



**„A METABOLOMIKA, A NUTRIGENOMIKA ÉS AZ
EPIGENETIKA TÁPLÁLKOZÁSTUDOMÁNYI ÉS
ÉLELMISZERBIZTONSÁGI VONATKOZÁSAI”**

Jegyzet

**Szegedi Tudományegyetem Természettudományi és Informatikai
Kar Biokémiai és Molekuláris Biológiai Tanszék**

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

**„Élelmiszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású egyetemi
együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME”**





TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

**„A METABOLOMIKA, A NUTRIGENOMIKA ÉS AZ EPIGENETIKA
TÁPLÁLKOZÁSTUDOMÁNYI ÉS ÉLELMISZERBIZTONSÁGI VONATKOZÁSAI”**

Tartalomjegyzék

1. A metabolóm és társterületeinek ismertetése, története
2. Metabolomikai analitikai eljárások, detektálási módszerek, statisztikai elemzés
3. Metabolomikát alkalmazó tudományterületek
4. Táplálkozással kapcsolatos anyagcsere betegségek metabolomikai megközelítése, szűrése
5. Táplálkozási genomika
6. Nutrigenomika – Sejtszintű tápanyag érzékelés
7. Nutriepigenetika - A táplálkozás epigenetika hatásai
8. A táplálék mennyiség/minőség, a sejtszintű táplálkozás és az élethossz kapcsolata
9. A nutrigenomika és a személyre szabott táplálkozás
10. Krónikus betegségek nutrigenomikája
11. Nutrigenomika és rák





1. A metabolóm és társterületeinek ismertetése, története

A biológia, sejtbiológia és biokémia tárgykörök egy sor olyan folyamatot foglal, amelyek egy sejt, organizmus felépítését, működését meghatározzák. Ilyen például a genom, ami tulajdonképpen a sejtjeink működésének vázlata. A következő szint, ami a genomból ered a fehérjék világa, amelyek egy organizmus gyarai, építőkövei és motorjai. Ám a sejtek és szervezetek jóval többek a fehérjék és a nukleinsavak összességénél, hiszen sem egyik, sem másik részletes vizsgálata nem elég ahhoz, hogy egy biológiai rendszer működését megértsük. A metabolizmus, azaz bő értelemben véve az anyagcsere, minden olyan fizikai és kémiai folyamatok összessége egy organizmuson belül, ami az organizmus életfunkcióinak fenntartásához kapcsolódik, gyakran összetévesztik a táplálkozással. Az ember bizonyos mértékben több ezer óta tanulmányozza a metabolizmust. A modern élettudományok közül a sejtbiológia, mikrobiológia és biokémia egyaránt részleteiben tárgyalja a metabolizmus folyamatait.

Metabolitok

A metabolitok olyan szerves vegyületek, amelyek a metabolizmust alkotó biokémiai folyamatok kiinduló- és végpontjai, illetve köztes termékei egyaránt, tehát egy organizmus szintetikus (anabolikus) és lebontó (katabolikus) tevékenysége során keletkező vegyületek összessége. Ilyenek például többek között az aminosavak, nukleinsavak, zsírsavak, aminok, cukrok, vitaminok, kofaktorok. Ezek, az ún. endogén elsődleges metabolitok, nélkülözhetetlenek az adott organizmus normális fejlődéséhez, szaporodásához. Mindemellett számos kiindulási pontját képezik olyan vegyületeknek, amelyek nem alapvető fontosságúak a termelő szervezet növekedése és reprodukciója szempontjából, sokkal inkább más szervezetekkel való kommunikációjukban, azokkal való együtt élésükben van szerepük, fontos ökológiai, illetve ipari jelentőséggel bírhatnak. Ilyen ún. endogén másodlagos metabolitok például a növényi pigmentek, terpének, vagy a gombák által termelt antibiotikumok, amelyek lehetnek esszenciálisak és nem esszenciálisak egyaránt. Metabolitok azonban nemcsak az organizmus által szintetizált (endogén eredetű), hanem a külső környezetből felvett (exogén) anyagok is lehetnek, amelyek tehát nem az adott organizmus természetes



termékei, például gyógyszerek, adalékanyagok, toxinok (xenobiotikumok).

A metabolitok összessége tehát nagyon dinamikusan változó vegyüethalmaznak tekinthető, amely összetételét nagyban befolyásolják a termelő szervezet környezeti ingerekre adott válasza (például gén expressziós változások a környezeti stresszre, vagy akár az emésztés során felszívódó tápanyagra, gyógyszerekre).

Metabolitok vizsgálatának története, a „folyékony arany”

A szervezet metabolikus profiljának vizsgálata nem új keletű. Az ókori és középkori orvosok sajátos módon ugyan, de már végeztek metabolit vizsgálatokat a testnedvek, főleg a vizelet megfigyelésével. Hippokratész (i.e. 460-377) elsőként megfigyelte, hogy a lázas állapotok a páciens vizelet szagának változásával járnak. Egyéb ókori eredetű orvosi vonatkozású papirusz tekercseken pedig a vizelet mennyiségének megnövekedésével, illetve abban a vér megjelenésével kapcsolatos megfigyeléseket rögzítettek, azokat betegségek szimptomájaként értelmezték. Galenus (i.sz. 131-201) úgy gondolta, hogy a vizelet tükrözi a máj állapotát és vizsgálata a legjobb módja annak, hogy a 4 testnedv (vér, nyál, sárga és fekete epe) egyensúlyának megbomlását kövessük. Hippokratész és Galenus tanításai végül az ún. Hippokratész-Galenus vérmérsékleti tipológiában csúcsosodott ki, amely szerint az egyén temperamentuma a 4 testnedv arányával függ össze és ennek felborulása okozza a betegségeket. A 7. században Theophilus bizánci orvos a vizelettel kapcsolatos kutatásait és vizsgálatának módszereit tankönyvek formájában foglalta össze (De Urinis Liber – Könyv a vizeletről és De Urinis Compendium – Kompendium a vizeletről), ami aztán egész Európában elterjedt. 300 évvel később Isaac Judaeus arab fiziológus egy hordozható komplex vizelet kartát készített, ami 20 színárnyalatot tartalmazott és alkalmas volt az akkori összes ismert betegség vizeletből való diagnózisára. A középkorban a Katolikus Egyház nem is nagyon engedélyezett más fiziológiai vizsgálatokat, hiszen az orvosok nem érinthették meg a betegeket, diagnózist tehát csak diszkréten gyűjthető testnedvekből végeztek. A vizsgálatokat ún. matula üveggel végezték, amely alakja a húgyhólyagra erősen emlékeztetett – azt gondolva, hogy így a vizelet pont olyan képet ad magáról, mint a testben – és azt a fény felé tartva készítették diagnózisukat.

Nemcsak a vizelet színét vizsgálták, hanem annak szaga, íze, tisztasága, üledéke, habzása is fontos volt. A cukorbetegség diagnózisához például megkóstolták, hiszen annak íze a vese által kiválasztott cukor miatt édes volt. A terhesség

SZÉCHENYI 2020



Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE



patológiás elváltozásai (terhességi toxémia), illetve húgyúti fertőzések során megjelenő fehérjéket pedig alkohol hozzáadásával mutatták ki (ti. kicsapódtak). A módszer a reneszánszban kezdett elavulttá válni, amikor a tudósok az emberi test működésébe mindinkább betekintést nyerve új betegségeket fedezhettek fel és már komplexebb fiziológiai vizsgálatokat végezve azok patológiai hátteréhez is közelebb kerültek. A késői 18. és korai 19. században a régi keverékes-ízleléses módszereket már használható kémiai vizsgálatok váltották fel (Rosenhek, 2005). A vizelet összetevőinek modernkori analízise vezetett végül olyan öröklött betegségek patobiokémiájának felderítésére, mint az alkaptonúria és a fenilketonúria (Garrod, 1902, Følling, 1934).

Metabolóm és az omikák

A fentiekben említett példák jól reprezentálják a betegség patomechanizmus kutatások általános, ún. molekuláris redukcionista stratégiáját. Ez a megközelítés azt veszi alapul, hogy a betegségek hátterében húzódo genetikai variációk és faktorok azonosítása a humán betegségek kezelésének felfedezéséhez vezethetnek. Éppen ezért, tradicionálisan egyedi géneket, célfehérjéket, metabolitokat, metabolikus és szignalizációs útvonalakat próbálnak azonosítani egy-egy betegség kapcsán. Az elképzelés az 1950-es években felállított centrális dogma hozadéka, amely szerint az általános információáramlás a génektől a transzkriptumokon át a fehérjékig egyirányú. Az fehérjék, különösképpen az enzimek működésének megváltozása aztán hatással van a metabolikus utakra, amely végső soron az organizmus fenotípusának megváltozásához, például betegségek kialakulásához vezet. Ez a redukcionista megközelítés azonban nem állja meg a helyét, hiszen a sejtekben végbemenő folyamatok valójában olyan hálózatot képeznek rengeteg visszacsatolós szabályozási hurokkal (Hollywood *et al.*, 2006). Ez a paradigma váltás a DNS szekvenálás és a különböző analitikai eljárások fejlődésével következett be, azzal, hogy lehetővé vált komplex biológiai rendszerek működésének nagy léptékű módszerekkel való tanulmányozása. Az első mikroba genomjának szisztematikus megszevenálásával (1995. *Haemophilus influenzae*) tudomány új területe nyílt meg, az ún. omikáké, amelyek genomi léptékű profilozási eljárásokat alkalmaznak. Az omikai megközelítésű tanulmányok elterjedése az élettudományok paradigma váltását hozta magával. A rendszer biológia az organizmusokat, vagy akár az organizmusok egy csoportját sok összetevős rendszerekként kezeli. Ennek megfelelően a legtöbb





betegség kialakulása komplexebb, sok faktor megváltozásának közreműködését igényli. A hozzá kapcsolódó fenotípust pedig több gén-, útvonal-, fehérje- és metabolit megváltozása okozza, hiszen egy komponens megváltozása a rendszerben egész kaszkádnyi változást generálhat. Maguk a változások pedig több – sejt-, szöveti- és szervezeti – szinten jelentkeznek. Mindezek alapján tehát a betegségek okainak felderítése integrált kísérletes megközelítéseket igényelnek, a már fentebb említett omikákét. Attól függően, hogy egy biológiai rendszer milyen típusú makromolekuláiról készítünk pillanatfelvételt genomról (DNS), transzkriptómról (RNS-ek), proteómról (polipeptidek) és metabolómról beszélhetünk. Mindezek által nyújtott információ határozza meg igazán egy adott organizmus fenotípusát. Ezek egyidejű, összehasonlító analízise (ti. integrált omika) az organizmus életfolyamatait vezérlő és felépítő biológiai folyamatok összefüggéseit, az általuk kialakított hálózat jobb megértést teszi lehetővé. Mindez elősegítheti a betegségek patomechanizmusának részletesebb megismerését, akár korai diagnosztikai célpontok meghatározását és végső soron akár személyre szabott terápiás stratégiák kidolgozását is.

Mivel a sejtek metabolizmusában a többi omika szint jeleinek integrációja valósul meg, azok megváltozása sokszorososan reprezentálódik a kismolekulák profiljában (Hollywood *et al.*, 2006). Egy organizmus által termelt kis molekulatömegű molekulák halmazát, összességét metabolómnak nevezzük (Oliver, 1998). Kismolekulának tekintünk minden olyan molekulát, amely kisebb 1500 Da-nál, például a glikolipidek, poliszacharidok, 14 aminosavnál kisebb peptidek, 5 bázisnál rövidebb kis oligonukleotidok. A metabolóm tulajdonképpen direkt, funkcionális olvasata egy biológiai minta fiziológiai állapotának, a fenotípus kitűnő indikátora (Gieger *et al.*, 2009). Mivel a fiziológiai állapot a külső ingerekre válaszolva változik a metabolóm olyan, mint egy „nyelv”, amely közvetíti egy organizmus genomja és a környezet közti interakciókat (Jewett *et al.*, 2006). Mivel a metabolitok kémiaiag igen nagyfokú diverzitást mutatnak a metabolomika különböző analitikai stratégiákat kombinál, amelyek adatainak elemzéséhez statisztikai multi-variáns applikációkat alkalmaz. A metabolitok meghatározásának több célja is lehet, például metabolikus hálózatok keresése, genetikai és környezeti változásokra adott sejtválasz monitorozása, génfunkció vizsgálat, biológiai hálózatok kulcs szabályozópontjainak azonosítása, fenotipizálás diagnosztikus és funkcionális genomikai analízisekhez. Mindezeket természetesen különböző kísérleti





koncepciókkal valósítják, a teljes metabolóm más és más szintjét felfedve. A metabolóm analízisek leginkább öt koncepcionális területe köré csoportosulnak: a metabolit target analízis, a metabolit profilozás, metabolomika, metabolikus ujjlenyomat (fingerprinting) és a flux analízis. A metabolit target analízis során specifikus metabolitokat mutatnak ki, egyszerre kevés cél metabolitot azonosítását és mennyiségét határozzák meg, amelyek általában egy kifejezett enzimrendszerhez köthetőek. A metabolit profilozás egy speciális metabolit csoport (pl.: lipidek), vagy egy meghatározott metabolikus útvonallal asszociált metabolitok kvalitatív és kvantitatív analízisét célozza. Klinikai és farmakológiai analízisekben gyakran alkalmazzák a gyógyszerek szervezeten belüli sorsának követésére. A metabolomika, mint omikai megközelítés, célja egy biológiai minta összes metabolitjának átfogó elemzése, következésképpen olyan sok metabolit azonosítása és mennyiségi meghatározása, amennyit az alkalmazott analitikai módszer lehetővé tesz (Hollywood *et al.*, 2006). Szigorúan vett definíciója szerint a metabolomika egy biológiai rendszerben előforduló összes metabolit azonosítását és kvantifikációját célzó összehasonlító analízis (Fiehn, 2002.) A metabolóm meghatározásának alanya lehet egy organelum, sejt, szövet, testfolyadék, vagy akár egy egész organizmus is. Speciális változata a metabonómia, amely gyógyszerek, toxinok, betegségek okozta biokémiai változások megmérésére fókuszál. A metabolikus ujjlenyomat keresés eltérő eredetű, vagy különböző biológiai állapotú minták osztályozására szolgál gyors fingerprinting technológiák alkalmazásával, amelyek nem szükségszerűen szolgálnak információkkal specifikus metabolitokról (Hollywood *et al.*, 2006; Roessner *et al.*, 2009).

Fluxomika

A metabolóm analízisek egy jobban elkülönülő, új koncepcionális területe a fluxomika, amely az omikai vizsgálatok eredményeit és a fenotípust ténylegesen képes összekötni egymással. A genomikai, transzkriptomikai, proteomikai és metabolomikai adathalmazok egy-egy pillanatképet nyújtanak a sejtet alkotó, abban megtalálható komponensekről, amelyek leginkább kvalitatív indikátorai a fenotípusnak. Míg alkalmazásukkal sok információhoz juthatunk például eltérő törzsek közti különbségekről, vagy akár kezelések sejtekre kifejtett hatásáról, egy gén kifejeződésének végtermékeként megjelenő fehérje abszolút koncentrációjáról már nem. Ha mégis hozzáférhető kvantitatív adat – például egyes

SZÉCHENYI 2020



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE



proteomikai méréseknél alkalmazott analitikai eljárásoknál –, az nem ad felvilágosítást a fehérjék *in vivo* aktivitásáról. Mindezek mellett a metabolizmusban részt vevő enzimek *in vivo* kinetikai paramétereiről keveset tudunk, ami pedig feltétlenül szükséges lenne katalitikus rátáik (fluxusaik) megbecsüléséhez. A metabolikus fluxusok tulajdonképpen a gén expresszió, fehérje koncentráció, -kinetika, -aktivitás szabályozás és a metabolit koncentrációk összjátékaként, metabolikus fenotípusként tekinthetők. A flux analízis célja nem más, mint egy organizmusban lejátszódó reakciók hálózatában a reakció ráták mérése és becslése. A többi „omika típusú” analízissel hasonlóan ez a technológia a fluxomika nevet kapta (Winter *et al.*, 2013). A metabolitok turnoverének mérése elengedhetetlen a fluxusok közel kielégítő becsléséhez, hiszen nagyon sokszor – főként a gyors turnovervel rendelkező metabolitok esetén – a fluxus nem jár együtt egy adott metabolit nyilvánvaló koncentráció változásával. A beépülő stabil izotópok követésén alapuló metabolómiai technológiák alkalmasak egy metabolit mennyiségének és turnover sebességének detektálására egyaránt. A ^{13}C jelölés például széles körben alkalmazott a metabolitok szénlánc fluxusának, illetve a metabolikus hálózatok dinamikájának követésére. A sejt energetikai állapotát meghatározó, illetve a szignalizációban résztvevő foszfátcsoporthoz tartozó biomolekulák foszfát transzfer rátájáról az ^{18}O stabil izotóp beépülésének monitorozása szolgál információval. A jelölés folyamata főleg a ^{18}O alkalmazásakor meglehetősen egyszerű. A ^{18}O az oxigén egy természetes, stabil izotópja. Ha egy szövet, vagy sejtkultúra ismert ^{18}O tartalmú víztartalmú tápoldatban növekszik, akkor a H_2^{18}O gyorsan ekvilibrálódik a sejt víztartalmával. Az ^{18}O a celluláris foszfát metabolitokba az azokat létrehozó enzim reakció rátájának megfelelően beépül. A foszfometabolitok és turnover rátájuk pedig speciális NMR spektroszkópiával már könnyen mérhető. Mindemellett mivel a víz sok enzimatis reakció résztvevője a ^{18}O más metabolitokba is beépülhet, ami lehetőséget ad nagy metabolikus hálózatok vizsgálatára is (Nemutlu *et al.*, 2012).

Metabolómiai hálózatok

A klasszikus metabolikus útvonalak tradicionális lineáris megítélése – ahol az enzimek a központi elemek – a 2000-es évek közepén megváltozott. A paradigmaváltás óta nem útvonalakként, hanem a metabolitok hálózatoként tekintünk rájuk. A hálózat csomópontjai a metabolitok és a szomszédos csomópontokat az enzimatis reakciók kötik össze





(Barabasi *et al.*, 2004). Ennek megfelelően egy hálózati struktúra sajátosságainak megértéséhez tehát a metabolit kapcsolatok felderítése alapvető fontossággal bír. Az egyik megközelítés különböző funkcionális szintről származó omikai adatokat feleltet meg egymással. Ha ezek például transzkriptóm, proteóm és metabolóm analízisesből származó adatok voltak, akkor ezeket egyenként az összes többivel összevetik. Ezt követően statisztikai és bioinformatikai eszközöket egyaránt használva azonosíthatnak koexpresszált mRNS, protein és metabolit molekulákat, amelyek kombinációjával lehetséges hálózati modelleket állítanak fel. Ezek tehát *in silico* predikciók, amelyeket független módszerekkel – például fluxomikai mérésekkel – meg kell erősíteni (Hollywood *et al.*, 2006).

Mindezek alapján, tehát egy organizmus pontos fenotípusának – ami a környezeti és belső eredetű ingerekre finoman változik – elemzésekor a metabolómikai megközelítések jól kiegészítik a más funkcionális szintekről származó omikai analízist. Mindazonáltal a metabolómot sem individuális metabolitok halmazaként, hanem különböző fluxusú csomópontok hálózataként kell tekintenünk. A metabolóm mérésénél alkalmazott eljárások fejlődésével ez mindinkább megvalósíthatóvá vált.

Irodalomjegyzék

Barabási AL, Oltvai ZN: Network biology: understanding the cell's functional organization. *Nat Rev Genet.* 2004; 5(2):101-13.

Fiehn O: Metabolomics-the link between genotypes and phenotypes. *Plant Mol Biol.* 2002; 48(1-2):155-71.

Følling IA: Über Ausscheidung von Phenylbrenztraubensäure in den Harn als Stoffwechselanomalie in Verbindung mit Imbezillität. *Hoppe-Seyley's Zeitschrift für physiologische Chemie* 1934; 227 (1-4):169–181.





TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

Garrod AE: The incidence of alkaptonuria: A study in chemical individuality. *Lancet* 1902; 2:1616-1620 (1902).

Gieger C, Geistlinger L, Altmaier E, Hrabé de Angelis M, Kronenberg F, Meitinger T, Mewes HW, Wichmann HE, Weinberger KM, Adamski J, Illig T, Suhre K: Genetics meets metabolomics: a genome-wide association study of metabolite profiles in human serum. [PLoS Genet.](#) 2008; 4(11):e1000282.

Hollywood K, Brison DR, Doodacre R: Metabolomics: Current technologies and future trends. *Proteomics* 2006; 6:4716-4723.

Jewett MC, Hofmann G, Nielsen J: Fungal metabolite analysis in genomics and phenomics. *Curr Opin Biotechnol.* 2006; 17:191-197.

Nemutlu E, Zhang S, Juranic NO, Terzic A, Macura S, Dzeja P: ¹⁸O-assisted dynamic metabolomics for individualized diagnostics and treatment of human diseases. *Croat Med* 2012; 53:529-534.

Oliver SG, Winson MK, Kell DB, Baganz F: Systematic functional analysis of the yeast genome. *Trends Biotechnol* 1998 Sep; 16(9):373-378.

Roessner U, Bowne J: What is metabolomics all about? *BioTechniques* 2009; 46:363-365.

Rosenhek J: Liquid gold. *Doctor's Review* 2005

Winter G, Krömer JO: Fluxomics – connecting 'omics analysis and phenotypes *Environ Microbiol* 2013; 15(7):1901-1916.





2. Metabolomikai analitikai eljárások, detektálási módszerek, statisztikai elemzés

A metabolóm komplexitásának problémái, analitikai stratégiája, folyamata

Az omika piramis egyéb szintjein történő detekció jóval egyszerűbb, mint a metabolómnál. Az analizálandó molekulák kémiaiailag jóval egységesebbek, így a DNS, vagy RNS 4 féle bázisát jóval egyszerűbb extrahálni és analízisük is könnyen automatizálható. Detekciójuk nem függ abszolút mennyiségüktől, mert még ha kis mennyiségben is vannak jelen egy biológiai mintában amplifikálhatóak. Ennek megfelelően a genom és transzkriptóm meghatározásához nagy áteresztő képességű analitikai eljárásokat fejlesztettek ki, mint például a hibridizációs alapú DNS microarray, vagy az új generációs szekvenálási technológiák.

A metabolóm analízis célja többféle lehet, ám legtöbbször a cél egyidejűleg a lehető legtöbb metabolit azonosítása és megmérése egy adott mintából. Néhány szempontot azonban figyelembe kell venni az alkalmazandó analitikai eljárás kiválasztásánál, például a detektálandó metabolitok számát és fizikokémiai tulajdonságaikat.

A detektálandó metabolitok száma függ a minta komplexitásától, de attól is, hogy egy biológia minta lehetőleg legtöbb metabolitját, vagy csak például egy metabolikus útvonal alkotóit kívánjuk követni. Míg utóbbi nagyságrendileg körülbelül 10^1 alkotóból áll, addig egy prokarióta 10^3 , egy eukarióta metabolóm pedig 10^4 számút tartalmazhat. A növények metabolómja talán a legkomplexebb, ugyanis egy egyedben akár 200000 prediktált metabolit is lehet (Okiawa *et al.*, 2008).

Figyelembe véve sokszínű dinamikájukat a metabolitok relatív mennyisége is széles skálán mozoghat. A cukrok nM-os a regulátor fehérjék, redox carrierek pedig fM-os koncentráció tartományban mozognak általában. Ugyanilyen sokszínű a hidrofóbicitásuk, tömegük, kémiai stabilitásuk, valamint polaritásuk.

Mindezek figyelembevételével beláthatjuk, hogy habár a metabolitok nagy többségében nem faj specifikusak, hiszen a metabolizmus alap biokémiai reakciói evolúciósan konzerváltak, kémiai jellemzőik alapján nagyon komplexek így egyidejű detekciójuk gyakorlatilag lehetetlen, nincs egy önálló

SZÉCHENYI 2020



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE



technika, amely ezt lehetővé teszi, és nem áll rendelkezésünkre olyan technológia, amely amplifikációjukat lehetővé tenné. Az analízis során az összetevőket tisztítják és csoportosítják kromatográfiás – gáz- (GC), folyadék- (LC), vagy nagynyomású folyadék kromatográfia (HPLC) – eljárásokkal, melyeket különböző fizikai elven működő – mágneses rezonancia alapú spektroszkópia (NMR), vagy tömeg spektroszkópia (MS) – detektálási eljárás követ. A metabolóm analízis tehát különböző, egymást kiegészítő eljárások kombinációit alkalmazza (Roessner *et al.*, 2009).

Mivel a metabolómiai vizsgálatoknak sokféle célja lehet (lásd előző előadás) és a metabolitok fizikokémiai tulajdonságainak rendkívüli diverzitása miatt sokféle analitikai technikát kell megvalósításához alkalmazni. Hasznos lehet tehát egy, az analízis során jól meghatározott, egymást meghatározott sorrendben követő munkalépések standardizált folyamata, amelyben a kísérlet megtervezését és a meta-adatok gyűjtését, az adatok előfeldolgozása, letisztázása követ egészen a statisztikai analízisükig, majd értelmezésükig (Brown *et al.*, 2004). Mivel a metabolitok nem organizmus specifikusak, ha egyszer egy analitikai protokollt kidolgoznak egy adott metabolit csoport mérésére, az jól alkalmazható a prokariótákra, gombákra, növényekre és állatokra egyaránt (Hollywood *et al.*, 2006).

Kísérleti tervezés és metaadat gyűjtés

Mindenek előtt meg kell választanunk vizsgálatunk alanyát, a mintát, amin a biológiai kísérletünket el fogjuk végezni. Bármilyen metabolit mérést megelőzően a metabolizmust olyan gyorsan kell leállítani, amilyen gyorsan csak lehetséges, hogy arról gyakorlatilag pillanatfelvételt készítsünk róla. Ennek az az oka, hogy az enzimek aktivitása folytán a metabolitok változhatnak, ami következtében méréseink nem tükröznék a valós metabolit profilt. Például úgy becsülik, hogy az élesztő glikolízis turn overe ideje néhány másodpercre tehető (de la Fuente *et al.*, 2002). Az egysejtű élőlények és biofluidok mintáit $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti 60%-os pufferelt metanolba spriccelik, míg az állati, növényi szöveteket folyékony nitrogénben lefagyasztják, majd mechanikailag (pl. dörzsmozsárban) feltárlják, hogy a metabolitok felszabaduljanak (Tweeddale *et al.*, 1998; Viant *et al.*, 2005). Ezt követően a metabolitok extrakciója következik, amely megválasztása függ a minta típusától, a vizsgálandó metabolitok számosságától, a későbbiekben alkalmazandó analitikai eljárástól és a vizsgálatban feltett biológiai kérdésről. Alkalmazhatunk savas, lúgos, vagy alkoholos



extrakciót. Savas extrakció esetén perklór savval kezelik a mintát, amit több ciklus fagyasztát-olvasztást követően kálium-hidroxidos neutralizálás követ. Lúgos tisztítás során tipikusan nátrium-hidroxidot alkalmaznak, aztán felmelegítik a mintát 80 °C-ra. Etanolos extrakcióhoz a mintát 80 °C-on forralják etanolban. Természetesen az egyes tisztítási eljárások eltérő hatékonyságúak a különböző fizikokémiai tulajdonsággal bíró metabolit csoportok esetében (Hollywood *et al.*, 2006). A kivonatot a metabolóm analízis végső céljának megfelelően további tisztítási és frakcionálási lépések követhetik – leginkább kromatográfias eljárások (lásd fentebb) – de a nyers extraktum direkt analízise is lehetséges.

