziom transkrypcji genów kontrolowanych przez receptory, które działają jako czynniki transkrypcyjne. Istnieje także wiele danych świadczących o wpływie bioaktywnych składników diety na efektywność procesów naprawy DNA i stabilność genomu (Fenech, 2008).

### **Wpływ składników diety na epigenetyczną regulację ekspresji genów**

Epigenetyka – oznacza dziedziczne zmiany w organizacji chromatyny i ekspresji genów, które nie są zakodowane w sekwencji genów. Zmiany w ekspresji genów są wywoływane przez szeroko rozumiane sygnały z otoczenia, w tym przez bioaktywne składniki diety (Jaenisch i Bird, 2003). O stopniu aktywności transkrypcyjnej genu decyduje poziom metylacji DNA oraz modyfikacje białek histonowych wchodzących w skład chromatyny. Metylacji podlega około 75% reszt cytozyny występującej w dinukleotydocowych sekwencjach CpG. Spośród kilku znanych metylotransferaz DNA, *DNMT3B* są odpowiedzialne za metylowanie DNA w procesie embriogenezy, ponieważ po zapłodnieniu i utworzeniu zygoty następuje znaczna demetylacja DNA zygoty wniesionego przez gamety, po czym począwszy od etapu blastocysty następuje tkankowo specyficzna metylacja *de novo*. 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. Nieprawidłowa metylacja DNA polega na hipermetylacji lub hipometylacji sekwencji CpG. Hipermetylacja prowadzi do represji transkrypcji, natomiast hipometylacja wywołuje aktywację transkrypcji tych genów, które powinny pozostać wyciszone (Moss i Wallrath, 2007). Profil metylacji DNA zmienia 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 (Fenech i in., 2005).

Nieprawidłowy profil modyfikacji DNA oraz histonów może być przyczyną wielu chorób, począwszy od chorób nowotworowych, przez metaboliczne, a kończąc na chorobach neurodegeneracyjnych (Herceg, 2007). Zainteresowanie epigenetyczną regulacją transkrypcji wynika nie tylko z przyczyn poznawczych, ale także 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 (Kirk i in., 2008). Fakt, że bioaktywne składniki diety

pełnią funkcję nie tylko 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 ewaluowało w sposób zależny od tych związków i w odpowiedzi na ich obecność w diecie (Reik i in., 2001).

### **Wielonienasycone kwasy tłuszczowe PUFA**

Do niedawna uważano, że kwasy tłuszczowe pełnią wyłącznie funkcję materiału energetycznego, gromadzonego w postaci triacylogliceroli w tkance tłuszczowej oraz elementów budujących błony komórkowe. Tymczasem badania przeprowadzone w okresie ostatnich dziesięciu lat wykazały, że kwasy tłuszczowe to także bardzo aktywne biologicznie związki, pełniące kluczową rolę w regulacji takich procesów jak: acylacja i sortowanie białek, aktywacja enzymów i receptorów błonowych, proliferacja i różnicowanie komórek oraz tworzenie odpowiedzi immunologicznej (Deckelbaum i in., 2006). Ze względu na liczbę wiązań podwójnych w łańcuchu węglowym kwasy tłuszczowe dzieli się na: nasycone kwasy tłuszczowe (SFA), jednonienasycone kwasy tłuszczowe (MUFA) oraz wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA). Wśród PUFA wyróżnia się kwasy *n-3* i *n-6* (zwane też omega-3 i omega-6), różniące się numerem węgla, przy którym występuje pierwsze podwójne wiązanie licząc od końca łańcucha węglowego, tj. grupy metylowej. Wewnątrzkomórkowe kwasy tłuszczowe mogą pochodzić z trzech głównych źródeł: z diety, lipolizy zmagazynowanych w tkance tłuszczowej triacylogliceroli lub z syntezy *de novo*. Niezależnie od źródła pochodzenia, w komórce kwasy tłuszczowe są przekształcane w acylo-CoA, a następnie wykorzystywane do syntezy lipidów złożonych, takich jak: triacyloglicerole, fosfolipidy, sfingolipidy, eikosanoidy lub utleniane w procesie  $\beta$ -oksydacji (w mitochondriach i peroksysomach) lub  $\omega$ -oksydacji (w mikrosomach). Wolne kwasy tłuszczowe pełnią funkcję związków sygnałowych i regulują aktywność czynników transkrypcyjnych. Liczne badania wykazały, że efekt ich działania, polegający na hamowaniu lub aktywacji ekspresji określonych genów, uzależniony jest głównie od liczby podwójnych wiązań oraz długości łańcucha węglowego (Jump, 2004). Stąd wszelkie zaburzenia w procesie utylizacji, elongacji lub/i desaturacji kwasów tłuszczowych, jak również nieprawidłowa dieta (nadmiar lub niedobór podstawowych kwasów tłuszczowych), prowadzą do poważnych zaburzeń funkcjonowania komórki (Weymann i Schneiter, 2008).

Na szczególną uwagę zasługują długołańcuchowe kwasy tłuszczowe z rodziny *n-3* PUFA, a zwłaszcza kwasy: eikozapentaenowy (EPA) oraz dokozaheksaenowy (DHA), które występują w wysokich stężeniach w tłuszczu ryb. Liczne badania epidemiologiczne sugerują, że konsumpcja LC PUFA *n-3* obniża ryzyko CVD. Efekty LC PUFA *n-3* są prawdopodobnie związane ze zmianami w ekspresji genów (poprzezdzającymi zmiany w składzie błony), które odbywają się na zasadzie bezpośredniej kontroli aktywności jądrowych czynników transkrypcyjnych. Alfa-receptor aktywowany przez proliferatory peroksysomów (*PPAR- $\alpha$* ) jest jądrowym czynnikiem transkrypcyjnym regulującym aktywność wielu genów zaangażowanych w metabolizm energii, glukozy i lipidów. Jednakże badania dowiodły, że *PPAR- $\alpha$*  nie jest jedynym

czynnikiem transkrypcyjnym związanym z wpływem kwasów tłuszczowych na transkrypcję genów (Rudkowska i in., 2009). Stwierdzono, że dodatkowo kilka innych czynników transkrypcyjnych jest regulowanych działaniem kwasów tłuszczowych, łącznie z PPAR- $\gamma$ , wątrobowym czynnikiem jądrowym-4 $\alpha$  (*HNF-4 $\alpha$* ), białkiem wiążącym sekwencję odpowiedzi na sterole (*SREBP*), wątrobowym receptorem typu X (*LXR- $\alpha$*  i  $\beta$ ), receptorem retinoidowym X (*RXR- $\alpha$* ) oraz czynnikiem jądrowym- $\kappa$ B (*NF- $\kappa$ B*) (Calder, 2005). Reasumując, suplementacja PUFA *n-3* wpływa na ekspresję genów na drodze oddziaływania na wiele kluczowych jądrowych czynników transkrypcyjnych.

### **Kwasy tłuszczowe LC PUFA *n-3* i ekspresja genów**

Działanie LC PUFA *n-3* na metabolizm lipidów jest prawdopodobnie spowodowane zmianą w ekspresji genów. Kwasy tłuszczowe i ich pochodne są naturalnymi ligandami jądrowego receptora PPAR- $\alpha$ , który tworzy heterodimery z RXR przed uruchomieniem ekspresji docelowych genów (Kersten, 2008). Do szczególnych genów docelowych zalicza się lipazę lipoproteinową (LPL) (Michaud i Renier, 2001), centralny enzym w metabolizmie trójglicerydów oraz apolipoproteinę A1 (*apo-A1*) (Vu-Dac i in., 1994), kluczowy element strukturalny lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL). Kwasy tłuszczowe PUFA *n-3* wiążą się do receptora PPAR- $\alpha$  i mają zdolność obniżania poziomu trójglicerydów (TG) oraz podnoszenia poziomu cholesterolu HDL w osoczu.

