



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

NUTRIGENÓMICA E NUTRIÇÃO MOLECULAR

Trabalho submetido por

Joana Filipa Lavadinho Moreira

para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Fevereiro de 2016



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

NUTRIGENÓMICA E NUTRIÇÃO MOLECULAR

Trabalho submetido por

Joana Filipa Lavadinho Moreira

para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por

Professora Doutora Alexandra Maia e Silva

Fevereiro de 2016

Dedicatória

Quero dedicar esta monografia aos meus pais.

Agradecimentos

Em primeiro lugar quero agradecer aos meus pais por sempre me terem proporcionado o melhor de tudo e por terem abdicado de muito para que eu pudesse ter uma formação académica; por todo o amor, carinho, dedicação, amizade e paciência; e por me permitirem fazer as minhas escolhas e crescer. Embora com muitos obstáculos pelo caminho, espero ter correspondido às vossas expectativas e que sempre se possam orgulhar de mim. Ao meu irmão que, apesar das nossas desavenças, sempre esteve comigo e apoiou-me. Por todas as brincadeiras, sermões e companheirismo, muito obrigada!

Em segundo lugar, à minha orientadora, Professora Doutora Alexandra Maia e Silva que, apesar de não me conhecer, aceitou o desafio de trabalhar comigo, sempre com muita paciência e uma palavra de força. Obrigada por toda a ajuda e profissionalismo.

Aos da minha faculdade, um grande obrigada por terem feito parte desta grande etapa da minha vida. Alguns agradecimentos especiais a Chantelle Teixeira, Raquel Gameiro, Ana Beatriz Guerreiro, Isabel Teixeira, Alexandre Flor e Ana Cláudia Cruz por serem o meu ponto de abrigo e por tornarem a minha vida mil vezes melhor; à minha “família” que sem vocês os nossos momentos não seriam a mesma coisa; ao André Calejo, pelo grande amigo que és e por toda a força e carinho que sempre me deste.

Queria deixar, também, um especial agradecimento à Equipa dos Serviços Farmacêuticos do Hospital da Luz e à equipa da Farmácia Nobre Guerreiro por todo o tempo despendido durante o meu estágio curricular, por todo o conhecimento que me foi transmitido e pela rápida integração nas vossas equipas. Aos meus colegas de estágio agradeço toda a entreaajuda e boa disposição.

Por último, agradeço ao Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, ao seu corpo docente e não docente, pela maneira como sempre fui recebida. Ao CAEM, que desde o primeiro ensaio se tornou parte de mim e, que para sempre ficará no meu coração por tudo aquilo que me ensinou e proporcionou.

Aos que não mencionei, restantes amigos e família, professores do secundário, entre outros, perdoem-me mas quero que saibam que não vos esqueço, que são igualmente importantes e que também por agradeço por fazem parte da minha vida.

A todos um Muito Obrigada!

Resumo

A saúde de cada indivíduo depende, de entre outros fatores, da sua alimentação. A importância que os nutrientes ou componentes bioativos têm na manutenção da estabilidade do genoma tem sido extensivamente revista, sendo que um consumo adequado de micronutrientes leva a uma boa *performance* em várias funções e contribui para um bem-estar físico. A nutrigenômica tem como objetivo determinar a influência que os nutrientes ou componentes bioativos presentes nos alimentos têm na expressão e manutenção da integridade do genoma, pois diferentes níveis de nutrientes alteram significativamente os perfis de expressão genética e, consequentemente, o proteoma e o metaboloma. A nutrigenética tem como objetivo a compreensão de como a constituição genética individual coordena a resposta à dieta devido a polimorfismos genéticos presentes. A epigenética nutricional permite compreender o papel dos nutrientes nas modificações epigenéticas e como estas estão relacionadas com etiologia da doença, dando assim mais suporte à nutrigenômica. Modificações epigenéticas que ocorram durante o desenvolvimento embrionário são particularmente importantes por terem implicações a longo prazo. As modificações epigenéticas onde os nutrientes têm papéis mais relevantes são a metilação do DNA e a modificação das caudas das histonas. Alguns nutrientes ou componentes bioativos como o selênio, o ácido fólico, o sulforafano, o dialil sulfeto, o butirato, o resveratrol e a curcumina são conhecidos pelas suas propriedades anticancerígenas, anti-inflamatórias e, estão envolvidos nos mecanismos epigenéticos podendo, deste modo, influenciar o risco de desenvolver determinada doença.

Palavras-chave: Nutrigenômica. Nutrigenética. Epigenética. Nutrição Molecular.

Abstract

Everyone's health depends, among other factor, on their food. The importance which the nutrients or bioactive components have in the genome stability has been extensively reviewed. An adequate amount of micronutrients leads to an improved performance of multiple functions and contributes to physical well-being. Nutrigenomics aims to determine the influence nutrients or bioactive components have on expression and maintenance of genome integrity because different nutrient levels significantly alter the gene expression profile and, consequently, proteomics and metabolomics. The aim of nutrigenetics is understanding how individual genetic makeup coordinates the response to diet due to genetic polymorphisms. Nutritional epigenetics allows us to understand the role of nutrients in epigenetic modifications and how these are related to the etiology of the disease, thus providing support nutrigenomics. Epigenetic modifications that occur during embryonic development are particularly important because of long-term implications. Epigenetic modifications where nutrients play major roles are DNA methylation and modification of histone tails. Some nutrients or bioactive components such as selenium, folic acid, sulforaphane, diallyl sulfite, butyrate, curcumin and resveratrol are known for their anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties. They are involved in epigenetic mechanisms and may influence the risk of developing a certain disease.

Keywords: Nutrigenomics. Nutrigenetics. Epigenetics. Molecular Nutrition.

Índice	
Agradecimentos	5
Resumo	7
1. Introdução	19
2. Nutrigenómica	22
3. Nutrigenética	25
4. Epigenética Nutricional	29
5. Os Nutrientes e os Genes	35
5.1. O Selénio	36
5.2. O Ácido Fólico	41
5.2.1. O Ácido Fólico e o Cancro	43
5.2.2. O Ácido Fólico e o Sistema Nervoso Central	45
5.3. Alterações epigenéticas	46
6. Considerações Finais	56
7. Bibliografia	57

Índice de Figuras

Figura 1 - Nutrigenômica e as chamadas ciências “ômicas” (Adaptada de Rimbach e Pascual-Teresa, 2005).

Figura 2 - Nutrigenômica e Nutrigenética (Adaptada de Mutch et al., 2005).

Figura 3 - Os componentes bioativos podem influenciar mecanismos genéticos e epigenéticos nos processos de doença (Adaptada de Trujillo et al., 2006).

Figura 4 - Regulação da expressão genética por mecanismos epigenéticos (Adaptada de Gerhäuser, 2015)

Figura 5 - Usando as ômicas da nutrição para identificar como a dieta contribui para o fenótipo (Adaptada de Trujillo et al., 2006).

Figura 6 - Síntese de selenoproteínas (Adaptada de John Hesketh, 2008).

Figura 7 - Representação esquemática do metabolismo do folato (Adaptada de R. A. Hubner, 2006).

Figura 8 - Nucleossoma e as principais modificações pós transacionais (Obtida de Integrated Health Care).

Figura 9 - A estrutura da cromatina regula a atividade transcricional.

Figura 10 - Regulação do crescimento e sobrevivência celular por inibidores das histonas deacetilases (Adaptada de Johnstone, 2002).

Figura 11 - Nutrientes ou componentes bioativos responsáveis por mecanismos epigenéticos (Adaptada de Link, Balaguer e Goel, 2010).

Figura 12 - Alvos moleculares da curcumina (Anand, Sundaram, Jhurani, Kunnumakkara, e Aggarwal, 2008).

Índice de Tabelas

Tabela 1 - As principais selenoproteínas e as suas funções (Adaptada de Mocchegiani et al., 2014).

Tabela 2 - Características moleculares e funções biológicas dos inibidores das histonas deacetilases (Adaptada de Johnstone, 2002).

Lista de Abreviaturas

DNA – Ácido desoxirribonucleico

RNA - Ácido ribonucleico

mRNA – RNA mensageiro

tRNA – RNA transferência

miRNA- micro RNA

SNP – Polimorfismo de nucleótido simples

HAT – Histona acetiltransferase

HDAC – Histona deacetilase

HDACi – Inibidor da histona deacetilase

MTHFR – Metilenotetrahidrofolato redutase

HCY - Homocisteína

SFN - Sulforafano

DADS – Dialil sulfito

COX-2 – Cicloxigenase 2

NF-kB – Factor nuclear kappa B

AP-1 – Ativador Proteico 1

iNOS – Óxido nítrico sintetase indutível

ICAM1 – Proteína de adesão intercelular 1

VCAM1 – Proteína de adesão celular vascular 1

RC – Restrição Calórica

TNF- α – Factor de necrose tumoral alfa

1. Introdução

A alimentação é um fator muito importante pois pode condicionar a saúde individual (Gonçalves Ferreira, 2005).

Desde o desenvolvimento da genética como ciência que é sabido que os indivíduos são geneticamente diferentes entre si (com exceção dos gêmeos homozigóticos) e, para que fosse possível compreender os diferentes processos fisiológicos entre eles, uma das etapas passaria pela compreensão dos fenômenos genéticos (F., Griffiths, Susan R., Richard C., e Carroll, 2009).

As modificações de DNA não nos indicam o impacto completo de como os nutrientes ou componentes bioativos interferem na manifestação de um dado fenótipo. Da necessidade de maior conhecimento e compreensão destes mecanismos nasceram as ciências “ômicas” (Trujillo, Davis, e Milner, 2006).

Após a descoberta da estrutura do DNA surgiu a era da Genética Molecular. Foram, então, criadas as condições necessárias para iniciar o Projeto do Genoma Humano a 3 de Outubro de 1990, o qual é considerado um marco histórico pela maioria dos geneticistas e biólogos. O Projeto do Genoma Humano tinha como objetivo o desenvolvimento de mapas genéticos detalhados permitindo determinar a localização cromossômica de cada gene, bem como a sequência de nucleótidos e a caracterização da sua função (Stansfield, 1985). Em Abril de 2000 um laboratório norte-americano deu por terminada a sequenciação do genoma humano (Borges-Osório, Maria Regina; Robinson, 2001).

A grande quantidade de informação que está presente no genoma resultou na criação de uma nova disciplina dentro da Genética chamada Genômica que descreve o mapeamento, sequência e análise de todos os genes presentes no genoma. A Genômica está dividida em Genômica Comparativa, Genômica Funcional, e Genômica Estrutural. A Genômica Comparativa permite a análise de genomas por comparação de genomas de diferentes espécies, uma vez que existem sequências nucleótídicas que são conservadas e, que são importantes para a identificação de sequências funcionais nos genomas. A Genômica Funcional é o estudo da função, expressão e interação dos produtos génicos, e como estes influenciam a saúde ou o risco de desenvolver determinada doença. De modo a obter todas essas informações a Genômica Funcional recorre às chamadas ciências “ômicas”. Entre elas destacam-se a transcriptômica, proteômica e metabolômica, como é possível observar na figura 1. Jim Kaput, refere-as como sendo

cruciais uma vez que a maioria das doenças crônicas não são causadas por mutações num único gene, mas devido a uma interação complexa entre vários genes, e que estas tecnologias nos permitem identificar e quantificar várias moléculas de uma só vez (Ghosh, Skinner, e Laing, 2007; Mead, 2007).

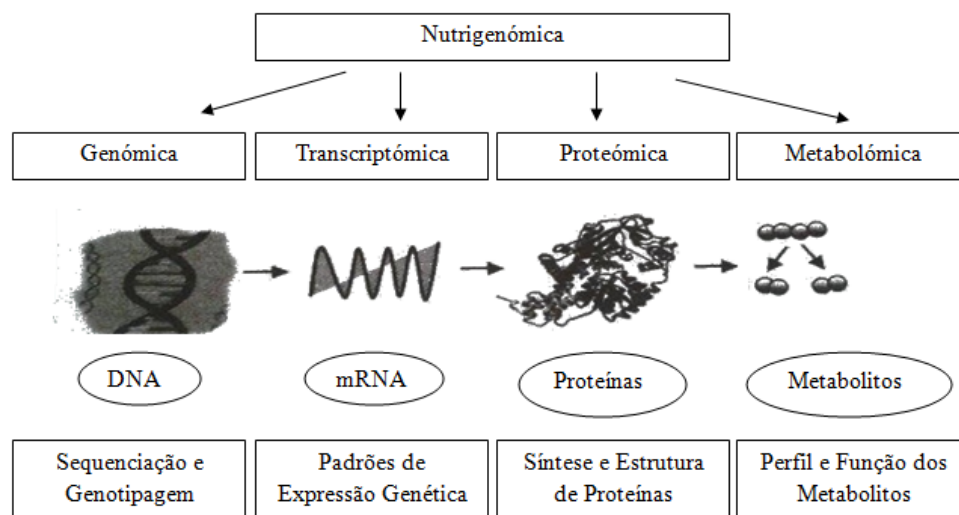


Figura 1 - Nutrigenômica e as chamadas ciências “ômicas” (Adaptada de Rimbach e Pascual-Teresa, 2005).

A transcriptômica é o estudo do transcriptoma, o conjunto de todos os produtos de genes transcritos num determinado momento, a dinâmica entre o genoma, o proteoma (conjunto de todas as proteínas) e o fenótipo. Por outras palavras, descreve como o RNA é analisado numa amostra biológica mediante determinadas condições. A proteômica tem como objetivo a caracterização de todas as proteínas de uma dada amostra, num determinado momento, com a sua abundância relativa, distribuição, modificações pós transduccionais, funções e interações com outras moléculas. Ajuda, também, na identificação de estruturas proteicas anormais e determina como os nutrientes ou componentes bioativos afectam a estrutura tridimensional das proteínas (F. et al., 2009; Mutch, 2005; Trujillo et al., 2006).

Uma das “ômicas” mais recentes é a metabolômica. É o estudo de todos os metabolitos endógenos e exógenos presentes numa célula, órgão ou fluidos corporais, permitindo gerar o perfil metabólico individual. Deste modo, definir os metabolitos do organismo associados a estados de saúde ou de doença poderá ser uma ferramenta importante para decifrar como os nutrientes podem modular os diversos fenótipos, uma vez que é eticamente impossível chegar até todos os tecidos no organismo humano (F. et al., 2009; Mutch, 2005; Trujillo et al., 2006).