A metabolóm analízis első fő munkafolyamatának következő lépéseként a metabolitok detekciója valósul meg. Az alkalmazandó eljárás erősen függ az analízis céljától (lásd a metabolóm öt koncepcionális területe), azonban általánosan két fő analitikai eljárás – a tömegspektrometria és az NMR-spektroszkópia – különböző módozatait használják. A következőkben a két technológia alapjait kerülnek ismertetésre.

Tömegspektrometria: Fizikai alapja, hogy a töltéssel rendelkező atomok és molekulák mozgása mágneses mezőkkel „eltéríthető”, hiszen azokra a mágneses mező hatással van, míg a töltés nélküliekre nem. Tulajdonképpen az „eltérülés” mértéke az ionizált részecske tömegétől függ és megadható a részecske repülési sebességéből és az alkalmazott mágneses mező erejéből. Minél kisebb az eltérülés, annál nagyobb volt a részecske tömege. Az eljárás során az első lépés az ionizáció, amely során az atomok/ molekulákból ionokat képeznek, a legtöbbször kationokat egy, vagy több elektron eltávolításával. Ezt követően történik az ionok gyorsítása (akcelerálás), ami által az összes ion azonos kinetikai energiával fog belépni a mágneses erőterbe. Az ionok a különböző tömeg/töltés arány szerinti elválasztása a mágneses térben fog megtörténni (deflekción), hiszen a töltött molekulák „eltérülése” attól függ, hogy mennyi pozitív töltést tartalmaztak és mekkora a tömegük. A részecskék detektálása Faraday-szedőkkel történik, és végül megkapjuk a tömeg/töltés arányok spektrumát. Tömeg spektrum könyvtárak segítségével beazonosíthatók az egyes összetevők, és a spektrális csúcsból mennyiségük is meghatározható. Sajnos önmagában a molekulák, vagy azok részleteinek pontos tömege nem feltétlenül elégséges azonosításukhoz, mert nagyon sok anyag rendelkezik ugyanolyan tömeggel. A metabolómika legnagyobb kihívása ismeretlen csúcsok azonosítása, amely főleg az abszolút kvantifikáció (annak megadása, hogy hány mol található



a minta egy kilogrammjában) során jelentős. Azonban ha nincs az adott csúcsához hozzárendelhető ismert standard, akkor teljes bizonyossággal nem is azonosítható az analizált minta adott összetevője (www.chemguide.co.uk/analysis/masspec/howitworks.html#top).

Az egyes MS platformok az ionizáció és a detekció mechanizmusában térnek el egymástól, amelyek természetesen befolyásolják érzékenységüket, és a detektálható metabolitok számát.

NMR-spektroszkópia: NMR rádió frekvencia (RF) sugárzást és mágneses mezőt alkalmaznak gerjesztési forrásként (exitáció). Az RF sugárzás egy molekulában jelen levő atommagot képes stimulálni, ami protonjai spin változását idézi elő, amelyek úgy viselkednek, mint a kis mágnesek (rezonancia). A spin állapotok közti átmenet (ti. az energiaszintek felhasadása) NMR jelet ad mágneses térerőben. Ezt az NMR jelet detektálják és spektrumként jelentik meg. A spectrum vízszintes tengelyén a ppm-ben kifejezett kémiai eltolódást ábrázolják, ami tulajdonképpen az RF abszorpció helyét jelöli és belső standardhoz képest (tetrametil-szilán, TMS). A függőleges tengelyen az abszorpció intenzitása jelenik meg. Minden egyes anyagnak egyéni, jellemző NMR spektruma van.

Nagy előnye az MS-sel szemben, hogy a mintát nem kell fizikailag, vagy kémiaileg módosítani; az NMR-rel minőségi és mennyiségi meghatározásra is alkalmas, mert a jel intenzitás csak a moláris koncentrációtól függ; átfogó strukturális információkhoz – akár sztereokémiai adatokhoz is – juthatunk. Sok atom atommagja NMR aktív, de a legtöbbször ^1H és ^{13}C -NMR-t alkalmaznak, hiszen mindkét atom megtaálható az összes szerves molekulában.

Az NMR-nek vannak hátrányai is, például, hogy az MS-hez viszonyítva kisebb az érzékenysége, éppen ezért ún. maradvány metabolitok analízisére kevésbé alkalmas. Mivel a ^{13}C izotóp természetes előfordulása kb. 1,1%, a ^{13}C -NMR kevésbé érzékeny, mint az ^1H -NMR. (www.chemguide.co.uk/analysis/nmr/background.html)

Adatfeldolgozás

A metabolomikai mérések hatalmas adathalmazokat generálnak, hiszen több párhuzamos mérést is elvégeznek egyszerre, ami nagyon komplex, multivariáns adatokat eredményez. Elemzésükhöz jó bioinformatikai és statisztikai algoritmusok és adatbázisok kellenek. Az algoritmus kiválasztásánál figyelembe kell venni azt is, hogy milyen adatokat kívánunk a metabolitokról kapni az elemzés végeztével. Az adatbázis létrehozásának első lépése a metabolit adatok adatának összegzése, az ún. metaadat



elkészítése. Ezt követi a nyers adatok normalizálása, az adatok csökkentése, majd végül rendszerezése. Utóbbinál gyakran alkalmaznak ún. cluster és fő komponens (principal component) analízist (Brown et al., 2005). A kapott adatokat ezt követően adatbázisokban teszik közzé, ehhez azonban az eredmények validálása elengedhetetlen. Az adathalmaz pontossága jól jellemzett kémiai standardokkal történik. Emellett fontos az is, hogy az újonnan azonosított metabolitokat egy, mindenki által elfogadott nevezéktan alapján nevezzék el, valamint csatoljanak hozzá részletes strukturális és fizikokémia leírást is (Hollywood *et al.*, 2006). Az alábbiakban a metabolóm biomerker kutatási területén alkalmazott adatfeldolgozási eljárások kerülnek ismertetésre:

A biomarker kutatás fő célja betegségeket indikáló markerek keresése. Ehhez metabolit profilozással olyan metabolit adatsorokat állítanak össze kvantitatív adatokkal, amelyek egészséges kontroll és beteg, vagy kezelt populációkból származnak. Az adatok összehasonlító elemzésekor olyan metabolitokat keresnek, amelyek kizárólag a betegségekre, vagy kezelésre mutatnak változást. A variánsok kiszűrésére szigorú statisztikai validálás szükséges. A variancia adódhat a minta előkészítés hibáiból, illetve akár az analitikai platform mérési pontatlanságából. Az átlagos, összehasonlító analízisek a biomarker kutatásban kevésbé használatosak, hiszen azok általában alacsony számú jelölt biomarkereket eredményeznek, ám a betegségek kialakulásának és prognózisának modellezéséhez több marker szükséges. Ezért olyan algoritmust alkalmaznak, amely a metabolit profilok adatait biológiai jelenséghez rendeli, kategóriákba rendezi, majd kvantitatívan osztályozza, például a betegség stádiumai alapján. Az algoritmus végső soron egy olyan modell kidolgozására törekszik, amely az analízis inputjait (metabolit adatok) a targetekkel (betegség státusza) pontosan asszociálja. A biomarker modellezésben három adatsoportot alkalmaznak általában. A „training data” amelyet a modell felállításához használnak fel, a „validation data” (vagy megerősítő adathalmaz), amellyel a modell megerősítését végzik, és a „test data”, amellyel a validált modell érzékenységét vizsgálják. Egy jó modell kellően érzékenyen képes előre jelezni egy betegség kialakulásának esélyét, vagy prognózisát (Hollywood *et al.*, 2006).

Adatbázisok

A metabolóm analízisének egyik elengedhetetlen lépése az analitikai technikák eredményeként kapott spektrumok alapján a metabolitok azonosítása, ami



adatbázisok alapján történik. Mivel az organizmusok, szövetek, testfolyadékok metabolit összetétele hatalmas variációt mutat, több faj és testfolyadék specifikus metabolóm adatbázist hoztak létre. Az alábbiakban a teljesség igénye nélkül néhány fontos képviselő szerepel:

Metlin: A metlin volt az első internetes metabolomikai adatbázis, amelyet Gary Siuzdak kutatócsoportja (Scripps Kutatóintézet, USA) hozott létre 2005-ben humán metabolitok karakterizálásának és azonosításának elősegítésére (Smith *et al.*, 2005). Az adatbázis metabolitokkal kapcsolatos információk és ahhoz kapcsolódó tandem tömegspektrometriai adatok tárháza, amelyben minden egyes metabolit hozzá van kapcsolva a KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) adatbázishoz is. Az adatbázisban található metabolitok és tömegspektrometriai adatok mennyisége folyamatosan nő, napjainkban több mint 240000 metabolit szerepel benne, közel 13000-hez nagyfelbontású MS adattal (<https://metlin.scripps.edu/index.php>).

COMET: A konzorciumot 2005-ben hozta létre a londoni Imperial College öt gyógyszeripari vállalattal karöltve. A célja, hogy bioinformatikai módszereket, és egy ¹H-NMR alapú adatbázist hozzanak létre, amely rágcsálók vizelet és vér metabolitjainak adatait tartalmazza, még hozzá úgy, hogy ebből egy célzott, szerv specifikus (ti. vese és máj) toxikológiai prediktív eszköz jöjjön létre. A projektben kezdetben 147 toxikológiai kísérlet eredményei szerepeltek. Mára 8 európai ország gyógyszeripari vállalatai és egyetemei is csatlakoztak.

Humán metabolóm adatbázis (Human Metabolome Database): A projekt célja – amelyet 2007-ben David Wishart kutatócsoportja (Albertai Egyetem, Kanada) hívott életre – az volt, hogy azonosítson, mennyiségileg jellemezzen, katalogizáljon és tároljon minden az 1µM-nál nagyobb koncentrációban jelen levő emberi testben megtalálható metabolitot. Az adatbázis célja, hogy elősegítse a metabolóm kutatásokon keresztül a betegségek diagnózisát, prognózisát és követését, a gyógyszerek és toxinok metabolizmusának megértését, a humán genom és metabolóm összekapcsolását és metabolómiai kiértékelő programok

fejlesztését. A metabolitokhoz háromféle adattípus, vagy link tartozik:

kémiai, klinikai és molekuláris biológiai/biokémiai adatok és más adatbázisokkal is össze vannak kötve. Négy másik adatbázis is a HMBD része, ezek gyógyszer és gyógyszer metabolitok (DrugBank), toxinok és környezetszennyező

SZÉCHENYI 2020

MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE



TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

anyagok (T3DB), humán metabolikus és betegség útvonalakat (SMPDB), illetve élelmiszer komponensek és adalékanyagok (FoodDB) adatait tartalmazzák.

Irodalomjegyzék

Brown M, Dunn WB, Ellis DI, Goodacre R, Handl J, Knowles JD, O'Hagan S, Spasic I, Kell DB: A metabolome pipeline: from concept to data to knowledge. *Metabolomics* 2005;1(1):39-51.

Dunn WB, Ellis DI: *Metabolomics: Current analytical platforms and methodologies*. *Trends Anal Chem* 2005;24(4):285-294.

de la Fuente A1, Snoep JL, Westerhoff HV, Mendes P: *Metabolic control in integrated biochemical systems*. *Eur J Biochem*. 2002;269(18):4399-408.

Hollywood K, Brison DR, Goodacre R: *Metabolomics: Current technologies and future methods*. *Proteomics* 2006;6:4716-4723.

Lindon JC, Keun HC, Ebbels TM, Pearce JM, Holmes E, Nicholson JK: *The Consortium for Metabonomic Toxicology (COMET): aims, activities and achievements*. *Pharmacogenomics* 2005;6(7):691-9.

<https://metlin.scripps.edu/index.php>

Nielsen J, Olicer S: *The next wave in metabolome analysis*. *TRENDS Biotechnol* 2005;23(11):544-546.





TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

Oikawa A, Matsuda F, Kusano M, Okazaki Y, Saito K: Rice metabolomics. *Rice* 2008;1:63-71.

Roessner U, Bowne J: What is metabolomics all about? *BioTechniques* 2009; 46:363-365.

Smith CA, O'Maille G, Want EJ, Qin C, Trauger SA, Brandon TR, Custodio DE, Abagyan R, Siuzdak G: METLIN: A Metabolite mass spectral database. *Therapeutic Drug Monitoring*, 2005;27(6):747-51.

Tweeddale H, Notley-McRobb L, Ferenci T: Effect of slow growth on metabolism of *Escherichia coli*, as revealed by global metabolite pool (“metabolome”) analysis. *J Bacteriol.* 1998; 180(19): 5109–5116.

Viant MR, Pincetich CA, Tjeerdema RS: Metabolic effects of dinoseb, diazinon and esfenvalerate in eyed eggs and alevins of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) determined by ¹H NMR metabolomics. *Aquatic Toxicolog* 2005; 77: 359–371.

www.chemguide.co.uk/analysis/masspec/howitworks.html#top

www.chemguide.co.uk/analysis/nmr/background.html

www.hmdb.ca



3. Metabolomikát alkalmazó tudományterületek

A következőkben egy-egy kiragadott példán keresztül betekintést kaphatunk a metabolómikai eszköztár baktériumoktól emberig alkalmazott, igen sokrétű, egyre növekvő felhasználási területéről.

Mikrobiális metabolóm vizsgálatok

Genom annotációk

Az 1990-es években több bakteriális genom teljes átszekvenálását célzó projekt indult. 1995-ben Craig Venter és munkatársai publikálták az első teljes bakteriális genomot (*Haemophilus influenzae*), amelyet sok más bakteriális, majd egy- és többsejtes eukarióta organizmusé követett a 2000-es évek folyamán (Fleischmann *et al.*, 1995). A szekvenciák azonban önmagukban nem többek, mint „4 betű” random ismétlődése, ezért bioinformatikai eszközökkel, a géekre jellemző konszenzus elemeket keresve azokat annotálták. A mikrobiális genomok annotációját széles körben elfogadott munkafolyamattal végzik, amely során először automatikus annotációs eszközöket, majd azok eredményét korrigáló (ti. annotációs hibák) manuális módszereket alkalmaznak (Richardson *et al.*, 2012). Az annotációk egyéb validáló laboratóriumi módszerek nélkül megbízhatatlanok, például egy, a *Mycoplasma genitalium* különböző annotációit összehasonlító elemzés kimutatta, hogy három különböző kutatócsoport eredményei 340 annotált gén tekintetében 8%-os eltérést mutattak (Brenner, 1999). Összességében a posztgenomikai érában nyilvánvalóvá vált, hogy az átszekvenált bakteriális genomok esetében a gének 30-50%-a rosszul annotált, vagy nincs hozzárendelhető génfunkció (Siew *et al.*, 2004). Még a legbehatóbban ismert *Escherichia coli* minden ötödik génjének ismeretlen a funkciója (Liang *et al.*, 2004). Főleg az utóbbi probléma megoldásához nagy segítséget nyújthatnak az adott organizmus metabolómját célzó vizsgálatok.

Egy átlagos metabolikus útvonal nagyságrendileg 10^1 , a teljes prokarióta metabolóm 10^3 , míg az eukarióta 10^4 metabolitot tartalmaz. Habár a mikrobiális metabolóm egy nagyságrenddel kisebb az eukariótákhoz képest, annak összetevői kémiaiilag olyan sokrétűek, ami gyakorlatilag lehetetlenné teszi azok egyidejű, megbízható analízisét. Nehezíti a teljes



metabolóm feltárását az is, hogyha nincs információnk arról, hogy potenciálisan milyen típusú és hány féle metabolitot kellene egyáltalán detektálnunk. Az analízis során standard metabolitok alkalmazása elengedhetetlen, hiszen az egyes analitikai módszerekben a detektált szubsztituenseket azokhoz viszonyítva azonosítják. Mivel a kereskedelmi forgalomban elérhető referencia metabolitok száma véges a még ismeretlen metabolitok detektálása és azonosítása nagyon nehézkes. Különböző mikrobák metabolómjának átfogó analízise azonban megoldást jelenthet erre a problémára. Ilyen kísérleti megközelítésben próbálták az *Esherichia coli* teljes metabolómját felfedni. Ehhez először három, filogenetikailag eltérő mikroorganizmus – *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* – *in silico* metabolómját állították össze különböző adatbázisok alapján. Az adatbázisok adatai alapján világossá vált, hogy azonosított metabolitjaik száma erősen függött attól, hogy az adott organizmus mennyire széleskörben tanulmányozott, illetve genomja mennyire pontosan annotált. Például az *E. coli in silico* metabolómjában 29%-kal több metabolit szerepelt, mint a *B. subtilis*-ében annak ellenére, hogy a két baktérium génszáma közel azonos. A három mikroorganizmus összesen 905 metabolitjának 32%-a azonos, 410 pedig valamelyik organizmus specificitást mutatott. A kiindulási, kombinált *in silico* metabolóm metabolijait ezután fizikokémiai tulajdonságaik alapján csoportosították, majd az egyes metabolit osztályok detektálásához különböző analitikai eljárásokat rendeltek, összesen 6 félért. Úgy vélték, hogy a kémiai hasonlóság alapján így az ismert metabolitok mellett ismeretleneket is tudnak majd azonosítani a kellő számú, forgalomban levő standard alkalmazása mellett. Végül közép-log fázisban levő, glükóz tartalmú táptalajon növesztett *E. coli* tenyészet metabolómját elemezték az előzetesen kiválasztott analitikai eljárásokkal. Végül a kapott 431 csúcsból 235-öt tudtak azonosítani. Ezek között 61 olyan addig ismeretlen metabolitot – főként lipid származékokat – találtak, amelyek nem szerepeltek az *E. coli* metabolizmusát is tartalmazó EcoCyc adatbázisban. Tehát különböző analitikai eljárásokat egyidejűleg alkalmazva a megfelelő standardokkal új metabolitok azonosítása lehetséges, amely hozzájárulhat pontosabb genomi annotációkhoz (van der Werf *et al.*, 2007).

Bioremediációs alkalmazások

A biodegradációs folyamatok részleteinek felderítésében a metabolómiai eszköztár hatékonyan segítheti a hagyományos bioremediáció monitorozásában alkalmazott eljárásokat. Xenobiotikumok lebomlási





útvonalainak felderítésében például különösen hatékony módszer az izotóp disztribúciós eloszlás analízis. A módszer lényege, hogy izotóppal (^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^2H , ^3H és ^{36}Cl) jelölt xenobiotikumok lebomlását követik úgy, hogy a specifikus izotóp izomerek (izotopomerek) relatív mennyiségét NMR-rel és MS-sel meghatározzák a metabolit csoportokban. Például poliklórozott bifenilek (PCB) biodegradációját követték ^{14}C -jelölt dikloro-bifenil alkalmazásával. Habár a dikloro-bifenilről úgy gondolták, hogy a mikroorganizmusok könnyedén képesek lebontani, az izotóp-jelölés kísérletek ezt cáfolták. 2 hónap alatt mindössze a 0,4%-a mineralizálódott, lebomlásának limitáló lépése fő degradációs termékének a 3-klorobenzoesav további átalakítása volt (Kubatova *et al.*, 1998). Ugyancsak ezzel a módszerrel, radioaktívan jelölt próbákkal, kultúrálás nélkül foszfolipid-zsírsavakat szénforrásként felhasználó mikroorganizmusokat tudnak azonosítani (Evershed *et al.*, 2006).

Ultra érzékeny pontosságú tömeg spektrometriai adatok molekuláris összekapcsoló analízisével új bioegradációs útvonalak deríthetők fel. A megközelítés azon alapul, hogy a biológiai mintákban található metabolitok egymáshoz szorosan kapcsolnak, mivel biokémiai eredetük kapcsolt volt, vagy szorosan összefonódott egy metabolikus hálózaton belül, hiszen a biokémiai reakciók nagy részének egy limitált kémiai transzformációs repertoár az alapja. Ezek a transzformációk jól jellemzett tömegkülönbségként jelentkeznek, amelyek detekciója jelzi két metabolit kémiai rokonságát, amelyek akár egy enzimatis reakcióval is létrejöhetnek (Breitling *et al.*, 2006).

Xenobiotikumok mineralizációját extracelluláris metabolit (exometabolóm) fingerprintinggel is lehet monitorozni. Előnye, hogy a metabolitokat a környezeti mintából nem kell extrahálni, és nagyobb koncentrációban vannak jelen, mint a sejteken belüli metabolitok, ezért detekciójuk jóval könnyebb. Ezzel a módszerrel jól lehet követni, hogy egy szennyező anyag teljesen szén-dioxiddá és vízzé, vagy valamilyen köztes produktummá alakult-e (Villas-Boas *et al.*, 2007).

A klasszikus mutagenézis alternatívájaként a „metabolikus szerkesztés” (metabolic engineering) célja az iparban felhasznált mikroorganizmusok – például bioremediációs – tulajdonságainak fejlesztése a rekombináns DNS technológia eszközeivel. Ennek az egyik módja, hogy a módosított törzset visszajuttatják a környezetbe, ám ott gyakran nem képesek fennmaradni, mert a laboratóriumi tenyésztés miatt az adaptációs képességeiket elveszítik.





Ennek megoldása lehet, hogy laboratóriumi körülmények között új degradációs útvonalakat fejlesztenek, vagy egy már meglévőt hatékonyabbá tesznek az abban részt vevő enzimek szerkesztésével, majd ezt a jelleget környezeti izolátumokba juttatják limitált számú laboratóriumi átoltással. Az új tulajdonságokkal felvértezett törzsek tényleges tevékenységének legegyszerűbb és leghatékonyabb követési módszere exo-, és endometabolómjuk vizsgálata, tehát az általuk előállított köztes termékek, vagy esetleges toxikus végtermékek monitorozása (Villas-Boas *et al.*, 2007).

Növényi metabolóm vizsgálatok

A növények hihetetlenül komplex metabolómmal rendelkeznek, egy egyedben átlagosan kb. 200000 a prediktált metabolitok száma. A klasszikus növénynevelés alapja természetes mutánsok izolálásán, jellemzésén alapul. A valamilyen szempontból előnyös tulajdonságokkal rendelkező növényekből ezt követően célzott genetikai keresztezésekkel új növénytörzseket nemesítenek. Az *in vitro* DNS technológiával ez azonban gyorsabbá vált, a mutáns gének térképezését követően azok pontosan meghatározhatók, izolálhatók majd transzgenézissel más fajtákba juttathatók. Reverz metabolómiai megközelítésekkel a növények genetikai manipulációjaként megjelenő fenotípusát jól lehet követni, ami egy-egy gén funkciójáról szolgáltat információ, ami a pontos génannotációhoz elengedhetetlen. Már genetikailag módosított növények – például rizs – metabolómiai analízissel a felhasználásuk biztonságosságát (ti. toxikus metabolitok jelenléte a transzgenézis eredményeképpen), vagy élelmezésbe való bevezetésüknél az eredeti növényvel való tápanyagbéli azonosságukat lehet így jellemezni (Oikawa *et al.*, 2008).

Emlős metabolóm vizsgálatok

A transzgenikus és ún. knock-out (KO) egerek széles körben elterjedtek a gyógyszer és kémiai anyagok toxicitásának, gyógyszer interakcióknak, karcinogenezis mechanizmusának, rák terápiás szerek metabolizmusának tanulmányozásában, illetve a humán gyógyászatba átültethető biomarker kutatásokban. Egyedülálló kombinációként jól kidolgozott transzgenézisük metabolóm analízisükkel kiegészítve a humán gyógyászatban is felmerülő kérdésekre szolgáltat válasz, tehát releváns humán modellnek tekinthető (Idle *et al.*, 2007).





A citokróm P450 egy, a xenobiotikum detoxifikációban fontos szereppel bíró fehérje. P450 KO egerekbe humán P450-t kódoló gén transzgenézissel ún. humanizált egerek állíthatók elő, amelyek segítségével jól tanulmányozható élelmiszer adalékanyagok, illetve gyógyszerek szervezetben belüli metabolizmusa. Például az aminoflavon, rákterápiában használatos gyógyszer metabolizmusának összehasonlítása egérben és humanizált egérben kimutatta, hogy habár a 2 ortológ fehérje nagyon hasonló, mégis teljesen más metabolitokat állít elő abból. Ez rámutatott arra, hogy a humán-specifikus genetikai különbségek is befolyásolhatják nemcsak az aminoflavon, de más gyógyszerek metabolizmusát is (Chen *et al.*, 2006). Ugyancsak citokróm P450 és vad típusú egerek metabolómjának összehasonlításával a 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo-4,5-b-piridin (PhIP), olajban túlsütött húsokban megjelenő potenciális karcinogén metabolizmusát. Egerek vizeletében 17 PhIP metabolit jelent meg, jelezvén, hogy annak szervezetben belüli biokonverzióját. A humanizált egerek vizsgálatával az is bebizonyosodott, hogy a humán citokróm P450 sokkal aktívabban alakítja át a PhIP-et, a karcinogén egy DNS-hez kötődő formáját előállítva, amely tényleges mutagénként viselkedhet (Chen *et al.*, 2007).

A metabolomika jól alkalmazható sejtmagi receptorok gén deficienciák, vagy aktivációk molekuláris ujjlenyomatának követésére. Jó példa erre a peroxiszóma-proliferátor-aktivált receptor (PPAR) aktivációjának követése. PPAR mutáns és vad típusú egerek vizeletén végzett metabolóm analízissel addig ismeretlen szerkezetű metabolitokat detektáltak, amelyek megjelenése és mennyisége jól korrelált a receptor expressziójával és ligand általi aktivációjával. Ezek a metabolitok tehát jól alkalmazhatók a PPAR géntípusának biomarkereiként (Zhen *et al.*, 2007).

Humán genetikai eredetű betegségek patomechanizmusa és terápiás lehetőségei is jól modellezhetők egérben. A Duchenne muscularis izomdisztrófia (DMD) egy X kromoszómához kapcsolt, öröklődő betegség, amely statisztikusan minden 3500-dik fiú utódot érint, az izomzat degenerációját okozza, ami légzési és keringési elégtelenséghez, majd korai halálhoz vezet. Hátterében a disztrofin gén mutációja áll, annak hozzájárulása a betegség patomechanizmusához elengedhetetlen. Normálisan ez a citoplazmatikus fehérje a citoskeletot köti össze az extracelluláris mátrixszal a disztrofin-asszociált fehérje komplex tagjaként, az izomösszehúzódás során a szarkolemmát stabilizálja és az intracelluláris kalcium szintet szabályozza. Az *mdx* egerek a DMD modelljei, a





gén missense mutációját hordozzák. Habár tüneteik hasonlóak, kevésbé komolyabbak a szimptomáik, mint az emberé, élettartamuk vad típusú társaiknál csak kevésbé rövidebb. Ennek oka lehet az, hogy valamilyen másik fehérje a disztrofin zavarát kompenzálhatja, vagy a ketrecben tartás miatt nincsenek olyan stresszoroknak kitéve, mint az ember. *dmx* egerekben proteomikai, metabolomikai és fluxomikai analízisével kimutatták a disztrófiás vázizom kalcium homeosztázisának zavarát, a szívizom ATP-szintézisének és a légzési elektron transzportláncának eltérő működését. A proteinek, metabolitok és metabolikus fluxusok változása mind a mitokondriális energetikai funkciók megváltozását tükrözik már a disztrófia patomechanizmusának kezdeti szakaszában. A szív-, vázizom szövetben például kimutatták, hogy a taurin és laktát szint megemelkedett, míg a kreatinin alacsonyabb volt, mint normál egerekben. Az agyszövet vizsgálatakor pedig a kolin tartalmú metabolitok szintje nőtt meg, ami tükrözi a betegséggel járó nem progresszív intellektuális zavart. Az urotrofin a disztrofinhoz funkciójában nagyon hasonló, magzati korban termelődő fehérje. Az izomrostok felszínén található meg, az egyedfejlődés során a disztrofin váltja fel. Éppen ezért az urotrofin a DMD génterápás jelölt, úgy gondolják, hogy az izomszövetekben való túltermelése a disztrofin mutációja okozta fenotípust enyhítheti. *mdx* egérben az urotrofin termelésével a mutáció okozta fenotípus valóban enyhült, metabolóm analízise kimutatta, hogy ezekben az állatokban a taurin szintje csökkent. Ebben a tanulmányban tehát a taurint, mint az izomregeneráció potenciális biomarkerét azonosították, amely génterápiát követő esetleges metabolikus profilozásnál jól alkalmazható (Griffin JL *et al.*, 2009).