LC PUFA *n-3* wykazują również silne działanie przeciwzapalne: są supresorami występującej w osoczu interleukiny 1 $\beta$  (*IL-1 $\beta$* ), czynnika martwicy nowotworu- $\alpha$  (*TNF- $\alpha$* ) oraz interleukiny 6 (*IL-6*). Uważa się, że LC PUFA *n-3* mogą wywierać wpływ na ekspresję genów odpowiedzialnych za stan zapalny na drodze bezpośredniego działania na wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe, które prowadzą do aktywacji jednego lub więcej czynników transkrypcyjnych, jak np. *PPAR- $\alpha$*  czy *NF- $\kappa$ B* (Calder, 2005). Jednakże taki efekt udokumentowano jedynie w przypadku niewielkiej liczby badań *in vitro* i wobec tego skutki działania *in vivo* nie są jeszcze dostatecznie poznane. Liczne badania opisują wpływ LC PUFA na ekspresję genów kodujących leptynę i rezystynę, hormony wydzielane przez tkankę tłuszczową. Raclot i in. (1997) wykazali, że szczury karmione LC PUFA *n-3* mają zmniejszony poziom mRNA leptyny w trzewnej, a nie w podskórnej tkance tłuszczowej, niezależnie od poziomu insuliny we krwi. Ze względu na to, że kwasy tłuszczowe są niezwykle silnymi aktywatorami genów odpowiedzialnych za adipogenezę, warunkują one różnicowanie się adipocytów.

Wyniki badań sugerują, że długołańcuchowe kwasy PUFA *n-3* mogą silnie oddziaływać na ekspresję wielu genów związanych z metabolizmem lipidów i stanem zapalnym. Szczegółowe porównanie tempa ekspresji po zmianie diety, polegającej np. na suplementacji LC PUFA *n-3*, pozwala zidentyfikować sieci takich genów oraz szlaki przekazywania sygnału.

### **Kwasy tłuszczowe PUFA *n-3* i polimorfizm genów**

Wiele doniesień naukowych sugeruje, że zmienność w obrębie genów kodujących białka *PPAR- $\alpha$* , *PPAR- $\gamma$* , apolipoproteinę (*apo*) A1, apo A4, apo B, apo E, apo

C3, LPL, lipazę wątrobową, lipazę śródbłonkową, wątrobowe białko wiążące kwasy tłuszczowe, receptory (beta)3-adrenergiczne i adipsynę przyczynia się do niejednorodnej odpowiedzi lipidowej na określoną dietę (Masson i in., 2003; Masson i McNeill, 2005). Jednakże stosunkowo mało opisanych badań skupiło się na wpływie diety bogatej w PUFA uwzględniając również zmienność genetyczną badanych osób.

Jedną z najczęściej badanych zmienności genetycznych z uwzględnieniem LC PUFA *n-3* to zmienność genu kodującego *PPAR-α*. W obrębie tego genu opisano kilka polimorfizmów, m.in. *L162V*. W licznych doświadczeniach wykazano, że polimorfizm *PPAR-α L162V* jest związany z otyłością oraz zmianą wielu parametrów metabolicznych (Flavell i in., 2000; Sparso i in., 2007; Tanaka i in., 2007). Wyniki ostatnich badań *in vivo* sugerują także, że oba warianty alleliczne *PPAR-α L162V* są aktywowane przez LC PUFA *n-3*, jednakże po inkubacji z LC PUFA *n-3* forma zmutowana wykazuje niższą aktywność transkrypcyjną niż jej dziki odpowiednik (Rudkowska i in., 2009). Tai i in. (2005) ustalili także, że wpływ polimorfizmu *L162V* na stężenie trójglicerydów i apo C3 w osoczu zależy od PUFA (przyjmowanie PUFA w dużych ilościach powodowało obniżenie poziomu TG u osobników z allelem *V162-PPAR-α*). Doświadczenie przeprowadzone przez Paradis i in. (2005) pokazało, że międzyosobnicza zmienność w poziomie całkowitego cholesterolu, apo-A1 i cholesterolu w cząsteczkach lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) zaobserwowana po modyfikacji stosunku PUFA do nasyconych kwasów tłuszczowych w diecie, jest po części związana z polimorfizmem *L162V PPAR-α*. Ponieważ *n-3* PUFA są najsilniejszymi ligandami dla *PPAR-α*, ostatnie badania dotyczyły wpływu suplementacji PUFA *n-3* na polimorfizm *PPAR-α L162V* (Caron-Dorval i in., 2008). Suplementacja PUFA *n-3* spowodowała obniżenie poziomu trójglicerydów w przypadku obydwu genotypów. Jednakże zaobserwowano interakcję pomiędzy tym składnikiem a genem dla stężenia białka C-reaktywnego (CRP) w osoczu (Caron-Dorval i in., 2008). Reasumując, wyniki powyższych badań pokazują, że polimorfizm *PPAR-α L162V* przyczynia się do międzyosobniczej zmienności związanej z czynnikami ryzyka CVD w odpowiedzi na PUFA *n-3*.

Inne badania pokazały relację między różnymi polimorfizmami jednego nukleotydu (SNP) i suplementacją *n-3* PUFA. Gen kodujący apo-A1 jest wysoce polimorficzny i polimorfizm pojedynczego nukleotydu (SNP)  $-75G/A$  był szeroko badany w związku ze zmiennością w stężeniu apo-A1 i cholesterolu HDL w surowicy. Ordovas i in. (2002) zaobserwowali interakcję pomiędzy dodatkiem PUFA *n-3* a genem związaną z polimorfizmem apo-A1, polegającym na zamianie guaniny na adeninę (G-A). Polimorfizm pojedynczych nukleotydów zidentyfikowano również w regionie promotorowym genu kodującego apo-C3. W szczególności polimorfizm T455C fragmentu genu apo-C3 związanego z odpowiedzią na insulinę wykazał wpływ na stężenie trójglicerydów i białka apo-C3 (Olivieri i in., 2005). Polimorfizm *apoE*, wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz ich wpływ na metabolizm lipidów nie były przedmiotem badań, pomimo że apoE jest jednym z najintensywniej badanych genów związanych z metabolizmem lipidów. W próbach klinicznych stwierdzono, że genotyp *apoE* może po części determinować zmiany w składzie krwi pod wpływem dodatku oleju rybnego do diety oraz że wzrost stężenia cholesterolu LDL może być dużo bardziej widoczny u osób posiadających allel apoE4 (Minihane i in., 2000).

Doniesienia na temat wpływu zmienności genetycznej na metabolizm lipidów nie są jednoznaczne. Przyszłe badania powinny być przeprowadzone na dużo większych próbach, a dawki PUFA *n-3* podawanych w diecie, ściśle kontrolowane. Badania powinny dotyczyć wpływu polimorfizmu wielu, a nie tylko pojedynczych genów.

Wprowadzanie do diety wielonienasyconych kwasów tłuszczowych odgrywa ważną rolę podczas występowania objawów chorobowych, szczególnie u osób z nietypowym profilem genetycznym. Jednakże wpływ LC PUFA *n-3* na produkcję cytokin odpowiedzialnych za wielkość i typ odpowiedzi immunologicznej jest niejasny. Wyniki tylko 6 z 12 badań analizujących wpływ rybiego oleju na produkcję *TNF- $\alpha$*  przez komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PBMC) od zdrowych osób wskazują na efekt hamujący (Grimble i in., 2002). Rozbieżności te mogą być tłumaczone kwestią różnic we wrodzonej produkcji *TNF- $\alpha$*  oraz polimorfizmem w genach kodujących *TNF- $\alpha$*  i limfotoksyny (Grimble i in., 2002). Badania Markovica i in. (2004) dowiodły, że zdolność PUFA *n-3* do obniżania poziomu lipidów i działania przeciwzapalnego jest związana z obecnością allelu +252A limfotoksyny-alfa (*TNF- $\beta$* ) oraz wskaźnikiem masy ciała (BMI). Idąc dalej, interleukina-1 beta jest ważną cytokiną, która posiada wiele funkcji, m.in. działa zdecydowanie prozapalnie oraz zwiększa ekspresję molekuł adhezyjnych. Shen i in. (2007) zasugerowali, że warianty genetyczne w obrębie *IL-1 $\beta$*  mają związek ze wskaźnikami przewlekłego stanu zapalnego i ryzykiem syndromu metabolicznego. Pełne zrozumienie genomicznych zdolności PUFA *n-3* do działania jako czynnik przeciwzapalny umożliwi bardziej efektywne stosowanie suplementacji PUFA *n-3* w ograniczaniu stanów zapalnych, jak i obniżaniu parametrów lipidowych.