A vasta quantidade de informação retirada a partir das tecnologias modernas não só mediou o desenvolvimento de plataformas analíticas e o respectivo *software*, como revolucionou todo o nosso conhecimento sobre saúde e doença, o que faz da Bioinformática uma parte importante da genómica. Esta consiste na análise computacional do conteúdo de informação dos genomas. Desde a década de 70 que se têm vindo a desenvolver várias tecnologias de manipulação e análise do DNA permitindo aos cientistas localizar e identificar os genes responsáveis por proteínas humanas essenciais, as suas mutações e compreender melhor a fisiopatologia associada a determinada doença (F. et al., 2009; Mutch, 2005; Trujillo et al., 2006).

2. Nutrigenômica

A nutrigenômica tem como objetivo determinar a influência que os nutrientes ou componentes bioativos presentes nos alimentos têm na expressão genética e como essa variação poderá originar diferentes respostas num indivíduo. É a combinação de nutrição molecular e genômica (Afman e Müller, 2006).

Atualmente, o termo é utilizado no contexto da biologia humana e, embora seja muitas vezes usado como sinônimo de nutrigenética, estes têm origens etimológicas diferentes. Ambas as disciplinas visam desvendar as interações entre a dieta e o genoma, com é possível observar na figura 2. No entanto, as abordagens e objetivos imediatos são distintos (Gillies, 2003).

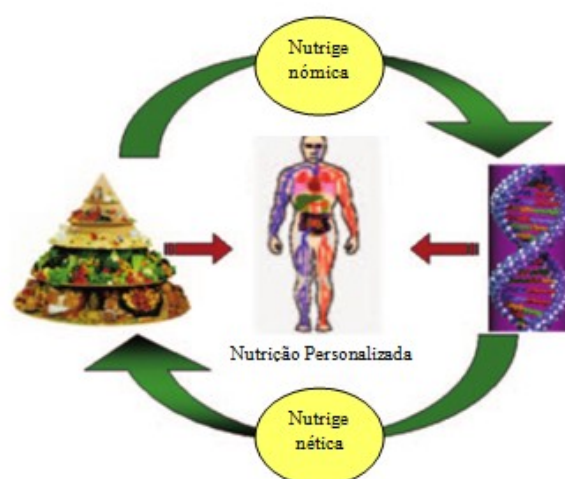


Figura 2 - Nutrigenômica e Nutrigenética (Adaptada de Mutch et al., 2005).

As marcadas variações na resposta individual aos diferentes nutrientes ou componentes bioativos tem vindo a gerar grandes controvérsias na área da nutrição, o que levou muitos investigadores a questionarem-se acerca do que causaria estas diferenças e se haveria algum modo de as alterar e/ou prevenir. Essas variações foram associadas às diferentes genéticas individuais. No entanto, só após o sucesso do Projeto do Genoma Humano, a notação dos SNP e a evolução da nutrição molecular é que foi possível estabelecer essa ligação (Subbiah, 2008).

A ideia de que a dieta e os processos fisiológicos estão relacionadas não é recente mas, o reconhecimento de que não só alguns nutrientes são essenciais como as

suas quantidades específicas teriam a capacidade de interagir e modular os mecanismos moleculares, levou a uma nova era da medicina e da nutrição que, consequentemente gerou o crescimento da nutrigenômica (Sutton, 2007; Trujillo et al., 2006).

De modo a perceber como o sistema biológico responde após um estímulo nutricional, a nutrigenômica tem recorrido à utilização de novas e inovadoras tecnologias, como as referidas anteriormente, permitindo uma melhor compreensão de como as moléculas afetam as vias metabólicas e o controle homeostático. Do ponto de vista molecular, os nutrientes são considerados “moléculas de sinalização”, onde o resultado dessa sinalização serão as alterações na expressão dos genes, proteínas e metabolitos. Assim sendo, a nutrigenômica pode levar a avanços substanciais nos cuidados de saúde pública devido ao seu grande foco na medicina preventiva tanto em indivíduos saudáveis como em indivíduos doentes (Afman e Müller, 2006; Mutch, 2005; Subbiah, 2008).

Entende-se por componente bioativo todo e qualquer componente que esteja presente num determinado alimento e que desencadeia um efeito fisiológico (figura 3) (Fenech, 2008; Gillies, 2003; Mutch, 2005; Subbiah, 2008).

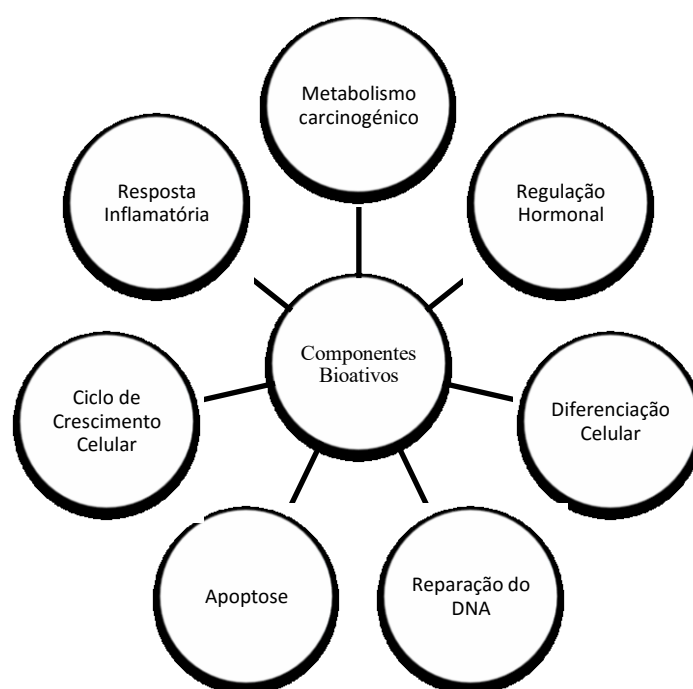


Figura 3 - Os componentes bioativos podem influenciar mecanismos genéticos e epigenéticos nos processos de doença (Adaptada de Trujillo et al., 2006).

Existem vários estudos de que os micronutrientes são capazes de interagir com o genoma, modificando a expressão dos genes ou participando no processo de replicação e reparação do DNA, uma vez que atuam como co-fatores ou substratos nestes mecanismos moleculares. Além disso, a concentração ótima de micronutrientes que previne o dano no genoma é dependente dos polimorfismos genéticos que estão associados a determinados genes, como por exemplo o MTHFR (Fenech, 2008; Gillies, 2003; Mutch, 2005; Subbiah, 2008).

3. Nutrigenética

A nutrigenética tem como objetivo a compreensão de como a constituição genética individual coordena a resposta à dieta devido a polimorfismos genéticos presentes, relacionando estas alterações com o risco de desenvolver doenças. Por outras palavras, a nutrigenética é a análise retrospectiva das variações genéticas entre os indivíduos devido às suas respostas a nutrientes específicos (Gillies, 2003). Do mesmo modo que a farmacogenética procura adaptar os fármacos à constituição genética individual, a nutrigenética oferece a promessa de uma nutrição personalizada com base na constituição genética individual e no conhecimento dos diversos polimorfismos. Expectativas criadas acerca da dieta personalizada têm sido importantes estimuladores da pesquisa de diferenças genómicas (Mutch, 2005; Penders, Horstman, Saris, e Vos, 2007).

A estratégia mais recente para perceber as várias interações é a investigação dos diferentes conjuntos de alelos de SNP, designados por haplotipos. Um SNP pode alterar um aminoácido alterando a função da proteína que o integra ou pode ocorrer numa região de regulação do gene (por exemplo, no promotor) alterando a regulação da expressão desse gene. A maioria das variações genéticas, como SNP, inserções e repetições, foram encontradas como sendo sequências nucleótídicas que codificam para enzimas e transportadores relacionados com doenças de interesse. Constituem cerca de 90% de todas as variações genéticas humanas que ocorrem num genoma com 3 mil milhões de bases e são marcadores polimórficos importantes (Afman e Müller, 2006; John Hesketh, 2008).

Assim sendo, um dos objetivos da nutrigenómica e da nutrigenética é a identificação em grande escala de genes modulados pelos nutrientes e os respetivos SNP, assim como a sua validação e incorporação nas estratégias nutricionais para a otimização da saúde e prevenção da doença. No entanto, e como assinala Ghosh, Skinner e Laing (2007), “é importante realçar que nem todos os genes que são críticos na evolução clínica estão diretamente envolvidos na patogénese da doença ou no benefício nutricional” (Ghosh, Skinner e Laing, 2007; Gillies, 2003). M. Fenech refere, também, que “a presença de um gene ou uma mutação em particular apenas indica a predisposição para uma determinada doença na maioria dos casos. Se esse potencial genético irá ou não manifestar a doença depende de interações complexas entre o

genoma humano, o ambiente e fatores comportamentais” (Mead, 2007). Deste modo, não só o genótipo como também os fatores externos são responsáveis pelo desenvolvimento de um determinado fenótipo em detrimento de outro, sendo a dieta um desses fatores externos que funciona como fator desencadeador (Penders et al., 2007; Stansfield, 1985).

Jim Kaput, explica que “as interações dieta-gene são extremamente complexas e difíceis de prever, demonstrando assim a necessidade de genótipos e condições ambientais altamente controlados que permitam a identificação de padrões comuns baseados na dieta e no genótipo”. Esta advém da grande diversidade de nutrientes ou componentes bioativos e que cada um deles tem vários alvos com diferentes afinidades e especificidades. Peter Medawar e Larry Parnell contradizem os autores anteriores dizendo que “pessoas sábias podem desenvolver expectativas sobre o futuro, mas apenas os tolos fazem previsões” e que “o número de combinações e permutações dos genes é tão grande que nunca ninguém será capaz de avaliá-las todas” (Gillies, 2003; Mead, 2007; Penders et al., 2007). Ben van Ommen (cit. em Penders et al.) argumenta que “o importante é separar o que faz sentido do absurdo e o útil do inútil e, descobrir quais os parâmetros nutricionais que devem ser mantidos para procurar as diferenças” (Penders et al., 2007).

O desenvolvimento de padrões dietéticos, nutracêuticos e suplementos alimentares que são desenhados para melhorar a manutenção do genoma humano, pode dar uma importante contribuição para uma nova estratégia de saúde baseada num tratamento nutricional individualizado. Já Hipócrates dizia que “boa saúde requer o conhecimento primário da constituição do Homem e dos poderes dos vários alimentos, tanto os naturais para eles como os resultantes da habilidade humana”. No entanto, para que os produtos possam ser aconselhados por profissionais de saúde é essencial que sejam testados clinicamente e que haja uma compreensão clara da sua composição, toxicidade e possível interação com outros fármacos (Fenech, 2008; Mead, 2007; Mutch, 2005; Penders et al., 2007; Subbiah, 2007, 2008).

É de realçar que a nutrigenômica é uma área interdisciplinar e a nutrição personalizada é apenas uma das suas metas. Outra disciplina envolvida na pesquisa é a epidemiologia, como será referido mais adiante (Penders et al., 2007).

Importa realçar que o conceito de nutrição personalizada é sobre o risco de desenvolver doença, e não tratamento, que varia entre indivíduos e, que esse risco é modulado por interações entre a genética e a nutrição. (Hesketh, 2013).

Segundo Penders et al., a “personalização é sobre diferenças, diferenças entre pessoas e diferenças entre ambientes, combinadas no fenótipo do indivíduo”. No entanto, se para uns autores este conceito é meramente sobre o indivíduo como um ser único, para outros é sobre grupos para os quais os seus membros partilham características genéticas comuns. Estes últimos realçam que “para fazer da personalização uma estratégia rentável comercialmente, esta tem de ser sobre grandes grupos”, ou seja, se os indivíduos poderiam ter distinguidos como únicos, na verdade não é o que acontece (Penders et al., 2007).

Assim sendo, toda e qualquer intervenção nutricional para a prevenção do risco de desenvolver certas doenças torna-se uma meta complexa e ambiciosa e que exigirá um grande esforço de comunicação entre os cientistas das diversas áreas, começando pelas universidades que terão um papel de liderança não só no desenvolvimento de currículos diversificados e apropriados como de programas de treino para responder às crescentes exigências de saúde e programas de investigação. Isto torna-se de especial importância quando é evidente que o conhecimento de genética e nutrição por parte dos médicos é muito deficiente e alarmante, pois compromete os serviços nutrigenómicos oferecidos ao público. Deve também haver coerência dos dados gerados nos vários laboratórios. Toda esta envolvimento deve-se ao facto de um único estudo nutrigenómico gerar imensos dados (Afman e Müller, 2006; Castle e Ries, 2007; Subbiah, 2008).

Ao contrário das intervenções farmacológicas em que o acesso ao fármaco é controlado e onde a melhoria clínica pode ser documentada, as mudanças nutricionais são mais complexas, mais lentas e dependem de uma série de outros fatores referidos anteriormente. Acrescendo o facto de que uma intervenção nutricional é geralmente sem restrições em termos de acesso e onde pode, ou não, existir conselho profissional (Ghosh et al., 2007; Subbiah, 2008).

Como refere M. Fenech, a “quantificação da ingestão de alimentos é um desafio porque os Humanos não levam a vida diária como sendo uma experiência científica onde a quantidade e tipo de alimentos é gravada detalhadamente”. Assim, serão necessárias ferramentas mais fiáveis para quantificar a ingestão de nutrientes (Mead, 2007).

De modo a salvaguardar o interesse do público e, para que o negócio possa crescer, será necessário que a legislação acompanhe igualmente esse crescimento tendo em conta que a nutrigenómica lida com genómica e genética humana, nutrição molecular, pesquisa e desenvolvimento de novos alimentos (Castle e Ries, 2007).

Com o Projeto do Genoma Humano e a consequente decifração do genoma humano, várias preocupações emergiram por parte dos cientistas e governantes em relação a problemas éticos, legais e sociais decorrentes dos conhecimentos atuais e futuros acerca do património genético da nossa espécie (Borges-Osório, Maria Regina; Robinson, 2001).

É de extrema urgência que se assegurem as guidelines e as leis para a monitorização de laboratórios clínicos que oferecem testes nutrigenómicos, dado que um dos problemas refere-se ao registo de patentes de fragmentos de cromossoma por parte dos laboratórios impedindo, assim, a divulgação para a comunidade científica. Outro aspeto relacionado com os testes nutrigenómicos é o custo, sendo a disponibilidade de acesso a medicina genómica em regiões pobres do mundo muito limitada (Ghosh et al., 2007; Subbiah, 2008).