A patkány, az egérhez hasonlóan, széles körben alkalmazott farmakogenetikai és élettani modellállat. A zsírmáj kialakulásához számos toxikológia behatás és a metabolikus szindróma is hozzájárulhat, melyek pontos hatásmechanizmusát kevésbé ismerik. Az egyik legelterjedtebb modellezési formája az orotsav-indukált zsírmáj patkányokban. Whistar és Kyoto patkánytörzsekben az orotsav kezelést követő átfogó májszövet és vér analízissel – kombinált transzkriptóm és metabolóm analízissel – kimutatták, hogy a nukleotid- és zsírsav anyagcsere, triglicerid- és foszfolipid szintézis, β -oxidáció, szénhidrát metabolizmus és a stressz válasz egyaránt zavart szenvedett mindkettőben. Valóban a vér LDL és VLDL tartalma csökkent, míg a májban fokozott foszfatidil-kolin és lipid felhalmozódás volt detektálható csökkent glükóz és glikogén szint mellett. A Kyoto az eredmények alapján





sokkal érzékenyebben reagált a orotsav kezelésre és összesen 4 transzkriptum változott mindkét törzsben, a többi eltérés törzsenkénti specificitást mutatott (Griffin *et al.*, 2004; Griffin *et al.*, 2006). Ez a tanulmány is rámutatott arra, csakúgy, mint ahogy fentebb láthattuk, hogy egy-egy toxikus lézió, vagy genetikai módosításhoz kapcsolódó fenotípus változás függ az adott organizmus genetikai háttérétől, és nem alkalmazható univerzálisan.

Irodalomjegyzék

Breitling R, Pitt AR, Barrett MP: Precision mapping of the matbolome. TIBTECH 2006;2:543-548.

Brenner SE: Errors in genome annotation. Trends Genet. 1999 Apr;15(4):132-3.

Chen C, Meng L, Ma X, Krausz KW, Pommier Y, Idle JR, Gonzalez FJ: Urinary metabolite profiling reveals CYP1A2-mediated metabolism of NSC686288 (aminoflavone). J. Pharmacol. Exp. Ther 2006;318:1330-1342.

Chen C, Ma X, Malfatti MA, Krausz KW, Kimura S, Felton JS, Idle JR, Gonzalez FJ: A comprehensive investigation of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) metabolism in the mouse using a multivariate data analysis approach. Chem Res Toxicol 2007;20:531-542.

Evershed RP, Crosman ZM, Bull ID, Mottram H, Dungait JAJ, Maxfield PJ, Brennan EL: C-13 labelling of lipids to investigate microbial communities in the environment. Curr Opin Biotechnol (2006);17:72-82.

Fleischmann RD, Adams MD, White O, Clayton RA, Kirkness EF, Kerlavage AR, Bult CJ, Jean-Francois Tomb J-F, Dougherty BA, Merrick JM, McKenney K, Sutton G, FitzHugh W, Fields C, Gocyne JD, Scott J, Shirley R,



TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

Liu L-I, Glodek A, Kelley JM, Weidman JF, Phillips CA, Spriggs T, Hedblom E, Cotton MD, Utterback TR, Hanna MC, Nguyen DT, Saudek DM, Brandon RC, Fine LD, Fritchman JL, Fuhrmann JL, Geoghagen NSM, Gnehm CL, McDonald LA, Small KV, Fraser CM, Smith HO, Venter JC: "Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd". *Science* July 1995; 269(5223):96–512.

Griffin JL, Bonney SA, Mann C, Hebbachi AM, Gibbons GF, Nicholson JK, Shoulders CC, Scott J: An integrated reverse functional genomic and metabolic approach to understanding orotic acid-induced fatty liver. *Physiol Genomics* 2004;17:140–149.

Griffin JL, Scott J, Nicholson JK: The Influence of Pharmacogenetics on Fatty Liver Disease in the Wistar and Kyoto Rats: A Combined Transcriptomic and Metabonomic Study. *J. Proteome Res.* 2007;6:54-61.

Griffin JL, Des Rosiers C: Duchenne muscular dystrophy: lessons from downstream of the transcriptome. *Gen. Med.* 2009;1(3):32.1-32.11.

Idle JR, Gonzalez FJ: Metabolomics. *Cell. Metab.* 2007;6(5):348-351.

Kubatova P, Matucha M, Erbanova P, Novotny C, Vlasakova V, Sasek V: Investigation into PCB biodegradation using uniformly c-14-labelled dichlorobiphenyl. *Isotopes Environ health Studies* (1998);34:325-334.

Liang P, Labedan B, Riley M: Physiological genomics of *Escherichia coli* protein families. *Physiol Genomics.* 2002;9(1):15-26.

Oikawa A, Matsuda F, Kusano M, Okazaki Y, Saito K:
Rice metabolomics. *Rice* 2008;1:63-71.





TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

Richardson EJ, Watson M.: The automatic annotation of bacterial genomes. *Brief Bioinform.* 2013 Jan;14(1):1-12.

Siew N, Azaria Y, Fischer D: The ORFanage: an ORFan database. *Nucleic Acids Res.* 2004 Jan 1;32.

van der Werf MJ, Overkamp KM, Muilwijk B, Coulier L, Hankemeier T: Microbial metabolomics: Toward a platform with full metabolome coverage. *Anal Biol Chem.* 2007; 370:17-25.

Villas-Boas SG, Bruheim P: The potential of metabolomics tools in bioremediation studies. *OMICS* 2007;11(3):305-313.

Zhen Y, Krausz KW, Chen C, Idle JR, Gonzalez FJ: Metabolomic and genetic analysis of biomarkers for peroxisome proliferator-activated receptor alpha expression and activation. *Mol. Endocrinol* 2007;21:2136-2151.





4. Metabolómot alkalmazó tudományterületek – humán gyógyászat

Egy egész organizmus metabolitjainak egyidejű és összehasonlító szisztematikus meghatározása és azok valamilyen stimulus – diéta, életstílus, környezeti tényező, genetikai tényezők, gyógyszeres kezelés – hatására bekövetkező időbeli változásának detektálása a metabonomika (a metabolómika egy társterülete). Emlős rendszerekben ez általában testfolyadékok és szövetek kemometriai technikákkal történő metabolómiai analízisét jelenti, csakúgy, mint a gyógyszeripari metabonomikai tanulmányok esetében. Mivel ezek egy részében a mintavételezés egyszerűen kivitelezhető és nem invazív – leginkább a vér- és vizeletminták esetében –, a humán gyógyászatban is hasznos monitorozási, akár diagnosztikai megközelítés lehet akár a személyre szabott gyógyászatban, akár új gyógyszer célpontok azonosításában, vagy molekuláris epidemiológiai vizsgálatokban, például új rizikófaktorok azonosításánál (Lindon *et al.*, 2007; Nicholson *et al.*, 2008). Az alábbiakban néhány, reprezentatív tanulmány eredményén keresztül betekintést nyerhetünk a metabolóm analízis humán gyógyászatban való alkalmazásába.

Patofiziológiai alkalmazás

A skizofrénia okairól és kialakulásáról viszonylag keveset tudunk. Egy emberi agyszöveteken párhuzamosan végzett transzkriptomikai, proteomikai és metabolomikai vizsgálat a betegség molekuláris hátteréről adott érdekes információkat. Egészséges és skizofrén páciensek mintáinak összehasonlítása megmutatta, hogy meglepő módon döntő többségében a mitokondriális funkciókhoz és oxidatív stressz válaszhoz kapcsolható fehérjék változtak meg, amelyet a detektált transzkripció és metabolikus zavarok jól tükröztek. Az energia metabolizmussal és oxidatív stresszel kapcsolt gének 90%-a eltérést mutatott a betegekben (Prabakaran *et al.*, 2004). Tehát a skizofréniában szenvedő betegek legérintettebb sejtsejtje a mitokondrium, ami az agysejtek magas energiaigényét nem tudja kiszolgálni.

A koszorúér betegség a fejlett országok vezető halál- és betegség oka, mivel 70 éves korra minden 3 emberből 1 érintett. Az epidemiológiai tanulmányok a betegség rizikófaktorainak széles skáláját – magas koleszterin- és triglicerid, alacsony HDL szint, dohányzás – tárta fel, azonban ezek sem önmagukban, sem egymással kombinálva nem bizonyultak jó nem-invazív

SZÉCHENYI 2020



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE



diagnosztikai eszköznek. Emberi szérumon végzett $^1\text{H-NMR}$ vizsgálatokat a hagyományos angiográfiai diagnosztikával kiegészítve azonban ígéretes metabolit biomarkereket tudtak azonosítani. A VLDL, LDL és HDL lipidek, illetve a lipoproteinek foszfatidil-kolinjának kolin tartalma és a betegség súlyossága között szoros korrelációt találtak. Míg az előbbieket pozitív, az utóbbi negatív korrelációt mutatott a betegséggel, az analízis során kapott regressziós koefficiensek pedig egyenes arányosságban álltak annak súlyosságával, azaz, hogy a 3 koronaérből hány volt érintett. Ilyen korrelációt a hagyományos rizikó faktorok mérésével nem lehetett megállapítani. Ismeretlen páciensekből származó minták tesztelésekor a felállított modell több mint 90%-os pontosságúnak bizonyult (Brindle *et al.*, 2002). A szérum metabonómiai vizsgálata tehát gyors és nem-invazív diagnosztikai potenciált rejt magában.

Diagnosztika

Emlős-mikrobióm interakciók vizsgálata

Tradicionalisan, amikor az emberi létről beszélünk, általában csak a testünkre fókuszálunk, amely a genomunk által meghatározott eukarióta sejtekből épül fel. Mindazonáltal az omikák és a rendszerbiológia világában nem mehetünk el szó nélkül amellett, hogy testünk szerves részét képezi egy állandó, szimbióta mikrobiális közösség, amely a szervezetünk fiziológiai képességein túli metabolikus funkciókkal vértéz fel minket. Ebben a tekintetben tehát az emberi test szuperorganizmusnak tekinthető (Sleator, 2010). A velünk szimbiózisban élő bakteriális közösség minden az emberi test minden felületén megtalálható, mintegy 10^{13} - 10^{14} számú poulációt alkotva, amely az emberi testet alkotó sejtek kb. 10-szeresét teszi ki. A vastagbél tulajdonképpen a legnagyobb poulációval rendelkező bakteriális ökoszisztéma, a *Bacteria* csoport mintegy 70, az *Archea* pedig 30 divízióval képviselteti magát. Fontos szereppel bírnak például az immunrendszer érésében, a szervezet energiamérlegének szabályozásában, illetve a biotranszformáció támogatásában (Gill *et al.*, 2011).

A bélflóra segítségével voltaképpen alapvetően emészthetetlen tápanyagokat is képesek vagyunk lebontani (Gill *et al.*, 2006). Fekotranszplantációval egy egyed bélflórája hatékonyan bejuttatható egy másik egyedbe, ezzel módosítva azt. Flóra nélküli egerekbe való normál

SZÉCHENYI 2020



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE



bélflóra transzplantációt követően megfigyelték, hogy változatlan tápanyag ellátottságuk ellenére súlyuk gyarapodott, ami arra utalt, hogy a vastagbél mikrobiális közösségének összetétele nagyban befolyásolja a táplálékból hasznosuló energia mennyiségét (Backhed *et al.*, 2004). Megvizsgálva két legdominánsabb bakteriális csoportot, a Bacteroidetes és Firmicutes, relatív arányuk elhízott és sovány egerekben eltérőnek adódott. A leptin mutáns, túlsúlyos állatokban 50%-kal kevesebb Bacteroidetes és ennek megfelelően több Firmicutes csoportba tartozó baktérium volt a vad típusúakhoz képest (Ley *et al.*, 2005). Felmerült tehát a kérdés, hogy az emberben is hasonlóképpen van-e a bél mikrobiális közösségének összetétele és a testzsír mennyisége között összefüggés. 12, különböző diétás étrendű – alacsony zsír-, szénhidrát-, vagy kalória tartalmú – elhízott ember bélflórájának mikrobiális összetételét vizsgálták, a diéta alkalmazása előtt és az alatt, egy éven keresztül. Habár egyéni eltéréseket mutattak faj szinten a Bacteroidetes és Firmicutes csoportok dominanciája minden egyes vizsgálati alanyban megfigyelhető volt. A diéta alkalmazása alatt a bélflóra faji összetétele nem, csak az egymáshoz viszonyított aránya változott. Az elhízott egerekhez hasonlóan a diéta megkezdése előtt a Firmicutes csoport volt túlsúlyban, a sovány kontroll egyénekből származó mintákhoz képest. A diéta alatt az idő előre haladtával a Firmicutes mennyisége csökkent, amivel párhuzamosan a Bacteroidetes is nőtt korrelálva a százalékban kifejezett testsúly veszteség egy határértékén túl. A különböző diétáknál a korreláció megjelenését jelentő testsúly csökkenés határa volt eltérő (Ley *et al.*, 2009).

Azt, hogy a bélflóra miként járul hozzá az elhízáshoz egér modellen vizsgálták. Konvencionális mikroflórájú, nem adaptált flórával kolonizált (emberi újszülött flóra) és normál flórával újrakolonizált, flóra nélküli egerek bakteriális kompozícióját meghatározva jelentős eltéréseket tapasztaltak. A különböző állatokból származó vérplazma, vizelet, máj szövet, és ileum öblítéséhez használt folyadék ¹H-NMR vizsgálatát elvégezték, majd egyenként a konvencionális, normál flórájú állatokból származó adatokhoz hasonlították őket. sok más eltérés mellett a legszembetűnőbb az epesavak diverzitása volt az egyes csoportokban. A normál flórájú és konvencionális flórával újrakolonizált egerekben az epesavak összetétele és mennyisége hasonló volt, míg a nem adaptált mikroflórájú egerekben jóval kisebb diverzitást tapasztaltak. Szignifikáns asszociációt találtak a bélflóra összetételében és az azonosított „metabotípusokban”. Mindez bizonyította, hogy a bélflóra modulálhatja a





gazdaszervezet lipid metabolizmusát különböző lehetséges mechanizmusokkal: (i) az epesav metabolit mintázatának módosításával, (ii) az epesavak emulzifikációs és abszorpciós tulajdonságainak megváltoztatásával, (iii) a máj zsírsavraktározásának befolyásolásával és (iv) a zsírsav szignalizáció hangolásán keresztül a lipidperoxidáció fokozásával. Mindezek az epesav konjugátumok bélflóra általi metabolizmusára vezethetők vissza, amelyben jelentős szerepet játszik a *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* által szintetizált epesavsó-hidroláz. Megállapították, hogy a *Lactobacillus* – *Bifidobacteria* – *Enterobacteria* – *Bacteroides* csorotok egymáshoz viszonyított egyensúlya esszenciális a tauro-konjugált epesavak dekonjugációjában. A tauro-konjugátumok túlsúlya megnöveli az epesav pool hidrofóbicitását, ami a tápanyagokban található lipidek emelkedett abszorpcióját és enterohepatikus reciklizációját eredményezi. Voltaképpen a bélflóra indirekt modulálja a zsírsavak felszívását és adipocitákban történő triglicerid felvételét és raktározását raktározást. Többszörös áttétlen keresztül az epesavak fiziológiai hatással lehetnek a májban történő VLDL előállítás szabályozásában, enterohepatikus cirkularizációjuk visszacsatolós hurokként működik. Végző soron tehát a bélflóra a gazdaszervezet teljes lipid metabolizmusára hatással lehet, így hozzájárulva az elhízáshoz (Martin *et al.*, 2007).

Személyre szabott gyógyászat

A személyre szabott gyógyászat alapvető törekvése, szemben a tradicionális, protokollokat alkalmazó jelenlegi szemlélettel, hogy az egészségügyi ellátás során alkalmazandó kezeléseket úgy válasszák ki, amely az adott páciensre specifikus, annak genetikai hátterét figyelembe veszi. Ennek az az alapja, hogy minden ember a humán genom egyedi variánsával rendelkezik, amely erősen befolyásolja betegségeinek patomechanizmusát, illetve a terápiás válaszait. A személyre szabott orvoslás megvalósításához elengedhetetlen az egyén genotipizálása mellett annak más, omikai vizsgálata is. A genomi szintű asszociációs tanulmányokkal, amely során egy betegséget sok páciensből származó DNS szekvencián vizsgálnak, diagnosztikai markereket keresnek. Ám a betegségek döntő többsége multigénes, tehát beteg populációk vizsgálatával inkább csak az adott betegségek kialakulására hajlamosító rizikófaktorokat azonosítanak.

A depresszió gyógyításának egyik legfontosabb gyógyszer családjá a szelektív szerotonin reuptake inhibitorok (SSRI). A betegek 40%-a azonban nem reagál a kezelésre, azaz szimptomáik nem csökkennek legalább





50%-kal, így több mint két harmaduk nem gyógyul meg teljesen az antidepresszáns terápiától. Éppen ezért alkalmazásuk előtt szükséges lenne a kezelés kimenetelének megbecslése, amelyhez megfelelő biomarkerek kellenek. Egy farmakogenetikai vizsgálatban a szerotonin szintéziséhez, metabolizmusához és transzportjához kapcsolható gének SNP analízisét végezték el, azonban ezeke egyike sem bizonyult a gyógyszeres kezelés kimenetelét megbízhatóan megjósoló markernek. Megpróbálták tehát olyan „farmakometabolomikai-informált farmakogenetikai megközelítést” alkalmazni, amely a környezeti és genetikai faktorokat a markerkeresésben egyaránt számba vette. 20, a kezelésre nem reagáló és 20 reagáló beteg szérumán végeztek tömegspektrometria alapú metabolóm vizsgálatot a kezelés előtt, illetve 8 héttel azt követően. Olyan metabolitokat kerestek az analízis során, amelyek a gyógyszer hatására változtak, majd ezekhez biológiai útvonalakat próbáltak kapcsolni. A nitrogén metabolizmus útvonala bizonyult az SSRI terápia kimenetelével leginkább szignifikánsan kapcsolt útvonallal. Az útvonalból 6 metabolit változását azonosították, amelyből 5, különösen a glicin, metabolit szintjének változása a gyógyszer hatékonyságával negatívan korrelált. A glicin nemcsak a folát ciklus kulcsmetabolitja, hanem egy gátló neurotranszmitter is. Felmerült, hogy a glicin bioszintéziséhez és degradációjához kapcsolható gének bizonyos DNS szekvencia variációi korrelálhatnak-e az SSRI terápiára adott válasszal. Több száz DNS minta analízisékor azt találták, hogy a glicin-dehidrogenáz génjének 1 SNP variánsa, annak expresszióját megváltoztatja, ami emelkedett glicin szinthez vezet, ami végső soron a terápiás választ csökkenti (Ji *et al.*, 2011).

Tumor metabolóm

Vannak a tumor sejtekre jellemző metabolikus elváltozások, mint többek között a magas glikolitikus aktivitás, M2 típusú piruvát-kináz izoforma expresszió, vagy a magas rátájú purin és pirimidin *de novo* szintézis, megnövekedett lidid szintézis (Mazurek *et al.*, 2003). Ezen fenotípusnak természetesen szerteágazó okai lehetnek, amelyből néhány, a teljesség igénye nélkül, érintőlegesen kerül bemutatásra.

A normál sejtektől eltérően a rákos sejtek a jó oxigén ellátottság ellenére oxidatív foszforiláció helyett laktát konverziót végeznek. Ez az ún. aerob glikolízis, más néven Warburg effektus, normális esetben a hipoxiás sejtekben zajlik (Warburg, 1956). Ennek egyik oka a mitokondriális működés zavarában keresendő. Habár a glükóz felhasználásának





ezen módja jóval gyorsabb, mint az oxidatív foszforiláció energetikailag kedvezőtlenebb hiszen egy mol glükóz átalakítása mindössze 2 mol ATP-t eredményez. A glükózt a rákos sejtek inkább anabolikus folyamatokban hasznosítják, például a ribóz szintézisben. Ez az eltolódás a tumor sejtek magas glükóz igényét és felvételét eredményezi (Cairns *et al.*, 2011). A tumor növekedésével a tápanyag és az oxigén ellátottság csökken, ám a tumor és sztróma sejtek egymással szimbiózisban képesek reciklizálni és így maximalizálják a tápanyagok felhasználását (Semenza, 2011; Dang, 2012). A tumorsejtek glikolitikus fenotípusának egy másik okozója a foszfoinozitol-trifoszfát/AKT/mTOR útvonal zavarában keresendő. A tumorokban az mTOR gyakran konstitutívan aktív, amely a transláció és a riboszóma szintézis serkentésével a fehérje- és lipid szintézis állandó stimulációjához vezet (Cairns *et al.*, 2011). Közvetve transzkripciós faktorok, mint például a HIF1A (hypoxia-inducible factor 1) aktiválásával egyéb metabolikus változásokhoz is hozzájárul, ami a glikolitikus fenotípus fő determinánsa (Guertin *et al.*, 2007).

Habár a piruvát-kináz M2 izoformája (PKM2) normálisan csak az embrionális és felnőtt testi őssejtekben expresszálódik, sok tumor sejtben is megtalálható, erősen serkenti a makromolekulák szintézisét. A PKM2 többek között az ATP képződését képes befolyásolni azzal, hogy a foszfoenol-piruvát/piruvát átalakulást katalizálja. Az ATP képződésnek ez egy sebesség meghatározó lépése, ami a glikolízist gátolva elősegíti a metabolitok más szénhidrát metabolizmus útvonalakba – mint pentóz-foszfát ciklus, hexózamin útvonal – való belépését, ezzel hozzájárulva egyéb makromolekula prekursorok szintéziséhez. Így végső soron elősegíti a sejt proliferációt (Vander Heiden *et al.*, 2009).

Mindezek figyelembevételével sok ígéretes metabolikus biomarker jelölt van, amelyek metabolómiai monitorozásával a tumorok fejlődését, terápiás válaszát követhetjük. Ilyenek többek közt az alanin, a szaturált lipidek, glicin, laktát, nukleotidok és a taurin (Griffin *et al.*, 2004).

Irodalomjegyzék

Backhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI: The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. PNAS 2004;101:15718-15723.





TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

Brindle JT, Antti H, Holmes E, Tranter G, Nicholson JK, Bethell HWL, Clarke S, Schofiel PM, McKilligin E, Mosedale DE, Grainger DJ: Rapid and noninvasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using $^1\text{H-NMR}$ -based metabonomics.

Cairns RA, Harris IS, Mak TW: Regulation of cancer cell metabolism. *Nat Rev Cancer* 2011;11(2):85–95.

Dang CV: Links between metabolism and cancer. *Genes & Development* 2012;26(9):877–890.

Gill SR, Pop M, DeBoy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, Gordon JI, Relman DA, Fraser-Liggett CM, Nelson KE: Metagenomic Analysis of the Human Distal Gut Microbiome. *Science* 2006;312(5778):1355–1359.

Griffin JL, Shockcor JP: Metabolic profiles of cancer cells. *Nature Reviews Cancer* 2004;4(7):551–561.

Guertin DA, Sabatini DM: Defining the role of mTOR in cancer. *Cancer Cell* 2007;12(1):9–22.

Ji Y, Hebring S, Zho H, Jenkins GD, Biernacka J, Snyder K, Drews M, Fiehn O, Zeng Z, Schaid D, Mrazek DA, Kaddurah-Daouk R, Weinshilboum RM: Glycine and a glycine dehydrogenase (GLDC) SNP as citalopram/escitalopram response biomarkers in depression: pharmacometabolomics-informed pharmacogenomics. *Clin Pharmacol ther.* 2011;89(1):97-104.





TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI: Obesity alters gut microbial ecology. PNAS 2005;102:11070-11075.

Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI: Human gut microbes associated with obesity. NATURE 2006;444:1022-1023.

Lindon JC, Holmes E, Nicholson JK: Metabonomics in pharmaceutical R & D. FEBS J 2007, 274:1140-1151.

Martin F-PJ, Dumas M-E, Wang Y, Legido-Quigley C, Yap IKS, Tang H, Zirah S, Murphy GM, Cloarec O, Lindon JC, Sprenger N, Fay LB, Kochhar S, van Bladeren P, Holmes E, Nicholson JK: A top-down systems biology view of microbiome-mammalian metabolic interactions in mouse model. Mol Sys Biol 2007;3:112.

Mazurek S, Eigenbrodt E: The tumor metabolome. Anticancer Res 2003;23(2A):1149–1154.

Nicholson JK, Lindon JC: Systems biology: metabonomics. Nature 2008;455:1054-1056.

Prabakaran S, Swatton JE, Ryan MM, Huffaker SJ, Huang JT-J, Griffin JL, Wayland M, Freeman T, Fudbridge F, Lilley KS, Karp NA, Hester S, Tkachev D, Mimmack ML, Yolken RH, Webster MJ, Torrey EF, Bahn S: Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. Molecular Psychiatry 2004;9:684–697.

Sleator RD: The human superorganism – Of microbes and men. Med Hypotheses. 2010 Feb;74(2):214-5.

SZÉCHENYI 2020



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKETÉS A JÖVŐBE



TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB: Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 2009;324:1029–1033.

Warburg O : On the origin of cancer cells. *Science* 1956;123(3191):309–314.

Semenza GL : HIF-1: Upstream and downstream of cancer metabolism. *Curr Opin Genet Dev.* 2011;20:51–56.





5. Táplálkozási genomika

A táplálkozási genomika a gének és a táplálék, a tápanyagok közötti kétirányú kölcsönhatásokat tanulmányozó tudományág, amely a genomika és az ahhoz kapcsolódó nagy áteresztőképességű technikák fejlődésével vált meghatározóvá. Ez a tudományág azt próbálja feltárni, hogy egy adott étrend milyen hatással van az egyén genetikai adottságainak megnyilvánulására, valamint hogy az egyén genetikai adottságai hogyan befolyásolják a különböző tápanyagok, bioaktív komponensek metabolizmusát. Az alapkonceptióját az adja, hogy az étrend számos komponense képes befolyásolni a gének kifejeződését és hogy az egyéni genotipikus különbségek metabolikus különbségekben is megnyilvánulnak, amely egyben megalapozza az étrend és az egészség közötti szoros kapcsolatot. A táplálkozási genomika két különböző, de egymást kiegészítő területre osztható fel, a nutrigenetikára és a nutrigenomikára. Bár mindkét tudomány alapkérdése – a gének és a tápanyagok közötti kölcsönhatások feltárása – hasonló, annak megválaszolására más-más megközelítéseket alkalmaznak. A nutrigenomika több lehetséges alternatíva közül egy egészséges diéta meghatározását célozza, míg a nutrigenetika ehhez további információkat szolgáltat az egyén genetikai hátteréről, és így lehetőséget teremt egy személyre szabott, optimális étrend kialakításában. Ugyanis a természetesen előforduló varianciák miatt ami a populáció egy tagjának optimális, az nem lehet optimális a populáció össze tagjának. Bár a két tudományterület közvetlen célja kicsit eltér egymástól, hosszútávon mindkettő egy egészségesebb élet kialakítását és a táplálkozáshoz köthető megbetegedések elkerülését célozza.