### **Sterole roślinne**

Fitosterole (PS) są II-rzędowymi alkoholami sterydowymi, których budowa oparta jest na szkielecie steranu (1,2-cyklopentanoperhydrofenantren). Zawierają jedno lub dwa wiązania etylenowe, II-rzędową grupę alkoholową i łańcuch boczny. Należą do związków lipofilnych. Do fitosteroli zaliczamy: ergosterol, stigmasterol, sitosterole, lanosterol, sapogeniny, witanolidy, kampesterol, brassicasterol, alfa-spinasterol, fukosterol, zymosterol, askosterol i inne. Główne sterole olejów roślinnych to:  $\beta$ -sitosterol, kampesterol, stigmasterol, brassicasterol, avenasterol (Mińkowski, 2008). W większości olejów ogólna zawartość fitosteroli wynosi 400 do 800 mg/100 g (Nawar, 1996; Rudzińska i in., 2001). Sterole roślinne mają różne właściwości biologiczne, w zależności od liczby i charakteru podstawników bocznych, szczególnie przy węglu 17 (17C). Fitosterole typu stigmasterol i sitosterol mają budowę podobną do cholesterolu, progesteronu, pregnenolonu i 17-hydroksypregnenolonu. Dzięki temu sterole roślinne podawane przez dłuższy czas stanowią prekursor w syntezie pregnenolonu, który jest podstawowym substratem do biosyntezy progestagenów. Pregnenolon podlega przemianom zmierzającym do powstania wszystkich hormonów sterydowych. Te reakcje biochemiczne są katalizowane przez cytochrom P-450.

Wykazano, że fitosterole (PS) redukują poziom cholesterolu LDL o 10% (AbuMweis i Jones, 2008), utrudniając jego absorpcję, a tym samym zmniejszając ryzyko zachorowań na CVD. Uważa się, że działanie steroli roślinnych na obniżenie po-



ziomu cholesterolu we krwi odbywa się na drodze współzawodniczenia cholesterolu pochodzącego z diety i cholesterolu zawartego w żółci o wchłanianie w jelicie. Przyjmuje się, że pozytywne działanie PS jest po części związane ze zwiększoną aktywnością białek transportowych posiadających kasetę wiążącą ATP (transportery *ABC*): *ABCG5* i *ABCG8* lub też spowodowanym działaniem PS w ograniczeniu wchłaniania cholesterolu w jelicie może pośredniczyć spadek poziomu białek *NPC1L1*.

### **Sterole roślinne i ekspresja genu**

Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że zdolność steroli roślinnych do obniżania poziomu cholesterolu nie jest związana ze zmianami w poziomie ekspresji genów kodujących jelitowe transportery steroli *ABC* lub białka *NPC1L1* (Madden i in., 2008). Sugeruje się, że sterole roślinne mają wpływ na wątrobowe białko *SREBP2* (*Sterol Regulatory Element Binding Protein 2*), estryfikację cholesterolu oraz agregację lipoprotein (*ACAT*, apo B), internalizację cholesterolu (*ANXA2*), syntezę cholesterolu (reduktaza *HMG-CoA*, reduktaza *C24*) oraz usuwanie lipoprotein zawierających apoB-100 (*LDLr*) (Calpe-Berdiel i in., 2008; Madden i in., 2008). Wpływ spożywania steroli roślinnych na powyższe procesy fizjologiczne *in vivo* pozostaje dotychczas niewyjaśniony.

### **Sterole roślinne i polimorfizm genów**

Sterole roślinne (PS) wprowadzone do diety obniżają poziom cholesterolu LDL, jednakże zaobserwowano dużą zmienność w odpowiedzi lipidowej na podanie PS. Ostatnio opublikowane dane pokazują, że przyjmowanie PS nie obniża tempa wchłaniania cholesterolu w takim samym stopniu u wszystkich osób, co prawdopodobnie jest spowodowane międzyosobniczą zmiennością w efektywności obniżania cholesterolu (Rudkowska i in., 2008). Stwierdzono, że polimorfizm w genach *ABCG8* i *ABCG5* jest związany z kilkoma komponentami metabolizmu cholesterolu (Rudkowska i Jones, 2008). Wykazano też, że gen kodujący białko *NPC1L1*, jelitowy transporter cholesterolu, odgrywa kluczową rolę w metabolizmie steroli roślinnych (Simon i in., 2005). W ostatnich badaniach założono, że polimorfizm pojedynczych nukleotydów (SNP) w sekwencjach genów kodujących *ABCG5* i *G8*, *NPC1L1* oraz innych protein biorących udział w szlaku cholesterolowym może leżeć u podłoża międzyosobniczej zmienności w odpowiedzi na sterole roślinne. Plat i in. (2005) wykazali, że zmienność genetyczna w *ABCG8* i *C1289A* wyjaśnia różnice w stężeniu PS w surowicy oraz osobniczej odpowiedzi na zmiany tego stężenia w trakcie podawania PS. Podobnie Zhao i in. (2008) udowodnili, że u osób posiadających allel A w przypadku polimorfizmu *ABCG8*, *C1289A* i posiadających wysokie podstawowe stężenie PS w osoczu, dochodzi do większego obniżenia poziomu cholesterolu LDL niż u osób z niskim stężeniem PS. Dodatkowo osoby posiadające zmutowany allel w haplocyocie *NPC1L1* (*C872G* i *G3929A*) wykazywały znaczne obniżenie poziomu cholesterolu LDL w porównaniu z typem dzikim. Gylling i in. (2008) wykazali, że obniżanie poziomu cholesterolu w surowicy na zasadzie inhibicji absorpcji nie jest związane z polimorfizmem pojedynczych nukleotydów (SNP) w genach *ABCG5* i *ABCG8*. Polimorfizm w obrębie genu kodującego apoE jest najlepiej poznany spośród polimorfizmów genów związanych z dietą i poziomem lipidów (Bennet i in., 2007). Sanchez-Maniz

i in. (2008) zbadali odpowiedź na sterole roślinne w zależności od genotypu apoE i doszli do wniosku, że stosowanie PS u osobników posiadających allel apoE4 mija się z celem, gdyż nie zaobserwowano u nich obniżenia poziomu TC, cholesterolu LDL ani apoB. Inne badania pokazały, że obniżenie poziomu TC i LDL na zasadzie proporcjonalnego ograniczenia absorpcji cholesterolu w wyniku stosowania steroli roślinnych jest najbardziej efektywne właśnie w przypadku osobników z allelem apoE4 (Miettinen i Vanhanen, 1994). Wyniki kolejnych badań nie wykazały żadnych różnic pomiędzy polimorfizmem genów kodujących apoA-IV, receptorami zmiataczy (Scavenger Receptors) klasy B typu I (*SRBI*), reduktazą 3 hydroksy-3-metylo-glutarylo-CoA (HMG-CoA), białkiem przenoszącym estry cholesterolu (CETP) czy apoE, w odpowiedzi na dietę bogatą w sterole roślinne (Plat i Mensink, 2002). Reasumując, nie znaleziono jasnej i jednoznacznej korelacji między zmiennością genetyczną w obrębie wymienionych genów a odpowiedzią na konsumpcję steroli roślinnych.

Zmienność w odpowiedzi lipidowej na sterole roślinne jest prawdopodobnie uwarunkowana poligenowo. Dlatego też niewielki efekt jednego polimorfizmu może być zagłuszany przez inne polimorfizmy. Konstrukcja haplotypów będących kombinacją polimorfizmów pojedynczych nukleotydów może uwydatnić efekty stosowania PS, które nie są możliwe do zaobserwowania w przypadku analizy tylko pojedynczych SNP. Użycie jednocześnie genetycznych oraz fenotypowych biomarkerów może prognozować międzyosobniczą odpowiedź w poziomie lipidów na podanie PS i dzięki temu pomóc w opracowaniu indywidualnych strategii obniżania poziomu cholesterolu.