Segundo Ghosh et al., as grandes preocupações são a privacidade e a ética no uso e intervenção da informação genética, pois a passagem de informação genética a outros (intencional ou não) pode seguir-se de estigmatização social e práticas discriminatórias; integração de novas tecnologias genéticas na prática clínica e problemas à volta da pesquisa genética e educação pública e profissional. No entanto, é provável que a nutrigenómica siga as linhas da farmacogenómica, com ênfase na confidencialidade paciente-médico (Ghosh et al., 2007).

Assim, tanto o grupo *ELSI (ethical, legal, and social issues)* como a *European Nutrigenomics Organisation* tiveram papéis importantes. O grupo ELSI é um grupo voltado para o impacto do Projeto do Genoma Humano na introdução de novos testes clínicos, para a determinação de quem terá acesso à constituição genética de uma pessoa e para a definição de meios para educar tanto profissionais de saúde como público em geral sobre aspetos genéticos. Já a *European Nutrigenomics Organisation*, segundo Castle e Ries, desenvolveu uma guideline de bioética de modo a standardizar as “éticas de pesquisa humana”, incluindo problemas chave na pesquisa genética como a obtenção de consentimento informado por parte dos participantes (seja para estudos genéticos ou para *biobanking*), gestão de biobancos e uso e troca de dados e amostras (Castle e Ries, 2007).

4. Epigenética Nutricional

De modo a otimizar os conhecimentos adquiridos pelas áreas referidas anteriormente é necessário aumentar os conhecimentos a nível molecular.

Epigenética pode ser definida como o estudo das modificações que ocorrem no genoma resultantes de alterações na estrutura da cromatina sem alterar a sequência nucleotídica (Langevin e Kelsey, 2013; Mathers, 2008).

Segundo Remely et al., os estímulos e processos que influenciam os mecanismos epigenéticos de regulação e expressão genética podem ser divididos em fatores internos como alterações na estrutura da cromatina, vias metabólicas, balanço neuroendócrino e atividades hormonais e fatores externos como nutrientes ou componentes bioativos, medicação, tabaco, radiação, organismos infecciosos e stress (Remely et al., 2015).

Os mecanismos epigenéticos afetam, então, a expressão genética através de processos como a metilação do DNA, modificações das histonas, remodelação da cromatina e, mais recentemente, através da regulação da ação dos micro RNA (miRNA) (figura4) (C. David, Thomas, Danny, e Caparros, 2007; Mathers, 2008).

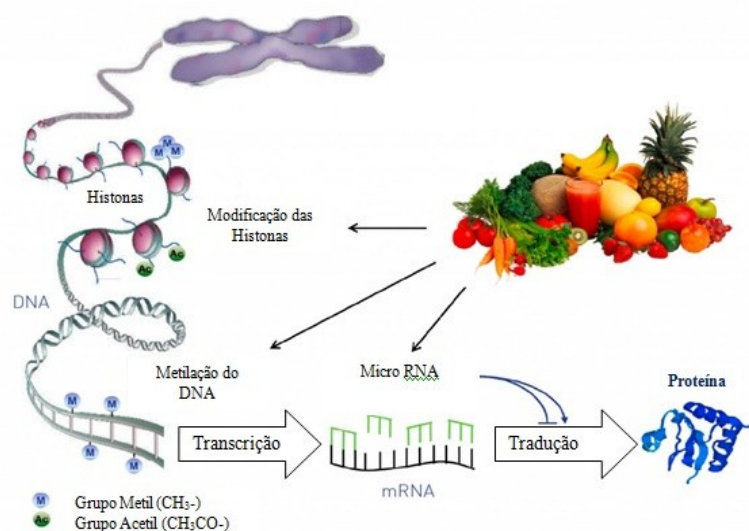


Figura 4 - Regulação da expressão genética por mecanismos epigenéticos (Adaptada de Gerhäuser, 2015)

O miRNA é uma classe de RNA não codificante, de pequenas dimensões, que regula a expressão genética por repressão ou ativação da tradução. Tem um papel importante no controlo da metilação do DNA e nas modificações das histonas criando

mecanismos de *feedback* altamente controlados. Mecanismos epigenéticos têm também a capacidade de modular a expressão de miRNA (Iorio, Piován, e Croce, 2010).

Uma grande parte da pesquisa epigenética tem sido feita em plantas e animais, sendo que muitas das suas implicações para os seres humanos ainda não são claras, e muitos dos desafios permanecem em entender quais os tecidos e tipos de células que são mais adequados a investigar, quais os tipos de alterações epigenéticas que devemos procurar, quão grande terá de ser o efeito dessas alterações para ter um impacto significativo e se, de facto, estamos a olhar para os mecanismos epigenéticos mais importantes. Nas últimas décadas, os estudos epigenéticos têm-se focado no desenvolvimento embrionário, no envelhecimento e no cancro. Atualmente, a epigenética tem ajudado outras áreas como a inflamação, obesidade, resistência à insulina, diabetes *mellitus* tipo 2, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, e doenças imunológicas (Langevin e Kelsey, 2013; Michels, 2010).

Como refere Karin B. Michels em *The Promises and challenges of epigenetic epidemiology* “a epidemiologia é o estudo da frequência, distribuição e determinantes da doença nos humanos e é uma ciência fundamental para a saúde pública porque se preocupa com a prevenção e controle da doença” e, quando combinada com a epigenética, permite compreender o papel das modificações epigenéticas na etiologia da doença e de como estas poderão ser o mecanismo de base entre a exposição (como a dieta) e a evolução da doença (Michels, 2010).

Estudos epidemiológicos epigenéticos têm sido uma boa base de trabalho, assim como vários estudos internacionais e interdisciplinares que tinham como objetivo uma melhor compreensão da regulação da expressão dos genes. Esses estudos incluem o *ENCODE* (a enciclopédia dos elementos regulatórios no DNA humano) que examinou 147 linhas celulares na pesquisa de elementos funcionais do genoma; *Epigenomics Roadmap* que examinou 127 biópsias de embriões e adultos, tanto saudáveis como doentes, para identificar elementos da regulação da função dos genes; o *Internacional Human Epigenome Consortium* e o *Genome Tissue Expression projet* que investigaram a relação entre variações genéticas e expressões genéticas específicas de cada tecido, e *splicing* alternativo em 20.000 amostras de tecidos de 900 indivíduos (Brook, Perry, Adcock, e Durham, 2015; Ramsay, 2015).

Segundo Jing X. Kang, a epigenética é uma das áreas mais importantes na intervenção nutricional, sendo que o campo da epigenética nutricional consegue elucidar sobre a natureza das interações dos nutrientes com os genes, dando assim mais

suporte à nutrigenômica na compreensão da aquisição de novos fenótipos. Permite compreender como células e /ou organismos com sequências nucleótídicas idênticas e submetidos aos mesmos nutrientes possam gerar diferentes respostas. Na figura 5, podemos observar como a epigenética nutricional se inter-relaciona com a nutrigenômica (Kang, 2013).

Num estudo efetuado por Chittka A, Chittka L. (cit. em Remely et al.), refere que diferentes evoluções fenotípicas são geradas a partir de genomas idênticos, induzidos pela dieta. No entanto, a delineação dos precisos mecanismos dos nutrientes pode ser desafiante (assim como dos efeitos) porque pode ser determinada não só pela estrutura dos nutrientes, pelos processos fisiológicos e patológicos no corpo e da interação dos nutrientes, mas também por outros fatores como o estilo de vida (C. David et al., 2007; Remely et al., 2015).

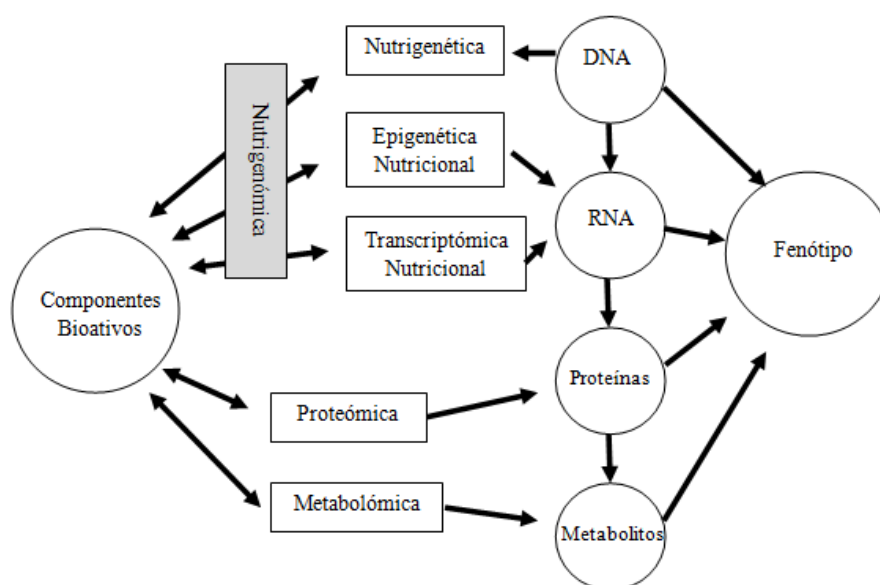


Figura 5 - Usando as ómicas da nutrição para identificar como a dieta contribui para o fenótipo (Adaptada de Trujillo et al., 2006).

Fica então evidente que as doenças crônicas não são apenas o resultado do consumo alimentar e do genoma, mas também do epigenoma herdado e das diferentes influências nutricionais que ocorram quer no período gestacional quer mais tarde na fase adulta, sendo que a identificação e caracterização de moduladores de epigenética pode levar a métodos para prevenção e tratamento de doenças (Allis et al., 2007; Langevin e Kelsey, 2013).

Modificações epigenéticas que ocorram em períodos mais sensíveis da fase de desenvolvimento humano, em particular na fase pré-natal, podem persistir ao longo da

vida em tecidos somáticos, originando condições patológicas no adulto (Choi, Claycombe, Martinez, Friso, e Schalinske, 2013; Ghosh et al., 2007; Langevin e Kelsey, 2013; Michels, 2010; Park, Friso, e Choi, 2012; Peedicayil, 2012; Vaiserman, 2015).

Um estudo efetuado por Cooney et al., citado por Trujillo et al., sugeriu que a exposição no útero a nutrientes ou componentes bioativos passíveis de gerar modificações epigenéticas não só influenciam o desenvolvimento embrionário como também podem ter implicações a longo prazo para a saúde (Trujillo et al., 2006). Seguiram-se depois muitos outros estudos acerca deste tema, que demonstraram essa associação. Seis décadas após a *Dutch Hunger* no inverno de 1944-1945 foi observado um aumento de risco por obesidade, dislipidémia e doenças cerebrovasculares nos descendentes das mulheres que tinham passado fome na fase inicial de gestação. Este facto permitiu a Heijmans e seus colegas demonstrar que aqueles que tinham sido expostos a fome durante a fase de gestação apresentavam diferentes padrões de metilação nos genes responsáveis pelo crescimento e por doenças metabólicas. Três décadas antes já Barker tinha relacionado o peso à nascença com a morte no adulto por acidente vascular cerebral (Ordovás e Smith, 2010).

De facto, a primeira evidência do papel da epigenética em doenças humanas surgiu após a compreensão do *imprinting* genómico e da descoberta de que vários genes estão sujeitos a este tipo de relação. *Imprinting* genómico é uma forma de regulação epigenética em que a expressão do gene depende se este é herdado pela mãe ou pelo pai, ou seja, apenas um dos alelos dos pais é expresso enquanto a outra cópia é silenciada pela metilação do DNA (C. David et al., 2007; Dauncey, 2014).

Como referido anteriormente, um dos mecanismos epigenéticos é a metilação do DNA e, foi a primeira modificação epigenética a ser descrita por Holliday e Pugh em 1970, sendo a alteração mais estudada. A maioria dos estudos epigenéticos está centrado nesta alteração devido à sua relativa estabilidade de armazenamento quando comparada com o RNA e com as proteínas e, pela existência de múltiplas plataformas técnicas disponíveis para este tipo de análise. No entanto, as modificações das histonas são importantes marcadores da função e estado da cromatina, pese embora os elementos da sequência de DNA que as ligam a localizações genómicas específicas não sejam conhecidos. A acetilação das histonas pode aumentar a expressão genética por promover a forma relaxada da cromatina (Dauncey, 2014; Langevin e Kelsey, 2013; Michels, 2010; Park et al., 2012; Ramsay, 2015).

A metilação do DNA é uma modificação bioquímica que envolve uma ligação covalente de um grupo metilo a uma citosina numa reação catalisada pela DNA metiltransferase (DNMT). A característica mais marcante da metilação do DNA é que esta ocorre em ilhas CpG, regiões ricas em dinucleótidos CpG. A metilação nessas regiões foi associada à repressão da transcrição genética (Bird, 2002; Dauncey, 2014; Langevin e Kelsey, 2013; Mathers, 2008; Park et al., 2012; Rountree, Bachman, Herman, e Baylin, 2001).

Os padrões de metilação são genomicamente estabelecidos durante a embriogénese através de pelo menos três DNA metiltransferases, e esta é responsável pela regulação de vários processos como o destino celular, a inativação do cromossoma X, o *imprinting* genómico e a ativação ou silenciamento de genes específicos (Brook et al., 2015).

O grau de metilação pode ser determinado pela disponibilidade de doadores de grupo metilo, atividade da metiltransferase e potencial atividade da desmetilação (Trujillo et al., 2006).

Nos últimos anos têm sido feitos vários estudos sobre várias outras doenças como doenças auto-imunes, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, entre outras, onde a metilação do DNA é reconhecida como sendo um componente importante nestes processos (Langevin e Kelsey, 2013).

Apesar dos estudos atuais se focarem mais nos mecanismos epigenéticos da doença, os processos epigenéticos são essenciais ao normal crescimento, desenvolvimento e homeostase. Tanto a hipermetilação do DNA como a hipoacetilação das histonas alteram a estrutura da cromatina e regulam a expressão genética na embriogénese. Alguns exemplos de papéis críticos da regulação epigenética num sistema fisiológico são a diferenciação celular e a plasticidade neuronal (Ordovás e Smith, 2010).

Do ponto de vista de intervenção, os marcadores epigenéticos são maleáveis e alguns deles podem ser alterados no curso da vida através de algumas mudanças no estilo de vida e que pode ter impacto na suscetibilidade e risco de desenvolver determinada doença (Langevin e Kelsey, 2013; Michels, 2010; Ramsay, 2015).