A nutrigenetika az étrendre adott egyéni válasz és táplálkozáshoz köthető betegségek kialakulásának hátterében álló genetikai tényezőket azonosítja, és meghatározza, hogy egy egyén genetikai adottságai alapján mely tápanyagok fogyasztása vezethet egy egészségesebb élet illetve különböző megbetegedések kialakulásához. Ehhez egy meghatározott étrendre adott különböző metabolikus válaszok hátterében álló génvariánsokat próbálja meg azonosítani.

A nutrigenomika azt célozza meghatározni, hogy egy étrend különböző összetevői milyen hatással vannak a genom működésére, és hogy ezt milyen sejt- és szövetszintű folyamatok szabályozásán keresztül érik el.





Más szóval a nutrigenomika a tápanyagok genomra gyakorolt hatásának következtében kialakuló, a génexpresszió és a proteom működésbeli különbségeit térképezi fel. Ehhez a különböző „omikák” eszközeinek felhasználásával vizsgálja meg, hogy egy táplálkozási stimulus milyen hatást fejt ki egy biológiai rendszer metabolizmusára és homeosztázisára. Ahogy egyre több információhoz jutunk arról, hogy a különböző étrendi komponensek hogyan és milyen hatással vannak a tápanyagok által szabályozott és a betegségekkel asszociált génekre, annál közelebb jutunk egy egészséges életvitel megteremtéséhez. Úgy ahogy a farmakogenomika megalapozta a személyre szabott gyógyítás kifejlesztését, a nutrigenomika is lehetőséget teremt a személyre szabott táplálkozás kialakításához.

Nutrigenetika

Az étrendre adott egyéni válasz hátterében álló genetikai tényezőket azonosítja. Az eddig elvégzett genomikai analízisek alapján a DNS szekvenciája szintjén a humán genom 99 %-ban azonos. Következésképpen a maradék 0,1 %-nyi különbség (kb. 3 millió SNP) tehető felelőssé a populáción belül megfigyelhet összes morfológiai, fiziológiai, biokémiai, molekuláris valamint a megbetegedésekre való hajlamban lévő különbségért. Egy enzimet kódoló génben vagy annak szabályozó régiójában megjelenő genetikai variánsok módosíthatják annak aktivitását, amellyel hozzájárulhatnak a tápanyagok felvételében, metabolizmusában, tárolásában és felhasználásában tapasztalt egyéni különbségekhez. A humán genomban leggyakrabban előforduló genetikai eltérés az SNP (single nucleotide polymorphism). Az SNP a DNS szekvenciában egy egy nukleotidot érintő eltérés, amely lehet egy egy nukleotidos inszerció, delécio vagy szubsztitúció is. Az SNP-n alapuló genetikai különbségek hozzájárulnak számos megbetegedés vagy fejlődési rendellenesség kialakulásához, például számos allél polimorfizmusa kapcsolatba hozható olyan gyakori megbetegedésekre való hajlammal, mint például a velőcsőzáródási rendellenességek, kardiovaszkuláris, rákos megbetegedések vagy az elhízás. A nutrigenetika korai eredményei is alátámasztották, hogy a humán genomban előforduló természetes variánsok felelőssé tehetők az étrendre adott egyéni biológiai válaszban lévő különbségekért. Ezek alapján leszögezhető, hogy az az étrend, ami a populáció egy tagjának optimális, az nem lehet optimális a populáció össze tagjának.





A táplálkozás és a betegségek közötti összetett kapcsolat

A szekvenálási technológiák fejlődésével a humán betegségek megismerése nagymértékű növekedésnek indult. Eddig közel 1000 gént hoztak összefüggésbe különböző humán megbetegedésekkel, azonban ezek 97 %-a monogénes, azaz egyetlen gén hibája tehető felelőssé a betegség kialakulásáért. Néhány ilyen monogénes esetben – mint például a galaktozémia vagy a fenilketonuriánál – bizonyos étrendi módosítással kivédhetőek a betegség tünetei. A galaktozémiát a galaktóz-1-foszfát uridil transzferáz (GALT) gén recesszív mutációja okozza, amely szérumban galaktóz felhalmozódáshoz vezet, és idegrendszeri károsodásokat eredményez. A fenilketonuriára a fenilalanin-hidroxiláz (PAH) enzim defektusa miatti fenilalanin felhalmozódás jellemző, amely súlyos neurológiai elváltozásokhoz vezethet. A galaktozémia esetében élethosszig tartó galaktózmentes (laktózmentes) diéta, a fenilketonuriánál tirozinnal kiegészített fenilalanin-mentes (fehérjeszegény, vegán) diéta jelenti a terápiát.

A nyugati társadalmakat érintő népbetegségek, mint például a rák, az elhízás, a cukorbetegség vagy a kardiovaszkuláris betegségek – kialakulásának hátterében általában nem egyetlen gén, hanem több génben megjelenő genetikai variációk kombinációja áll (poligénes megbetegedések). Ennek megfelelően az ilyen betegségek kialakulásának éterenddel történő megelőzése egy összetett feladat, mert a többféle genetikai eltérés mellett sokféle környezeti hatás együttesen alakítja ki a fenotípust (multifaktoriális megbetegedések). Például nem csak annak a részletes ismerete szükséges hozzá, hogy az egyes tápanyagok hogyan befolyásolják egy biológiai szervezet működését, hanem hogy az étrendben a különböző tápanyagok keveréke együttesen hogyan hat a szervezet működésére. A különböző genetikai variációk és az étrend együttes szerepének meghatározása az ilyen népbetegségekre kialakulásában egy rendkívül összetett feladat, amely széleskörű és nagy esetszámú tanulmányokat igényel.

Ennek ellenére egyre több tanulmány hoz összefüggésbe számos génben széles körben előforduló polimorfizmusokat (főként SNP-k) és az elhízás, a metabolikus szindróma vagy a kardiovaszkuláris betegségek kialakulásával. Ezek a kutatások általában szekvencia eltéréseket vizsgálnak, amelyek valamilyen specifikus metabolikus útvonalat módosítanak. A következőkben a táplálkozással és a betegségekkel összefüggésbe hozható legfontosabb SNP részletes tárgyalása következik.





Krónikus megbetegedések nutrigenetikája:

Metilén-tetrahidrofolsav reduktáz gén (MTHFR):

A metilén-tetrahidrofolsav reduktáz gén 677-es citozin nukleotidjának timin szubsztitúciója és az 1298-as adenin citozin szubsztitúciója csökkenti az MTHFR fehérje enzimaktivitását. A metilén-tetrahidrofolsav reduktáz a metilén-tetrahidrofolsavat metil-tetrahidrofolsavvá redukálja, amely kofaktorként /metilt donorként funkcionál a metionin homociszteinből történő szintézisekor. Ennek következtében a variánsokat hordozók plazma homocisztein szintje megemelkedik, ami megemeli a stroke, a vastagbélrák valamint különböző velőcső záródási problémák kialakulásának a kockázatát. Számos tanulmány szerint a polimorfizmust hordozók esetében metil-tetrahidrofolsav pótlással, magasabb folsav, B6 és B12 vitamin bevitellel mérsékelhetőek a szövődmények.

Lipoprotein lipáz (LPL):

A lipoprotein lipáz a vérben a kilomikronok és VLDL partikulomok triglicerid tartalmát zsírsavakra és monogliceriddé vagy glicerinné bontja le. A zsírsavakat a környező sejtek felveszik és felhasználják, a monoglicerid és a glicerin a vérrel a májba jut. Számos tanulmány több, az LPL működését érintő polimorfizmust emelkedett szérumszintű triglicerid (TG) szinttel hozta összefüggésbe, ami kardiovaszkuláris megbetegedések, elhízás és cukorbetegség kialakulását indukálta. Az egyik ilyen gyakori, jól jellemzett polimorfizmus a 495G HindIII polimorfizmus, amely magasabb szérumszintű TG és alacsonyabb HDL szintet okoz. Azt figyelték meg, hogy környezeti hatások, mint például mozgás, diéta javíthatják ezeket az eltéréseket, de a 495G HindIII polimorfizmus különböző allélvariánsainál a javító hatás mértéke eltérő volt. A H2H2 (homozigóta) allél esetén magasabb volt a plazma VLDL és TG szintje, mint heterozigóták (H1) esetén. A H2H2 és H1 allélt hordozók esetében is csökkent kalória megvonás hatására a plazma lipidek szintje, viszont a H2H2 allél esetén ez a csökkenés nagyobb mértékűnek bizonyult.

Apolipoprotein A1 (APOA1):

Az Apolipoprotein A1 fehérje a plazma HDL partikulum egyik fő alkotórésze, amely a perifériás szövetektől a májba történő koleszterin transzportot végző lipoprotein. Az APOA1 fehérje hozzájárul a perifériás sejtekből az ABCA1 segítségével a HDL partikulumba történő koleszterin transzportozáshoz. Számos tanulmány bizonyította, hogy étrendi tényezők,





pl. többszörösen telítetlen zsírsavak (PUFA) fogyasztása befolyásolja a plazma HDL szintjét. Az ún. Framingham tanulmányban azt találták, hogy az APOA1 gén promóter régiójának G-75A polimorfizmusa befolyásolja a PUFA fogyasztásának HDL szintet módosító hatását nőknél. Az „A” variáns allélt hordozók esetében az összenergia-bevitel 8%-át meghaladó PUFA fogyasztás hatására emelkedett a HDL szint a vérben. Míg a vad típusú „G” allél jelenléte esetén fordított arányosság volt megfigyelhető a PUFA fogyasztás mértéke és a HDL szint között. -75G polimorfizmusnál akkor nőtt a HDL szint, ha a PUFA fogyasztás mértéke nem haladta meg az összenergia-bevitel 4%-át. Ilyen jellegű összefüggéseket csak a nők esetében lehetett kimutatni, a férfiak APOA1 G-75A polimorfizmusa nem befolyásolta a PUFA fogyasztás szérumban HDL szintre kifejtett hatását.

Apolipoprotein E (APOE):

Az ApoE fehérje a szérumban kilomikron, VLDL, HDL partikulumban található meg és a májsejteken lévő LDL és kilomikron receptorok lipoprotein partikulumokban lévő ligandjaként funkcionál. ApoE deficiencia a vér apoB-48, apoA-IV és apoB-100 tartalmú koleszterinben gazdag lipoproteinjeinek erőteljes felhalmozódását okozza. Az apoE lókuszon három különböző allél változata fordul elő a kaukázusi populációban, a leggyakoribb (77%) az E3 variáns jelenléte, az E2 változat 8%-os, az E4 15%-os előfordulási gyakoriságot mutat. Az általuk kódolt ApoE variánsok a receptor-kötő doménjükben különböznek egymástól, amelyek a köztük lévő funkcionális eltérések alapját is adhatják. Populációs vizsgálatok arra az összefüggésre jutottak, hogy a plazma koleszterin és LDL koleszterin szintje az ApoE4 izoformát hordozó egyéneknél a legmagasabb, köztes szintű az ApoE3 és legalacsonyabb az ApoE2 allélt hordozók esetében. Az ApoE3/E4 genotípus esetén az étrendtelített zsírtartalmának mennyisége és a szérumban LDL koleszterin szint között egy erős pozitív korreláció figyelhető meg, minél magasabb a bevitt telített zsírsavak mennyisége, annál magasabb az LDL koleszterin szintje. Az ApoE3/E3, E3/E2 és E2/E2 genotípusoknál nem sikerült összefüggést igazolni az LDL koleszterin és a telített zsírsavak fogyasztásának mértéke között. Férfiak esetében az apoE lókuszon variabilitása az alkoholfogyasztás LDL koleszterin szintre kifejtett módosító hatását is befolyásolja. Mégpedig az ApoE4 allélt hordozóknál az alkoholfogyasztás növeli, míg az ApoE2 allél esetén csökkenti az LDL koleszterin szintet.

ATP-binding cassette transzporter G5 (ABCG5):





Az ATP-binding cassette (ABC) transzporterek lehetővé teszik bizonyos anyagok extra- és intracelluláris membránokon keresztüli transzportját. Az ABCG5 fehérje főként a májban és a bélrendszer területén expresszálódik és a szterolok bélrendszerben történő felszívódásáért és epével történő ürülésében játszik fontos szerepet. A táplálkozással bevitt koleszterin fokozott felszívódása emelkedett plazma koleszterin szintet eredményez, amely fokozza a hiperlipoproteinemia és ateroszklerózis kialakulásának esélyét. Az ABCG5 gén C1950G polimorfizmusát a táplálkozással bevitt koleszterin fokozott felszívódásával hozzák összefüggésbe. Ezeknél az eseteknél megoldást jelenthet a koleszterin felszívás gátlása (pl. fitosztanol észterekkel) egy élethosszig tartó terápiában. Például az USA-ban már elérhető fitosztanol észterrel kiegészített margarin (Benecol néven), amely ún. sitosztanol (C29-es telített növényi szterol) zsírsav észterét tartalmazza. Ennek a klinikailag tesztelt terméknek a fogyasztása jelentősen csökkenti a koleszterin táplálékból történő felszívását és ezáltal a csökkenti a plazma koleszterin szintjét.

Nutrigenomika

A nutrigenomika az étrend különböző komponenseinek a genom „működésére” kifejtett hatásait vizsgálja és felderíti, hogy a kiváltott hatásokért pontosan milyen folyamatok lehetnek felelősek. Gyakorlatilag az ún. omika technikák eszköztárának felhasználásával térképezi fel, hogy egy tápanyag inger milyen választ vált ki a sejtben/szervezetben, és ezáltal lehetővé teszi annak a részletesebb megértését, hogy a különböző tápanyag hogyan szabályozzák a metabolikus folyamatokat és hogyan irányítják a homeosztázis fenntartását. A sejt táplálék stimulusra adott válaszreakcióit a génexpresszió szabályozás különböző szintjein történő változások összessége adja meg. A különböző, egymásra épülő szabályozási szintek a következők: a legalsó szintet maguk a gének képviselik, amelyet a strukturális genomika vizsgál. A következő szintet a gének átírása és működése jelenti, amellyel a funkcionális genomika (epigenomika és transzkriptomika) foglalkozik. A gének által kódolt fehérjék tényleges megjelenését és szabályozását a proteomika tudománya tanulmányozza. A legfelső szintet a metabolomika vizsgálja, amely már a létrejött fehérjék működéséről ad felvilágosítást az általuk katalizált reakciók közti- és végtermékeinek feltérképezésével. A strukturális genomika tudománya leegyszerűsítve az adott faj genomját alkotó összes gén feltérképezésével, szekvenálásával, azonosításával definiálható. A funkcionális genomika –

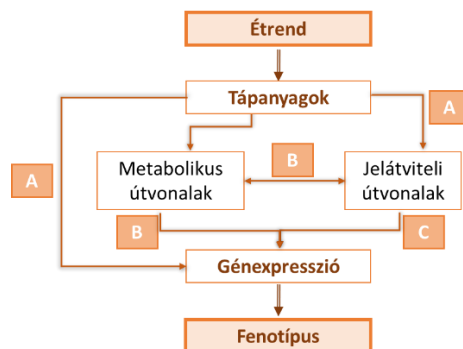




ennek kiegészítéseként – már a különböző gének funkciójának, a közöttük lévő kölcsönhatások és működési hálózataik megismerését is magába foglalja. A funkcionális genomika egyik részterülete a transzkriptomika, amely a genom átíródását, az adott körülmények között a genomról képződő RNS populációt tanulmányozza. A gének átírásán túl a génextpresszió magasabb szintjeinek részletes tanulmányozására is van szükség, mert a valóságban egy összetett biológiai rendszer működése nem egyszerűsíthető le az egy mRNS-egy fehérje-egy metabolit dogmára. Ennek részeként a proteomika egy biológiai mintában előforduló fehérjék teljes körű jellemzését végzi, meghatározza a különböző fehérjék jelenlétét, mennyiségét, eloszlását, poszttranszlációs módosításait és más (makro)molekulákkal való kölcsönhatását is. A metabolomika leegyszerűsítve egy sejtben, szövetben vagy biológiai mintában előforduló metabolitok kvantitatív analízisét végzi, egy részletes képet adva az adott biológiai rendszer aktuális működéséről.

A tápanyagok génextpressziót befolyásoló hatásmechanizmusai:

Számos tápanyag a gének expressziójának közvetlen vagy közvetett módosításán keresztül van hatással a humán genom működésére. Ez megvalósulhat úgy, hogy az adott tápanyagok közvetlenül, transzkripciós faktorok ligandjaiként („A” útvonal) fejtik ki szabályozó hatásukat. Egy másik lehetőség, hogy a tápanyagok közvetetten, bizonyos intermedierek vagy szubsztrátok koncentrációjának módosításával különböző metabolikus útvonalakon keresztül éri el a génextpresszió megváltozását („B” és „B+C” útvonal). A harmadik esetben a tápanyagok bizonyos jelátviteli útvonalak működését modulálják, és ezeken keresztül befolyásolják a génműködést („A+C” útvonal). A tápanyagok génextpressziót módosító hatásait a következő sematikus ábra szemlélteti.



(1) közvetlenül - transzkripciós faktorok ligandjaiként („A” útvonal)





Számos tápanyag köztudott, hogy sejtmagi receptorok ligandja. A nukleáris receptorok ligand-aktivált transzkripciós faktorok, így a receptorhoz kötődve, annak aktivitásának módosításával befolyásolják a célgének kifejeződését. Például nagyon sok (nem az összes) zsírsav metabolizmusban szerepet játszó gén expresszióját a PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor családba tartozó sejtmagi receptorok szabályozzák. A zsírsavak közül a palmitinsav (16:0), az olajsav (18:1 n9), a linolénsav (18:2 n6), az arachidonsav (20:4 n6) vagy az eikozanoidok közvetlen ligandjai a különböző PPAR (PPAR α , PPAR δ , PPAR γ) receptoroknak. Így ezek a sejtmagi receptorok sejten belüli zsírsav szenzorokként működnek.

(2) metabolikus útvonalakon keresztül – intermedierek vagy szubsztrátok koncentrációjának módosításával

(„B” útvonal) Az előbb részletezett útvonal mellett a zsírsavak fontos energiahordozók, a β -oxidáció útján részt vesznek a sejt energiatermelésében. A sejt energiaháztartásának és NAD homeosztázisának módosításán keresztül, közvetetten is beleszólhatnak a gének szabályozásába. A zsírsavak oxidációja során a mitokondriális elektron transzportlánc működése következtében NAD reoxidáció történik. A NAD számos kromatin szerkezetet módosító enzim kofaktora, így a zsírsavak jelenléte a sejtben közvetetten befolyásolja azok aktivitását. Ennek hatására a kromatin szerkezetben bekövetkező változások transzkripciós változásokhoz vezetnek.

(„B+C” útvonal) A koleszterin metabolizmusa során keletkeznek olyan intermedierek, amelyeket a sejt felhasznál a szteroid hormonok szintézise során, vagy azok szabályozzák a szteroid hormonok szintézisét végző enzimek aktivitását. Így a koleszterin közvetetten befolyásolhatja a szteroid hormonok szintjét és az általuk kiváltott jelátvitelt. Mivel a szteroid hormonok receptorai (ER) ugyancsak a sejtmagi receptorok családjában tartoznak, így működésük közvetlenül génexpresszió módosításhoz vezet.

(3) Közvetlenül, jelátviteli útvonalak módosításán keresztül („A+C” útvonal)

A zöld tea polifenol típusú hatóanyaga, a 11-epigallocatechin-3-gallate (EGCG). Az EGCG gátolja a Her-2/neu és EGF receptort kináz aktivitását, mellyen keresztül a foszfatidil-inozitol 3-kináz (PI-3) - Akt kináz - NF- κ B útvonal gátlásán keresztül a transzkripció módosítását eredményezi. A rizsben megtalálható inozitol hexafoszfát (InsP6) ugyancsak az EGF receptor gátlásán keresztül a foszfatidil-inozitol 3-kináz (PI-3) jelátviteli útvonal gátlásával módosítja a transzkripciót. A rezveratrol, a genistein, a retinsav ugyancsak olyan





bioaktív tápanyagok, amelyek különböző jelátviteli útvonalak aktivitását módosítják a sejtben.

Táplálkozási genomika: PUFA bevitel – PPAR α genetikai variánsok

A nutrigenetika információt szolgáltat az egyén táplálkozáshoz kapcsolódó genetikai adottságairól, a nutrigenomika pedig kiegészítő ismereteket nyújt a tápanyagok génműködésre gyakorolt hatásmechanizmusairól. A két terület eredményeinek összekapcsolódását, a táplálkozási genomika megvalósulását és egy személyre szabott táplálkozás kialakítását a következő példa jól szemlélteti. A PPAR α zsírsav szenzor különböző genetikai variánsainál a többszörösen telített zsírsavak (PUFA) fogyasztása eltérő hatással lehet a szérumban a lipoproteinek (apoC-III) és triglicerid (TG) szintjére. A PPAR α L162V SNP-t hordozó allél változata eltérő transzaktivációs aktivitással rendelkező receptort eredményez. A 162V allélt hordozók esetében az alacsony PUFA bevitel (az összenergia bevitel kevesebb, mint 6 %-a) magasabb plazma TG és apoC-III koncentrációt, míg a magasabb PUFA bevitel (az összenergia bevitel több, mint 8 %-a) alacsonyabb plazma TG és apoC-III koncentrációt eredményez. A 8 %-nál magasabb PUFA bevitelnél a szérumban a TG szint 4 %-kal alacsonyabb is volt a 162V polimorfizmust hordozók esetében, mint a vad típusú 162L allélra homozigótáknál. Tehát megállapítható, hogy a PPAR α L162V polimorfizmus plazma TG és apoC-III szintre kifejtett hatása a táplálkozással bevitt PUFA mennyiségtől függ.

Irodalomjegyzék

Constantin and Wahli, *Nutrafoods* (2013) 12:3-12 – Nutrigenomic foods

Subbiah, *Omics* Vol. 12, Nu. 4, 2008 – Understanding the Nutrigenomic Definitions

Mutch *et al.* *FASEB J.* 19, 1602-1616 (2005) – Nutrigenomics and nutrigenetics: the emerging faces of nutrition

Afman and Müller, *J Am Diet Assoc.* 2006;106:569-576. – Nutrigenomics: From Molecular Nutrition to Prevention of Disease





TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

Ordovas and Schaefer, British Journal of Nutrition (2000), 83, Suppl. 1, S127–S136); Loktionov et al., British Journal of Nutrition (2000), 84, 885-890)

Corella et al., Am J Clin Nutr April 2001 vol. 73 no. 4 736-745

Kaput and Rodriguez, Physiol. Genomics 16:166-177, 2004.

E. Shyong Tai et al. J. Nutr. 2005;135:397-403

Ordovas, J Am Diet Assoc. 2006;106:1074-1081.

Nutritional Genomics: Discovering the Path to Personalized Nutrition 2006 by John Wiley & Sons, Inc.

Nutrigenomics and Proteomics in Health and Disease: Food Factors and Gene Interactions 2009 Wiley-Blackwell ISBN: 978-0-813-80033-2





6. Nutrigenomika – Sejtszintű tápanyag érzékelés

A nutrigenomika tudománya azt vizsgálja, hogy a táplálék különböző összetevői milyen hatással vannak az egyén genomjának működésére. Az egyes nutriensek hatásainak feltárásához először meg kell ismernünk, hogy az egyes táplálék komponensek jelenlétét vagy hiányát a sejten belül milyen faktorok és szignalizációs mechanizmusok érzékelik.

A táplálék összetevőit – a szükséges mennyiségük alapján – makro- és mikronutriensekre oszthatjuk fel. A makronutriensek a fehérjék, szénhidrátok és zsírok, amelyeket nagy mennyiségben fogyasztunk és főként a szervezet működéséhez szükséges energiát biztosítják. A mikronutriensekből – mint például a különböző vitaminok, ásványi anyagok, esszenciális aminosavak és bizonyos zsírsavak – sokkal kevesebb mennyiségre van szükségünk, viszont ezek számos folyamatban elengedhetetlen szabályozó funkciót tölthetnek be. Mindkét tápanyag csoportból származó komponensek közvetett és közvetlen módon is képesek módosítani a gének kifejeződését. Egyes esetekben a makronutriensek lebontásából származó tápanyagok egy szisztémás hormonválaszt váltanak ki (szénhidrátok-glükóz-inzulin), amely a célsejtek jelátviteli útvonalainak módosításán keresztül génexpressziós és sejtfunkciós változásokhoz vezet. Bizonyos tápanyag komponensek (többszörösen telítetlen zsírsavak, A vitamin) bejutnak a célsejtekbe és ott transzkripciós faktorok működését befolyásolják és így közvetlenül a gének transzkripciójára fejtik ki hatásukat (gene switches).

A következő táblázat a főbb tápanyagokat érzékelő intercelluláris szenzorokat tartalmazza:

Tápanyag	Komponens	Transzkripciós faktor/szenzor
Makronutriensek		
zsírok	zsírsavak	SREBPs, ChREBP, PPARs, LXR
	koleszterin	LXR, FXR, PXR
szénhidrátok	glükóz	SREBPs, ChREBP, USFs
fehérjék	aminosavak	C/EBPs, <i>mTOR</i>
Mikronutriensek		
vitaminok	A vitamin	RAR, RXR
	D vitamin	VDR
	E vitamin	PXR





Az egyes tápanyag szenzorok felépítésének és működésének részletes áttekintése:

Zsírsav szenzorok:

Az étrenddel bevitt zsírokban a hosszú szénláncú zsírsavaknak négy fajtája fordul elő, ezek a telített zsírsavak, egyszeresen telítetlen (n-9) zsírsavak (MUFA) és többszörösen telítetlen (n-3 ill. n-6) zsírsavak (PUFA). A telítetlen zsírsavak is a transzkripció módosításán keresztül fejtik ki a sejtek működésére gyakorolt szabályozó hatásukat, amelyet közvetlenül transzkripciós faktorok aktivitásának modulálásával érnek el. Ilyen, zsírsavak által közvetlenül szabályozott transzkripciós faktorok a SREBP és a sejtmagi receptorok családjába tartozó PPAR és LXR fehérjék.