### **Flawonoidy**

Flawonoidy należą do bioaktywnych przeciwutleniaczy szeroko rozpowszechnionych w świecie roślinnym. Występują w nadziemnych częściach roślin, niejednokrotnie nadając barwę kwiatom czy owocom w zakresie od żółtej do czerwonej i fioletowej. Bogatym źródłem flawonoidów są warzywa, owoce, nasiona różnych roślin, niektóre zboża, a także wino, zwłaszcza czerwone, herbata, kawa, soki owocowe oraz wiele przypraw i ziół. Flawonoidy określano dawniej jako witaminę P (rutyna), a ze względu na budowę chemiczną zaliczane są do polifenoli. Polifenole występujące w roślinach koegzystują z innymi naturalnymi przeciwutleniaczami m.in.: karotenoidami, witaminą C i tokochromanolami (Manach i in., 2005). Najwyższą aktywnością antyoksydacyjną charakteryzują się flawonoidy herbaty, następnie glikozydy cyjanidyn, a potem kwercetyna, rutyna i inne. Szczególnie bogatym źródłem flawonoidów są owoce roślin jagodowych (porzeczki czarne i maliny), a najbogatszym źródłem flawonoidów są owoce aronii czarnoowocowej (Holden i in., 2002). Struktura flawonoidów oparta jest na układzie jonu flawyliowego, składającego się z dwóch pierścieni fenylowych i zwykle trzeciego heterocyklicznego z atomem tlenu, jako skondensowanego z pierwszym pierścieniem fenylowym. Związki te mogą występować samodzielnie, jako aglikony lub w połączeniu z cukrami, jako tak zwane glikozydy flawonoidowe. W części cukrowej najczęściej występuje glukoza, a także galaktoza, ramnoza, ksyloza i arabinoza. W obrębie poszczególnych klas istnieje duże zróżnicowanie pod względem liczby i lokalizacji grup hydroksylowych (OH), tworzenia grup

metoksylowych (OCH<sub>3</sub>) i powstawania reszt glikozydowych. Związki flawonoidowe są składnikiem codziennej diety i dzienne ich spożycie wynosi średnio 1–2 g.

W przewodzie pokarmowym aglikony flawonoidowe ze względu na swój hydrofobowy charakter mogą być transportowane (wchłaniane) przez błony komórkowe na drodze dyfuzji biernej. Natomiast połączenie z cukrem w postać glikozydową zmienia charakter związku na bardziej hydrofilny, co zmniejsza możliwość dyfuzji.  $\beta$ -glukozydazy, występujące w nabłonku jelita cienkiego, umożliwiają wchłanianie wolnych aglikonów poprzez rozszczepienie wiązania  $\beta$ -glikozydowego (Grotewold, 2005). Metabolizm flawonoidów zachodzi już częściowo w jelicie cienkim a głównie w wątrobie w cytochromach P 450, przy udziale enzymów I fazy i II fazy, gdzie zachodzi szereg reakcji chemicznych (hydroksylacja, demetylacja, O-metylacja, sprzężanie z kwasem glukuronowym lub siarkowym) (Hodek i in., 2002). Produkty metabolizmu związków flawonoidowych wydalane są z moczem oraz z żółcią. Metabolity flawonoidów włączając się w krążenie jelitowo-wątrobowe przedłużają swoją aktywność biologiczną. Niewchłonięte oraz wydzielone z żółcią metabolity flawonoidów są przetwarzane przez mikroflorę jelitową, głównie w jelicie grubym. Enzymy bakteryjne mogą katalizować reakcje, takie jak hydroliza glukuronidów, siarczanów i glikozydów, dehydroksylacja, demetylacja, redukcja wiązania podwójnego, rozkład pierścienia C z utworzeniem fenolokwasów, a następnie ich dekarboksylacja (Hodek i in., 2002).

### Flawonoidy i ekspresja genu

Wśród związków pochodzenia roślinnego jest wiele takich, które modulują aktywność metylotransferaz DNA (*DNMT*). Jednym z nich jest gallusan epigalokatechiny (EGCG), który uznawany jest za najbardziej aktywnego przedstawiciela tzw. polifenoli zielonej herbaty. W wielu eksperymentach wykazano, że związek ten hamuje *DNMT* wiążąc się bezpośrednio z centrum aktywnym enzymu (Yang i in., 2008). Również inne katechiny i polifenole hamują aktywność metylotransferaz DNA, wśród nich katechina, epikatechina oraz kwercetyna, fisetina, myricetyna i inne (Mathers, 2006; Johnson i Belshaw, 2008). Prawdopodobnie aktywność tych związków wynika stąd, że konkurują one z cytozyną o grupy metylowe, co może prowadzić do uszczerplenia puli donorów grup metylowych i zaburzeń w procesie metylacji DNA.

Flawonoidy posiadają bardzo szerokie spektrum oddziaływania na organizm. Wyniki badań potwierdzają antyrakowe działanie flawonoidów (Li i in., 2007). Mogą one hamować podziały komórkowe, indukować samobójczą śmierć komórek (apoptozę), hamować tworzenie nowych naczyń krwionośnych (angiogenezę) i tworzenia przerzutów nowotworów (metastazę). Stwierdzono terapeutyczne efekty działania flawonoidów na komórki białaczkowe we krwi ludzkiej. Badania Feng i in. (2007) dowodzą o antyrakowym działaniu flawonoidów, wśród których najefektywniejszą reakcją cechował się wyciąg antocyjanów z kapusty czerwonej. Zbadanie związków polifenolowych zawartych w winogronach i winach, dowiodło że hamują one peroksydację lipidów błon komórkowych, chronią LDL przed utlenianiem a także zwiększają poziom HDL, działają przeciwzapalnie, przeciwdziałają miażdżycy naczyń. Resweratrol występujący np. w czerwonym winie gronowym jest aktywatorem enzymu SIRT1 należącego do tzw. sirtuin (*SIRT 1-7*), które są określane jako deacetylazy

białkowe, ponieważ spectrum ich substratów wykracza daleko poza histony (North i Verdin, 2004). Sirtuina *SIRT1* obniża aktywność białka p53, deacetyluje receptor PPAR $\gamma$  oraz jego koaktywator 1 $\alpha$ , co ułatwia metabolizm tłuszczów. Białka te są ulokowane w różnych przedziałach subkomórkowych, jak np. mitochondria (*Sirt3*–*5*), jądro komórkowe (*Sirt1*, 2, 6 i 7) oraz cytoplazma (*Sirt1* i *Sirt2*). *Sirt1* jest zależną od NAD<sup>+</sup> deacetylazą histonów, która odgrywa istotną rolę w przebudowie chromatyiny związanej z długowiecznością (Guarente i Picard, 2005). *Sirt1* jest także zaangażowany w regulację kilku czynników transkrypcyjnych łącznie z FoxO1 (Sharma i in., 2006; Mukherjee i in., 2009). Wyniki przytoczonych wyżej doświadczeń świadczą również o aktywacji *Sirt3* i *Sirt4*, które są zlokalizowane w mitochondriach, gdzie regulują procesy starzenia na drodze metabolizmu energii. *PBEF* (fosforybocylotransferaza nikotynamidowa), zaopatruje *Sirt1* (zależną od NAD<sup>+</sup> deacetylazę histonów) w NAD<sup>+</sup>. Wydaje się, że resweratrol aktywuje nie tylko *Sirt1*, ale także *PBEF*, która może wtedy dostarczyć NAD<sup>+</sup> do *Sirt1*. Związana z *PBEF* aktywacja *Sirt1* sprzyja przeżywaniu komórki i długowieczności na drodze szlaku *Sirt1*-FoxO (Lekli i in., 2009). Ponadto *SIRT1* korzystnie reguluje sekrecję insuliny oraz zwiększa liczbę i wielkość mitochondriów, aktywując metabolizm komórkowy. Resweratrol mógłby pomóc w zapobieganiu otyłości oraz negatywnym objawom starzenia, ale niska jego biodostępność i możliwość oddziaływania z wieloma innymi niż *SIRT1* cząsteczkami ogranicza jego aktywność biologiczną.

### Witaminy i pierwiastki śladowe

Witaminy są niezbędnymi do życia związkami organicznymi o zróżnicowanej budowie, spełniającymi w żywym organizmie ważne funkcje biologiczne, przede wszystkim katalityczne, stanowiącymi dla człowieka oraz zwierząt substancje egzogenne. Ze względu na niewielką ich zawartość w produktach spożywczych można je zaliczyć do grupy mikroskładników żywności. Charakteryzują się one wysoką aktywnością biologiczną, biorą udział w większości przemian metabolicznych w organizmie, są odpowiedzialne za prawidłowe funkcjonowanie organizmu. Źródłem witamin w przyrodzie są przede wszystkim rośliny, a w drugiej kolejności – mikroorganizmy.