Um dos desafios dos estudos epigenéticos é, também, a diferenciação entre as influências externas referidas anteriormente e o próprio envelhecimento do epigenoma, que por si só pode estar relacionado com algumas doenças, e que pode aumentar o potencial de confusão, exigindo uma análise cuidada dos resultados obtidos. Estudos genómicos em células e tecidos envelhecidos permitiram descobrir que esse

envelhecimento deriva da metilação do DNA que ao longo do tempo aumenta ou diminui a plasticidade das células estaminais. Assim, para doenças relacionadas com o envelhecimento do epigenoma passaria por prevenir ou reduzir essa metilação (Dauncey, 2014; Michels, 2010).

5. Os Nutrientes e os Genes

Um dos grandes desafios dos investigadores ligados à nutrigenómica passa por definir as concentrações ótimas dos micronutrientes necessária para a manutenção das células num estado genomicamente estável, uma vez que o risco para o desenvolvimento de doenças degenerativas aumenta com o dano originado no genoma que, consequentemente é dependente do estado nutricional. Os mecanismos epigenéticos são igualmente importantes na estabilidade do genoma (Fenech, 2008; Mead, 2007; Mutch, 2005).

A importância que os micronutrientes têm na manutenção da estabilidade do genoma tem sido extensivamente revisto sendo que a magnitude do dano causado pela deficiência dos mesmos pode ser semelhante àquela causada por danos devido à exposição a doses significativas de químicos carcinogénicos, radiação ultravioleta ou ionização. Assim sendo, na ausência de exposição a tóxicos genéticos, a instabilidade do genoma é por si só um marcador da deficiência de nutrientes, tal como refere Michael Fenech (Fenech, 2008; Mead, 2007).

Segundo Mocchegiani et al., “vários micronutrientes, contribuem direta ou indiretamente para a atividade biológica de algumas enzimas antioxidantes, para a eficiência do sistema imunológico, para a harmonia metabólica, para manter a inflamação controlada e para manter o correto funcionamento de mecanismos homeostáticos do organismo”. Chernoff (cit. em Mocchegiani et al.) reforça esta afirmação dizendo que um consumo adequado de micronutrientes leva a uma boa *performance* em várias funções imunológicas, a uma compensação metabólica e à preservação da atividade antioxidante (Kang, 2013; Mocchegiani et al., 2014). Ames (2003, 2004), citado por Fenech, refere que uma suplementação com as vitaminas e minerais corretos pode, em alguns casos, ajudar a ultrapassar esses bloqueios metabólicos em vias importantes de manutenção da qualidade do DNA (Fenech, 2008).

5.1. O Selênio

Em 1817 o químico sueco Jacob J. Berzelius descobriu o elemento selênio. Começou por ser classificado como agente tóxico, mas em 1973 foi considerado um micronutriente essencial, após a sua associação com a doença de Keshan (KD). A KD é uma cardiomiopatia endêmica que ocorreu na China, e o nome deve-se à primeira epidemia ocorrida em 1935 em Keshan. Apesar da sua etiologia não ser totalmente compreendida foi possível associá-la à deficiência de selênio, devido à falta deste nutriente nos solos fazendo com que os cereais também fossem deficientes em selênio. Pôde-se confirmar esta teoria quando se verificou uma melhoria significativa na incidência de KD após a suplementação com selênio (Li et al., 2013).

A sua absorção pela alimentação é relativamente elevada e a sua homeostase apenas depende da excreção urinária. O metabolismo do selênio permite que este seja incorporado em várias moléculas e a sua absorção depende da forma química, tendo as formas orgânicas uma absorção mais elevada que as formas inorgânicas (John Hesketh, 2008; Niedzielski et al., 2016).

A ingestão de selênio depende da dieta e deriva do consumo de marisco ou frutos do mar, fígado, vegetais e cereais. No entanto, nos vegetais e nos cereais o conteúdo deste varia dentro das diversas regiões geográficas, uma vez que provém da terra. A referência atual para o selênio é de 75 e 60 µg/dia para os homens e para as mulheres, respetivamente. No entanto estes valores não correspondem à realidade verificada em diversas regiões mundiais, originando um problema de saúde pública. E, embora as quantidades ingeridas não sejam suficientes para causar deficiência, também não são suficientes para uma saúde ótima. Uma revisão de Wittwer et al. acerca de estudos de intervenção em Humanos, demonstrou que os diferentes níveis de selênio que atingimos quer pela alimentação quer pela toma de suplementos, altera significativamente os perfis de expressão genética e, consequentemente, o proteoma e metaboloma (John Hesketh, 2008; Mocchegiani et al., 2014; Wittwer et al., 2011).

Kryukov et al., identificou 25 proteínas com selênio (selenoproteínas) codificadas pelo genoma humano. Pensa-se que as funções fisiológicas do selênio resultem da existência de várias selenoproteínas, onde este é incorporado após a tradução das mesmas sob a forma do aminoácido selenocisteína (sec) (John Hesketh, 2008).

A incorporação de sec nas selenoproteínas é um processo complexo e envolve duas grandes estruturas: uma sequência de inserção da selenocisteína (SECIS) localizada na região não transcrita do mRNA (3'UTR) e da recodificação de um codão stop UGA para um com selenocisteína. Requer também a formação de um tRNA específico, da proteína de ligação à SECIS (SBP2), de um fator de alongação específico (EF-Sec) e da proteína ribossomal L30. É possível observar este processo na figura 6 (John Hesketh, 2008).

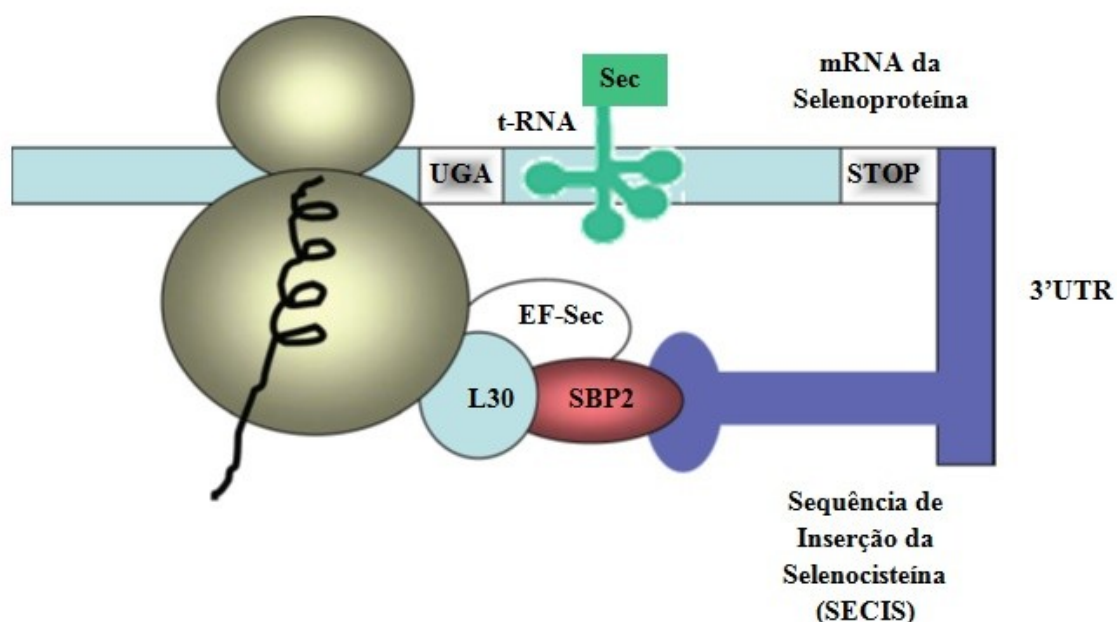


Figura 6 - Síntese de selenoproteínas (Adaptada de John Hesketh, 2008).

As selenoproteínas mais estudadas são: as glutationato peroxidases (Gpx's), as tioredoxina redutases (Txnrd's), as deiodinases (IDI's) e a selenoproteína P (SEPP). As Gpx's são necessárias na regulação da concentração intracelular de hidroperóxidos e têm funções antioxidantes, protegendo as células do stress oxidativo. Têm várias funções no stress oxidativo, no metabolismo da lipoxigenase e na fertilidade masculina (Gpx4). As Txnrd's, juntamente com a tioredoxina, formam um sistema redox com múltiplas funções. Previne, também, a peroxidação dos lípidos por regeneração do antioxidante ubiquinol-10. As deiodinases I, II e III estão envolvidas no metabolismo da hormona da tireoideia. Por fim, a selenoproteína P (SEPP) é uma proteína extracelular e é exclusiva pela sua quantidade em resíduos de Secys (10 resíduos). Contém mais de 50% do selênio plasmático total e, regula o transporte do selênio para outros tecidos. Tem

também uma função secundária na defesa antioxidante. As proteínas identificadas recentemente incluem as selenoproteínas H, I, K, L, M, N, O, S, T, X1 e W. Na tabela 1 constam as principais selenoproteínas e as suas respetivas funções. (John Hesketh, 2008; Mocchegiani et al., 2014).

Tabela 1 - As principais selenoproteínas e as suas funções (Adaptada de Mocchegiani et al., 2014).

Proteínas	Gene	Funções
Glutathione Peroxidase 1	Gpx 1	Redução do peróxido de hidrogénio Enzima antioxidante principal
Glutathione Peroxidase 2	Gpx 2	Antioxidante Detoxificação
Glutathione Peroxidase 3	Gpx 3	Redução do peróxido de hidrogénio Sinalização redox
Glutathione Peroxidase 4	Gpx 4	Protecção contra dos hidroperóxidos lipídicos Sinalização redox Maturação do esperma
Selenoproteína W	Sepw 1	Reacções Redox
Selenoproteína H	Sel H	Viabilidade celular Antioxidante Detoxificação
Selenoproteína 15	Sep 15	Formação de pontes dissulfúricas Controlo de qualidade do <i>folding</i> enzimático no retículo endoplasmático
Selenoproteína P	Sepp 1	Transportador plasmático do Selénio Anti-oxidante no endotélio
Selenoproteína X1	Sepp 1	Incorporação em MSRB1 Protecção contra stress oxidativo
Selenoproteína I	SelI	Redução do peróxido de hidrogénio
Selenoproteína T	SelT	Regulação Redox Adesão celular
Selenoproteína S	SelS	Remoção de proteínas <i>misfolded</i> do lumen do retículo endoplasmático
Selenoproteína K	SelK	Regulação do influxo de Ca^{2+} nas infeções
Selenoproteína M	SelM	Protecção na apoptose mediada por ROS
Selenoproteína O	SelO	Defesa contra substâncias tóxicas e ROS
Tioredoxina redutase 1	Txnrd 1	Regulação antioxidante e redox
Tioredoxina redutase 2	Txnrd 2	Regulação redox na sinalização celular
Tioredoxina redutase 3	Txnrd 3	Protecção contra stress oxidativo

A relação entre a saúde e a ingestão de selênio tem sido alvo de estudo por parte da genômica nutricional devido à estreita janela benefício-risco; devido à sua grande diferença na distribuição geográfica, como referido; e devido à presença de várias variações genéticas em genes que codificam proteínas envolvidas no metabolismo do selênio. Assim, é importante conhecer as ligações entre a ingestão de selênio e a suscetibilidade à doença, mais especificamente os efeitos do selênio a nível molecular e as suas interações com os fatores genéticos. Quando se pondera a relação entre o selênio e o estado de saúde deverá então considerar-se que o risco de desenvolver determinada doença não depende só de SNP mas também da função da proteína a que está associado, como da distribuição hierárquica das selenoproteínas e da biodisponibilidade do selênio (Niedzielski et al., 2016).

As técnicas genômicas oferecem o potencial para perceber a expressão das selenoproteínas. Existem mais de trinta genes que afectam a captação, metabolismo e excreção do selênio. É importante perceber como as selenoproteínas respondem a alterações na ingestão de selênio ou na suplementação do mesmo, o que requer uma demonstração a nível molecular, celular e fisiológico da função de um determinado SNP. Schomburg e Schweizer, focaram a sua atenção para a expressão das selenoproteínas e relatam que os diferentes padrões de expressão estão presentes em diferentes tecidos, com diferenças entre indivíduos do sexo masculino ou feminino. Alguns estudos sugerem que os SNP rs3877899 e rs7579 na SEPP1 afectam a biodisponibilidade do selênio para a síntese de outras selenoproteínas por modulação da capacidade de transporte do selênio. As GPx1, 3, 4 e as Txnrd1 e 2 são duas grandes classes de enzimas envolvidas no balanço redox e nas defesas antioxidantes, ou seja, uma das atividades chave das selenoproteínas é a redução de dano no DNA, seja diretamente por interação com os radicais livres, ou indiretamente através do aumento da capacidade celular de reparação do DNA. Os SNP que afetam a síntese dessas enzimas têm o potencial para enfraquecer a capacidade do indivíduo de responder a danos oxidativos envolvidos em processos de envelhecimento e na maioria das doenças crónicas como o cancro, as doenças cardiovasculares, a diabetes e as demências. Estes efeitos antioxidantes têm também um papel importante no envelhecimento. Com o avançar da idade, aumenta a oxidação das proteínas e dos lípidos das membranas, particularmente das membranas mitocondriais, causando uma deformação a nível da estrutura das enzimas com consequente redução da sua atividade. Os níveis de selênio são, então, importantes na manutenção da qualidade de vida. Polimorfismos genéticos em genes

que codificam para as selenoproteínas localizadas no retículo endoplasmático, como a SelS e a Sep15, foram ligados a vários tipos de cancro e condições inflamatórias. O retículo plasmático é responsável, entre outras funções, pelo *folding* das proteínas. No entanto, este mecanismo é altamente sensível a alterações nos nutrientes, estímulos anti-inflamatórios, entre outros. Quando as condições se encontram alteradas podem originar proteínas de estrutura alterada, que estão altamente associadas a cancro, a demências e outras doenças (J Hesketh, 2013; John Hesketh, 2008; Méplan et al., 2008; Mocchegiani et al., 2014; Schomburg e Schweizer, 2009; M. Wang e Kaufman, 2014).

Mehdi et al. (cit. em Mocchegiani et al.), refere que o selénio estimula a formação de anticorpos e a atividade de células T *helper* e células T citotóxicas e das células NK, o que já tinha sido verificado anteriormente num estudo efetuado por Wood et al. Nesse estudo foi possível observar que uma suplementação de 400 microgramas por dia durante 6 meses levou a um aumento superior a 50% de células T CD4+, assim como a um aumento da toxicidade medicada por células NK (Mocchegiani et al., 2014).