PPARs – Peroxisome Proliferator Activated Receptors:

A PPAR receptorok a ligand-aktivált transzkripciós faktorok sejtmagi receptorok családjába tartozó fehérjék. Felépítésüket tekintve – a sejtmagi receptorokra jellemzően – három funkcionális doménnel rendelkeznek. Centrálisan helyezkedik el a DNS-kötő domén (DBD), amely két Zn-finger motívum tartalmaz. A C-terminális régió alkotja a ligand-kötő domént (LBD), amelyben megtalálható a transzaktivációért felelős ligand-függő aktivációs modul (AF2). Az N-terminális domén (NTD) területén egy ligand-független aktivációs modul (AF1) helyezkedik el. Agonista ligand kötődés esetén az LBD-ben egy konformációs változás megy végbe, és az így létrejött hidrofób tulajdonságokkal rendelkező régió kölcsönhatást alakít ki koaktivátor – mint például a Mediátor, hiszton acetiltranszferáz (HAT) és hiszton metiltranszferáz (HMT) – komplexekkel, amely a célgénnek transzkripciójának aktivációjához vezet. Ligand kötődés nélkül a LBD egy olyan szerkezetet vesz fel, amely korepresszorokkal való kapcsolódásnak és transzkripció gátlásnak kedvez. Legfőbb ligandjai a telítetlen zsírsavak és azok származékai. Ligandjainak egyik fontos csoportját képezik a többszörösen telítetlen zsírsavak (PUFA), mint például az α -linolénsav (C18:3), az arachidonsav (C20:4) vagy az eikozapentaénsav (EPA) (C20:5). A PPAR receptorok a Retinoid X Receptor (RXR) család tagjaival heterodimert képezve képesek a DNS-hez kötődni. Az RXR ugyancsak egy sejtmagi receptor, amelynek a 9-cisz-retinsav (A vitamin származék) a ligandja. A heterodimerizáció PPAR ligand kötésétől független is végbemegy. A PPAR-RXR heterodimer célszekvenciája a PPREs (proliferator response elements), amely a





sejtmagi receptorokra jellemző ún. DR1 motívumot tartalmaznak. Ebben két hexanukleotid repeat helyezkedik el fej-farok irányban, amelyet egy tetszőleges nukleotid választ el egymástól (AGGTCA-N-AGGTAC). A humán genomban előforduló PPRE motívumok 10%-a proximális promóterekben, 50%-a pedig intergenikus régiókban helyezkedik el. Amellett, hogy a PPAR receptorok erőteljes transzkripciós aktivátorok, bizonyos esetekben adott célgének repressziójával hozzák összefüggésbe őket. Ezekben az esetekben a ligand kötődése feltételezhetően stabilizálja a PPAR-korepresszor kölcsönhatást a promotereken, amely a transzkripció gátlásához vezet. Ilyen transzrepresszálo hatást számos gyulladást kiváltó gén, mint például az NF- κ B (Nuclear factor- κ B), az AP1 (Activator protein 1) és a STATs (signal transducers and activators of transcription proteins) esetében is leírták, amely a PPAR receptorok gyulladásgátló hatásáért felelőssé tehető. Ez a mechanizmus adhatja az egyik összetevőjét annak a folyamatnak, ahogyan a PUFA fogyasztás hozzájárulhat a szív- és érrendszeri megbetegedések megelőzéséhez.

A PPAR receptorok a zsírsav metabolizmus egyik fő szabályozói, így főként az aktív lipid metabolizmussal rendelkező szövetekben expresszálódnak. A PPAR receptorok három (PPAR α , PPAR β/δ és PPAR γ) típusát írtak le, amelyek eltérő szövetekben fejeződnek ki, és eltérő folyamatokat/célgéneket szabályoznak. A PPAR α a zsírsav oxidáció (FAO) egyik fő aktivátora, így főként olyan szövetekben expresszálódik, amelyekre nagymértékű mitokondriális és peroximális β -oxidáció jellemző (máj, izom, barna zsírszövet). A szérum triglicerid szintet csökkentő ún. fibrát hatóanyagú gyógyszerek a PPAR α aktivitásának fokozásával fejtik ki hatásukat. Közel minden szövetben kifejeződik a PPAR β/δ receptor, amely egy általános funkcióval bír az oxidatív metabolizmus aktiválásában. A PPAR γ génről alternatív splicing során két izoforma termelődik, a PPAR γ 1 és a PPAR γ 2. A PPAR γ 2 izoforma kizárólag a zsírszövetre specifikus, míg a PPAR γ 1 kisebb mennyiségben más szövetekben is előfordul. A PPAR γ receptorok a zsírsejt differenciációnak a fő aktivátorai, valamint a más szövetekben a lipogenezis (zsírsav szintézis) indukálásának egyik fontos irányítói.

LXR – Liver X Receptor:

A sejtmagi receptor család egy másik tagja, a Liver X Receptor (LXR) fontos szabályozó funkciót tölt be a koleszterin, a zsírsav és glükóz homeosztázis fenntartásában, a metabolizmus és a gyulladással kapcsolatos folyamatok irányításában. Mivel az LXR receptor





ligandjai az oxiszterolok és a koleszterin metabolizmus egyéb származékai, mint például a 22(R)-hidroxi-koleszterin, a 24(S)-hidroxi-koleszterin vagy a 24(S),25-epoxi-koleszterin, ezeket a receptorokat koleszterin szenzoroknak is nevezik. Az LXR receptor ugyancsak a Retinoid X Receptor (RXR) család tagjaival heterodimert képezve képesek a DNS-hez kötődni. (A Retinoid X Receptor ligandja a 9-cisz-retinsav.) Az általuk felismert célszekvenciát LXREs -nek (liver X response elements) nevezzük, amelyek a sejtmagi receptorokra jellemző ún. DR4 motívumot tartalmaznak. Ebben két hexanukleotid repeat helyezkedik el fej-farok irányban, amelyet négy tetszőleges nukleotid választ el egymástól (AGGTCA-NNNN-AGGTAC). Eddig két LXR izoformát azonosítottak: az LXR α izoforma főként a májban, de vesében, bélben, zsírszövetben és a makrofágokban is termelődik, míg az LXR β forma kifejeződésére az általános expresszió a jellemző. Az LXR receptorok mind a sejten belüli, mind a keringésben lévő koleszterin homeosztázisának fontos szabályozói. A koleszterin katabolizmusát és a sejtől történő eliminációját végző faktorok expressziójának szabályozásával részt vesznek a reverz koleszterin transzport bonyolult folyamatának irányításában is. Például az ATP-binding cassette (ABC) transzporter gének (ABCA1, ABCG1, ABCG5 és ABCG8) és az Apolipoproteinek (apoE, apoC-1, apoC-IV, apoC-II) kódoló génklaszter átírásának aktiválásával fokozzák az intracelluláris koleszterin efflux folyamatát. A különböző metabolikus megbetegedések (pl. hiperlipidémia, arterioszklerózis) megjelenésének csökkentéséhez az LXR aktivitásának táplálkozással vagy gyógyszeres úton történő módosítása egy ígéretes megközelítésnek látszik. Ezt alátámasztja az is, hogy funkcionális LXR α -t nem termelő egerek alacsony koleszterin tartalmú diétán tartva egészségesek voltak, míg magas koleszterin tartalmú diétán tartva májmegnagyobbodás és májfunkciós zavarok alakultak ki náluk. Hasonlóan ígéretes tény, hogy több kísérletben az egyszeresen telítetlen (MUFA) és többszörösen telítetlen (PUFA) zsírsavak antagonistá hatású LXR α ligandoknak bizonyultak és gátolták az LXR α transzkripciót aktiváló hatását.

SREBP – Sterol Regulatory Element Binding Protein1

A metabolikus és hormonális hatások, mint például a glükóz, az inzulin vagy a glükagon is transzkripciós faktorok aktivitásának módosításán keresztül szabályozzák a glikolízis vagy a lipogenezis génexpressziós programját. Ilyen aktivitású transzkripciós faktorok a hélix-loop-hélix leucine zipper családba tartozó Sterol regulatory element binding protein (SREBP), amelyek az inzulin zsírsav és triglicerid (TG) szintézisre, valamint a





sterolok koleszterin metabolizmusra kifejtett hatását közvetítik.

A SREBP fehérjék a májsejtek transzkripciós faktorainak egyik fontos csoportját képezik, amelyek a zsírsavak, a trigliceridek és a koleszterin metabolizmusában részt vevő gének expresszióját szabályozzák. A SREBP fehérjék családját a SREBP-1a, a SREBP-1c és a SREBP2 fehérjék alkotják. A SREBP-1a és SREBP-1c mRNS-ek eltérő promóterek használatával ugyanazon génről termelődnek, és a képződő fehérjék csak az N-terminális régióikban különböznek egymástól. SREBP-1c fehérje a májban képződő izoforma, míg a SREBP-1a az immunrendszer különböző sejttypusaiban termelődik. Bár van néhány funkcióbeli átfedés a különböző SREBP fehérjék között, a SREBP1-c elsősorban a zsírsav bioszintézist végző faktorok transzkripciójáért felelős, míg a SREBP-2 a koleszterin metabolizmus génjeinek aktivációját végzi. Az aktivált SREBP-1c homodimer formában kötődik a célgénjei promóterében megtalálható SRE (Sterol Regulatory Element) szekvenciákhoz. Az SREBP-1c fehérjét az inzulin és PUFA szint aktiválja, amely a különböző, zsírsavak és trigliceridek szintézisét végző enzimek mRNS-einek transzkripcióját indukálja (mint például az ATP-citrát liázét (ACL), az acetyl-CoA szintetázét (ACS), az acetyl-CoA karboxilázét (ACC), a zsírsav szintetázét (FAS) vagy a glicerol-3-foszfát acetiltranszferázét (GPAT)). A SREBP-2 fehérjét az alacsony intracelluláris koleszterin szint aktiválja (illetve a magas koleszterin szint gátolja az aktiválódását), amely koleszterin lipoprotein partikulumokba történő felvételét és a koleszterin de novo bioszintézisét végző teljes kaskád tagjainak a transzkripcióját aktiválja (mint például az LDLR, a farnezil-pirofoszfát szintetáz, a HMG-CoA szintetáz vagy a HMG-CoA reduktáz átírását).

A SREBP fehérjék prekursor formában szintetizálódnak, amelyek két, az ER membránba beágyazást biztosító transzmembrán hélixet tartalmaznak. Az ER membránjába ágyazva megtalálhatóak a SCAP (SREBP cleavage activating protein) és az Insig fehérjék is. A SREBP fehérjék aktivációjakor a SREBP-SCAP komplexnek disszociálnia az Insig-től, majd a Golgi apparátusba transzportálódik. A Golgi SP1 és SP2 proteázai hasítják a SREBP fehérjét, melynek eredményeképpen az N-terminális citoszolikus fehérjeresz leválik és a sejtmagba belépve transzkripciós faktorként működésbe lép. A koleszterin képes kötődni az SCAP fehérje ER lumen felől elhelyezkedő 1-es loop régiójához és ezáltal gátolni a SCAP- SREBP-2 komplex Golgiba történő transzportját és proteolitikus aktivációját. Az inzulin a SREBP1-c esetében mind a transzkripciót, mind a proteolitikus átalakítást aktiválja, viszont a





SREBP-2 esetében nem fejt ki ilyen aktiváló hatást. A SREBP fehérjék sejtmagi formája rendkívül instabil, az ubiquitin-függő proteaszómális útvonalon keresztül gyorsan degradálódik. A SREBP fehérjék további poszttranszlációs módosulásai befolyásolhatják a fehérjék lebomlását és ezen keresztül az aktivitásukat. Például a CBP (CREB-binding protein) és p300 koaktivátorok a SREBP ugyanazon lizinjeit acetilálják, mint amelyek ubiquitinálódnak is, így az ubiquitináció szupresszállásával a SREBP stabilizálódását és célgénjei aktivációját idézik elő. Mivel a SREBP ubiquitinációjának előfeltétele a foszforilációja, az inzulin a SREBP foszforilációjának gátlásán keresztül hozzájárul a SREBP stabilizálásához.

A SREBP fehérjék aktivitásának táplálkozással történő modulálását célzó kutatások azt bizonyították, hogy a többszörösen telítetlen zsírsavak egyrészt magának a SREBP-1c génnek az expresszióját, másrészt a SREBP-1c fehérje proteolitikus aktiválását is csökkentik. A többszörösen telítetlen n-3 zsírsav, a dokozahexaénsavról (DHA) igazolták, hogy elősegíti a SREBP-1 sejtmagi formájának a 26S proteaszóma rendszeren keresztüli lebomlását. Így a PUFA, különösen a DHA fogyasztás jelentősen gátolja a májban a lipogenezis gének expresszióját.

ChREBP – Carbohydrate-responsive element-binding protein

A Carbohydrate-responsive element-binding protein (ChREBP) a glikolízis és a lipogenezis szabályozását végző transzkripció faktor, amelyet – az inzulintól függetlenül – a magas glükóz szint aktivál. A ChREBP egy glükóz szenzorként funkcionál, a glikolízis és *de novo* zsírsav szintézis központ irányító molekulája a májsejtekben. A ChREBP egy hélix-loop-hélix leucine zipper (bHLH/LZ) családba tartozó transzkripció faktor. Egy másik, ugyancsak bHLH/LZ típusú transzkripció faktorral, a Max-like protein X (MLX) fehérjével heterodimert képezve képes a célgénjei promótereiben előforduló Carbohydrate-response elements (ChoREs) szekvenciához kötődni. A ChREBP aktiválja például a glikolízisben részt vevő L-típusú Piruvát kináz (L-PK), a glükoneogenezisben részt vevő glükóz-6-foszfát katalitikus alegységének (G6PC), a lipogenezisben részt vevő zsírsav szintetáz (FAS), az acetyl-CoA karboxiláz 1 (ACC1) és a sztearyl-CoA desaturáz 1 (SCD1) átírását.

Szerkezeti felépítését tekintve a ChREBP fehérje N-terminális régióját egy glükóz-érzékelő modul (GSM) alkotja, amely egy „glucose inhibitory domain” (LID) és egy „glucose response activation conserved element”





(GRACE) régióból tevődik össze. Ebben a régióban található két sejtmagi export szignál (NES1/2) és egy sejtmagi lokalizációs szignál (NLS) is. Alacsony glükóz szintnél a fehérje ezen N-terminális régiója intramolekuláris kölcsönhatással egy olyan térszerkezetet vesz fel, ami gátolja a ChREBP DNS kötését és transzaktiváló aktivitását. Emelkedett glükóz szintnél a metabolizmus termékei represszálják ezt az intramolekuláris kölcsönhatást. A ChREBP három további funkcionális doménnel rendelkezik: tartalmaz egy prolin-gazdag régiót, egy bHLH/LZ DNS-kötő és egy ZIP-like domént. A GSM és a bHLH/ZIP domén területén található számos olyan aminosav, amelyeken a ChREBP aktivitása szempontjából fontos poszttranszlációs módosítások mennek végbe. Például a ChREBP sejtmagi transzportjához és aktiválásához elengedhetetlen a fehérje foszforilációja és defoszforilációja is. A ChREBP fehérje aktivitását fokozza a magas glükóz szintnél a bHLH/LZ domén területén a 672-es lizin p300 hiszton acetiltransferáz (HAT) általi acetilációja. Hasonló hatást fejt ki az O-GlcNAc transferase (OGT) enzim aktivitása, amely a ChREBP szerin/treonin aminosavain egy O-glikozil-N-acil módosítást hoz létre.

Alapállapotban (éhezésnél vagy alacsony glükóz szintnél) a cAMP-függő protein kináz (PKA) a 196-os és a 626-os szerinen és a 66-os treoninon, míg az AMP-aktivált protein kináz (AMPK) az 568-as szerinen foszforilálja a ChREBP fehérjét és az a citoplazmában helyezkedik el. Magas glükóz szintnél a pentóz-foszfát ciklus egyik intermedierje, a xilulóz-5-foszfát (X5P) aktiválja a protein foszfátáz 2A-t (PP2A), amely defoszforilálja a ChREBP fehérjét és ezáltal lehetővé teszi a sejtmagi transzportját, Mlx fehérjével történő heterodimerizációját és aktivációját. Újabb eredmények alapján a xilulóz-5-foszfát mellett a glükóz metabolizmus első intermedierje, a glükóz-6-foszfát (G6P) és a glikolízis, glükoneogenezis fő szabályozója, a fruktóz-2,6-bifoszfát (F2,6P2) is a ChREBP aktivátor molekulája.

A ChREBP fehérje glikolízis és zsírsav szintézis szabályozásában betöltött központi szerepét támasztja alá az is, hogy a ChREBP hiánya a máj energia metabolizmusának felborulásához. Emellett a ChREBP folyamatos aktivitása hozzájárulhat a hosszantartó túltáplálás okozta megbetegedések kialakulásához. Ezt támasztja alá az a tény is, hogy az elhízás egér modelljében (ob/ob) a ChREBP expressziója és sejtmagi lokalizációja a májsejtekben jelentősen megnövekedett. Az ob/ob egerek májában a ChREBP aktivitásának lecsökkentésével lecsökkent a zsírsav szintézisért felelős faktorok expressziója és a *de*





novo lipogenezis is. Ezek az egerek a csökkent trigilcerid értékek mellett jobb glükóz toleranciával és inzulin érzékenységgel is rendelkeztek. Mindezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy a ChREBP fehérje aktivitásának módosítása egy eredményes irányvonal lehet a metabolikus szindróma kezelésében.

Aminosav érzékelés – mTOR:

Mivel a sejt környezetében az aminosav ellátottság folyamatosan változhat, így a sejtekben többféle mechanizmus is kialakult a rendelkezésre álló aminosavak érzékelésére, valamint hogy a sejt összehangolja az aminosav és energia készleteket az aminosav fogyasztó folyamatokkal. Energia vagy aminosav hiány esetén a sejt leállítja az egyik legenergiaigényesebb folyamatot, a translációt, és a már meglévő fehérjék lebontásának fokozásával pótolja a hiányzó aminosavakat. Izolált sejtek esetében aminosav megvonás a fehérjeszintézis gyors szuppressziójával és a fehérjelebontás erősödésével jár együtt.

Emlős sejteknél az aminosav többlet fokozza a fehérjeszintézist, ami aminosav megvonással visszafordítható. Mindkét jelátviteli folyamat a TOR fehérje (target of rapamycin) működéséhez kötődik. A TOR fehérjét eredetileg az alapján azonosították, hogy a rapamicin nevű immunuszuppresszáns szer ezen a fehérjén keresztül hat. A TOR fehérje szerkezeti és funkcionálisan erősen konzervált, az élesztőtől kezdve a humán sejtekig minden sejtben megtalálható. A TOR fehérje a phosphoinositide-3-kinase (PI3K)-related kinase családnak tartozó atipikus szerin/treonin protein kináz. Az mTOR (mammalian TOR) két eltérő funkcióval rendelkező komplex – az mTOR complex 1 (mTORC1) és az mTOR complex 2 (mTORC2) – felépítésében vesz részt. A sejtben belül a rapamicin komplexet alkot az FKBP12 fehérjével, és ez a komplex közvetlenül gátolja az mTOR fehérje aktivitását, amikor az az mTORC1 komplex része, míg az mTORC2 komplex tagjaként nem befolyásolja az aktivitását. Mindkét mTOR komplex nagyméretű, több alegységes komplexek, az mTORC1-nek hat, az mTORC2-nek hét ismert alegysége van. Az mTOR katalitikus alegység kívül a mLST8 (mammalian lethal with sec-13 protein 8), a DEPTOR (DEP domain containing mTOR-interacting protein) és a Tti1/Tel2 alegységek mindkét komplexben megtalálhatóak. A raptor (regulatory-associated protein of mammalian target of rapamycin) és a PRAS40 (proline-rich Akt substrate 40 kDa) fehérje az mTORC1 komplexre, míg a rictor (rapamicin-insensitive companion of mTOR), az mSin1 (mammalian stress-activated map kinase-interacting protein 1) és a protor1/2 (protein observed with rictor 1





and 2) aleggységek az mTORC2 komplexre specifikusak. Az mTORC1 komplex a legfőbb anabolikus és katabolikus folyamat, mint például a fehérjék, a lipidek és a nukleotidok szintézise, a riboszómák és a lizoszómák biogenezeise és az autofágia szabályozásában részt vesz, míg az mTORC2 a sejtsztódást és a sejtek túlélését irányítja.

Az mTORC1 upstream szabályozói

Az mTORC1 útvonal legalább öt fontos intra- és extracelluláris jelrendszer (növekedési faktorok, stressz, energiaállapot, oxigén és aminosav ellátottság) információtartalmát összegzi és ezek alapján több fontos sejtfolyamatot (fehérje és lipid szintézis, autofágia) irányít. A TSC1 (tuberous sclerosis 1) és TSC2 fehérjéből álló heterodimer – amely a Rheb (Ras homolog enriched in brain) GTPáz fehérje GTPáz aktivátor fehérjéje (GAP) – az mTORC1 komplex egyik fontos upstream regulátora. A Rheb GTP-t kötött formája kölcsönhat az mTORC1 komplexel és aktiválja annak kináz aktivitását. Mivel a TSC1/2 komplex egy Rheb GAP és átalakítja a Rheb fehérjét a GDP-kötött inaktív formájába, a TSC1/2 az mTORC1 negatív regulátora. A TSC1/2 heterodimer közvetít az mTORC1-nek számos upstream jel, mint például a növekedési faktorok, az inzulin vagy az IGF1 hatását. Ezen útvonalak effektor kinázai (az Akt, az ERK1/2, vagy az RSK1) közvetlenül foszforilálják és inaktíválják a TSC1/2 komplexet és így aktiválják a mTORC1-et. Az aminosavak – különösen a leucin és az agrinin – az TSC1/2 komplextől függetlenül képesek kiváltani az mTORC1 aktivációját. Ez a folyamat a Rag GTPázok működését igényli. Az aminosavak jelenlétében a RagA/B fehérjék GTP-t kötnek és a RagA/B-GTP heterodimer kapcsolódik az mTORC1 raptor aleggységével. Ez elősegíti az mTORC1 áthelyeződését a citoplazmából a lizoszómális felszínre, ahol a Rag-GTPázok a Ragulator komplexhez kapcsolódnak. A lizoszóma felszínén az mTORC1 kapcsolódik a Rheb fehérjéhez és ezáltal aktiválódik is. A Rag és Rheb GTPázok egy molekuláris „ÉS” kapcsolóként működnek a sejtben. Ugyanis a GTP-t kötött Rheb csak akkor tud kapcsolódni az mTORC1-gyel, ha az aminosav érzékeny Rag-Ragulator mechanizmus már a lizoszómális felszínhez irányította az mTORC1-et, ezáltal biztosítva, hogy az mTORC1 (más pozitív jelzések mellett) csakis aminosavak jelenlétében aktiválódjon.

Az mTORC1 által irányított fontosabb downstream folyamatok

A protein szintézis az egyik legjobban jellemzett mTORC1 által szabályozott folyamat. Az mTORC1 közvetlenül foszforilálja a transláció két szabályozó fehérjéjét – a 4E-BP1 (eukaryotic translation initiation



factor 4E (eIF4E)-binding protein 1) és az S6K1 (S6 kinase 1) fehérjéket – amellyel aktiválja a fehérjeszintézis. A 4E-BP1 foszforilációja megakadályozza az eIF4E fehérjéhez való kötődését, ezáltal lehetővé teszi annak eIF4F komplexbe épülését, amely a cap-függő transzláció iniciációjának az előfeltétele. Az S6K1 aktivációja számos effektoron keresztül az mRNS biogenezis valamint a transzláció iniciációjának és elongációjának az emelkedéséhez vezet.

A fehérjeszintézis szabályozása mellett az mTORC1 a lipidek szintézisét is irányítja. A mTORC1 az SREBP1/2 (sterol regulatory element-binding protein 1/2) transzkripciós faktorok aktivitásának szabályozásán keresztül irányítja a zsírsav és koleszterin szintézist. Az mTORC1 gátlása csökkenti a SREBP1 és SREBP2 fehérjék expresszióját és proteolitikus aktiválásukat és ezáltal csökkenti a lipogén gének átírását. Emellett az mTORC1 fokozza a zsírsav szintézis egyik fő szabályozójának, a PPAR- γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) expresszióját és aktivitását.

Irodalomjegyzék

Xu et al.; *Semin Liver Dis.* 2013 November; 33(4): 301–311.

Constantin and Wahli, *Nutrafoods* (2013) 12:3-12

Nutritional Genomics; 2012 by Taylor & Francis Group, LLC ISBN-13: 978-1-4398-4453-3

Laplante and Sabatini, *Cell*, Volume 149, Issue 2, 2012, 274 – 293

Yan and Lamb, *Seminars in Cell & Developmental Biology* 23 (2012) 621– 625

Chantranupong et al., *Cell* 161, March 26, 2015

Nutrigenomics and Proteomics in Health and Disease: Food Factors and Gene Interactions 2009 Wiley-Blackwell ISBN: 978-0-813-80033-2

L.I.C. Poulsen et al.; *Seminars in Cell & Developmental Biology* 23 (2012) 631– 639





TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

Nutritional Genomics: Discovering the Path to Personalized Nutrition 2006 by John Wiley & Sons, Inc.

Afman and Müller, Progress in Lipid Research 51 (2012) 63–70

Filhoulaud et al., Trends in Endocrinology and Metabolism May 2013, Vol. 24, No. 5





7. Nutriepigenetika – A táplálkozás epigenetikai hatásai

Az „epigenetika” fogalma alatt olyan, a genomot érintő öröklődő módosításokat értünk, amelyek génexpressziós változásokat okoznak, de azokat nem a DNS nukleotid szekvenciája kódolja. Az egész genomot érintő módosításokat összefoglaló néven epigenomnak nevezzük. Az epigenetikai mechanizmusok a változó környezeti körülményekre adott eltérő génexpressziós válaszok egyik fő megvalósítói. A sejt számára az egyik ilyen változó körülmény a tápanyag ellátottság. Annak részletes megismerését, hogy egy adott tápanyag milyen epigenetikai hatást, milyen mechanizmussal fejt ki a nutrigenomika egyik tudományága, a nutriepigenetika vizsgálja. Kérdéseinek megválaszolásához az epigenomika eszközeit használja fel.

Az epigenetikai módosításokat három különböző, de egymással szorosan összefüggő mechanizmusra hozza létre: a DNS metiláció, a hiszton fehérjék módosításai és a nemkódoló RNS-ek (microRNS). A miRNS-ek és az epigenetikai jelek kombinációja együttesen felelős egy gén expressziójának meghatározásáért.

DNS metiláció:

A DNS metiláció egyik leggyakoribb formája nukleotidok citozinjának 5-ös pozíciójában történik. Ezek a genomban speciális szekvenia-részletein, az CpG dinukleotidok mennek végbe (citozin után 3' irányban guanin található). A promóterek CpG szigeteinek metilációja gén csendesítéssel jár együtt, így például a háztartási gének promóterei általában demetiláltak. A DNS metiláció egy szövetspecifikus mintázatot mutat. Számos kulcsfontosságú folyamat, mint például az X kromoszóma inaktiváció, az imprinting vagy a repetitív elemek csendesítésében fontos funkciót tölt be a DNS metiláció. A DNS metilációs módosítását DNS metiltransferázok (DNMT) végzik S-adenozil-metionin (SAM) metil-donorként való felhasználásával.

Hiszton módosítások:

A hiszton fehérjéken rendkívül sokféle poszttranszlációs módosítás jelenhet meg. Ezek a módosítások elsősorban a hisztonok N-terminális régióján történnek, de számos, a globuláris domén területén megjelenő módosítást is azonosítottak. A hiszton fehérjéken megjelenő leggyakoribb poszttranszlációs módosítások:





Módosítás	Aminosav	Hisztón	Példa
acetiláció (ac)	lizin (K)	H2A, H2B, H3, H4	H3K14ac
metiláció (me)	lizin (K)	H3, H4	H3K9me3
	arginin (R)	H3, H4	H3R17me
foszforiláció (ph)	szerin (S)	H2B, H3, H4	H3S10ph
	treonin (T)	H3	H3T3ph
ubiquitináció (ub)	lizin (K)	H2A, H2B	H2BK120ub
sumoiláció (su)	lizin (K)	H2A, H2B, H4	H2BK6su
ADP-riboziláció (ar)	glutaminsav (E)	H2A, H2B, H3, H4	H2BE2ar1
deimináció (cit)	arginin (R)	H3, H4	H3R2cit
izomerizáció (iso)	prolin (P)	H3	H3P38iso

A hiszton fehérjék N-terminális régióján lejátszódó poszttranszlációs módosítások egyike azoknak a folyamatoknak, amelyek hozzájárulnak a kromatinszerkezet dinamikus átalakításához. Az ún. cisz mechanizmus modellje szerint a létrejövő módosítások a hiszton-DNS vagy hiszton-hiszton kölcsönhatás módosításán keresztül megváltoztatják a nukleoszómák szerkezetét, valamint a nukleoszómák között kialakult kapcsolatokat, amely hatások végül a kromatinszerkezet átrendeződéséhez vezetnek. A hisztonok hiperacetilált állapotát egy nyitottabb, aktívabb kromatinszerkezettel, míg hipoacetilált állapotát egy tömörebb, represszív struktúrával hozzák összefüggésbe. Egy másik elképzelés szerint a hisztonok poszttranszlációs módosításai egy transz mechanizmus által hatnak a kromatinszerkezetre. Eszerint a modell szerint a hisztonokon megjelenő módosítások különböző nem-hiszton fehérjék – például kromatinszerkezetet átrendező komplexek vagy transzkripció faktorok – kötőhelyeül szolgálnak. A poszttranszlációs módosítások egy összetett kódot hoznak létre, amelyek speciális mintázatát az arra specifikus hiszton-kötő doméneket tartalmazó fehérjék felismerik. Ilyen, módosított hiszton fehérjét kötő fehérjedomén például a metilált lizint felismerő kromodomén, vagy az acetilált lizint felismerő bromodomén.