Drugą ważną grupą związków biorących udział w procesach enzymatycznych oraz odpowiedzialnych za odczyn płynów ustrojowych, gospodarkę wodną oraz ciśnienie osmotyczne w płynach ustrojowych i tkankach są makro- i mikro-elementy. W ostatnich latach duże zainteresowanie budzi poznanie roli pierwiastków m.in. wapnia, magnezu, manganu, miedzi i selenu w mechanizmach molekularnych i ich wpływ na genom ludzi oraz zwierząt (Witte i in., 2001). Powszechnie wiadomo, że procesy syntezy i naprawy DNA są regulowane przez niektóre witaminy i związki mineralne (Kaput i Rodriguez, 2004) (tab. 1). Dotychczasowe badania wykazały, że kwas foliowy, selen, a także arsen mają wpływ na poziom metylacji DNA (Mathers, 2006). Kwas foliowy jest niezbędny do 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 i wzrost uszkodzeń genomu (Fenech, 2001). Dieta pozbawiona

kwasu foliowego, metioniny jako prekursora S-adenozylometioniny, która jest donorem grup metylowych, choliny i witaminy B<sub>12</sub> prowadziła u zwierząt doświadczalnych do hipometylacji DNA wielu genów, jak również do hipermetylacji DNA niektórych genów w hepatocytach (Davis i Uthus, 2003). W połowie lat 90. XX wieku dostrzeżono związek pomiędzy polimorfizmami SNP w genie kodującym *MTHFR* (C677T oraz A1298C), obniżoną aktywnością tego enzymu oraz deficytem donorów grup metylowych (Johnson i Belshaw, 2008).

Wyniki badań *in vitro* i *in vivo* wskazują, że poziom metylacji DNA zależy także od selenu. Dieta pozbawiona selenu prowadzi do hipometylacji DNA w wątrobie i jelicie grubym. Mechanizmy działania selenu nie są dokładnie poznane. Wzrost poziomu selenu zmniejsza poziom homocysteiny i korzystnie zmienia stosunek S-adenozylometioniny (*SAM*) i S-adenozyllocysteiny (*SAH*), co z kolei zwiększa efektywność procesu metylacji cytozyny (Davis i Uthus, 2003).

Zdefiniowanie optymalnych zakresów stężeń witamin, niezbędnych dla zachowania stabilności genomu jest z pewnością wyzwaniem dla nutrigenomiki. Rekomendowane w przeszłości dzienne dawki witamin miały zapobiegać powstawaniu określonych chorób w przypadku witaminy C – szkorbutu, w przypadku kwasu foliowego – anemii, niacyny – pelagry. 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 zwiększa ryzyko raka jelita grubego (Kaput i Rodriguez, 2004). Natomiast niedobór witaminy D ma wyraźny związek z nowotworami, schizofrenią i stwardnieniem rozsianym (Ames, 2006) (tab. 1).

### **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 w nici DNA w sąsiedztwie promotora. W ten sposób receptory jądrowe stają się czynnikami transkrypcyjnymi, a 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 (Desvergne i in., 2006). Kompleksy receptorów jądrowych i kompresorów pośrednio lub bezpośrednio katalizują 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 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. Na podstawie analizy genomu ludzkiego i zwierząt wykazano istnienie genów kodujących 48 receptorów jądrowych. Część z nich istnieje w postaci kilku izoform. Część z nich to klasyczne receptory jądrowe o wysokim powinowactwie do ligandów, którymi są m.in. glikokortykoidy, mineralo-

kortykoidy, hormony sterydowe, kwas retinowy, hormony tarczycy oraz witamina D. Niektóre spośród receptorów klasycznych mogą być aktywowane przez bioaktywne składniki diety, np. receptor estrogenów oraz receptor androgenów są aktywowane przez izoflawony soi (genisteinę i daidzeinę), prawdopodobnie ze względu na ich podobieństwo strukturalne do tych hormonów (Steiner i in., 2008).

Analiza bioaktywnych oddziaływań biologicznie czynnych związków pochodzenia roślinnego i receptorów jądrowych jest trudna, a wyniki często niejednoznaczne, ponieważ niektóre substancje, np. izoflawony soi, mogą aktywować kilka różnych receptorów jądrowych. Druga grupa receptorów jądrowych to 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 a także substancje kancerogenne i toksyny. Z punktu widzenia nutrigenomiki receptory sensorowe są najbardziej interesująca grupa receptorów jądrowych. Są sensorami metabolicznego statusu komórek i organizmu, ale przede wszystkim odpowiadają za metaboliczną adaptację komórek, tkanek, organów i całego organizmu. Do tej grupy należą m.in. receptory *PPAR*, odpowiedzialne za metabolizm energetyczny oraz receptory *LXR*, *FXR* i *RXR*, odpowiedzialne za metabolizm cholesterolu. Receptorem specyficznym dla steroli i ksenobiotyków jest receptor *PXR*. Receptory aktywowane proliferatorem peroksymów *PPAR*  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  kontrolują szlaki metaboliczne odpowiedzialne za metabolizm lipidów. *PPAR* $\alpha$  jest obecny w tkankach wykazujących wysoką aktywność w procesach degradacji tłuszczów: w wątrobie, mięśniach i brązowej tkance tłuszczowej, podczas gdy *PPAR* $\gamma$  jest aktywny w białej tkance tłuszczowej, jelicie, śledzionie i mięśniach. 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* $\alpha$  są także fibraty (leki obniżające poziom cholesterolu i trójglicerydów), a ligandami receptora *PPAR* $\gamma$  tiazolidinediony, zwiększające wrażliwość wątroby oraz komórek tłuszczowych na insulinę. Działania receptorów *PPAR* $\alpha$  i *PPAR* $\gamma$  są ściśle z sobą powiązane: *PPAR* $\alpha$  reguluje proces utleniania lipidów w komórkach wątroby, a *PPAR* $\gamma$  odpowiada za gromadzenie kwasów tłuszczowych w adipocytach (Desvergne i in., 2006). 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 (Esposito i in., 2010). Obecnie poszukuje się związków chemicznych, które by miały podwójne działanie, jako antagoniści obu tych receptorów. Bardzo istotne jest badanie zależności między działaniem receptorów *PPAR* a dietą, chociaż złożoność tych interakcji jest ogromna, a wiedza na ich temat niewielka. Aktywacja receptorów jądrowych prowadzi do inicjacji transkrypcji genów kodujących enzymy odpowiedzialne za metabolizm ksenobiotyków, w tym leków i bioaktywnych składników diety. Istnieją trzy klasy tych enzymów: enzymy katalizujące fazę aktywacji ksenobiotyków (faza I), enzymy odpowiedzialne za detoksykację aktywnych form ksenobiotyków (faza II) 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 koniuganty są rozpoznawane jako substraty przez białka fazy III. W ten sposób niewielkie ilości ksenobiotyków, różnego rodzaju produktów pośrednich i metabolitów, mogą indukować ekspresję enzymów, odpowiedzialnych za ich metabolizm. Tak uruchamiane są mechanizmy adaptacyjne organizmu. Receptor PXR rozpoznaje i wiąże leki oraz ksenobiotyki (Zhou i in., 2009). Aktywować ten receptor może wiele substancji roślinnych obecnych w warzywach, owocach, ekstraktach ziół, np. hyperforyna, która jest aktywnym składnikiem ekstraktu z dziurawca, witamina E, sulforafan obecny w brokułach i innych warzywach kapustnych, resweratrol występujący w winogronach, genisteina i daidzeina obecna w nasionach soi,  $\beta$ -karoten, witamina D. Stosunkowo dobrze poznano mechanizm aktywacji czynnika transkrypcyjnego *Nrf2* przez izotiocyjaniany warzyw kapustnych, a wśród nich sulforafan obecny w dużych ilościach w kiełkach brokułów. Czynniki *Nrf2* nie należy do receptorów jądrowych, ale działa w podobny sposób: znajduje się w cytoplazmie w kompleksie białkowym *Keap1-Nrf2*, który uwolniony z niego wchodzi do jądra komórkowego, wiąże się z sekwencją nukleotydów określaną jako ARE i w ten sposób aktywuje procesy transkrypcji genów znajdujących pod kontrolą sekwencji genów kodujących niektóre enzymy fazy II, np. reduktazę chinonową oraz transferazę S-glutationową. Sulforafan aktywuje proces transkrypcji tych genów, ponieważ odpowiedzialny jest za dysocjację kompleksu *Keap1-Nrf2* lub fosforylację czynnika *Keap1* katalizowaną przez kinazy białkowe *MAPK*. 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. Składniki diety mogą także zmieniać aktywność deacetylaz histonowych (*HDAC*) (Dashwood i in., 2006). Do inhibitorów tej klasy enzymów należą: maślany, siarczek diallilu występujący w czosnku, sulforafan, którego źródłem są brokuły.