5.2. O Ácido Fólico

O termo genérico folato inclui tanto a forma natural, que ocorre sob a forma de poliglutamatos, como a forma sintética, ácido fólico. Foi isolado das folhas do espinafre em 1941 e, cinco anos mais tarde, foi sintetizado *in vitro*. Uma vez que o ser Humano é incapaz de sintetizá-lo, este deve ser consumido através da dieta. Importantes fontes de folato são os citrinos, vegetais verde-escuros, feijões, grão e lentilhas (Lamprecht e Lipkin, 2003; Muntjewerff e Blom, 2005).

O Folato é citado como um dos nutrientes mais críticos para a estabilidade do genoma, pelo que segundo M. Fenech e a sua equipa, são necessárias 200 microgramas por dia de folato para manter a estabilidade do genoma e que mesmo uma deficiência moderada do nutriente gera grandes danos no DNA. Estudos acerca das ingestões anormais de ácido fólico, entre outros fármacos, em períodos de vida pré-natal e pós-natal sustentam a hipótese de que fatores como os nutrientes afetam as vias de desenvolvimento e podem causar alterações permanentes no metabolismo e na suscetibilidade a doenças crônicas (Mead, 2007; Peedicayil, 2012). A representação esquemática do metabolismo do folato encontra-se na figura 7.

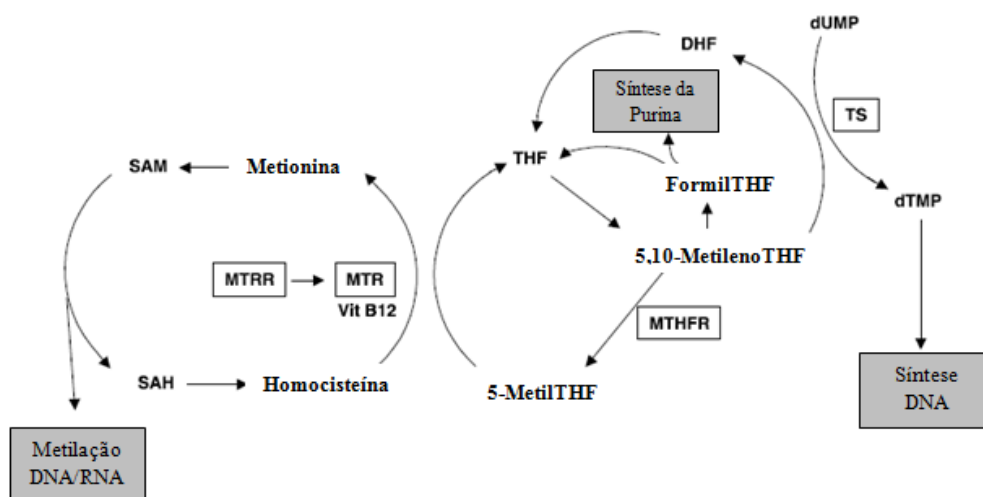


Figura 7 - Representação esquemática do metabolismo do folato (Adaptada de R. A. Hubner, 2006).

Legenda: THF= tetrahydrofolato, 5-metilTHF=5-metiltetrahydrofolato, 5,10-metilenoTHF=5,10-metilenotetrahydrofolato, formilTHF=formiltetrahydrofolato, MTHFR= metilenotetrahydrofolato redutase, MTRR= metionina sintetase redutase, MTR= metionina redutase, SAM= S-adenosilmetionina, SAH= S-adenosilhomocisteína, TS= timidilato sintetase, dUMP= desoxiuridina monofosfato e dTMP= desoxitimidina monofosfato.

A função bioquímica principal do folato na sua forma quimicamente reduzida, tetraidrofolato (THF), é atuar como cofator conversor de unidades de carbono nos seus vários estados: 5-metiltetraidrofolato (5-metilTHF) necessário para a síntese de metionina; 5,10-metilenotetraidrofolato (5,10-metilenoTHF) necessário para a síntese de timina; e 10-formiltetraidrofolato (10-formilTHF) que funciona como cofator na síntese de purinas (Lamprecht e Lipkin, 2003).

O folato é, então, essencial para o funcionamento da metilenotetraidrofolato redutase (MTHFR), uma enzima que catalisa a reação que produz 5-metilTHF, por metabolização do 5,10-metilenoTHF. O 5-metilTHF doa um grupo metilo para a conversão de homocisteína em metionina numa reação catalisada pela metionina redutase (MTR). A metionina é o precursor da S-adenosilmetionina (SAM). A SAM atua como doador de grupo metilo para a maioria das reações biológicas de metilação, como a metilação do DNA, e após a doação desse grupo é convertida em S-adenosilhomocisteína (SAH), um inibidor das metiltransferases (R. a. Hubner, Lubbe, Chandler, e Houlston, 2007; Mead, 2007; Park et al., 2012; Peedicayil, 2012; Subbiah, 2007, 2008).

Os dois SNP mais comuns encontrados na MTHFR são os polimorfismos C677T e A1298C. A presença destes polimorfismos, quer seja em homozigotia ou em heterozigotia, pode causar um aumento da homocisteína plasmática, fator de risco para acidente vascular cerebral, tromboembolismo pulmonar, defeitos do tubo neural e doenças cardiovasculares. Este aumento deve-se à redução da capacidade da MTHFR em usar o folato (J Hesketh, 2013; Mead, 2007; Subbiah, 2007, 2008).

Segundo Antony S Wierzbicki, valores elevados de homocisteína (HCY) podem ser causados por uma série de fatores incluindo deficiência de ácido fólico e vitaminas do complexo B, aterosclerose, diabetes e diversos fármacos. Evidências epidemiológicas, assim como dados de estudos prospectivos e retrospectivos, suportam a associação entre elevados níveis de homocisteína e o aumento do risco de doença cardiovascular. Embora os principais estudos tenham relatado até à data que a suplementação vitamínica de ácido fólico e vitaminas B6 e B12 foi associada a uma diminuição dos níveis de HCY, com consequente decréscimo significativo do risco vascular, ainda não é consensual. Deste modo, a HCY é um marcador para o risco de desenvolver doença cardiovascular (Wierzbicki, 2007).

M. Fenech, refere que os riscos associados à atividade da enzima MTHFR podem ser modificados dependendo das estratégias de suplementação. Nalguns países

as grávidas necessitam de elevadas doses de suplementação de ácido fólico para prevenir os defeitos do tubo neural nas crianças. Consequentemente estas podem nascer com o polimorfismo MTHFR C667T pelo que serão menos capazes de converter o folato. Se acrescendo a este facto, as crianças crescerem com uma dieta pobre em folato, podem debater-se pela sobrevivência (Mead, 2007).

Wang et al., sugeriram que a suplementação com ácido fólico e ingestões elevadas de folato pela dieta durante a gravidez (doses > 100 microgramas), reduzem o risco de desenvolver pré-eclampsia (síndrome gestacional relacionado com a hipertensão e proteinúria e ocorre após 20 semanas de gestação). Os autores relacionam este resultado com o facto do ácido fólico diminuir os níveis de homocisteína do sangue. Uma hiperhomocisteinémia pode danificar o endotélio da placenta em desenvolvimento, aumentar a resposta de contração e a produção de pro-coagulantes e vasoconstritores. Embora este estudo seja coerente com tantos outros referidos por estes, são necessários mais estudos para verificar esta associação, uma vez que esta apenas se verificou para pré-eclampsia severa e que num outro estudo realizado por Li et al. foi reportado um aumento do risco e não uma diminuição (Y. Wang et al., 2015).

5.2.1. O Ácido Fólico e o Cancro

Os resultados de estudos focados na relação entre o folato e o cancro são muito controversos e, se este é referido como tendo benefícios protetores no início do cancro colorretal também é referido como capaz de promover o seu crescimento depois de este estar estabelecido, embora só um certo número limitado de estudos tenha examinado os efeitos do folato na expressão genética e a susceptibilidade ao cancro. No entanto, é consensual entre os vários autores que esta relação é um excelente exemplo do uso da genética e da nutrigenética em epidemiologia molecular. Vários desses estudos, assim como estudos pré-clínicos e clínicos, apontam os componentes bioativos (como o folato) como sendo determinantes modificáveis importantes na incidência do cancro, pelo que baixos consumos de fruta e vegetais (fontes de folato) estão associados a vários tipos de cancro (Davis e Hord, 2005; Ulrich, 2005).

Os mecanismos que ligam o folato à carcinogénese incluem os efeitos adversos destes. Existem duas grandes vias pela qual a deficiência de folato pode aumentar a transformação maligna. A primeira tem a ver com o papel do folato na síntese e

reparação do DNA pois este é essencial na síntese de purinas (A e G) e pirimidinas (C e T), que são requeridas neste processo, por ser dador de unidades de carbono (grupo metilo), como referido antes. A forma 5,10-metilenotetrahidrofolato é essencial para a formação de dTMP, mas quando a quantidade de folato é limitada, o dUMP é incorporado em vez da timina levando à quebra da dupla-cadeia, dano cromossômico e transformação maligna. Na verdade, conteúdos elevados de uracilo, assim como elevadas quebras no cromossoma, foram observadas em pessoas cuja concentração sérica de folato era baixa, algo que foi corrigido com tratamento com folato. A segunda tem a ver com a metilação do DNA e a expressão genética. A deficiência em folato através da limitação dos níveis celulares de S-adenosilmetionina pode induzir a hipometilação do DNA e aumentar o risco de transformação maligna por diminuir a expressão genética. Evidências clínicas e pré-clínicas sugerem que os efeitos protetores no cancro estão relacionados com padrões de metilação do DNA, sugerindo que a suplementação pode alterar a metilação do DNA, assim como alterar os fenótipos (Basten et al., 2006; Davis e Hord, 2005; Lamprecht e Lipkin, 2003; Ulrich, 2005).

Apesar de grande parte da atenção estar virada para a hipermetilação da região dos promotores dos genes supressores dos tumores, várias evidências indicam que a hipometilação em células do cancro colorretal, contribui para a transformação oncogénica e progressão do tumor. A ligação entre a instabilidade cromossômica e hipometilação do genoma no cancro tem sido demonstrada por observações em células estaminais embrionárias de ratinhos. A hipometilação nestes ratinhos conduziu à formação de tumores e marcada instabilidade cromossômica (Basten et al., 2006; Davis e Hord, 2005; R. A. Hubner, 2006; Lamprecht e Lipkin, 2003; Ulrich, 2005).

Estudos com pólipos percursores do cancro colorretal, mostram que a variante T677T de MTHFR está associada a uma redução do risco de desenvolver cancro colorretal, especialmente na presença de elevados consumos de folato, vitaminas B6, B12 e possivelmente B2 ou baixos consumos de álcool (Basten et al., 2006; Davis e Hord, 2005; R. A. Hubner, 2006; Lamprecht e Lipkin, 2003; Ulrich, 2005).

Numa revisão que relacionava a ingestão de folato e o risco de cancro da próstata, os autores verificaram que não existe associação entre os mesmos. No entanto, níveis elevados de folato no sangue parecem estar associados a um aumento desse risco, embora para valores muito superiores aos considerados normais (> 600 microgramas por dia) (Tio, Andrici, Cox, & Eslick, 2014).

O grande desafio passa por ajustar as doses aos indivíduos para que o benefício seja maximizado e para que qualquer possível malefício derivado do excesso de suplementação seja eliminado (Davis e Hord, 2005; Fenech, 2008; Mead, 2007; Ulrich, 2005).

5.2.2. O Ácido Fólico e o Sistema Nervoso Central

Como referido anteriormente, influências nutricionais que ocorram no período gestacional pode originar condições patológicas no adulto. Aqui destaca-se a importância que a nutrição tem em múltiplos processos relacionados com a função cerebral, com especial importância para experiências em tenra idade (Dauncey, 2014).

Dauncey MJ., refere que existe uma associação positiva entre a suplementação de micronutrientes (Folato, Vitamina B12, Ómega 3 e Ferro) na fase pré-natal e o desenvolvimento cognitivo da criança. Portanto, os mecanismos epigenéticos são essenciais para o desenvolvimento ótimo de várias regiões do cérebro, sendo a neuroepigenética uma área que se tem vindo a desenvolver na última década. Um estudo que relaciona as concentrações séricas de folato e vitamina B12 com sete polimorfismos em seis genes relacionados com o metabolismo e absorção do folato mostraram que tanto os fatores genéticos, como os ambientais, envolvidos no metabolismo de unidades de carbono influenciam a metilação de DNA em crianças. Um outro estudo, não menos importante, sugere que a depleção de folato em início de vida pode deixar uma marca epigenética que se prolonga até à vida adulta (Dauncey, 2014).

Estudos realizados por Reynolds EH et al. e Muntjewerff JW e Blom HJ, demonstraram que pacientes psiquiátricos tinham deficiência de ácido fólico permitindo a associação entre este e a presença de depressão e demências. Os pacientes que foram suplementados tiveram melhorias clínicas significativas em comparação com os restantes que não foram (Peedicayil, 2012). Vários outros estudos demonstraram uma associação entre o aumento da homocisteína e a presença do polimorfismo C677T do gene MTHFR, e a esquizofrenia (Muntjewerff e Blom, 2005).

5.3. Alterações epigenéticas

Como referido anteriormente, a metilação do DNA e a modificação das histonas são importantes mecanismos epigenéticos que afectam a expressão genética, sendo que as modificações das histonas são consideradas importantes marcadores da função e estado da cromatina. Ao contrário do DNA, as histonas podem ser modificadas por metilação, acetilação, fosforilação, biotinilação, ubiquitinação, sumoilação e ribosilação do DNA (figura 8). A acetilação é o mecanismo mais estudado (Richon, Sandhoff, Rifkind, e Marks, 2000).

Segundo Remely et al., a acetilação das histonas nos resíduos de lisina ou a fosforilação dos resíduos de serina estão envolvidas na ativação da expressão genética, enquanto a desacetilação, a biotinilação e a sumoilação são responsáveis pelo silenciamento transcricional genético. A metilação e a ubiquitinação, por sua vez, são mais complexos e podem atuar tanto como silenciadores ou activadores genéticos, dependendo das modificações e dos resíduos das histonas que são afetadas. Os diferentes mecanismos podem atuar em conjunto na alteração da estrutura da cromatina (Remely et al., 2015).