Nemkódoló RNS-ek/microRNS-ek (miRNS):

A microRNS-ek (miRNS) rövid, általában 22 nukleotid hosszúságú nemkódoló RNS-ek. A fehérjekódoló gének kb. 30 %-ának az expresszióját miRNS-ek szabályozzák. ez úgy valósul meg, hogy a szekvencia komplementaritás alapján a cél-mRNS 3' UTR régiójához kötődik az érett miRNS és az mRNS degradációjának elősegítésével szupresszálja az adott gén kifejeződését. A miRNS-eket kódoló genomi szekvenciák is polimorfak, amely még egy szintet képvisel a génextpresszió szabályozásában.



Étrendi komponensek epigenetikai faktorok működését befolyásoló mechanizmusai

Közvetlen hatás

Az étrend komponensei kétféle mechanizmussal képesek az epigenetikai faktorok működését befolyásolni. Az étrend ún. nem-tápanyag komponensei, amelyek a sejtben nem metabolizálódnak, közvetlenül képesek a DNS metiltranszferáz és kromatin módosító enzimek aktivitását módosítani. Ilyenek például a különböző polifenolok, amelyek DNS metiltranszferázok vagy hiszton deacetilázok aktivitásának gátlásával befolyásolják az epigenomot. Jellemzően számos növényi komponens közvetlen gátló hatást fejt ki a DNS metiltranszferázokra vagy esetleg gátolja azok expresszióját. A következő táblázatban néhány, a DNS metiltranszferázok (DNMTs) aktivitását módosító nem-tápanyag komponens, azok természetes növényi forrásai és a hatásmechanizmusai vannak felsorolva:

Komponens	Forrás	Hatás
Apigenin	zeller, kamilla	DNMT inhibitor
Kávéssav	kávé	DNMT inhibitor
Kurkumin	kurkuma (sárga gyömbérgyökér)	DNMT inhibitor
Epicatechin, Epigallocatechin- gallate (EGCG)	zöld tea	DNMT inhibitor
Genistein, Daidzein	szója	DNMT inhibitor, promóter metiláció csökkentése
szulforafán	brokkoli	DNMT expresszió csökkentése

Sok növényi komponens a hiszton acetiltranszferázok (HATs) és a hiszton deacetilázok (HDACs) aktivitásának módosításával befolyásolják a hiszton acetiláció szintjét és ezáltal fejtenek ki epigenetikai hatásokat. Régóta ismert például, hogy a butirát – amely a bélrendszer mikrobiomja által összetett szénhidrátokból fermentált rövid szénláncú (C4) karbonsav – a hiszton deacetilázok I-es és II-es családjának (HDAC I és II) aktivitását gátolja. Ennek hatását számos tanulmány összefüggésbe hozza a vastagbélrák kialakulásának elkerülésével. Az intesztinális butirát és élelmi rostok fogyasztása egy jó példája a táplálkozás-mikrobiom-epigenetikai szabályozás kapcsolatának. Más, rövid szénláncú karbonsavak, mint például az acetát (C2), a propionsav (C3) vagy a valerinsav (C5) is hiszton hiperacetilációt eredményeznek, bár ezek hatékonysága elmarad a butirátétól. Másik jól ismert hatásmechanizmus, hogy a rezveratrol – ami piros



szőlőkben és így a vörösborokban fordul elő nagyobb mennyiségben – aktiválja a sirtuinokat (HDAC III). További HAT és HDAC aktivitást módosító növényi komponensek részletes felsorolása a következő táblázatban található:

Komponens	Forrás	Hatás
Allilmerkaptán	fokhagyma	HDAC inhibitor
Butirát	összetett szénhidrátok bakteriális fermentációja (vastagbél)	HDAC I és II inhibitor
Kurkumin	kurkuma (sárga gyömbérgyökér)	HDAC I és III expresszió csökkentése HAT inhibitor
Epigallocatechin-gallate (EGCG)	zöld tea	P300 exp. növelése HDAC I exp. csökkentése HAT inhibitor
Genistein	szója	HDAC exp. csökkentése HAT exp. növelése
Resveratrol	szőlő (vörösbor)	HDAC III (SIRT) aktivátor
Szulforafán (SFN)	brokkoli	HDAC inhibitor

Bár sokkal kevesebb, mint az acetiláció esetében, de néhány, a hisztonok metilációját módosító növényi komponens is ismert. Ezek jellemzően hiszton metiltranszferázok (HMTs) aktivitását vagy expresszióját, illetve hiszton demetilázok (HDMs) működését gátolják. Az ilyen aktivitást kifejtő anyagok összefoglalása a következő táblázatban található meg:

Komponens	Forrás	Hatás
Chaetocin	fokhagyma	HMT (SUV39) inhibitor
Kurkumin	kurkuma (sárga gyömbérgyökér)	HMT (EZH2) exp. csökkentés
Epigallocatechin-gallate (EGCG)	zöld tea	HMT exp. csökkentés
Genistein	szója	H3K9 me2 csökkentése
Poliamin analógok	szintetikus	HDM (LSD1) inhibitor
n-3 többszörösen telített zsírsavak (PUFA) – DHA, EPA	halolaj	HMT (EZH2) exp. csökkentés

Közvetett hatás:

Az étrend tápanyag komponensei közvetett módon is képesek epigenetikai módosításokat végrehajtani. Ebben az esetben a nutriensek, mint energiaforrások belépnek a sejt anyagcseréjébe, ennek megfelelően adott anyagcsere intermedierek mennyisége változik a sejtben. Mivel számos epigenetikai jelet módosító faktor kofaktorai vagy szubsztrátjai ezek az intermedierek, a tápanyagok az anyagcsere intermedierek mennyiségének módosításán keresztül közvetetten epigenetikai hatásokat válthatnak ki.





A DNS és hiszton metiltranszferázok működése során az S-Adenozil-metionin (SAM) biztosítja a metil-csoportot, így a SAM mennyisége és elérhetősége a DNS és hiszton metiláció egyik fontos szabályozója. A SAM a metionin ciklus során keletkezik a metionin adenozil-transzferáz (MAT) működése következtében. Metionin az 5-metil-tetrahidrofolsav-homocisztein metiltranszferáz (MTR) enzim segítségével képződik homocisztein és a folsav ciklusból származó 5-metil-tetrahidrofolsavból (5-metil-THF), amely kofaktora a B12 vitamin. A folsav ciklusban a tetrahidrofolsav 5,10-metilén-tetrahidrofolsavvá alakítását a szerin-hidroximetil-transzferáz (SHMT) enzim végzi, amely aktivitását kofaktorként a B6 vitamin szabályozza. Az 5,10-metilén-tetrahidrofolsavat a metilén-tetrahidrofolsav reductáz (MTHFR) 5-metil-tetrahidrofolsavvá alakítja és ezáltal zárul a folsav ciklus. Az étrend összetevői számos ponton képesek befolyásolni a folsav és metionin ciklus tagjainak és kofaktoraiknak a mennyiségét és ezáltal közvetetten, a SAM elérhetőségének szabályozásával módosíthatják a DNS és a hiszton fehérjék metilációs állapotát.

A hisztonok több poszttranszlációs módosítását végző enzim kofaktorát a sejt anyagcsere folyamatainak intermedierjei adják. A hiszton jeleket „író” faktorok közül a módosításhoz a hiszton acetiltranszferázok (HATs) az acetil-koenzim A-ról (acetil-CoA), a hiszton metiltranszferázok (HMTs) az S-Adenozil-metioninról (SAM) nyerik a módosító csoportot. Az acetil-CoA mennyiségét az intermedier anyagcsere, a SAM mennyiségét a metionin ciklus adja, ahol is mindkét folyamat működését az étkezéssel bevitt tápanyagok szabályozzák. A hisztonokon lévő epigenetikai jelek „törlését” végző enzimek közül a hiszton deacetilázok III-as családjának (HDAC III) működéséhez a NAD^+ koenzim a kofaktor. A hiszton demetilázok (HDMs) esetén az LSD1 családba tartozó HDM-ok kofaktora a flavin adenin dinukleotid (FAD), a JmJc családba tartozóké az α -ketoglutarát (α -KG), amelyek mennyiségét ugyancsak a sejt intermedier anyagcseréje biztosítja. Ezeken a kapcsolódási pontokon keresztül a hiszton módosító komplexek érzékelik a sejt tápanyag ellátottságából származó energia állapotát és ennek megfelelően módosíthatják az általuk szabályozott gének expresszióját.

Az étrend epigenetikai hatásai több generációra is kiterjednek, amelyet generációk közötti epigenetikai öröklődésnek nevezünk. Feltételezhetően a következő generáció adott környezethez való jobb adaptációját segítheti elő.



TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

Irodalomjegyzék

Gerhauser, Top Curr Chem (2013) 329: 73–132

J.C. Jiménez-Chillarón et al. / Biochimie 94 (2012) 2242-2263

Gut and Verdin, Nature 502, 489–498 (23 October 2013)

Zsindely N.; A dSAGA specifikus hiszton acetiláció génműködés szabályozásban betöltött funkciójának vizsgálata

Constantin and Wahli, *Nutrafoods* (2013) 12:3-12 – Nutrigenomic foods





8. A táplálék mennyiség/minőség, a sejtszintű táplálkozás és az élethossz kapcsolata

A jegyzet eddigi fejezetei azt boncolgatták, hogy a táplálék beviteli mennyisége és minősége hogyan befolyásolja például a génexpressziót. Hogyan táplálkozzunk? Milyen folyamatok zajlanak le a táplálék bevitelkor. A következő fejezet a táplálék bevitelének hiányával, vagyis az éhezéssel foglalkozik, illetve, hogy ezen éhezés milyen folyamatokat indíthat el a sejtekben. Ezek közül is az egyik legfontosabb mechanizmussal, az **AUTOFÁGIÁVAL**.

A táplálék mennyiségi csökkenésének hatására számos folyamat indulhat el az autofágia mellett. Ilyen mechanizmus lehet az öregedés, az apoptózis, az immunrendszer működésében létrejövő változások, vagy akár a génexpressziós változások is megvalósulhatnak.

Az autofágia fogalma

Mielőtt részleteibe mennénk, meg kell határoznunk, hogy miről is beszélünk pontosan, ha autofágiáról van szó. Az **AUTOFÁGIA** a lizoszómák közreműködésével megvalósuló, szigorúan szabályozott lebontó folyamat a sejtekben. Autofágiát indukálhat például éhezés, minőségi ellenőrzés, immunválasz, öregedés, neurológiai betegségek, redox reguláció, stressz, vagy akár tumor képződés is.

Az autofágia részt vesz a sejtek homeosztázisának fenntartásában (vagyis biztosítja a szintetikus- és lebontó utak egyensúlyát), valamint a sejt anyagainak újrahasznosításában (semmi nem vész kárba, az éhező sejt képes saját makromolekuláit lebontani, így építőanyagokhoz és energiához jut), ill. az öregedés visszaszorításában (életidő meghosszabbításában vesz részt a salakanyag eltávolítása révén a sejtből). Szerepe lehet még a patogének elleni védekezésben, azok elpusztítása által (egyres baktériumok, pl. *Mycobacterium tuberculosis* menekülő útja az immunrendszer elől, hogy megakadályozzák a fagoszómák fúzióját a lizoszómával, így túlélnek és egyben a fagoszómákban el is rejtőznek az immunrendszer további támadásai elől). Bizonyos sejt típusokban szerepet játszik az immunrendszer aktiválásához vezető jelátviteli út szabályzásában azáltal, hogy például közreműködik a vírus eredetű intracelluláris antigéneknek a CD4+ T



sejteknek történő bemutatásában. A megtermékenyítést követően az egyedfejlődés kezdetén emlősökben is fontos szerepet játszik az autofágia, ugyanis ezen az úton át biztosítja, hogy az egyes fehérjék lebontásával keletkező aminosavakat felhasználja a szervezet más fehérjék szintéziséhez, ezáltal megfelelő mennyiségű „építőanyagot” biztosít az egyedfejlődéshez, ugyanis a fejlődés ezen szakaszában nem áll rendelkezésre elegendő mennyiségű szubsztrát a kívülről felvett táplálékból).

Az autofágia típusai

Mielőtt rátérnénk az autofágia kiváltó okaira és azok szabályzó útvonalaira röviden megismerkedünk az autofágia fajtáival és azok lejátszódásának lépéseivel.

Az autofágiának több fajtáját különítjük el: makroautofágia, mikroautofágia és chaperon közvetített autofágia (CMA- Chaperon mediated autophagy).

A makroautofágiáról megvalósulásakor a sérült vagy felesleges sejt organelleumokat egy kettős membrán burk veszi körbe a sejtben belül. Ezt a struktúrát nevezzük autofagoszómának. A szerkezet külső burka fuzionál egy lizoszómával, ezáltal autolizoszóma képződik, melyben a lizoszómából származó savas hidrolázok lebontják a körbevett molekulákat. A makroautofágia a sejtben leggyakrabban megvalósuló autofágia. A gyakoriságának egyik oka, hogy a mechanizmusa indukálható több módon is, például éhezéssel. Ezen jelrendszerekkel kiváltható autofágia formát 1960-ban fedezte fel Ashford és Porter, mikor kimutatták, hogy glükagon indukálja a lizoszómális kompartmentek proliferációját, melyek citoszól részletet tartalmaznak.

A makroautofágia folyamat pontos lépései a következők: Egy intracelluláris membránnal körülhatárolt ciszterna méretnövekedésen és deformáción esik át, ezáltal „csésze” formát vesz fel a struktúra. Ezt nevezzük phagophornak. Ezen phagophor a citoplazma egy részét bekebelezi ún. „reverz gasztrulációval”, ezáltal a lebontásra ítélt sejtszervecskék és fehérjék a belsejébe kerülnek. Ezen bezáródott, dupla membránnal rendelkező formát hívjuk autofagoszómának. Ezt követően az autofagoszóma „érik”. Gombáknál ez lizoszómával direkt fúziójával valósul meg. Emlősöknél pedig a Golgiból származó vezikulákkal egyesül. Ezen vezikulák lizoszómális hidrolázokat, proton pumpákat





és az endoszóma rendszer részeit tartalmazza. Ezen struktúrát már autolizoszómának nevezzük. Következő lépésben az autolizoszóma belső membránja szétesik, a citoszólban lévő molekulák építőegységeikre degradálódnak. Az „építőkövek” (pl. aminosavak) visszaszállítódnak a citoplazmába és újra felhasználódnak.

Mikroautofágiáról akkor beszélünk, ha a lizoszóma közvetlenül kebelez be citoplazma részleteket, ezáltal autofág testeket képezve. Itt nincs autofagoszóma!

Ezen autofágia típusról csak említés szintjén értekezünk, ugyanis a számunkra érdekes éhezés által kiváltott folyamatok közé nem sorolható.

A harmadik autofágia típusról, a chaperon-közvetített autofágiáról (röviden CMA) elmondhatjuk, hogy ez egy nem membrán igényes folyamat, ahol a kijelölt fehérje a citoszóból direkt transzlokálódik egy lizoszóma lumenébe. Ebben az autofágia típusban a fehérje molekulák egyenként kerülnek felismerésre és lebontásra, és a folyamat szigorúan **specifikus** és **szelektív**. Akárcsak a többi autofágia esetében, a chaperon-közvetített autofágiát is upregulálja az **aminosav éhezés**! Számos tanulmány kimutatta a CMA kapcsolatát: az öregedéssel, neurodegeneratív betegségekkel, vagy akár a tumoros folyamatokkal is.

Ahogy az előbb is említettük, a fehérjék ilyen irányú lebontása igen specifikus és szelektív. A szelektivitást a fehérjékben található sajátos szekvencia részlet, az ún. KFERQ pentapeptid biztosítja. Ez a peptidrészlet szolgál kötőhelyül egy chaperon(hsp70)-ko-chaperon komplexnek. Ezen chaperon komplex segít kitekerni az adott fehérjénket, majd egy lizoszómához kapcsolja őket. A lizoszómán a LAMP2 receptor felelős a fehérje kötődéséért. Mikor megtörténik a fehérje felismerése a LAMP2 által, akkor több LAMP2 receptor is az adott helyre csoportosul, és csatornát alakít ki. Ezen csatornán keresztül és a chaperon-ko-chaperon, valamint egy lizoszómális chaperon (lys-hsc70) segítségével jut át a fehérje a lizoszómába, ahol lebontódik.

Tehát összességében elmondhatjuk az autofágia három típusáról, azaz a makro-, mikro- és chaperon közvetítette formáról, hogy egymás mellett, párhuzamosan is végbemenő szabályzó folyamatokról van szó, melyek kiegészíthetik egymást azáltal, hogy ha valamelyik mechanizmus meghibásodik, a másik átveszi a helyét. Az autofágia típusok durva





összehasonlításakor elmondható, hogy a mikroautofágia konstitutívan zajló folyamat, míg a másik kettő indukálható. A chaperon közvetített autofágia a lebontásra ítélt makromolekulákat direkt transzport útján képes a megfelelő helyre juttatni, míg a másik két folyamat alkalmával vezikulák vesznek részt a bekebelezésben. Ebből a tulajdonságból adódik a következő különbség is, miszerint a CMA csak fehérjék lebontására alkalmas, míg a mikro- és makroautofágia alkalmával akár organelumok is lebonthatók. Azonban pont emiatt a CMA szelektív autofágiának tekinthető, itt meg kell, hogy valósuljon a szubsztrát pontos felismerése, míg a másik két szabályzásnál ettől eltekinthetünk.

Az autofágia szabályozó útvonala

Az autofágia háttérben álló szignál útvonalak igen összetettek és bonyolultak. Autofágiát indukáló kaszkád útvonalat indíthatunk a táplálék megvonásával úgy, mint aminosav- és egyéb építőelemek hiányának következtében kialakuló éhezéssel, esetleg hipoxia kiváltásával, az energiamérleg elmozdításával, vagy akár növekedési faktorok segítségével is. A következőkben ezen szabályzó utakat fogjuk taglalni.

Az aminosav megvonás következtében a Ras (Rat sarcoma) - Raf1 (gyorsan kialakuló fibrosarkóma-1) - MEK1 és 2 (mitogén aktivált protein kináz kináz 1 és 2) - ERK1 és 2 (extracelluláris szignál által aktivált kináz 1 és 2) kaszkád útvonal aktiválódik, mely elősegíti az autofágia folyamatát. Az aminosav éhezésre azért reagál a sejt autofágiával, mert ilyenkor nem tud elegendő aminosavhoz hozzájutni az új fehérjék előállításához, így más forrásból kell kielégítenie a szükségleteit. A sejt az autofágia beindításával a már megszintetizált és szükségtelen fehérjéket építőelemeire bontja, amivel fedezni tudja a fehérjeszintézis szubsztrát igényét.

Mint az előzőekben említettük a hipoxia is képes autofágiát indukálni. Ezen aktivációt a HIF-1 α (Hipoxia indukált faktor- 1 α) fehérjén keresztül valósítja meg.

Növekedési faktorok hatására mTOR fehérje (mechanistic target of rapamycin (szerin/threonin kináz)) aktiválódik, azáltal, hogy a Class I PI3-K (foszfatidylinozitol- 3-kináz) és Akt (thymoma virális proto-onkogén 1), vagy más néven PKB (protein kináz B) fehérjék gátolják a TSC 1 és TSC2 (tuberous sclerosis fehérje) fehérjéket, melyek az mTOR





inhibitorai. Ezen kaszkád aktiválódásával az autofágia gátlódik, mivel az mTOR fehérje inhibíttálja a mechanizmus iniciációját. A p110- β fehérje, mely a Class I PI3-K katalitikus alegysége közvetlenül, Akt fehérjét kikerülve is képes stimulálni éhezés hatására az autofágiát.

A növekedési faktorok mellett a szervezet energia háztartásában bekövetkező változások is elindíthatják az autofágia mechanizmusát. A magas AMP/ATP arány az AMPK (AMP-aktivált protein kináz) kináz fehérjét aktiválja, mely az mTOR gátlásával szintén az autofágia folyamatának elindításához vezet.

Az autofágiát még a halál-domén asszociált protein kinázok is képesek promotálni a Beclin1 fehérje felszabadításával a Bcl-2/Bcl-XL komplexből.

Az autofágia és a sejtszintű táplálkozás

Ahogy előzőekben tárgyaltuk, a különböző táplálékforrás megvonásával is kiválthatjuk a autofágia mechanizmusát. Különböző modellállatokon folytatott kísérletek után kutatók a következő megfigyeléseket tették.

S.cerevisiae-nél **nitrogén éheztesítés** során (valamint AS hiány esetében is) **makroautofágia** alakul ki, mely a túléléshez létszükséglet. Nitrogén hiányában a karbon-metabolizmus felgyorsul.

Ezen szabályozás pontos leírása a borászok tudásanyagában is fellelhető, ugyanis bortermelelnél igen jelentős folyamat. A borászatban használt élesztők nitrogén szegény környezetben dolgoznak, tehát a fermentáció nitrogén éhezés alatt következik be.

A makrofágia szerepe ilyenkor, hogy felszabadítsa a celluláris nitrogén forrásokat. Ebben fontos szerepe van az **Atg22** proteinnek, mely transzporterként működik az aminosavak effluxához a vakuólum lumenjéből.

Atg 22 proteint nem tartalmazó mutáns élesztők (Δ Atg22) életképességet vesztenek nitrogén-éhezés alatt, mert az autofág degradációval proteinekből keletkezett aminosavak nem jutnak ki megfelelő mennyiségben az autofág lumenből, így nem tudnak újra felhasználni.

SZÉCHENYI 2020



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE



Emlős sejteknél **aminosav éheztesítés** esetén szintén figyeltek meg autofágiát. A folyamatban fontos szerepet játszik a **Gcn2** fehérje, mely egy protein kináz, melyet egy citoplazmatikus aminosavval nem töltött t-RNS aktivál. A Gcn2 fehérje beindít egy downstream kaszkádot, mely végén az autofágia mechanizmusa indukálódik. Ezen downstream kaszkád egyik központi eleme a **Gcn4**, egy transzkripciós faktor, mely kaszkád útvonal beindítása után különböző faktorok segítségével upregulálódik és olyan gének expresszióját indítja be, melyek szükségesek az aminosavak és nukleotidok bioszintéziséhez. GCN2 deletált mutánsokban (Δ GCN2) kizárólag aminosav éheztesítés alatt figyelték meg az autofágia teljes gátlását.

Az autofágia azonban nem csak a különböző tápanyagforrások megvonásának alkalmával alakul ki. Számos egyéb folyamat során is lejátszódik és hiányával igen komoly következményei lehetnek egy sejt élete során, akár a sejt halálához is vezethet.

Az autofágia és az öregedés

Az autofágia összefüggésben áll az öregedés mechanizmusával, illetve annak kivédésével. Normál körülmények között az élő sejteinkben az anyagcsere következtében salakanyagok, különböző melléktermékek, sejtörmelékek, esetleg sérült sejtstruktúrák keletkeznek. Ezen termékek felhalmozódása előremozdítja a sejt öregedését. Azonban ez fordítva is igaz, minél idősebb egy sejt, annál több salakanyagot halmozott már fel élete során. A hulladék felhalmozódásának szabályzásában, túlzott akkumulálódásának megakadályozásában játszik szerepet az autofágia.

Kimutatták, hogy öregedő *Drosophila melanogaster* idegsejtjeiben sejt törmelékek halmozódnak fel. Az autofágiában szerepet játszó gének mutációi ezen folyamatot felgyorsították, ezáltal az állatok gyorsabb pusztulása következett be. A fordított beavatkozás, az autofágiában résztvevő gének működésének fokozása, lelassította a hulladék felhalmozódást a sejtekben, ezáltal akár 50%-kal is megnövelte az állatok élettartamát.

Az eddigiekben rövid összefoglalást tettünk az autofágia fogalmáról, fajtáiról, azok szabályzásáról, illetve az autofágia és a sejt szintű táplálkozás kapcsolatáról.

Ezekből láthattuk, hogy az autofágia igen fontos



TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

szerepet tölt be egy sejt életében, akár az utolsó „mentsvára” is lehet az apoptózis elkerülésére.

Irodalomjegyzék

Abeliovich H: Regulation of autophagy by amino acid availability in *S. cerevisiae* and mammalian cells, *Amino Acids*, 2014 Jun 29. DOI 10.1007/s00726-014-1787-y

Ana Maria Cuervo MD PhD;Reactivating Chaperone-mediated Autophagy: *the advantages of preserving a selective autophagy*

<http://www.tanpaku.org/autophagy/>

Kadija Abounit, Tiziano M Scarabelli, Roy B McCauley: Autophagy in mammalian cells; *World J Biol Chem* 2012 January 26; 3(1): 1-6

Samo Ribaric: Diet and Aging; *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume 2012 (2012), Article ID 741468, 20 pages

The Comparative Biology of Aging: The Role of TOR Signaling in Aging by Matt Kaeberlein and Lara S. Shamieh; Editor: Norman S. Wolf; ISBN 978-90-481-3464-9





9. Nutrigenomika és a személyre szabott táplálkozás

„ Úgy egyél, hogy jól legyél! „ (Dr. Filippo Ungaro)

Nutrigenomika: az egyes tápanyagoknak milyen hatása van a DNS-re, azaz az örökítőanyagra, a sejtek fehérjéire és az anyagcserében lezajló biokémiai folyamatokra.

A táplálkozási környezet módosítja a gének expresszióját, valamint az egyének genotípusa is fontos befolyásoló tényező, ezek együttesen meghatározzák az egyén egészségi státuszát.

Nutrigenetika: génállományunknak milyen szerepe van a táplálkozás és a betegségek közötti kölcsönhatásban.

A gyakorlatban részletes kérdőív kitöltésével információt kaphatunk a családban előforduló betegségekről (életmód szokások) és az adott környezettel való kapcsolatáról, hatásairól. Ezt természetesen kiegészíti egy teljeskörű kivizsgálás, ami magában foglalja a laborvizsgálatot, genetikai vizsgálatot.

Mediterrán étrend:

A mediterrán kultúrában az étrend 3 fő alkotója: bor, olíva olaj, kenyér.