Można przypuszczać że dzięki rozwojowi nutrigenomiki, metabolomiki i bioinformatyki możliwe będzie przynajmniej częściowe poznanie sieci zależności i interakcji pomiędzy receptorami jądrowymi, ksenobiotykami i składnikami diety, a tym samym prewencja nowotworów i chorób metabolicznych będzie bardziej skuteczna

### **Wpływ bioaktywnych składników diety na szlaki sygnałowe**

Od kilkunastu lat pojawia się coraz więcej dowodów świadczących o tym, że flawonoidy, kwasy fenolowe, izotiocyjaniny, terpeny oraz niskocząsteczkowe związki zawierające siarkę działają nie tylko jako antyoksydanty, ale także oddziałują na inhibitory wielu białek enzymatycznych oraz regulatory wewnątrzkomórkowych szlaków przekazywania sygnałów (Chen i Kong, 2005). Wpływ bioaktywnych składników diety na działanie wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych jest jednym z najlepiej poznanych mechanizmów działania tych związków. Wśród najintensywniej badanych związków pochodzenia naturalnego znajdują się resweratrol, kurkumina, sulforafan, genisteina oraz jeden z polifenoli zielonej herbaty – gallusan 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. Choć 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 proapoptycznych z rodziny bcl-2. Efektem jest aktywacja mitochondrialnego szlaku apoptycznego i śmierć komórek (Chen i Kong, 2005). Bioaktywne składniki diety mogą także hamować aktywność czynnika transkrypcyjnego *NF-κB*, który jest elementem wielu szlaków sygnałowych. W ten sposób działają m.in. kwercetyna, sulforafan, sylimaryna, kurkumina, diallilodisiarczek. Istnieje wiele dowodów na to, że czynnik *NF-κB* jest zaangażowany w proces kancerogenezy, gdzie kancerogeny stymulują jego aktywność, a związki pochodzenia naturalnego hamują. Z tego względu hamowanie aktywności czynnika *NF-κB* przez związki pochodzenia roślinnego jest uznawane za przejaw ich aktywności przeciwnowotworowej (Anand i in., 2008). Związki pochodzenia naturalnego mogą także hamować wiązanie czynników wzrostu do ich błonowych receptorów lub aktywować membranowe receptory śmierci i w ten sposób indukować zewnętrzny szlak apoptozy. Ostatnio zaproponowano mechanizm działania fitozwiązków na białka membranowe, które powodują reorganizację lipidów błonowych tzw. tratw lipidowych (Adachi i in., 2007). Uważa się, że niższe stężenia tych samych bioaktywnych składników diety mogą hamować cykl komórkowy, indukują czynnik transkrypcyjny AP-1, co prowadzi do wzrostu ekspresji białka p21. Białko to hamuje aktywność kinaz *CDK*, które są odpowiedzialne za proces fosforylacji białka supresorowego Rb. Zahamowanie fosforylacji białka Rb hamuje proces replikacji DNA. Hamowanie podziałów komórkowych daje komórkom czas na dokonanie naprawy uszkodzeń DNA, a zatem jest to do pewnego stopnia korzystne, ponieważ zapobiega mutacjom (Chen i Kong, 2005).

### **Wpływ bioaktywnych składników diety na efektywność procesów naprawy DNA**

Powszechnie wiadomo, że procesy syntezy i naprawy DNA są regulowane przez niektóre witaminy i makro- i mikro-elementy. Stanowią one m.in. kofaktory enzymów katalizujących replikację DNA, jego metylację i naprawę.

Dopiero niedawno opracowano nowe, czułe metody detekcji uszkodzeń chromosomów hodowanych w obecności określonych związków, w tym składników diety. Dzięki temu można określić skutki ich niedoboru lub nadmiaru, widoczne na poziomie molekularnym w postaci uszkodzeń chromosomów. Wykazano, że wysoki poziom kwasu foliowego, witaminy B<sub>12</sub>, niacyny, witaminy E, retinolu i wapnia chroni genom przed uszkodzeniami, podczas gdy duże dawki ryboflawiny (B<sub>2</sub>), kwasu pantotenowego oraz biotyny zwiększają ryzyko uszkodzeń genomu i jego niestabilności (Fenech i in., 2005). Zdefiniowanie optymalnych zakresów stężeń witamin, niezbędnych dla zachowania stabilności genomu jest z pewnością wyzwaniem dla nutrigenomiki. O stabilności genomu decydują także różnego rodzaju mutageny np. aflatoksyny, ochratoksyna A, aminy heterocykliczne, policykliczne węglowodory aromatyczne oraz antymutageny obecne w żywności (flawonoidy, witamina C, witamina E, karotenoidy, błonnik pokarmowy). 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. Można przypuszczać, że dalszy rozwój badań z omawianego zakresu prowadzi będzie nie tylko do zwiększenia bezpieczeństwa żywności, ale także pozwoli na wypracowanie nowych metod zapobiegania i leczenia chorób dietozależnych.

### Podsumowanie

Mimo niewątpliwych sukcesów w obszarze badań nutrigenomicznych ich wyniki mają jak dotychczas niewielki wpływ na projektowanie i produkcję żywności funkcjonalnej. Można wyrazić opinię, że postęp dokonujący się w naukach podstawowych nie przekłada się na korzyści praktyczne tak szybko, jakby to chcieli konsumenci. Większość badań prowadzona jest w warunkach *in vitro* na modelowych komórkach nowotworowych. Nowoczesne metody analityczne: skringingu, techniki chromatograficzne, metody spektroskopowe, mikromacierze DNA, cystometria przepływowa pozwalają na identyfikację molekularnych mechanizmów działania związków pochodzenia naturalnego. Należy także brać pod uwagę złożone zależności pomiędzy szlakami metabolicznymi i sygnałowymi oraz specyficzność tkankową i komórkową.

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. Te dotychczasowe wstępne badania mają duże znaczenie. Dzięki nim polifenole, glukozynolany, izotiocyjaniany, terpeny, stilbeny i wiele innych związków – to już nie tylko antyoksydanty, które „zmiatają” wolne rodniki. Udowodniono, że substancje te mogą wpływać na aktywność czynników transkrypcyjnych oraz enzymów, które modyfikują strukturę chromatyny lub są odpowiedzialne za naprawę uszkodzeń DNA.

### Piśmiennictwo

- AbuMweis S.S., Jones P.J. (2008). Cholesterol-lowering effect of plant sterols. *Curr. Atheroscler. Rep.*, 10: 467–472.
- Adachi S., Nagao T., Ingolfsson H.I., Maxfield F.R., Andersen O.S., Kopelovich L., Weinstein I.B. (2007). Targeting Multiple Signaling Pathways by Green Tea Polyphenol (–)-Epigallocatechin-3-Gallate. *Cancer Res.*, 67: 6493–6501.
- Ames B.N. (2006). Low micronutrient intake may accelerate the degenerative diseases of aging through allocation of scarce micronutrients by triage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103: 17589–17594.
- Anand P., Thomas S.G., Kunnumakkara A.B., Sundaram C., Harikumar K.B., Sung B., Tharakan S.T., Misra K., Priyadarsini I.K., Rajasekharan K.N., Aggarwal B.B.