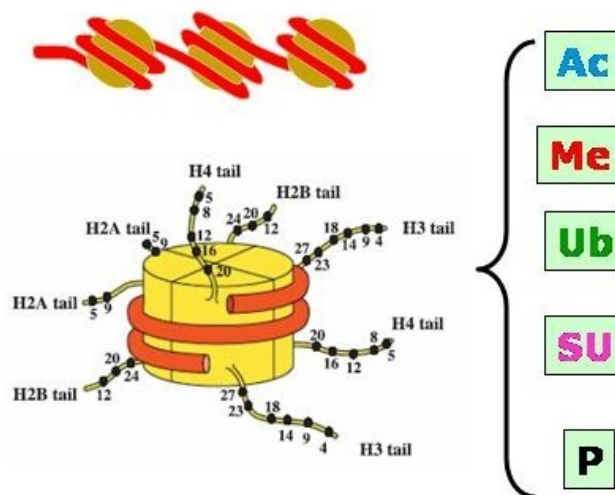


Figura 8 - Nucleossoma e as principais modificações pós transducionais (Obtida de Integrated Health Care).

Ac = acetilação, Me = Metilação, Ub = ubiquitinação, SU = sumoilação, P = fosforilação, Tail = Cauda.

O estado de acetilação das histonas depende do equilíbrio entre a histona acetiltransferase (HAT) e a histona deacetilase (HDAC). A acetilação pelas histonas acetiltransferases em resíduos de lisina nas extremidades amino-ε das histonas H2A, H2B, H3 e H4 reduz as interações entre o DNA e as histonas, ativando a expressão genética por permitir que o DNA descondense e por permitir o acesso de fatores de transcrição (FT). Por oposição, as histonas deacetilases catalisam a remoção de um grupo acetil do grupo amino-ε da lisina condensando a cromatina e reprimindo a transcrição (Johnstone, 2002; Park et al., 2012; Richon et al., 2000).

Na figura 9 é possível observar os dois estados da cromatina: A - cromatina condensada, do lado esquerdo; B - cromatina descondensada, do lado direito.

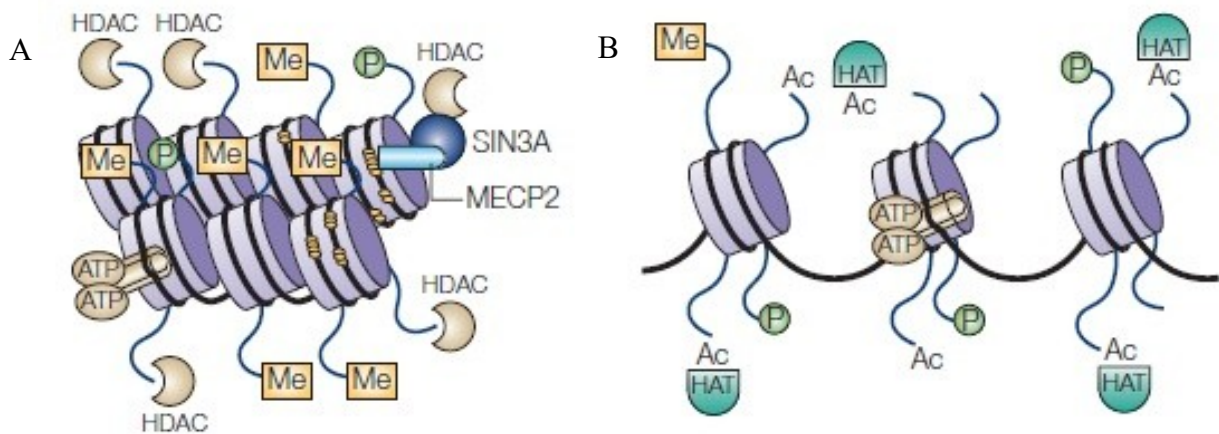


Figura 9 - A estrutura da cromatina regula a atividade transcricional.

Modificações pós-transcricionais nas extremidades das histonas por metilação (Me), fosforilação (P) e acetilação (Ac) podem alterar a estrutura do nucleossoma. HAT= histona acetiltransferase; HDAC= histona deacetilase; MECP2=proteína de ligação ao grupo metil das ilhas CpG (Johnstone, 2002).

Segundo Johnstone, “mutações que resultem na ativação de oncogenes ou na inativação de genes supressores de tumores são eventos tumorigênicos importantes. Mutações nas regiões promotoras dos genes ou alterações epigenéticas dos mesmos, podem induzir expressões anormais de genes que regulam a diferenciação celular, o ciclo celular e a apoptose e, deste modo, podem aumentar a potencial de transformação das células” (Johnstone, 2002).

Os inibidores das histonas deacetilases (HDACi) foram reconhecidos como potenciais agentes anticancerígenos por induzirem a paragem do ciclo celular e a apoptose através do aumento da expressão de certos genes pró-apoptóticos ou mediadores do ciclo celular (Johnstone, 2002; Richon et al., 2000).

Compostos baseados no ácido hidroxâmico são inibidores das histonas deacetilases por induzirem a diferenciação e/ou a apoptose de células cancerígenas e por gerarem a acumulação de histonas acetiladas. O SAHA (ácido hidroxâmico suberoilânilida) é um protótipo desses compostos e liga-se diretamente ao local catalítico das histonas deacetilases, inibindo-as. O SAHA aumenta a transcrição seletiva do gene p21. A cinase p21 inibe o ciclo celular, que por sua vez foi associada à paragem do crescimento de células T24 do carcinoma da bexiga e à acumulação de histonas acetiladas H3 e H4. O efeito do SAHA foi considerado seletivo a nível genético porque não altera a expressão dos genes γ -actina e p27 nem a acetilação das histonas associadas a estes. Apesar destas descobertas, o mecanismo de SAHA não é bem conhecido (Richon et al., 2000).

Na tabela 2 abaixo apresentada encontram-se alguns inibidores das histonas deacetilases. Embora estes agentes tenham sido ensaiados em clinica, têm um tempo de semi-vida curto e são necessárias elevadas concentrações (milimolar (mM)) para a sua ação. Por outro lado, a Tricostatina A (TSA), SAHA e CBHA podem ser usados a concentrações de micromolar (μ M) e nanomolar (nM) e têm tempos semi-vida e biodisponibilidades mais elevadas (Johnstone, 2002).

Tabela 2 - Características moleculares e funções biológicas dos inibidores das histonas deacetilases (Adaptada de Johnstone, 2002).

Inibidores da HDAC	Classe Estrutural	Intervalo de Concentrações	Genes Ativados	Genes Reprimidos	Efeitos <i>In Vitro</i>
Butirato	SCFA	mM	CDKN1A, GATA2, PKCD, MHC1, MHC2, BAK, IL8, RAR β , TG1, ciclina E, CPA3, CD86, ICAM1	Ciclina D1, Ciclina A, BCL2, IL2, BCLX _L	Apoptose Diferenciação Paragem Ciclo Celular
Ácido Valpróico	SCFA	mM	β - Catetina		Apoptose Diferenciação
Tricostatina A (TSA)	HA	nM	CDKN1A, GATA2, HSP86, CDKN1B, PKCD, HDAC1, IGFBP3, DHFR, TGFB1, ER, CD86, ciclina E, IFNG, IFNB,	Ciclina A, CDKN1C, BCLX _L , PU.1, HIF1A, VEGF, IL2, IL10	Apoptose Diferenciação Paragem Ciclo Celular

			TP53, VHL, MHC1, MHC2, CPA3, P107, BAX, BAK, TG1, CDNK2A, MLH1, TIMP3		
SAHA (ácido hidroxâmico suberoilânid)	HA	μM	CDKN1A	CMYC, CMYB, BMYB	Apoptose Diferenciação Paragem Ciclo Celular
CBHA (m-carboxy cinnamic acid bishydroxamic acid)	HA	μM	CD95, CD95L		Apoptose Diferenciação Paragem Ciclo Celular
Oxamflatina	HA	μM	CDKN1A, gelsolin, ciclina E, CDKN1B, PAI2	ciclina D, ciclina A	Apoptose Paragem Ciclo Celular
CHAP	Híbrido HA-CT	nM	CDKN1A, MHC1	ciclina A	Paragem Ciclo Celular
Trapoxina A (TPX A)	CT	nM	CDKN1A, CD86, ciclina E		
Apicidin	CT	nM	CDKN1A, gelsolin, CD95, CD95L		Apoptose Paragem Ciclo Celular
FR901228 (Depsipeptide)	Tetrapéptido	μM	CDKN1A, MAGE3, NY-ESO1, CD86	CD95L, CMYC, ciclina D	Apoptose Paragem Ciclo Celular
Depudecin	Epóxido	μM			Diferenciação Paragem Ciclo Celular
MS-27-275	Benzamida	μM	CDKN1A, gelsolin, TGFB2		Paragem Ciclo Celular

Para além do referido anteriormente, os HDACi têm mecanismos suplementares que afetam indiretamente o desenvolvimento do tumor. Estes mecanismos passam pela ativação transcricional das proteínas de classes I e II do complexo de histocompatibilidade major (MHC), das moléculas co-estimuladoras CD40, CD80 e CD86, da molécula de adesão intercelular ICAM1 e dos Interferões tipos I e II, para potencialmente aumentar o reconhecimento e ativação das células imunológicas. O

crescimento e sobrevivência de tumores sólidos em rápida expansão exigem o contínuo fornecimento de oxigênio e de nutrientes para que seja mantida a vasculatura do tumor. Segundo Johnstone, a TSA consegue inibir a expressão induzida por hipoxia do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e suprimir a angiogênese, tanto *in vitro* como *in vivo*. Assim, através do aumento da resposta imunitária e da inibição da angiogênese tumoral é possível impedir tanto o crescimento primário de tumores como a metástase. Na imagem 10 é possível observar um esquema destes vários mecanismos (Johnstone, 2002).

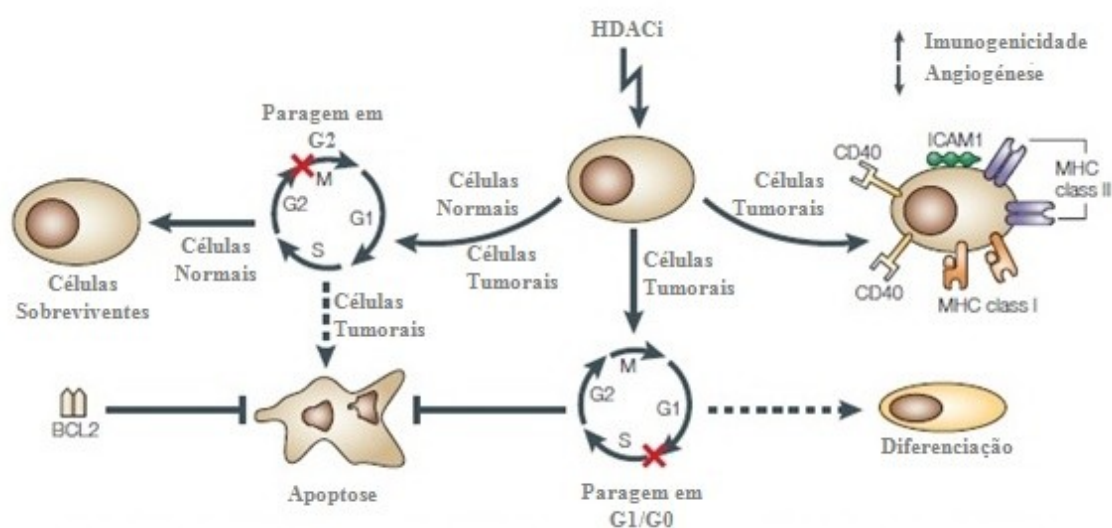


Figura 10 - Regulação do crescimento e sobrevivência celular por inibidores das histonas deacetilases (Adaptada de Johnstone, 2002).

Dado o sucesso dos HDACi em estudos pré-clínicos, foram iniciados ensaios de fases I e II dos vários inibidores (Nian, Delage, Ho, e Dashwood, 2009).

Ainda que os HDACi sejam promissores fármacos anticancerígenos e uma abordagem mais racional à quimioterapia, alguns mecanismos moleculares ainda não estão bem esclarecidos, como quais serão os efeitos a longo prazo no crescimento e desenvolvimento das células (Johnstone, 2002; Richon et al., 2000).

Uma vez que os HDACi têm a capacidade de reverter os mecanismos epigenéticos presentes em células cancerígenas, vários alimentos bioativos foram investigados como possíveis HDACi: sulforafano (SFN), um isotiocianato presente nos brócolos; dialil sulfito (DADS), um composto organosulfurado presente no alho; e butirato, um SCFA (ácido gordo de cadeia curta) presente na fibra (Do, Pai, Rizvi, e D'Souza, 2010; Druetne-Pecollo et al., 2007; Kuroiwa-Trzmielina et al., 2009; Mali et

al., 2010; Nian et al., 2009; Park et al., 2012). Na figura 11 é possível observar os componentes bioativos responsáveis por mecanismos epigenéticos.

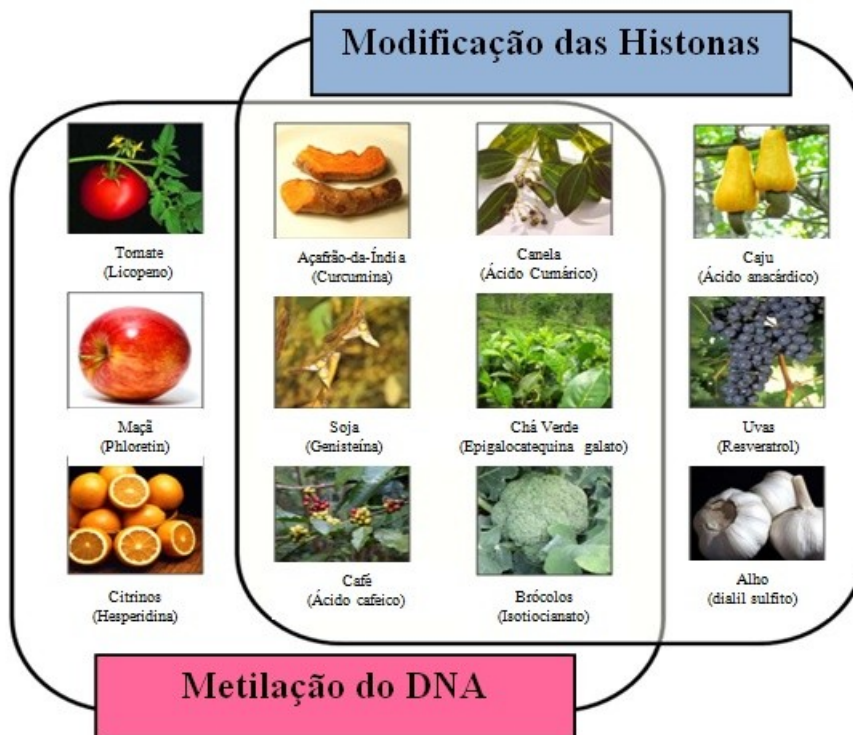


Figura 11 - Nutrientes ou componentes bioativos responsáveis por mecanismos epigenéticos (Adaptada de Link, Balaguer e Goel, 2010).