Egy a 20. századi Európában végzett statisztikai vizsgálat kimutatta, hogy a leghosszabb várható élettartammal a Krétán élő görögök rendelkeznek, őket követik a dél-Franciaországban, Spanyolországban és Franciaországban élők (1). A mediterrán étrend legfőbb jellemzői, hogy nagy mennyiségben tartalmazzák a következő komponenseket: szőlő, zöldségek, gabonafélék, szárított bab, olívaolaj, fokhagyma, friss fűszernövények, tengeri halakból készült ételek, ezekhez az ételekhez pedig mérsékelt mennyiségben bort fogyasztanak. Húseleket és szárnyasokat csak mérsékelt mennyiségben fogyasztanak, inkább szárnyasból készült ételeket, szemben a vörös húsokkal. Állati zsirokból készült termékeket egyáltalán nem tartalmaz az étrendjük. Számos tanulmány alátámasztja, hogy a szív és érrendszeri betegségek, valamint számos krónikus betegség megelőzésében a mediterrán étrend fontos szerepet játszik.

Civilizációs változások hatása étrendünkre, ezáltal egészségünkre



Anyagcserénk a tartalékolásra rendezkedett be, hiszen őseinknek rengeteget kellett nélkülözniük. Túlélésünk állt vagy bukott azon, hogy mennyi tartalékot halmoztunk fel a szervezetünkben. Ez a komplex mechanizmus ma – amikor túlzott kalóriabevittel bombázzuk testünket- ellenünk dolgozik. A DNS, a genetikai kód nem pusztán az öröklött tulajdonságok tárolására szolgál.

Génjeink felügyelik a fiziológiai és biokémiai működésünket szabályozó információfolyamatot is, s a helyes szabályozáshoz figyelembe kell venniük a külvilágból érkező információkat. Így az, hogy egy-egy öröklött, genetikailag kódolt tulajdonság – például betegségre való hajlam – ténylegesen érvényre jut-e (valamely gén kifejeződik-e) nagymértékben külső hatásoktól, vagyis életmódunktól, táplálkozásunktól függ. Táplálékunk hatalmas mennyiségű és sokféle információt közvetít, s ezzel befolyásolja a gének kifejeződését. A tápanyag-molekulákba zárt „tudás” génállományunkkal kölcsönhatásba lépve hat az anyagcserénkre. Eszerint híznak vagy fogyunk; betegszünk meg vagy maradunk egészségesek. Korunk tudományának nagy felfedezése, hogy a táplálkozás alapvető funkciója a génjeinkre gyakorolt hatása – hangsúlyozza dr. Ongaro, aki az ezzel foglalkozó új tudományágnak, a nutrigenomikának egyik élenjáró kutatója. Kiderült: a DNS-nek ahhoz, hogy szervezetünket egészségesen tartsa és optimálisan működtesse, jelentős mennyiségű tápanyagra van szüksége. A genetikusok a DNS stabilitásáról, illetve instabilitásáról beszélnek, amelyet az határoz meg, hogy milyen mennyiségű és minőségű táplálékot fogyasztunk. A gén instabilitása funkciócsökkenést, károsodást, a DNS önjavító képességének csökkenését jelenti. Ahogy öregszünk, nő az instabilitás, s vele a betegségekre való hajlam – sajnos ez biológiai programunk része. Ugyanakkor megfelelő táplálkozással lelassíthatjuk ezt a folyamatot: segíthetünk DNS-ünknek abban, hogy minél hosszabb ideig stabil maradjon. Ezt szaknyelven epigenetikus szabályozásnak nevezik.

Kialakulásakor az emberi faj természetes módon megfelelően táplálkozott, a szervezet számára szükséges tápanyagokban dús ételmet vett magához. Ezt a civilizáció kalóriában gazdag étrendre cserélte fel, s táplálkozási szokásaink egyre károsabbak lettek. Az élelmiszergyártás ipari méreteket öltött, s eluralkodtak a finomított, cukrozott, hidrogénezett élelmiszerek, amelyek nem tartalmaznak elegendő rostot, vitamint és növényi hatóanyagot. A modern konyhánál szegényesebbet, mesterségesebbet elképzelni is nehéz, ráadásul mai ételeink tele vannak kalóriával és káros anyagokkal. Napjaink krónikus betegségeinek jó



része összefüggésben van a modern táplálkozással, amely nem képes megadni a szükséges tápanyagokat, ugyanakkor sok potenciálisan káros anyagot visz be szervezetünkbe. A nem megfelelő táplálék nem egyszerűen valamely betegség kialakulásához vezet. A gén biokémiai kifejeződés módosulása rosszul működő fehérjehálózatot hoz létre. Csökken az anyagcsere-folyamatok hatékonysága, s így hajlamosakká válunk bizonyos (például krónikus) betegségekre.

A Quintess Egészségközpontban dr. Ongaro irányításával dolgozó orvosok például a nutrigenomika eredményeire támaszkodva a páciens személyére szabott, célzott étrendet állíthatnak össze, az illető adottságainak megfelelő étrend-kiegészítőket javasolhatnak.

A szakemberek többsége ma már dr. Ongaróhoz hasonlóan azt vallja: a táplálkozásnak alapvető szerepe van számos, napjainkban mind gyakoribb betegség megelőzésében és kezelésében. Ilyenek például a diabétesz (cukorbetegség) és metabolikus szindróma (súlyos anyagcserezavar); a zsíryanycsere-zavarok, az érlemeszesedés, a szív- és érrendszeri megbetegedések; az elhízás, a túlsúly; a daganatok; a krónikus gyulladós betegségek, az Alzheimer-kór, illetve a kognitív zavarok; a csontritkulás és az ízületi gyulladások (2).

A nutrigenomika táplálkozási tízparancsolata, dr. Filippo Ongaro könyve alapján

1. Csökkentsük a glikémiás terhelést! Teljesen zárjuk ki, vagy legalábbis csökkentsük minimálisra étrendünkben a cukrot, a lekvárt, a mézet, az édességet, az üdítőitalt, az alkoholt! Fehér lisztből készült tészta és kenyér helyett teljes kiőrlésűt, hántolt rizs helyett hántolatlant fogyasszunk!
2. Legyen bőséges a reggeli! A reggeli adja az első fontos jelet a testünknek: beindítja és felpörgeti az anyagcserét. Együnk biotojást, diót, magvakat, mogyoróvaját (természetesen adalékanyagoktól és idegen zsíroktól menteset), 99%-os fekete csokoládét, teljes kiőrlésű szénhidrátokat (kenyeret, rizst, tésztát, hántolatlan gabonaféléket), de párolt zöldségeket és nemes fehérjéket is, mint például a lazac. Inkább bőségesen reggelizzünk a bőséges ebéd helyett, a kiadós vacsorákról pedig legjobban ha lemondunk!
3. Osszuk be a kalóriákat! Együnk 2-3 óránként, így a vércukorszintünk nem ingadozik.





Tízórára bekaphatunk egy marék diót vagy mandulát és egy gyümölcsöt.

4. Csökkentsük a stresszt! Szervezetünk a testi és lelki stresszt vészhelyzetnek fogja fel, ami ellen zsírraktározással védekezik. Az elhúzódó stressz a zsigeri zsírok lerakódásához és inzulinrezisztenciához vezet.
5. Légzéstechnikával csökkentsük étvágyunkat és együnk lassan! Evés előtt aktiváljuk a paraszimpatikus idegrendszerünket: végezzünk lassú és mély hasi légzést 5-ször (2-3 másodperc belégzés és 5 másodperc kilégzés). Ez a technika csökkenti az étvágyat és lassítja a nyelést, rágást. Ha gyorsan eszünk, romlik az emésztés, ugyanakkor a zsírfelhalmozódás fokozódik, különösen a has körül.
6. Elalvás előtt 2-3 órával ne együnk semmit! Este lelassul az anyagcserénk, ezért a csak részben felszívódott étel zsírrá alakul és lerakódik. Éjjel a DNS-ünk önjavításba kezd, ne terheljük azzal, hogy másfajta aktivitásra kényszerítjük!
7. Csökkentsük a derékkörfogatot! A hasi zsírsejtek (zsigeri zsírok) endokrin (hormonális aktivitású) szövetet alkotnak, ami képes a gyulladásozó folyamatok beindítására. A hasi zsírpárnák eltüntetése fontosabb, mint maga a fogyás.
8. Bőségesen fogyasszunk biozöldséget és -gyümölcsöt! A zöldségek és gyümölcsök nagy mennyiségben tartalmaznak az optimális sejtműködéshez nélkülözhetetlen antioxidánsokat, vitaminokat, növényi tápanyagokat. Különösen a zöldségeket ne hagyjuk ki egyetlen étkezésünkben sem!
9. Gyorsítsuk fel az anyagcserét! A személyre szabott és ésszerű testmozgás – azon kívül, hogy egészségünk szempontjából nélkülözhetetlen – alapanyagcserénket is felgyorsítja.
10. Segítsük a máj méregtelenítő funkcióját! Bár a méregtelenítés enzimek szintjén zajló folyamatai az egész szervezetünkben jelen vannak, a méregtelenítés és a biológiai átalakítás fő szerve a máj. Hogy feladatát maximálisan el tudja látni, sok tápanyagra, növényi hatóanyagra és vitaminra van szüksége. Ha sok finomított szénhidrátot és cukrot eszünk, annak elsősorban a májunk látja kárát (2).



Gének és az étrend kapcsolata, mely szabályozza a metabolikus útvonalban bekövetkező esetleges hibák, betegségek kialakulását:

TCF7L2

A diabétesz megelőző program ill. tanulmány adataiból kiderült, hogy az életmód, valamint a környezeti faktorok képesek befolyásolni a TCF7L2 polimorfizmus genetikai hatásait (3, 4). A GOLDN study adatai azt mutatták, hogy a teljes étrendi PUFA befolyásolta a TCF7L2 (rs7903146 polimorfizmus) genetikai hatásait postprandialis lipémia esetén (5). A LIPGENE étrendi megelőző study eredményei azt mutatták, hogy a TCF7L2 SNP-k összefüggésbe hozhatók a plazma lipid koncentrációval, a szénhidrát metabolizmussal, vérnyomással és a gyulladáshoz kapcsolódó markerekkel. Például az rs11196224 fő homozigóta esetében emelkedett plazma SFA volt megfigyelhető, mely összefüggésbe hozható az emelkedett inzulin rezisztenciával (6).

FTO

Az FTO rs9939609-es genotípus esetén kimutatták, hogy az étrendi faktorok hogyan befolyásolják a BMI (body mass index) alakulását, ez alapján egyértelmű, hogy a magas zsírtartalmú étrend fokozza az elhízás kialakulását (7, 8). A LIPGENE-SU.VI.MAX study új eredménye, hogy a magas étrendi SFA fogyasztás és az alacsony PUFA:SFA arány fokozza az elhízás esélyét az A allélt hordozó európai populáció körében, viszont a TT homozigóták esetében nem, ez azt sugallja, hogy a genetikai hajlam az elhízásra befolyásolható az étrendi SFA bevitelével (9).

Zsír- és lipid metabolizmusban szerepet játszó gének

ACC2 (acetyl-CoA carboxylase β)

Fontos szerepet játszik a zsír- és lipid szintézis és oxidáció folyamatában, melynek hibás működése kapcsolatba hozható az inzulin szenzitivitás romlásával, valamint a MetS-sel. A LIPGENE-SU.VI.MAX study számos ACC2 polimorfizmust (rs2075263, rs2268387, rs2284685, rs2284689, rs2300453, rs3742023, rs3742026, rs4766587 és rs6606697) megvizsgált, hogy vajon befolyásolja-e a MetS kialakulásának esélyét és hogy az étrendi zsírsavak





változtatnak-e ezen az interakción (10). A kis A allélt hordozó (rs4766587) polimorfizmus fokozta a MetS kialakulásának esélyét, szemben a GG homozigótákkal, mely magyarázható részben a fokozott BMI, elhízás és a hibás inzulin érzékenységgel. Az étrendi zsír bevitele befolyásolja a MetS esélyét, főként az A allélt hordozó egyének esetében, magas zsír bevitelnél. Ezzel szemben a MetS kialakulásának esélye minimalizálódott alacsony zsír-bevitel esetén. Összességében tehát elmondható, hogy az *ACC2* gén lokuszában megfigyelhető genetikai variáció befolyásolja a MetS esélyét, mely tovább alakítható az étrendi zsír bevitelével.

ACSL1 (hosszú-láncú acyl CoA synthetase 1)

Fontos szerepet játszik a hosszú-láncú zsírsavak mitokondriális béta-oxidációjában és a zsírsavak metabolizmusában. Ezen folyamatok zavara inzulin rezisztenciát és dyslipidémiát eredményezhet (11, 12, 13). A LIPGENE-SU.VI.MAX. study-ban vizsgálták az *ACSL1* polimorfizmusok (rs4862417, rs6552828, rs13120078, rs9997745 és az rs12503643) összefüggését a MetS kialakulási esélyével, valamint az étrendi zsír-bevitel között (14). A GG genotípus esetén (rs9997745-ös SNP) fokozódott a MetS esélye, emelkedett a glükóz és az inzulin koncentrációja, ezzel együtt az inzulin rezisztencia is növekedett összehasonlítva az A allélt hordozókkal.

APOA1

A HDL fő fehérje komponense és egyben az LCAT (lecitin-koleszterol acyltransferáz) enzim aktivátora. Ezzel szemben az APOB, az LDL fő komponense, esszenciális a triglyceridben-gazdag lipoproteinek szekréciójában, valamint összeszerelődésében. A LIPGENE-SU.VI.MAX study kimutatta, hogy az ApoB rs512535 és az ApoA1 rs670 G allél homozigótákban fokozódott a MetS esélye, mely magyarázható az elhízás, a hibás inzulin érzékenységgel, viszont nem figyelhető meg dyslipidémia (15). Összességében elmondható, hogy az *ApoB* és *ApoA1* polimorfizmusok befolyásolják a MetS kialakulási esélyét.

Irodalomjegyzék

Willett WC; Sacks F; Trichopoulou A, Drescher G; Ferro-Luzzi A; Helsing E et. al. (1995). Mediterranean diet pyramid: a cultural of model healthy eating. Am. J.



Dr. Kuklis Eszter. (2012). Génekre szabott táplálkozás. Természetgyógyász, életmód. 22-25.

Florez J.C; Jablonski K.A; Bayley N; Pollin T.I; de Bakker P.I; Shuldiner A.R; Knowler WC; Nathan DM; Altshuler D. (2006). TCF7L2 polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. N. Engl. J. Med. 355. 241-250.

Wang J; Kuusisto J; Vanttinen M; Kuulasmaa T; Lindstrom J; Tuomilehto J, Uusitupa M, Laakso M. Variants of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene predict conversion to type 2 diabetes in the finnish diabetes prevention study and are associated with impaired glucose regulation and impaired insulin secretion. (2007). Diabetologia. 50. 1192-1200.

Warodomwicht D; Arnett D.K; Kabagambe E.K; Tsai M.Y; Hixson J.E; Straka R.J; Province M; An P; Lai C.Q; Borecki i; et al. (2009). Polyunsaturated fatty acids modulate the effect of TCF7L2 gene variants on postprandial lipemia. J. Nutr. 139. 439-446.

Delgado-Lista J; Perez-Martinez P; Garcia-Rios A, Philips CM; Williams CM; Gulseth H.L; Helal O; Blaak E.E; Kiec-Wilk B; Basu S; et al. (2011). Pleiotropic effects of TCF7L2 gene variants and its modulation in the metabolic syndrome: From the lipgene study. Artherosclerosis. 214. 110-116.

Lee HJ; Kim IK; Kang JH; Ahn Y; Han BG, Lee JY; Song J. (2010). Effects of common FTO gene variants associated with BMI on dietary intake and physical activity in Koreans. Clin. Chim. Acta. 411. 1716-1722.

Sonestedt E; Roos C; Gullberg B; Ericson U; Wirfalt E; Orho-Melander M. (2009). Fat and carbohydrate intake modify the association between genetic variation in the fto genotype and obesity. Am. J. Clin. Nutr. 90. 1418-1425.

Garcia-Rios A; Perez-Martinez P; Delgado-Lista J; Philips CM; Gjelstad IM; Wright JW; Karlstrom B; Kiec-Wilk B; van Hees AM; Helal O; et al. (2012). A period 2 gen





TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

etic variant interacts with plasma SFA to modify plasma lipid concentrations in adults with metabolic syndrome. *J. Nutr.* 142. 1213-1218.

Philips CM; Goumidi L; Bertrais S; Field MR; Cupples LA; Ordovas JM; McMonagle J; Defoort C; Lovegrove JA; Drevon CA; et al. (2010). ACC2 gene polymorphisms, metabolic syndrome, and gene-nutrient interactions with dietary fat. *J. Lipid Res.* 51. 3500-3507.

Coleman RA; Lewin TM; Muoio DM. (2000). Physiological and nutritional regulation of enzymes of triacylglycerol synthesis. *Annu. Rev. Nutr.* 20. 77-103.

McGarry JD; Banting lecture 2001: Dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes.* (2002). 51. 7-18.

Shimabukuro M; Zhou YT; Levi M; Unger RH. (1998). Fatty acid-induced beta cell apoptosis: A link between obesity and diabetes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95. 2498-2502.

Philips CM; Goumidi L; Bertrais S; Field MR; Cupples LA; Ordovas JM; Defoort C; Lovegrove JA; Drevon CA; Gibney MJ; et al. (2010). Gene-nutrient interactions with dietary fat modulate the association between genetic variation of the ACSL1 gene and metabolic syndrome. *J. Lipid Res.* 51. 1793-1800.

Philips CM; Goumidi L; Bertrais S; Field MR; McManus R; Hercberg S; Lairon D; Planells R; Roche HM. (2011). Gene-nutrient interactions and gender may modulate the association between ApoA1 and ApoB gene polymorphisms and metabolic syndrome risk. *Artherosclerosis.* 214. 408-414.





10. Krónikus betegségek nutrigenomikája

A szív és érrendszeri betegségek világszerte a vezető halálokok közé tartoznak, mely egy komplex multifaktoriális betegség. Előfordulását mind környezeti, mind pedig genetikai faktorok együttesen befolyásolják. Ebben a kontextusban a nutrigenomika az étrend és az egyéni genetikai alkat közötti kapcsolatot vizsgálja. Az SNP-k itt is kulcs faktorok a humán genetikai variációk esetén és egyfajta molekuláris alapot nyújtanak az egyének közti fenotipikus különbségek leírására (1).

1. Szív és érrendszeri megbetegedések (CVD= cardiovascular disease)
2. Gyulladásos bélbetegség (IBD): Crohn betegség (CD), ulcerative colitis (UC)

Genomszintű vizsgálatokkal azonosították a betegséggel kapcsolatba hozható mintegy 100 gén esetében megfigyelhető SNP (single-nucleotide polymorphisms) -k kapcsolatát és ugyanezzel egyidőben végzett ikervizsgálatok tisztán kimutatták a betegség kifejlődésében lényeges szerepet játszó környezeti hatások szerepét is (2).

1. Nutrigenomika és CVD

A táplálkozási szokások fontos rizikó tényezők a CVD kialakulásának megelőzésében.

Apolipoprotein (apo) A1 elsődlegesen a magas denzitású lipoprotein partikulumokban (HDL) található meg. A HDL a májban és a bélben termelődik és fontos szerepe van a koleszterin transzportjában a periférikus szövetekből a májba (3). Mind az Apo A-I, mind a HDL-asszociált koleszterint a CVD fontos megelőző faktoraként azonosították (4, 5). Az apo A-1-t kódoló gén, az APOA1, a 11-es kromoszóma hosszú karján helyezkedik el, a promóter régiójában előforduló specifikus SNP, az APOA1-75G>A. A ritkább A allél összefüggésbe hozható az apo A-1 koncentráció enyhe fokozódásával (6). Az APOA1 gén expresszióját befolyásolja az n-3 és n-6 többszörösen telítetlen zsírsavak (PUFAs) bevitelének mennyisége. A PUFA-k képesek változtatni számos olyan enzim kódoló gén expresszióját, melyek fontos szerepet játszanak a lipid és szénhidrát metabolizmusban. Azoknál a nőknél, akik az A allélt hordozták, jelentősen fokozódott a HDL-koleszterin koncentráció, magasabb PUFA-bevitel esetén. A G allélre homozigóta nők esetében az ellenkezőjét





tapasztalták, azaz fokozott PUFA-bevitel hatására csökkent a HDL-koleszterin mennyisége. A férfiak esetében, nem volt szignifikáns hatása a fokozott PUFA-bevitelnek, sem a HDL-koleszterin sem pedig az apo A-1 koncentrációra.

Összefoglalva elmondható, hogy az A allélt hordozó nők esetében a növekvő PUFA-bevitel fokozta a HDL-koleszterin koncentrációt és csökkentette a CVD kialakulásának esélyét (7).

Apolipoprotein A5 gén (APOA5) egy fontos szabályozója a triglicerid (TG) gazdag lipoprotein (TRL) metabolizmusnak (8) két fő funkciójának köszönhetően: 1. VLDL (very-low-density lipoprotein) összeszerelődés révén, 2. a TG hidrolízis aktivátoraként lipoprotein lipáz (LPL) révén. Lai és mtsai. kimutatták, hogy a zsírsav-bevitel képes változtatni az APOA5 variánsok hatását a lipid metabolizmusban a Framingham-i populáció esetében (9). Az APOA5-1131T>C és 56C>G polimorfizmusok és a zsírsav-bevitel közötti összefüggést vizsgálták a testtömeg index (BMI) és az elhízás (mindkét nemből) előfordulásának gyakorisága vonatkozásában. A 1131T major allélre homozigóták esetében a BMI növekedett a fokozott teljes zsír-bevitel hatására. Ezzel ellentétben ez a növekedés nem volt megfigyelhető a 1131C minor allélt hordozók körében. Az APOA5-1131C minor allélt hordozók esetében kisebb mértékben tapasztaltak elhízást és a túlsúlyos állapot kialakulásának kockázata is kisebb valószínűségű volt, mint a T allélt hordozók körében (9).

Nitrogén-oxid (NO)-ot egyre több tudományos közlemény kapcsolatba hozza a szívkoszorúér görcs kialakulásában, sőt gátolja a símaizom sejtek növekedését. A NO az L-arginin-ből szintetizálódik a NO-szintáz (NOS) révén. Az eNOS gén Glu298Asp polimorfizmusa az isémiás szívbetegség (ischemic heart disease= IHD) valamint a myokardiális infarktus kialakulásával is kapcsolatba hozható (10).

Artherosclerosis genom-szintű összehasonlító tanulmány (GWAS) a betegségben érintett fő gének feltérképezését tette lehetővé. Számos lokusz kapcsolatba hozható az artéria koronária betegség (CAD) kialakulásával, főleg az LDL metabolizmusban szerepet játszóknak. A legfőbb SNP a CAD vonatkozásában a 9p21.3 lokuszra tehető, mely fokozza a véredény sejtek növekedését, túlzott aorta símaizom sejt növekedést okoz, mely fokozza az artherosclerosis kialakulásának esélyét. A szomszédos gének ebben a lokuszban pl. a ciklin-dependens fehérje kináz (CDK) – gátló gének; a CDKN2A és a CDKN2B. A CDKN2A lokusz 2 izoformát kódol: a p16INK4A és a p19ARF, míg a CDKN2B gén pedig a p15INK4B-t. Ezúton először bizonyították, hogy az atherogenezis folyamatában fontos szerepük lehet a





sejtciklus szabályozásában fontos fehérjéknek és tumor szupresszoroknak. Kimutatták, hogy a p53-nak megelőző szerepe lehet a az atherosclerosis kifejlődésében az ApoE (apolipoprotein E) és LDL receptor knockout (KO) egerekben mind a sejt növekedés, mind pedig az apoptózis révén (11). Továbbá kimutatták, hogy a tumor szupresszor p21Waf1 génnek is szerepe van a ApoE-KO egerekben az atherogenezis elősegítésében (12). Omega-3 többszörösen telítetlen zsírsavak (PUFA= polyunsaturated fatty acids) –kal történt kezelés lassította az atherosclerosis kialakulását különböző állat model kísérletekben, továbbá a gyulladást-gátló szerepét is bebizonyították. Egyedi génvariációk az apolipoprotein (apo)AI (13), az apoA5 (14), az apoE (15), a TNFalfa (16), a PPARalfa (17), a NOS3 (18), az ALOX5 és ALOX 12/15 (19) génekben, valamint az omega-3PUFA bevitel befolyásolja a lipid metabolizmus és a kardiovaszkuláris betegségek kimenetelét.

2. Gyulladásos bélbetegség (IBD): Crohn betegség (CD), ulcerative colitis

A két betegség elkülönítése és a pontos diagnózis klinikai, endoszkópos és szövettani jellegzetességeik alapján lehetséges. [Colitis ulcerosában](#) a gyulladásos jelenségek csak a bél nyálkahártyájára és a submucosára korlátozódnak, míg [Crohn-betegség](#) esetén a [bélfal minden rétege](#) érintett a mucosától a serosáig. A colitis ulcerosa csak a vastagbélben fordul elő, így ha szükségessé válik a vastagbél eltávolítása, végleges gyógyulás következik be. Ezzel szemben a Crohn betegség az emésztőrendszer egészét érintheti, ezért a gyulladt szakasz eltávolítása után, a betegség bárhol visszatérhet. Míg a colitis összefüggő gyulladást hoz létre, a Crohn betegségben gyulladt és ép bélszakaszok váltakoznak egymással. Mindezen különbségek ellenére bizonyos betegeknél (kb. az esetek 10 százalékában) nem lehetséges megkülönböztetni a két betegséget; őket a nem meghatározható colitis-csoportba sorolják.

A fejlett gazdasági országokban (USA, Nagy-Britannia) mindkét betegség jóval gyakoribb, mint az elmaradott térségekben (pl. Ázsia vagy Afrika).

Az 1990-es évek elején mutatták ki először, hogy az IL-2, IL-10 és T-sejt receptor (TCR) mutáns egerekben IBD-szerű enterocolitis fejlődött ki, ellenben ha blokkolták a tumor-nekrózis faktor- α (TNF- α)-t, akkor a gyulladás súlyossága javult (20).

Számos mostanában megjelent tanulmány segít definiálni az IBD patogenezisben jelentős szerepet játszó útvonalakat, mint pl. a veleszületett és a szerzett immunitásban szabályozásában (IL-23R, IL-10, STAT, JAK2), a gyulladás szabályozásában (CCR6, MST1), az ER stressz és az

SZÉCHENYI 2020



Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE



autofágia szabályozása (XBP1=X-box-binding protein-1; ATG16L1, IRGM) (21). Érdekességképpen elmondható, hogy az autofágia gének (mint pl. ATG16L1), a NOD receptorok (mint pl. a NOD2) és az intellektinek (mint pl. az ITLN1) inkább a CD kialakulásával hozható kapcsolatba, ezzel szemben az IL-10 és az ARPC2 szabályozó útvonalak, valamint a bél epitheliális sejt funkció (ECM1) inkább kapcsolatba hozható az UC kialakulásával. Az autofágia az egyik legjellemzőbb példája a genetikailag közvetített útvonalaknak, mely abnormálisan működik IBD esetén. Ez egy evolúciósan konzervált folyamat, mely során az organellek emésztése és az extracelluláris baktériumok elpusztítása lizoszómák által valósul meg. A NOD2 (nucleotide-binding-oligomerization domain containing 2) egy kaspáz-összeszerelő domén család 15-ös tagja (CARD15), mely egy intracelluláris receptor és muramyl-dipeptidet (MDP) tartalmazó specifikus struktúrák felismerésére képes, mely egyes baktériumok, mint pl. a *Mycobacterium tuberculosis* felépítésére jellemző. A NOD fehérje N-terminális része tartalmaz két kaspáz-összeszerelő domént, mely az apoptózis és az NF- κ B aktivációs útvonallal áll kapcsolatban. Másik fontos folyamat, mely bizonyítottan fontos szerepet játszik az IBD kialakulásában, a rossz térszerkezetet felvett vagy egyáltalán nem felfoldott fehérjék feldúsulása (UPR=unfolded protein response) az ER-ban, egy stresszválaszt indít, mely ha nem csökken, akkor apoptózis indukálódik.