- (2008). Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. *Biochem. Pharmacol.*, 76 (11):1590–1611.
- Bennet A.M., Di Angelantonio E., Ye Z. (2007). Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *JAMA*, 298: 1300–1311.
- Calder P.C. (2005). Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Biochem. Soc. Trans.*, 33: 423–427.
- Calpe-Berdiel L., Rotllan N., Fievet C., Roig R., Blanco-Vaca F., Escola-Gil J.C. (2008). Liver X receptor-mediated activation of reverse cholesterol transport from macrophages to feces in vivo requires ABCG5/G8. *J. Lipid Res.*, 49 (9): 1904–1911.
- Caron-Dorval D., Paquet P., Paradis A.M. (2008). Effect of the PPAR-alpha LI 62V polymorphism on the Cardiovascular Disease Risk Factor in response to n-3 polyunsaturated fatty acids. *J. Nutr. Nutrigenomics*, 1: 205–212.
- Chen C., Kong A.N. (2005). Dietary cancer-chemopreventive compounds: from signaling and gene expression to pharmacological effects. *Trends Pharmacol. Sci.*, 26: 318–326.
- Dashwood R.H., Myzak M.C., Ho E. (2006). Dietary HDAC inhibitors: time to rethink weak ligands in cancer chemoprevention? *Carcinogenesis*, 27: 344–349.
- Davis C.D., Uthus E.O. (2003). Dietary folate and selenium affect dimethylhydrazine-induced aberrant crypt formation, global DNA methylation and one-carbon metabolism in rats. *J. Nutr.*, 133: 2907–2914.
- Davis C.D., Milner J.A. (2007). Biomarkers for diet and cancer prevention research: Potentials and challenges. *Acta Pharmacol Sin.*, 28: 1262–1273.
- Deckelbaum R.J., Worgall T.S., Seo T. (2006). N-3 fatty acids and gene expression. *Am. J. Clin. Nutr.*, 83: 1520–1525.
- Desvergne B., Michalik L., Wahli W. (2006). Transcriptional regulation of metabolism. *Physiol. Rev.*, 86: 465–514.
- Esposito E., Mazzon E., Paternity I., Dal Toso R., Pressi G., Caminiti R., Cuzzocrea S. (2010). PPAR- $\alpha$  to the anti inflammatory activity of verbacosite in a model of inflammatory bowel disease in mice. PPAR Research, ID 917312, 10 pages, doi: 101155/2010/917312
- Fenech M. (2001). The role of folic acid and vitamin B<sub>12</sub> in genomic stability of human cells. *Mutation Res.*, 475: 56–67.
- Fenech M., Baghurst P., Luderer W., Turner J., Record S., Ceppi M., Bonassi S. (2005). Low intake of calcium, folate, nicotinic acid, vitamin E, retinol, beta-carotene and high intake of pantothenic acid, biotin and riboflavin are significantly associated with increased genome instability – results from a dietary intake and micronucleus index survey in South Australia. *Carcinogenesis*, 26: 991–999.
- Fenech M. (2008). Genome health nutrigenomics and nutrigenetics – diagnosis and nutritional treatment of genome damage on an individual basis. *Food Chem. Toxicol.*, 46: 1365–1370.
- Feng R., Ni H.M., Wang S.Y., Tourkova I.L., Shurin M.R., Harada H., Yin X.M. (2007). Cyanidin-3-rutinoside, a natural polyphenol antioxidant, selectively kills leukemic cells by induction of oxidative stress. *J. Biol. Chem.*, 4, 282 (18):13468–13476.
- Ferguson L.R., Philpott M. (2008). Nutrition and Mutagenesis. *Annual Rev. Nutr.*, 28: 313–329.
- Flavell D.M., Pineda T.I., Jamshidi Y. (2000). Variation in the PPAR $\alpha$  gene is associated with altered function in vitro and plasma lipid concentrations in Type II diabetic subjects. *Diabetologia*, 43: 673–680.
- Grimble R.F., Howell W.M., O'Reilly G. (2002). The ability of fish oil to suppress tumor necrosis factor alpha production by peripheral blood mononuclear cells in healthy men is associated with polymorphisms in genes that influence tumor necrosis factor alpha production. *Am. J. Clin. Nutr.*, 76: 454–459.
- Grotewold E. (2005). Plant metabolic diversity: A regulatory perspective. *Trends Plant Sci.*, 10: 57–62.
- Guarente L., Picard F. (2005). Calorie restriction – the SIR2 connection. *Cell*, 120 (4): 473–482.
- Gylling H., Hallikainen M., Raitakari O.T., Laakso M., Vartiainen E., Salo P., Korpelainen V., Sundvall J., Miettinen T.A. (2008). Long-term consumption of plant stanol and sterol esters, vascular function and genetic regulation. *Br. J. Nutr.*, 101: 1688–1695.
- Herceg Z. (2007). Epigenetics and cancer: towards an evaluation of the impact of environmental and dietary factors. *Mutagenesis*, 22: 91–103.

- Hodek P., Trefil P., Stiborová M. (2002). Flavonoids – potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*, 139 (1): 1–21.
- Holden J.M., Bhagwat S.A., Patterson K.Y. (2002). Development of a multi-nutrient data quality evaluation system. *J. Food Comp. Anal.*, 15: 339–348.
- Hooper L., Thompson R.L., Harrison R.A., Summerbell C.D., Ness A.R., Moore H.J., Worthington H.V., Durrington P.N., Higgins J.P., Capps N.E., Riemersma R.A., Ebrahim S.B., Smith G. (2006). Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: systematic review. *BMJ*, 332 (7544): 752–760.
- Jaenisch R., Bird A. (2003). Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat. Genet.* 33: 245–254.
- Johnson I.T., Belshaw N.J. (2008). Environment, diet and gpg island methylation: Epigenetic signals in gastrointestinal neoplasia. *Food and Chem. Toxicol.*, 46: 1346–1359.
- Jump D.B. (2004). Fatty acid regulation of gene transcription. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 41: 42–78.
- Kaput J., Rodriguez R.L. (2004). Nutritional genomics: the next frontier in the postgenomic era. *Physiol. Genomics*, 16: 166–177.
- Kersten S. (2008). Peroxisome proliferator activated receptors and lipoprotein metabolism. *PPAR. Res.*, doi:10.1155/2008/132960.
- Kirk H., Cefalu W.T., Ribnicky D.M., Liu Z., Eilertsen K.J. (2008). Botanicals as epigenetic modulators for mechanisms contributing to development of Metabolic Syndrome. *Metabolism*, 57 (7 Suppl 1): 16–23.
- Kogut M.H. (2009). Impact of nutrition on the innate immune response to infection in poultry. *J. Appl. Poultry Res.*, 18: 111–124.
- Lekli I., Ray D.R., Das D.K. (2009). Longevity nutrients resveratrol, wines and grapes. *Genes Nutr.*, 5 (1): 55–60.
- Li Y., Fang H., Xu W. (2007). Recent advance in the research of flavonoids as anticancer agents. *M. Rev. Medic. Chem.*, 7 (7): 663–678.
- Madden J., Carrero J.J., Brunner A. (2008). Polymorphisms in the CD36 gene modulate the ability of fish oil supplements to lower fasting plasma triacyl glycerol and raise HDL cholesterol concentrations in healthy middle-aged men. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 78: 327–335.
- Manach C., Williamson G., Morand Ch., Scalbert A., Rémésy Ch. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. Review of 97 bioavailability studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, 81 Suppl.: 230–242.
- Markovic O., O'Reilly G., Fussell H.M. (2004). Role of single nucleotide polymorphisms of pro-inflammatory cytokine genes in the relationship between serum lipids and inflammatory parameters, and the lipid-lowering effect of fish oil in healthy males. *Clin. Nutr.*, 23, 1084–1095.
- Masson L.F., McNeill G., Avenell A. (2003). Genetic variation and the lipid response to dietary intervention: a systematic review. *Am. J. Clin. Nutr.*, 77: 1098–1111.
- Masson L.F., McNeill G. (2005). The effect of genetic variation on the lipid response to dietary change: recent findings. *Curr. Opin. Lipidol.*, 16: 61–67.
- Mathers J.C. (2006). Nutritional modulation of ageing: genomic and epigenetic approaches. *Mech. Ageing Dev.*, 127: 584–589.
- Michaud S.E., Renier G. (2001). Direct regulatory effect of fatty acids on macrophage lipoprotein lipase: potential role of PPARs. *Diabetes*, 50: 660–666.
- Miettinen T.A., Vanhanen H. (1994). Dietary sitostanol related to absorption, synthesis and serum level of cholesterol in different apolipoprotein E phenotypes. *Atherosclerosis*, 105: 217–226.
- Minihane A.M., Khan S., Leigh-Firbank E.C. (2000). ApoE polymorphism and fish oil supplementation in subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 20: 1990–1997.
- Mińkowski K. (2008). Studia nad stabilnością oksydacyjną olejów roślinnych bogatych w polienowe kwasy tłuszczowe o budowie trienowej. *Rocz. IPMiT, Rozpr. hab.*, 46 (4): 1–117.
- Moss T.J., Wallrath L.L. (2007). Connections between epigenetic gene silencing and human disease. *Mutat. Res.*, 618: 163–174.
- Mukherjee S., Lekli I., Gurusamy N., Bertelli A.A., Das D.K. (2009). Expression of the longevity proteins by both red and white wines and their cardioprotective components, resveratrol, tyrosol, and hydroxytyrosol. *Free Radic. Biol. Med.*, 1: 573–578.