As propriedades quimioprotectoras do alho foram associadas à conversão metabólica dos compostos organosulfurados originando compostos inibidores das histonas deacetilases (Nian et al., 2009). Um estudo realizado em colonócitos isolados de ratos demonstrou que o dialil sulfeto (DADS), quando administradas 200 miligramas por quilograma, foi capaz de aumentar a acetilação das histonas H3 e H4 com alterações nas expressões dos genes subsequentes. Foi possível concluir que um dos mecanismos envolvidos nos efeitos biológicos e quimioprotectores do DADS poderá ser através da hiperacetilação das histonas (Druesne-Pecollo et al., 2007).

Um estudo *in vitro* realizado com células de melanoma B16 e S91 demonstrou que o sulforafano (SFN) inibe o crescimento e proliferação de células cancerígenas através da *downregulating* das enzimas de desacetilação. O estudo explorou, também, a possibilidade de utilização do SFN encapsulado em microesferas de albumina como um potencial sistema de distribuição. O SFN reduziu significativamente os níveis de HDAC e desde modo foi considerado um HDACi. Traka et al. (cit. em Remely et al.) refere que o sulforafano induziu a paragem do ciclo celular e da apoptose por reprimir a expressão

genética da DNA metiltransferase 1 (DNMT1) em células cancerígenas do cólon. (Do et al., 2010; Remely et al., 2015).

O Butirato, como o ácido butírico, é gerado durante a fermentação da fibra presente na alimentação pelas bactérias presentes no intestino. A tributirina é um pró-fármaco do ácido butírico. Está presente na gordura do leite e do mel, tem melhores propriedades farmacocinéticas e é melhor tolerada. Foi realizado um estudo com lesões pré-neoplásicas hepáticas onde estas foram tratadas com tributirina, com o objetivo de avaliar os efeitos quimioprotectores da mesma. Verificou-se um aumento na acetilação da histona H3K9 e da expressão da proteína p21, que foi associada a efeitos inibitórios pela tributirina. (Kuroiwa-Trzmielina et al., 2009; Nian et al., 2009). A estimulação pelo Butirato também pode originar um método efetivo na reprogramação de várias células somáticas humanas, uma vez que este entra no sítio ativo das enzimas HDAC, inibindo-as. (Mali et al., 2010).

A acetilação das histonas está também altamente associada à inflamação. As citocinas são proteínas secretadas pelas células imunológicas ou por outros sistemas em resposta a um estímulo extracelular e têm um papel central na resposta inflamatória. O envolvimento das HDAC's na regulação das citocinas não é restrito a uma classe específica ou subtipo, sendo que estas regulam alguns genes com mais destaque: os genes pró-inflamatórios como as interleucinas (IL) 1, 5, 8 e 12, e genes anti-inflamatórios como a IL-10 (Villagra, Sotomayor, & Seto, 2010).

A expressão da cicloxigenase 2 (COX-2) é também regulada pela acetilação da região promotora das histonas. A COX-2 é induzida por estímulos inflamatórios e vai dar origem à prostaglandina E2 (PGE2), um dos mediadores pró-fibróticos e anti-fibróticos presentes na fibrose pulmonar idiopática (IPF). A transcrição do gene COX-2 na IPF era deficiente por falta de acetilação das histonas H3 e H4 como resultado da diminuição do recrutamento das HAT's e aumento do recrutamento dos complexos repressores da transcrição contendo HDAC's. (Coward, Watts, Feghali-Bostwick, Knox, e Pang, 2009).

A restrição calórica (RC) também reduz a expressão de genes pró-inflamatórios como NF- κ B, AP1, COX-2, iNOS e da histona deacetilase SirT1. Sirtuins (família do gene Sir2) são deacetilases dependentes de NAD⁺. O gene Sir2 regula o silenciamento epigenético e verificou-se que aumenta o tempo de vida de *Saccharomyces cerevisiae* e *Caenorhabditis elegans*, entre outros. Para além disso, também têm um papel na reparação, recombinação e replicação do DNA. Um dos mecanismos que liga Sir2 e o

aumento de tempo de vida é a restrição calórica. A RC produz um estado metabólico oxidativo como consequência do aumento de NAD^+ que, por sua vez, ativa os membros Sir2 e facilita os mecanismos de sobrevivência. Nos mamíferos, a RC regula a expressão de SirT1, o gene ortólogo de Sir2 (Qiu, Brown, Moran, e Chen, 2010; A Vaquero, Sternglanz, e Reinberg, 2007; Alejandro Vaquero et al., 2007; Yang, Fu, Pestell, e Sauve, 2006).

A SirT1 foi ligada a várias funções: melhora a fagocitose e funções tumorais por parte dos macrófagos; atrasa a inflamação crônica; diminui a atividade de AP-1, reduzindo a sua expressão, assim como de COX-2; inibe os mediadores pró-inflamatórios, como IL-8, e Fator de Necrose Tumoral alfa ($\text{TNF-}\alpha$), através da desacetilação da subunidade p65 do gene RelA, e inibe o NF- κ B. Mostrou regular também as histonas metiltransferases, assim como a p300 HAT. A RC funciona então como HDACi (Qiu et al., 2010; A Vaquero et al., 2007; Yang et al., 2006; Zhang et al., 2010).

O resveratrol, um polifenol natural, é encontrado em várias espécies de plantas incluindo alguns alimentos da dieta humana, tais como frutas e vegetais, e é um bioativo abundante na casca da uva preta e do vinho tinto. É um ativador da SirT1 e tem efeitos anti-inflamatórios na colite e no cancro do cólon associado à colite, sendo por isso uma abordagem no tratamento da inflamação (Cui et al., 2010; Sánchez-Fidalgo, Cárdeno, Villegas, Talero, e de la Lastra, 2010). Além disso, é uma ótima alternativa aos glucocorticoides nas doenças respiratórias, como a Asma, para aqueles pacientes que necessitam de doses muito elevadas ou para os quais estes já não são eficazes. Os mecanismos responsáveis pela atividade biológica do resveratrol passa pela *downregulation* da resposta inflamatória através da inibição da síntese e libertação de mediadores pró-inflamatórios, modificação da síntese de eicosanóides, inibição das células de Kupffer e das moléculas de adesão ICAM-1 e VCAM-1, inibição das células imunológicas ou iNOS, e *downregulation* da COX-2 por inibição de NF- κ B e AP-1. O resveratrol também inibe $\text{TNF-}\alpha$. Foi sugerido que a acetilação das histonas por ativação do NF- κ B pode ser reprimida pelo resveratrol (Donnelly, 2004; Youn, Lee, Na, Kundu, e Surh, 2009; Zykova et al., 2008).

A curcumina é um polifenol e um princípio ativo presente na *Curcuma longa*, mais conhecida como Açafrão-da-Índia. Vários estudos relatam os vários efeitos da curcumina e, até à data, não existem estudos em animais e humanos que tenham descoberto qualquer toxicidade do uso de curcumina, mesmo em doses elevadas. Na

figura 12 é possível observar os vários alvos moleculares da curcumina. Devido ao diversificado leque de alvos moleculares, a curcumina proporciona um grande potencial como agente terapêutico para várias condições inflamatórias e tipos de cancro (Anand, Sundaram, Jhurani, Kunnumakkara, e Aggarwal, 2008; Goel, Kunnumakkara, e Aggarwal, 2008; Shishodia, Chaturvedi, e Aggarwal, 2007).

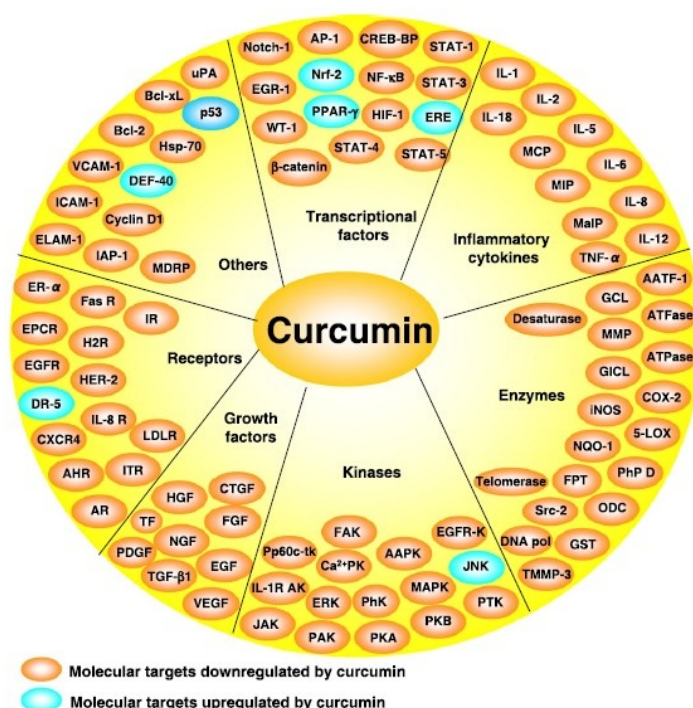


Figura 12 - Alvos moleculares da curcumina (Anand, Sundaram, Jhurani, Kunnumakkara, e Aggarwal, 2008).

Legenda: Transcriptional factors = Factores de transcrição, Inflammatory Cytokines = Citoquinas inflamatórias, Enzymes = Enzimas, Kinases = Cinases, Growth Factors = Factores de Transcrição, Receptors = Recetores, Others = Outros e Curcumin = Curcumina.

A curcumina é um inibidor seletivo da HAT CBP/p300 e, tem sido demonstrado que a curcumina reprime a transformação, proliferação, invasão e metástase dos tumores, impedindo o crescimento de várias linhas celulares tumorais, incluindo aquelas resistentes aos fármacos. Tendo em conta a HAT CBP/p300 tem sido associada com o crescimento e sobrevivência de células cancerígenas, pode ser um novo alvo para o desenvolvimento de agentes quimioterapêuticos. Nas células, a curcumina promove a degradação de p300 e da proteína CBP. Além disso inibe a atividade que a p300 tem como acetiltransferase, bloqueando a hiperacetilação (Remely et al., 2015; Shishodia et al., 2007).

Outro componente bioativo capaz de inibir a HAT é o ácido anacárdico presente no Caju. Noutros estudos, a curcumina foi associada à prevenção da diabetes associada a anormalidades nos rins por inibir p300 e NF- κ B. Segundo Remely et al., a suplementação com Curcumina mostrou reduzir o número de indivíduos pré-diabéticos que eventualmente poderiam desenvolver diabetes tipo 2 e melhorou a função das células beta (Chiu, Khan, Farhangkhoei, e Chakrabarti, 2009; Remely et al., 2015).

Pensa-se que a acetilação das histonas tenha, também, um papel importante nas funções cognitivas como a memória e a capacidade de aprendizagem. Estudos pré-clínicos sugerem que compostos que funcionem como inibidores das HDAC, como todos aqueles referidos anteriormente, podem ser potenciais agentes no tratamento da doença de Alzheimer (Remely et al., 2015).

6. Considerações Finais

A nutrigenómica é um campo de investigação na ciência da nutrição que permite conhecer a influência que os nutrientes ou componentes bioativos presentes nos alimentos têm no genoma. É de considerar que a nutrigenómica se trata de uma ciência multidisciplinar e que pode levar a avanços substanciais nos cuidados de saúde pública. Deste modo, é importante considerar as várias interações entre a dieta, a nutrigenética e a epigenética nutricional, em paralelo com a utilização de ferramentas avançadas de genética molecular (ciências “Ómicas”) como a transcriptómica, a proteómica e a metabolómica.

Um dos objetivos da nutrigenómica e da nutrigenética é a identificação em grande escala de genes modulados pelos nutrientes e os respetivos SNP.

Vários estudos contribuíram com evidências de que existe uma associação entre os vários polimorfismos genéticos e o risco de desenvolver doenças crónicas. Existem, no entanto, algumas dúvidas se de facto essas variantes afectam a etiologia das doenças, uma vez que algumas interações, genes e vias metabólicas ainda estão por identificar. No futuro, será necessária a replicação de mais estudos, e em maior escala, para que se possa estabelecer a contribuição dos diferentes SNP para o risco de desenvolver certas doenças e, assim, tomar algumas medidas preventivas, como por exemplo a correta ingestão de nutrientes e a utilização de suplementos.

O estudo da nutrigenómica, em conjunto com as outras áreas, poderá então ser crucial por poder definir quais os impactos que os nutrientes e componentes bioativos têm no bem-estar físico, e a produção de alimentos adequados às necessidades dos indivíduos. A nutrigenómica permite, assim, uma nova estratégia de saúde baseada num tratamento nutricional individualizado.