A **Crohn-betegség** (M. Crohn) az emésztőrendszer krónikus gyulladós betegsége. Általában a fiatalokat érinti, de nem ritka gyermekkorban és idős korban sem. Nevét egy amerikai belgyógyász, [Burrill Crohn](#) után kapta. Az emésztőrendszer bármelyik szakaszát érintheti, de leggyakrabban a vékony- és vastagbéllet együttesen. Az elmúlt évek kutatásai alapján úgy vélik, hogy a betegség ugyan nem örökletes, de létezik egy bizonyos [genetikai](#) fogékonyság, melynek következtében a bélnyálkahártya ellenállóképessége csökken. Az immunrendszer működésében zavar támad, nem ismeri fel a bélflórát alkotó saját baktériumokat, így azok ellen védekező reakciót indít be, ami bélkárosodáshoz vezet. A bélbaktériumok a gyulladás fenntartásában fontos szerepet játszanak.

A Crohn betegség hátterében számos vizsgálatnak köszönhetően már bizonyított a genetikai alap fontossága. Számos olyan gént és kromoszóma régiót azonosítottak, melynek fontos szerepe van a betegség kialakulásában. Az első ilyen kulcs gén az IBD1 régióra tehető (16q12), ahol a kaspáz-aktiválta összerendező domén 15 (CARD15)-ben kimutatott





variációk fokozzák a CD kialakulásának esélyét. Az IBD2 genomi régió számos potenciális jelölt gént tartalmaz, így pl. a STAT6 transzkripciós faktort. De az IBD5, 7, 8, 9 és IBD 10 régióval is kimutatták az összefüggést a betegség kialakulásával.

A genom-szintű vizsgálatok (GWA) számos olyan gént térképeztek fel, mely valószínűleg kapcsolatba hozható a Crohn betegség kialakulásával. A CARD15 gén polimorfizmusa kódolja a NOD2 intracelluláris receptort, mely elvezet az NF- κ B útvonal aktivációjához, melynek eredményeként a gyulladási folyamatban fontos citokinek képződése indul meg (22). Számos más gén esetében kimutatták az összefüggést a CD kialakulásával, így pl. az IL23R gén régiójában előforduló polimorfizmust elsőként mutatták ki a genom-szintű vizsgálatok során, a PTGER4 esetében is, mely a prosztaglandin receptor EP4-et kódolja, és az NF- κ B-útvonal aktivációján keresztül részt vesz a gyulladós folyamatok kialakulásában.

Egy másik, a fent említett betegség kialakulásával összefüggést mutató gén az ATG16L1, mely az autofagoszómák kialakulásában játszik szerepet, mint a belső immunrendszer jelentős komponense, ugyanis részt vesz az intracelluláris patogének elpusztításában (23). Továbbá az MHC II molekulákat kódoló HLA-D gének és a toll-like receptor 4 (TLR4) esetében is fontos korrelációt mutattak ki.

Manapság az IBD-t poligénes betegségnek tartják, az egyének 5-10 %-ában családi, a maradék esetben pedig sporadikus előfordulású. Ismert az is, hogy az egypetűjű ikrek közötti fenotipikus megegyezés gyakoribb CD esetén (50-75%), mint UC esetén (10-20%). Ez is azt mutatja, hogy CD esetén a betegség örökölhetősége sokkal jelentősebb, mint a környezeti faktoroknak kitettség illetve az epigenetikai különbségek lehetséges hatása (24).

Irodalomjegyzék

Engler MB. (2009). Nutrigenomics in cardiovascular disease: implications for the future. *Prog. Cardiovasc. Nurs.* 24(4), 190-195.

Gruber L; Lichti P; Rath E; Haller D. (2012). Nutrigenomics and nutrigenetics in inflammatory bowel diseases. *J. Clin. Gastroenterol.* 46(9), 735-747.





Ye SQ; Kwiterovich PO Jr. (2000). Influence of genetic polymorphisms on responsiveness to dietary fat and cholesterol. *Am. J. Clin. Nutr.* 72, 1275-1284.

Kwiterovich PO Jr; Coresh J; Smith HH; Bachorik PS; Derby CA; Pearson TA. (1992). Comparison of the plasma levels of apolipoproteins B and A-I, and other risk factors in men and women with premature coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* 69, 1015-1021.

Wilson PW; Abott RD; Castelli WP. (1988). High density lipoprotein cholesterol and mortality. The Framingham heart study. *Arteriosclerosis.* 8, 737-741.

Juo SH; Wyszynski DF; Beaty TH; Bailey-Wilson JE. (1999). Mild association between the A/G polymorphism in the promoter of the apolipoprotein A-I gene and apolipoprotein A-I levels: a meta-analysis. *Am. J. Med. Genet.* 82, 235-241.

Iacoviello L; Santimone I; Latella MC, de Gaetano G; Donati MB. (2008). Nutrigenomics: a case for the common soil between cardiovascular disease and cancer. *Genes Nutr.* 3, 19-24.

Rensen PC, van Dijk KW; Havekes LM. (2005). APOA5: low concentration, high impact. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25, 2445-2447.

Lai C-Q, Corella D; Demissie S. et al. (2006). Dietary intake of n-6 fatty acids modulates effect of apolipoprotein A5 gene on plasma fasting triglycerides, remnant lipoprotein concentrations, and lipoprotein concentrations, and lipoprotein particle size. *Circulation.* 113, 2062-2070.

Hibi K; Ishigami T; Tamura K; Mizushima S. et al. (1998). Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and acute myocardial infarction. *Hypertension.* 32, 521-526.

Guevara NV; Kim HS; Antonova EI; Chan L. (1999). The absence of p53 accelerates atherosclerosis by increasing cell proliferation in vivo. *Nat. Med.* 5(3), 335-339.





Merched AJ; Chan J. (2004). Absence of p21Waf1/Cip1/Sdi1 modulates macrophage differentiation and inflammatory response and protects against atherosclerosis. *Circulation*. 110(25), 3830-3841.

Ordovas JM. (2004). The quest for cardiovascular health in the genomic era: nutrigenetics and plasma lipoproteins. *Proc. Nutr. Soc.* 63(1), 145-152.

Lai CQ; Corella D; Demissie S; Cupples LA; Adiconis X; Zhu Y; et al. (2006). Dietary intake of n-6 fatty acids modulates effect of apolipoprotein A5 gene on plasma fasting triglycerids, remnant lipoprotein concentrations, and lipoprotein particle size: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 113(17), 2062-2070.

Lovegrove JA; Gitau R. (2008). Nutrigenetics and CVD: what does the future hold? *Proc. Nutr. Soc.* 67(2), 206-213.

Fontaine-Bisson B; Wolever TM; Chiasson JL; Rabasa-Lhoret R; Maheux P; Josse RG; et. al. (2007). Genetic polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha modify the association between dietary polyunsaturated fatty acids and fasting HDL-cholesterol and apo A-I concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.* 86(3), 768-774.

Tai ES; Corella D; Demissie S; Cupples LA; Coltell O; Schaefer EJ; et. al. (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(3), 397-403.

Ferguson JF; Philips CM; McMonagle J; Perez-Martinez P; Shaw DI; Lovegrove JA; et. al. (2010). NOS3 gene polymorphisms are associated with risk markers of cardiovascular disease, and interact with omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Atherosclerosis*. 211(2), 539-544.

Merched AJ; Ko K; Gotlinger KH; Serhan CN; Chan L. (2008). Atherosclerosis: evidence for impairment of resolution of vascular inflammation governed by



TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

specific lipid mediators. *Easeb. J.* 22(10), 3595-3606.

Sadlack B; Merz H; Schorle H; Schimpl A; Feller AC; Horak I. (1993). Ulcerative-colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. *Cell.* 75, 253-261.

Cho JH. (2008). The genetics and immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol.* 8, 458–466.

Girardin SE; Boneca IG; Viala J; Chamaillard M; Labigne A; Thomas G; Philpott DJ and Sansonetti PJ. (2003). Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J. Biol. Chem.* 278, 8869-8872.

Mizushima N. (2005). The pleiotropic role of autophagy: from protein metabolism to bactericide. *Cell Death Differ.* 12, 1535-1541.

Halme L; Paavola-Sakki P; Turunen U; Lappalainen M; Farkkila M; Kontula K. (2006). Family and twin studies in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 12, 3668–3672.





11. Nutrigenomika és rák

Az irodalom teli van olyan bizonyítékokkal, melyek a mell, prosztatata, vastagbél, tüdő és májrák kialakulását összefüggésbe hozzák az étrendi szokásokkal, mégis számos ellentmondás kerül napvilágra folyamatosan. Ezek az ellentmondások is szépen kifejezik a rák több-tényezős és komplex természetét, specificitását és az egyéni étrendi alkotóelemek szerepét a genetikai útvonalak módosításában. Míg a túl sok kalória-bevitel fokozza a rák kialakulásának esélyét, a bioaktív étel komponensek nagy számban védelmet nyújtanak a rákosodás folyamatának számos szakaszában (1). Ilyen bioaktív komponensek, melyek az esszenciális tápanyagokban fordulnak elő pl.: kalcium, cink, szelénium, folsav, C, D és E vitamin, valamint a nem esszenciális étel komponensek, mint pl.: karotenoidok, flavonoidok, indol, allyl szulfur komponensek, linolsav és N-3 zsírsavak. Ezek a bioaktív étel komponensek képesek módosítani egyidejűleg több, mint egy rákos folyamatot, beleértve különböző eseményeket, úgymint karcinogén metabolizmus, hormonális egyensúly, sejt kommunikáció, sejtciklus kontrol, apoptózis és angiogenezis (2). A bioaktív étel komponensek képesek módosítani a transzkripció, transláció és a metabolizmus folyamatát. Az étrendi szokások és a rák kialakulásának kockázata, valamint a rák viselkedése közötti kapcsolat jobb megértését szolgálja a következő pár jelentős folyamat: az étrenddel kapcsolatos betegségek hátterében meghúzódó genetikai polimorfizmus (nutrigenetika), a tápanyag indukálta változások a DNS metiláció és a kromatin szintjén (tápanyag epigenomika), a tápanyag indukálta változások a génexpresszióban (tápanyag transzkriptomika) és a fehérjék megváltozott formációja (proteomika). A genetikai polimorfizmus részben felelős a bioaktív étel komponensekre adott egyéni válaszok széles variációjáért. A single nucleotide polimorfizmus (SNP) jelentős szerepe egyre inkább bizonyított a az egyes betegségek kialakulásának kockázatában, mint pl. a BRCA1 öröklött polimorfizmusai és a mellrák kialakulására való hajlam (3). Azon nők körében, akiknek a gyümölcs és zöldség fogyasztásuk (<764g/nap), valamint a C-vitamin (<155 mg/nap) fogyasztásuk átlag alatti, a legmagasabb eséllyel alakult ki a mellrák és legtöbb esetben megfigyelhető náluk a mangán-függő szuperoxid-dizmutáz enzim szigál szekvenciájának 9-es pozíciójában egy valin-alanin tranzíció (4). A metiléntetrahydrofolát-reduktáz





(MTHFR) genotípus esetében megfigyelték, hogy a 677.-ik nukleotid C-T-re helyettesítése csökkenti az 5,10-metiléntetrahidrofolát – 5-metiléntetrahydrofolát átalakulását, így a folát a plazmában cirkulál.

A diétás szokások befolyásolhatják ezen polimorfizmus hatásait a rák kialakulására. Például a TT genotípus esetén megfigyelték, hogy csökkent a vastagbél adenomák kialakulásának esélye, ha a plazma folát koncentráció magasabb volt (>5.5 ng/mL) és fokozódott a betegség kialakulása, ha alacsonyabb volt a plazma folát koncentrációja (<5.5 ng/mL) (5). A TT polimorfizmust továbbá kapcsolatba hozták az endometriális, ovárium és mell rák kialakulásával is. Microarray vizsgálatokkal sikerült azonosítani a bioaktív étel komponensek (mint pl. a szelénium esetében) potenciális molekuláris targeteit. Szelénium-deficiens egerekben figyelték meg, hogy a DNS károsodás kijavításában, az oxidatív stressz és a sejtciklus szabályozásában érdekelt gének fokozottan expresszálódtak, míg csökkent expressziót mutattak ki a drog detoxifikációban szerepet játszó gének esetében (6).

Az izotiocianátok képesek szabályozni a p21 gén expresszióját és gátolni a sejtek növekedését a sejtciklus G2-M ellenőrző pontján (7): Mostanság számos kísérletes bizonyíték és epidemiológiai adat mutatott összefüggést a krónikus gyulladás és a rosszindulatú transzformáció között (8). A krónikus gyulladás során szabad gyökök és aldehidek keletkeznek és jelentős DNS mutációkat indukálnak, valamint a rosszindulatúvá válás folyamatában fontos fehérjék poszttranszlációs módosítását okozzák (9). A gyulladásos folyamatra válaszként elő-gyulladásos citokinek, úgymint tumor nekrosis faktor- α (TNF- α), interleukin-1 (IL-1), IL-6, IL-12 és interferon- γ szintetizálódnak és szekretálódnak, mely növeli a reaktív oxigén gyökök (ROS) és reaktív nitrogén gyökök mennyiségét. Erre válaszként az anti-gyulladásos citokinek (pl. IL-4, IL-10 és TGF- β) szekretálódnak csökkentve a ROS akkumulációját. A gyulladásos folyamat során aktiválódik a MAPK útvonal és az NF- κ B expresszió és a c-Jun aktiváló fehérje-1 (AP-1), mindez elvezet a nitrogén oxid szintáz (iNOS) és a cyclo-oxigenáz-2 (COX-2)-t kódoló gének aktiválásához. A halakból származó tengeri zsírok bevétele megvédhet a prosztatara kialakulásától. Ezt az összefüggést módosítja a cyclo-oxigenáz -2 (COX-2) génben bekövetkező genetikai variációk, mely kulcs enzime a zsírsavak metabolizmusában és a gyulladásban (10). Egyre több bizonyíték állat kísérletekből és egyes *in vitro* munkákból lát napvilágot miszerint, az omega-3 (ó-3)





zsírsavak, különösen a hosszú-láncú eicosapentaenoic sav (EPA) és a docosahexaenoic sav (DHA) védelmet jelent a prosztata rákkal szemben (11, 12).

A GST-k egy citoszolikus enzimcsalád tagjai, melyek fontos szerepet játszanak a karcinogének, terápiás drogok, környezeti toxinok és az oxidatív stressz termékek eliminálásában, ezáltal a detoxifikáció folyamatában (13).

A GST enzimek esetében is bizonyították már, hogy jelentős szereppel bírnak a rákra való hajlam mértékének meghatározásában. A GST enzimeket 5 különböző lokusz (alfa, mu, theta, pi és gamma) kódolja. Ez alapján megkülönböztetünk GSTA1, GSTM1, GSTT1, GSTP1, GSTG1 genotípusokat. A GSTT1 null genotípus esetén azt tapasztalták, hogy a mellrák kialakulásának esélye 30%-ra csökkent. A felsorolt genotípusok vizsgálata során azt találták, hogy azon nők esetében, akik az alacsonyabb vagy enzimatis aktivitással nem rendelkező polimorfizmust hordozták, nagyobb védeltséget élveztek a mellrák kialakulásával szemben, mint a magasabb aktivitású genotípusok esetében (14).

Érdekes megfigyelés, hogy az alkoholt fogyasztók körében kisebb mértékű DNS károsodás figyelhető meg, mint az alkoholt nem fogyasztók esetében. Ez egyértelműen azt mutatja, hogy nagyobb mértékű a DNS repair, feltehetőleg a magasabb etanol-bevitel miatt, ami antioxidáns és repair enzimek jelentős indukcióját okozza (15).

A természetes D vitamin források jelentős része a zsíros halakban, mint pl. a lazac, tonhal és a makréla található meg. Kisebb mennyiségben a májban, sajtokban, tojássárgájában és a gombában is megtalálható. Számos ételféleséggel növelhetjük mennyiségét a szervezetben, mint pl. a tej és tejtermékek, narancs juice, reggeli gabona pehely, tészták és a margarin bevitelével. A D vitamin a bőrben szintetizálódik az UVB-sugárzás (290-315 nm) hatására. A bőr színe nagymértékben befolyásolja a szintetizálódó D vitamin mennyiségét. A keringésbe került D vitamint egy D vitamin-kötő fehérje szállítja. A D vitamin ezt követően a májban gyorsan átalakul egy stabilabb formává, 25-hidroxi-D vitaminná [25(OH)D]. A D vitamin aktív formája a testben az 1,25-dihidroxiitamin D [1,25(OH)₂D], mely elsősorban a vesében szintetizálódik a 25(OH) vitamin D-1- α -hidroxiláz enzim (CYP27B1) révén. Tehát a D vitamin elsődleges cirkuláló formája a 25(OH)D, mely sokkal hosszabb félélettartóval rendelkezik, mint a 1,25(OH)₂D forma (15 nap/15 óra) (16). Az első bizonyíték, mely





megegerősítette a D vitamin rák megelőző hatását főként ökológiai és földrajzi tanulmányokból származott. Mely szerint a fokozott UVB sugárzásnak kitett populáció körében (alacsonyabb földrajzi szélesség, egyenlítő tájékán élők) alacsonyabb a vastagbél rák kialakulásának esélye (17) és később a prosztata rák kialakulási esélye is kisebb (18). Ennek magyarázata, hogy az UVB sugárzás segíti a bőrben a D vitamin képződését, ezáltal a képződött D vitamin illetve annak metabolitjai [25(OH)D vagy a 1,25(OH)₂D] jelenthet védelmet a rák kialakulásával szemben. a leggyakrabban tanulmányozott gén, mely befolyásolja a D vitamin állapotát, a D vitamin receptor (VDR).

A VDR egy intracelluláris hormon receptor, mely specifikusan köti a 1,25(OH)₂D-t és kölcsönhat a D vitamin válasz elemmel, mely számos biológiai hatást indít el. Több, mint 470 SNP-t fedeztek fel a humán VDR génben. A *FokI* restrikciós fragmenthossz polimorfizmus a VDR gén kódoló régiójában helyezkedik el, mely egy 3 AS-val hosszabb és funkcionálisan kevésbé aktív VDR fehérjét eredményez. Tranziens transzfekciós kísérletben a D vitamin-válasz riporter gén segítségével a rövidebb VDR fehérje magasabb biológiai aktivitást mutatott, mint a hosszabbik forma (19). Mint már az korábban említettem, az 1,25(OH)₂D a sejtmagi VDR receptorhoz köt, majd a VDR a retinoid X receptorral (RXR) heterodimert formálva a cél DNS szekvenciához kötődik, mely számos koaktivátor toborzásán keresztül a célgén expressziójának indukcióját eredményezi. A D vitamin válasz elem (VDREs) több, mint 200 génben megtalálható és számos biológiai folyamatot befolyásol, beleértve a sejt növekedés, apoptózis, növekedési faktor szignalizációs útvonal és gyulladásos folyamat. Számos microarray vizsgálat azt mutatta, hogy a különböző típusú rák (prosztata, mell, ovarium, vastagbél, leukémia) kialakulásában kulcs gén közvetlenül az 1,25(OH)₂D által szabályozott. A leggyakrabban szabályozott géneként a CYP24-et kapták (20), mely sejttípus és szövet specifikus módon fejt ki hatását. Például a 1,25(OH)₂D gátolja a sejtnövekedést mind rákos mind pedig normál sejtekben, a sejtciklus G1-S fázis átmenetének gátlásával. Továbbá kimutatták, hogy az 1,25(OH)₂D közvetve képes szabályozni a ciklin-dependens kináz inhibitor p21-et kódoló gént U937 monocita sejtekben (21). ChIP-on-chip technikával bizonyították, hogy a mutáns p53 funkcionálisan és fizikailag is kölcsönhat a VDR-rel, a VDR-által szabályozott gének toborzásán keresztül módosítja a azok expresszióját és fokozza a VDR sejtmagi akumulációját. Tehát a p53 státusz meghatározza az 1,25(OH)₂D biológiai hatását





tumor sejtekben (22).

Egy Kínában végzett általános populációs vizsgálat adatai szerint, azoknál az egyéneknél, akik β -karotin, E vitamin és szeléniummal kiegészített táplálékot kaptak, 13%-kal csökkent a rák okozta halálozási ráta (23).

A humán mellrák az emlőszövetek hormon-függő, rosszindulatú elváltozása. Így az éttrend okozta eltérő hormonális viszonyok jelentősen hozzájárulnak a mellrák kialakulásához vagy éppen a gátlásához. A magas rizikófaktorral előforduló helyeken pl. Észak-Amerika és Észak-Európa, egyértelműen fokozódik a betegség kialakulásának esélye a kor előrehaladtával. Az alacsony rizikójú ázsiai és afrikai országok esetében a középkor elérésével növekszik, azután pedig a csökkenni a betegség kialakulásának esélye. Ezek az adatok is alátámasztják a környezet meghatározó szerepét (a genetikai mellett) a betegség kialakulásával kapcsolatban. Taiwanon végzett vizsgálatokból kiderült, hogy az 55 kg-nál nehezebb nők körében kétszer nagyobb eséllyel alakult ki a betegség, mint a 45 kg-nál kevesebb súlyúak esetében. Továbbá az 50 év feletti nők esetében is magasabb volt a kialakulási esély, mint a fiatalabb nők körében (24).

A mellrák kialakulásának hormonális hátterét vizsgálva, az ösztrogén esetében, mely nőknél 3 formában jelenik meg (E1 – ösztron, E2 – ösztradiol, E3 – ösztriol) azt tapasztalták, hogy a terhesség során az E3 szintje emelkedik meg nagymértékben. Ez azért is érdekes, mert korai terhességgel összefüggésben találták a mellrák kialakulásának csökkent mértékét. Ez alapján azt feltételezik, hogy az E3-nak alacsonyabb karcinogén hatása van, mint a másik két forma esetében. Azokban a fiatal nőkben tehát, ahol az E3 szintje alacsonyabb, mint az E1, E2 szintje, nagyobb eséllyel alakul ki a betegség (25). A másik vizsgált hormon a betegség kialakulásával kapcsolatban a prolaktin. Chan és Cohen mutatta ki, hogy a magas-zsírartalmú éttrend fokozza a szérum prolaktin szintet és elősegíti az emlő tumorok kialakulását patkányokban. feltételezik tehát, hogy a krónikusan magas-zsírartalmú éttrend fokozza a prolaktin/ösztrogén arányát (P/E) az emberekben is, mely elvezet az emlő szövetek fokozott rákosodásához (26).



Irodalomjegyzék

World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research, Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: A Global perspective, American Institute for Cancer Research, Washington, DC, 1997.

Y.-J. Surh. (2003). Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat. Rev. Cancer* 3. 768-780.

M. Jhanwar-Uniyal. (2003). BRCA1 in cancer, cell cycle and genomic stability. *Front. Biosci.* 8. 1107-1117.

C.B. Ambrosone; J.L. Freudenheim; P.A. Thompson; E. Bowman; J.E. Vena; J.R. Marshall; S. Graham; R. Laughlin; T. Nemoto; P. Shields. (1999). Manganese superoxide dismutase (MnSOD) genetic polymorphisms. *Cancer Res.* 59. 602-606.

T. Margate; E. Tsuji; C. Kiyohara; H. Eguchi; T. Oda; K. Shinci; S. Kono. (2003). Relation of plasma folate and methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism to colorectal adenomas. *Int. J. Epidemiol.* 32. 64-66.

L. Rao; B. Puschner; T.A. Prolla. (2001). Gene expression profiling of low selenium status in the mouse intestine: transcriptional activation of genes linked to DNA damage. *J. Nutr.* 131. 3175-3181.

Poli G; Leonarduzzi G, Biasi F; Chiarotto E. (2004). Oxidative stress and cell signaling. *Curr. Med. Chem.* 11. 1163-1182.

Hofseth LJ; Ying L. (2006). Identifying and defusing weapons of mass inflammation in carcinogenesis. *Biochem. Biophys. Acta.* 1765(1). 74-84.

Hussain SP; Hofseth LJ; Harris CC. (2003). Radical causes of cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 3(4). 276-285.

Hedelin M; Chang ET; Wilklund F; Bellocco R et. al. (2006). Association of frequent consumption of fatty fish with prostate cancer risk is modified by COX-2 polymorphism. *Int. J. Cancer.* 120. 398-405.

Larsson SC; Kumlin M; Ingelman-Sundberg M; Wolk A. (2004). Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. *Am. J. Clin. Nutr.* 79. 935-945.





Simopoulos A; Cleland L. (2003). Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio: the scientific evidence. Basel: Karger AG.

Hayes JD; Pulford DJ. (1995). The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 30. 445-600.

Iacoviello L; Santimone I; Latella MC; de Gaetano G; Donati MB. (2008). Nutrigenomics: a case for the common soil between cardiovascular disease and cancer. Genes Nutr. 3(1). 19-24.

Collins AR; Ferguson LR. (2004). Nutrition and carcinogenesis. Mutation Research 551. 1-8.

Davis CD; Milner JA. (2011). Nutrigenomics, vitamin D and cancer prevention. J. Nutrigenet, Nutrigenomics. 4. 1-11.

Garland CF; Garland FC. (1980). Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? Int. J. Epidemiol. 9. 227-231.

Hanchette CL; Schwartz GG. (1992). Geographical patterns of prostate cancer mortality. Evidence for a protective effect of ultraviolet radiation. Cancer. 70. 2861-2869.

Whitfield GK; Remus LS; Jurutka PW; Zitzer H; Oza AK; Haussler CA; Galligan MA; Thatcher ML; Encinas Dominguez C; Haussler MR. (2001). Functionally relevant polymorphisms in the human nuclear vitamin D receptor gene. Mol. Cell. Endocrinol. 177. 145-159.

Kriebitzsch C; Verlinden L; Eelen G; Tan BK; Camp MV; Bouillon R; Verstuyf A. (2009). The impact of 1,25(OH)₂D and its structural analogs on gene expression in cancer cells- a microarray approach. Anticancer Res. 29. 3471-3484.

Liu M; Lee MH; Cohen M; Bommakanti M; Freedman LP. (1996). Transcription of the Cdk inhibitor p21 by vitamin D leads to the induced differentiation of the myelomonocytic cell line U937. Genes Dev. 10. 142-153.

Stambolsky P; Tabach Y; Fontemaggi G; Weisz L; Maor-Aloni r; Siegfried Z; Shiff I; Kogan I; Shay M; Kalo E; Blandino G; Simon I; Oren M; Rotter V. (2010). Modulation of the vitamin D₃ response by cancer associated mutant p53. Cancer Cell. 17. 273-285.

Milner JA. (2008). Nutrition and cancer: Essential elements for a roadmap. Cancer Letters. 269. 189-198.





TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047

Lin TM; KP Chen, B. MacMahon. (1971). Epidemiologic characteristics of cancer of the breast in Taiwan. *Cancer*. 27. 1497.

Cole P; B. MacMahon. (1969). Oestrogen fractions during early reproductive life in the aetiology of breast cancer. *Lancet*. 1. 604.

Chan PC; LA Cohen. (1975). Dietary fat and growth promotion of rat mammary tumors. *Cancer Res*. 35. 3384.