- Nawar W.W. (1996). Chemistry – [w]: Bailey's Industrial Oil & Fat Products. Ed. Y.H. Hui, John Wiley & Sons, Inc., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore. Vol. 1: 397–426.
- North B.J., Verdin E. (2004). Sirtuins: Sir2-related NAD-dependent protein deacetylases. *Genom. Biology*, 5: 224–236.
- Olivieri O., Martinelli N., Sandri M. (2005). Apolipoprotein C-III, n-3 polyunsaturated fatty acids, and "insulin-resistant" T-455C APOC3 gene polymorphism in heart disease patients: example of gene-diet interaction. *Clin. Chem.*, 51: 360–370.
- Ordovas J.M., Corella D., Cupples L.A. (2002). Polyunsaturated fatty acids modulate the effects of the APOA1 G-A polymorphism on HDL-cholesterol concentrations in a sex-specific manner: the Framingham Study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 75: 38–46.
- Paradis A.M., Fontaine-Bisson B., Bosse Y. (2005). The peroxisome proliferator-activated receptor alpha Leu162Val polymorphism influences the metabolic response to a dietary intervention altering fatty acid proportions in healthy men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 81: 523–530.
- Plat J., Bragt M.C., Mensink R.P. (2005). Common sequence variations in ABCG8 are related to plant sterol metabolism in healthy volunteers. *J. Lipid Res.*, 46: 68–75.
- Plat J., Mensink R.P. (2002). Relationship of genetic variation in genes encoding apolipoprotein A-IV, scavenger receptor BI, HMG-CoA reductase, CETP and apolipoprotein E with cholesterol metabolism and the response to plant stanol ester consumption. *Eur. J. Clin. Invest.*, 32: 242–250.
- Raclot T., Groscolas R., Langin D., Ferre P. (1997). Site-specific regulation of gene expression by n-3 polyunsaturated fatty acids in rat white adipose tissue. *J. Lipid Res.*, 38: 1963–1972.
- Reik W., Dean W., Walter J. (2001). Epigenetic Reprogramming in Mammalian Development. *Science*, 293: 1089–1093.
- Rudkowska L., AbuMweis S.S., Nicolle C., Jones P.J. (2008). Association between non-responsiveness to plant sterol intervention and polymorphisms in cholesterol metabolism genes: a case-control study. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, 33: 728–734.
- Rudkowska I., Jones P.J. (2008). Polymorphisms in ABCG5/G8 transporters linked to hypercholesterolemia and gallstone disease. *Nutr. Rev.*, 66: 343–348.
- Rudkowska L., Yerreault M., Barbier O., Vohl M.C. (2009). Differences in transcriptional activation by the two allelic (L162Y Polymorphic) variants of PPARalpha after omega-3 fatty acids treatment. *PPAR. Res.*, 369–372.
- Rudzińska M., Kuzuś T., Wąsowicz E. (2001). Sterole i ich utlenione pochodne w olejach rafinowanych i tłoczonych na zimno. *Rośl. Ol.*, 22: 477–494.
- Sanchez-Muniz F.J., Maki K.C., Schaefer E.J., Ordovas J.M. (2008). Serum lipid and antioxidant responses in hypercholesterolemic men and women receiving plant sterol esters vary by apolipoprotein E genotype. *J. Nutr.*, 3: doi: 10.3945/jn.108.090696.
- Sharma S., Kulkarni S.K., Chopra K., (2006). Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin attenuates thermal hyperalgesia and cold allodynia in STZ-induced diabetic rats. *Indian J. Exp. Biol.*, 44: 566–569.
- Shen J., Arnett D.K., Peacock J.M. (2007). Interleukin 1beta genetic polymorphisms interact with polyunsaturated fatty acids to modulate risk of the metabolic syndrome. *J. Nutr.*, 137: 1846–1851.
- Simon J.S., Karnoub M.C., Devlin D.J. (2005). Sequence variation in NPC1L1 and association with improved LDL-cholesterol lowering in response to ezetimibe treatment. *Genomics*, 86: 648–656.
- Sparso T., Hussain M.S., Andersen G. (2007). Relationships between the functional PPARalpha Leu162Val polymorphism and obesity, type 2 diabetes, dyslipidaemia, and related quantitative traits in studies of 5799 middle-aged white people. *Mol. Genet. Metab.*, 90: 205–209.
- Steiner C., Arnold S., Scalbert A., Manach C. (2008). Isoflavones and the prevention of breast and prostate cancer: new perspectives opened by nutrigenomics. *Brit. J. Nutr.*, 99: 78–108.
- Stover P.J., Caudill M.A. (2008). Genetic and epigenetic contributions to human nutrition and health: Managing Genome-Diet interaction. *J. Am. Diet. Assoc.*, 108: 1480–1487.
- Tai E.S., Corella D., Demissie S. (2005). Polyunsaturated fatty acids interact with the PPARA-L162V polymorphism to affect plasma triglyceride and apolipoprotein C-III concentrations in the Framingham Heart Study. *J. Nutr.*, 135: 397–403.
- Tanaka T., Ordovas J.M., Delgado-Lista J. (2007). Peroxisome proliferator-activated receptor alpha polymorphisms and postprandial lipemia in healthy men. *J. Lipid Res.*, 48: 1402–1408.
- Vu-Dac N., Schoonjans K., Laine B., Fruchart J.C., Auwerx J., Staels B. (1994). Negative regulation of the human apolipoprotein A-I promoter by fibrates can be attenuated by the interac-

- tion of the peroxisome proliferator-activated receptor with its response element. *J. Biol. Chem.*, 269: 31012–31018.
- Weymann M., Schneider R. (2008). Lipid signaling in disease. *Nature*, 9: 162–179.
- WHO Statistical Information System (2009). Causes of death: mortality and health status. WHO data and statistics.
- Witte K.K., Clark A.L., Cleland J.G. (2001). Chronic heart failure and micronutrients. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 37: 1765–1774.
- Yang Ch.S., Fang M., Lambert J.D., Yan P., Huang T.H. (2008). Reversal of hypermethylation and reactivation of genes by dietary polyphenolic compounds. *Nutr. Rev.*, 66 (Suppl 1): 18–20.
- Zhao H.L., Houweling A.H., Yanstone C.A. (2008). Genetic variation in ABC G5/G8 and NP-C1L1 impact cholesterol response to plant sterols in hypercholesterolemic men. *Lipids*, 43: 1155–1164.
- Zhou C., Verma S., Blumberg B. (2009). The steroid and xenobiotic receptor (SXR), beyond xenobiotic metabolism. *Nucl. Recept. Signal.*, 7, e001.

Zatwierdzono do druku 27 X 2010

MAREK PIESZKA, MARIUSZ P. PIETRAS

### **New directions in nutrition studies – nutrigenomics**

#### SUMMARY

Despite the undoubted successes of nutrigenomics research, their results have yet had little impact on the design and manufacture of functional foods. It can be stated that the progress made in basic sciences does not translate into practical benefits as quickly as consumers would wish. Most studies were conducted using *in vitro* models for cancer cells. Modern analytical methods of screening, chromatographic techniques, spectroscopic methods, DNA microarrays and flow cytometry are used to identify the molecular mechanisms of action of compounds of natural origin. Often, however, the bioavailability and the possibility of modifying the enzymes of phase I and II (oxidation and detoxification) are not taken into account. These should also account for the complex relationships between metabolic pathways and signalling, and tissue and cellular specificity.

The task of nutrigenomics for the coming years is to test the relationship between diet and its bioactive components and the functioning of genes and signalling pathways. Achievements of this new discipline of science helped to formulate hypotheses about interactions between dietary components and gene expression, in some cases to explain them at the molecular level, and to define new biomarkers, which will facilitate the identification or measurement of risk assessment and health improvement.

These previous preliminary studies are very important. They showed that polyphenols, glucosinolates, isothiocyanate, terpenes, stilbenes and many other compounds are not only antioxidants that “sweep” free radicals. It has been proven that these substances can affect the activity of transcription factors and enzymes that modify chromatin structure or are responsible for the repair of DNA damage.

Key words: nutraceuticals, nutrigenomics, research