7. Bibliografia

- Afman, L., & Müller, M. (2006). Nutrigenomics: From Molecular Nutrition to Prevention of Disease. *Journal of the American Dietetic Association*, 106(4), 569–576. <http://doi.org/10.1016/j.jada.2006.01.001>
- Anand, P., Sundaram, C., Jhurani, S., Kunnumakkara, A. B., & Aggarwal, B. B. (2008). Curcumin and cancer: An “old-age” disease with an “age-old” solution. *Cancer Letters*, 267(1), 133–164. <http://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.03.025>
- Basten, G. P., Duthie, S. J., Pirie, L., Vaughan, N., Hill, M. H., & Powers, H. J. (2006). Sensitivity of markers of DNA stability and DNA repair activity to folate supplementation in healthy volunteers. *British Journal of Cancer*, 94(12), 1942–1947. <http://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603197>
- Bird, A. (2002). DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & Development*, 16(1), 6–21. <http://doi.org/10.1101/gad.947102>
- Borges-Osório, Maria Regina; Robinson, W. M. (2001). *Genética Humana*. (Artmed Editora, Ed.) (2ª Edição). Porto Alegre RS.
- Brook, P. O., Perry, M. M., Adcock, I. M., & Durham, A. L. (2015). Epigenome-modifying tools in asthma. *Epigenomics*, 7(6), 1017–1032. <http://doi.org/10.2217/epi.15.53>
- C. David, M.-L. A., Thomas, J., Danny, R., & Caparros. (2007). *Epigenetics* (Cold Sprin). United States of America.
- Castle, D., & Ries, N. M. (2007). Ethical, legal and social issues in nutrigenomics: The challenges of regulating service delivery and building health professional capacity. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 622(1-2), 138–143. <http://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2007.03.017>

- Chiu, J., Khan, Z. A., Farhangkhoe, H., & Chakrabarti, S. (2009). Curcumin prevents diabetes-associated abnormalities in the kidneys by inhibiting p300 and nuclear factor- κ B. *Nutrition*, 25(9), 964–972. <http://doi.org/10.1016/j.nut.2008.12.007>
- Choi, S.-W., Claycombe, K. J., Martinez, J. A., Friso, S., & Schalinske, K. L. (2013). Nutritional Epigenomics: A Portal to Disease Prevention. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 4(5), 530–532. <http://doi.org/10.3945/an.113.004168>
- Coward, W. R., Watts, K., Feghali-Bostwick, C. A., Knox, A., & Pang, L. (2009). Defective Histone Acetylation Is Responsible for the Diminished Expression of Cyclooxygenase 2 in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Molecular and Cellular Biology*, 29(15), 4325–4339. <http://doi.org/10.1128/MCB.01776-08>
- Cui, X., Jin, Y., Hofseth, A. B., Pena, E., Habiger, J., Chumanovich, A., ... Hofseth, L. J. (2010). Resveratrol Suppresses Colitis and Colon Cancer Associated with Colitis. *Cancer Prevention Research*, 3(4), 549–559. <http://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-09-0117>
- Dauncey, M. J. (2014). Nutrition, the brain and cognitive decline: insights from epigenetics. *European Journal of Clinical Nutrition*, 68(11), 1179–1185. <http://doi.org/10.1038/ejcn.2014.173>
- Davis, C. D., & Hord, N. G. (2005). Nutritional “omics” technologies for elucidating the role(s) of bioactive food components in colon cancer prevention. *The Journal of Nutrition*, 135(11), 2694–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16251632>
- Do, D. P., Pai, S. B., Rizvi, S. A. A., & D’Souza, M. J. (2010). Development of sulforaphane-encapsulated microspheres for cancer epigenetic therapy. *International Journal of Pharmaceutics*, 386(1-2), 114–121. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.11.009>

- Donnelly, L. E. (2004). Anti-inflammatory effects of resveratrol in lung epithelial cells: molecular mechanisms. *AJP: Lung Cellular and Molecular Physiology*, 287(4), L774–L783. <http://doi.org/10.1152/ajplung.00110.2004>
- Druesne-Pecollo, N., Chaumontet, C., Pagniez, A., Vaugelade, P., Bruneau, A., Thomas, M., ... Martel, P. (2007). In vivo treatment by diallyl disulfide increases histone acetylation in rat colonocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 354(1), 140–147. <http://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.12.158>
- F., A. J., Griffiths, S. B., Susan R., W., Richard C., L., & Carroll. (2009). *Introdução à Genética*. (E. G. K. S.A., Ed.) (9ª Edição). Rio de Janeiro.
- Fenech, M. (2008). Genome health nutrigenomics and nutrigenetics – diagnosis and nutritional treatment of genome damage on an individual basis. *Food and Chemical Toxicology*, 46(4), 1365–1370. <http://doi.org/10.1016/j.fct.2007.06.035>
- Gerhäuser, C. (2015). Cancer prevention and nutrition. *Lab&More*, 6–10.
- Ghosh, D., Skinner, M. A., & Laing, W. A. (2007). Pharmacogenomics and nutrigenomics: synergies and differences. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61(5), 567–74. <http://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602590>
- Gillies, P. J. (2003). Nutrigenomics: the Rubicon of molecular nutrition. *Journal of the American Dietetic Association*, 103(12), 50–55. <http://doi.org/10.1016/j.jada.2003.09.037>
- Goel, A., Kunnumakkara, A. B., & Aggarwal, B. B. (2008). Curcumin as “Curecumin”: From kitchen to clinic. *Biochemical Pharmacology*, 75(4), 787–809. <http://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.08.016>
- Gonçalves Ferreira, F. A. (2005). *Nutrição Humana*. (F. C. Gulbenkian, Ed.) (3ª Edição). Lisboa. <http://doi.org/222.102/05>
- Hesketh, J. (2008). Nutrigenomics and Selenium: Gene Expression Patterns, Physiological Targets, and Genetics. *Annual Review of Nutrition*, 28(1), 157–177. <http://doi.org/10.1146/annurev.nutr.28.061807.155446>

- Hesketh, J. (2013). Personalised nutrition: how far has nutrigenomics progressed? *European Journal of Clinical Nutrition*, 67(5), 430–435. <http://doi.org/10.1038/ejcn.2012.145>
- Hubner, R. A. (2006). Folate Metabolism Polymorphisms Influence Risk of Colorectal Adenoma Recurrence. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 15(9), 1607–1613. <http://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0274>
- Hubner, R. a., Lubbe, S., Chandler, I., & Houlston, R. S. (2007). MTHFR C677T has differential influence on risk of MSI and MSS colorectal cancer. *Human Molecular Genetics*, 16(9), 1072–1077. <http://doi.org/10.1093/hmg/ddm055>
- Integrated Health Care. (n.d.). Histones and Chromatin. Retrieved from http://www.integratedhealthcare.eu/1/en/histones_and_chromatin/1497/
- Iorio, M. V., Piovan, C., & Croce, C. M. (2010). Interplay between microRNAs and the epigenetic machinery: An intricate network. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*, 1799(10-12), 694–701. <http://doi.org/10.1016/j.bbagr.2010.05.005>
- Johnstone, R. W. (2002). HISTONE-DEACETYLASE INHIBITORS: NOVEL DRUGS FOR THE TREATMENT OF CANCER. *Nature Reviews Drug Discovery*, 1(4), 287–299. <http://doi.org/10.1038/nrd772>
- Kang, J. X. (2013). Frontiers of Nutritional Intervention. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, 6(6), I–II. <http://doi.org/10.1159/000362481>
- Kuroiwa-Trzmielina, J., de Conti, A., Scolastici, C., Pereira, D., Horst, M. A., Purgatto, E., ... Moreno, F. S. (2009). Chemoprevention of rat hepatocarcinogenesis with histone deacetylase inhibitors: Efficacy of tributyrin, a butyric acid prodrug. *International Journal of Cancer*, 124(11), 2520–2527. <http://doi.org/10.1002/ijc.24212>

- Lamprecht, S. A., & Lipkin, M. (2003). Chemoprevention of colon cancer by calcium, vitamin D and folate: molecular mechanisms. *Nature Reviews Cancer*, 3(8), 601–614. <http://doi.org/10.1038/nrc1144>
- Langevin, S. M., & Kelsey, K. T. (2013). The fate is not always written in the genes: Epigenomics in epidemiologic studies. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 54(7), 533–541. <http://doi.org/10.1002/em.21762>
- Li, Q., Liu, M., Hou, J., Jiang, C., Li, S., & Wang, T. (2013). The prevalence of Keshan disease in China. *International Journal of Cardiology*, 168(2), 1121–1126. <http://doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.11.046>
- Link, A., Balaguer, F., & Goel, A. (2010). Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: Promising role for epigenetics. *Biochemical Pharmacology*, 80(12), 1771–1792. <http://doi.org/10.1016/j.bcp.2010.06.036>
- Mali, P., Chou, B.-K., Yen, J., Ye, Z., Zou, J., Dowey, S., ... Cheng, L. (2010). Butyrate Greatly Enhances Derivation of Human Induced Pluripotent Stem Cells by Promoting Epigenetic Remodeling and the Expression of Pluripotency-Associated Genes. *STEM CELLS*, 28(4), 713–720. <http://doi.org/10.1002/stem.402>
- Mathers, J. C. (2008). Session 2: Personalised nutrition Epigenomics: a basis for understanding individual differences? *Proceedings of the Nutrition Society*, 67(04), 390. <http://doi.org/10.1017/S0029665108008744>
- Mead, M. N. (2007). Nutrigenomics: The Genome–Food Interface. *Environmental Health Perspectives*, 115(12), A582–A589. <http://doi.org/10.1289/ehp.115-a582>
- Méplan, C., Crosley, L. K., Nicol, F., Horgan, G. W., Mathers, J. C., Arthur, J. R., & Hesketh, J. E. (2008). Functional effects of a common single-nucleotide polymorphism (GPX4c718t) in the glutathione peroxidase 4 gene: interaction with sex. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87(4), 1019–27. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18400727>

- Michels, K. B. (2010). The promises and challenges of epigenetic epidemiology. *Experimental Gerontology*, 45(4), 297–301. <http://doi.org/10.1016/j.exger.2009.12.011>
- Mocchegiani, E., Costarelli, L., Giacconi, R., Malavolta, M., Basso, A., Piacenza, F., ... Monti, D. (2014). Micronutrient–gene interactions related to inflammatory/immune response and antioxidant activity in ageing and inflammation. A systematic review. *Mechanisms of Ageing and Development*, 136–137, 29–49. <http://doi.org/10.1016/j.mad.2013.12.007>
- Muntjewerff, J.-W., & Blom, H. J. (2005). Aberrant folate status in schizophrenic patients: What is the evidence? *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 29(7), 1133–1139. <http://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2005.06.024>
- Mutch, D. M. (2005). Nutrigenomics and nutrigenetics: the emerging faces of nutrition. *The FASEB Journal*, 19(12), 1602–1616. <http://doi.org/10.1096/fj.05-3911rev>
- Nian, H., Delage, B., Ho, E., & Dashwood, R. H. (2009). Modulation of histone deacetylase activity by dietary isothiocyanates and allyl sulfides: Studies with sulforaphane and garlic organosulfur compounds. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 50(3), 213–221. <http://doi.org/10.1002/em.20454>
- Niedzielski, P., Rudnicka, M., Wachelka, M., Kozak, L., Rzany, M., Wozniak, M., & Kaskow, Z. (2016). Selenium species in selenium fortified dietary supplements. *Food Chemistry*, 190, 454–459. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.125>
- Ordovás, J. M., & Smith, C. E. (2010). Epigenetics and cardiovascular disease. *Nature Reviews Cardiology*, 7(9), 510–519. <http://doi.org/10.1038/nrcardio.2010.104>
- Park, L. K., Friso, S., & Choi, S.-W. (2012). Nutritional influences on epigenetics and age-related disease. *Proceedings of the Nutrition Society*, 71(01), 75–83. <http://doi.org/10.1017/S0029665111003302>

- Peedicayil, J. (2012). Role of epigenetics in pharmacotherapy, psychotherapy and nutritional management of mental disorders. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 37(5), 499–501. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2710.2012.01346.x>
- Penders, B., Horstman, K., Saris, W. H. M., & Vos, R. (2007). From individuals to groups: a review of the meaning of “personalized” in nutrigenomics. *Trends in Food Science & Technology*, 18(6), 333–338. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.02.004>
- Qiu, X., Brown, K. V., Moran, Y., & Chen, D. (2010). Sirtuin regulation in calorie restriction. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1804(8), 1576–1583. <http://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.09.015>
- Ramsay, M. (2015). Epigenetic epidemiology: is there cause for optimism? *Epigenomics*, 7(5), 683–685. <http://doi.org/10.2217/epi.15.48>
- Remely, M., Lovrecic, L., de la Garza, A. L., Migliore, L., Peterlin, B., Milagro, F. I., ... Haslberger, A. G. (2015). Therapeutic perspectives of epigenetically active nutrients. *British Journal of Pharmacology*, 172(11), 2756–2768. <http://doi.org/10.1111/bph.12854>
- Richon, V. M., Sandhoff, T. W., Rifkind, R. a, & Marks, P. a. (2000). Histone deacetylase inhibitor selectively induces p21WAF1 expression and gene-associated histone acetylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(18), 10014–10019. <http://doi.org/10.1073/pnas.180316197>
- Rimbach, G., & Pascual-Teresa, S. de. (2005). Application of nutrigenomics tools to analyse the role of oxidants and antioxidants in gene expression. In G. Rimbach, J. Fuchs, & L. Packer (Eds.), *Nutrigenomics* (Taylor & F, pp. 1–2). CRC Press.
- Rountree, M. R., Bachman, K. E., Herman, J. G., & Baylin, S. B. (2001). DNA methylation, chromatin inheritance, and cancer. *Oncogene*, 20(24), 3156–3165. <http://doi.org/10.1038/sj.onc.1204339>

- Sánchez-Fidalgo, S., Cárdeno, A., Villegas, I., Talero, E., & de la Lastra, C. A. (2010). Dietary supplementation of resveratrol attenuates chronic colonic inflammation in mice. *European Journal of Pharmacology*, 633(1-3), 78–84. <http://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.01.025>
- Schomburg, L., & Schweizer, U. (2009). Hierarchical regulation of selenoprotein expression and sex-specific effects of selenium. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1790(11), 1453–1462. <http://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.03.015>
- Shishodia, S., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2007). Role of Curcumin in Cancer Therapy. *Current Problems in Cancer*, 31(4), 243–305. <http://doi.org/10.1016/j.currproblcancer.2007.04.001>
- Stansfield, W. D. (1985). *Genética*. (Mc-Graw Hill, Ed.) (2ª Edição). São Paulo: MAKRON Books do Brasil Editora.
- Subbiah, M. T. R. (2007). Nutrigenetics and nutraceuticals: the next wave riding on personalized medicine. *Translational Research*, 149(2), 55–61. <http://doi.org/10.1016/j.trsl.2006.09.003>
- Subbiah, M. T. R. (2008). Understanding the Nutrigenomic Definitions and Concepts at the Food–Genome Junction. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, 12(4), 229–235. <http://doi.org/10.1089/omi.2008.0033>
- Sutton, K. H. (2007). Considerations for the successful development and launch of personalised nutrigenomic foods. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 622(1-2), 117–121. <http://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2007.03.007>
- Tio, M., Andrici, J., Cox, M. R., & Eslick, G. D. (2014). Folate intake and the risk of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Prostate Cancer and Prostatic Disease*, 17(3), 213–219. <http://doi.org/10.1038/pcan.2014.16>

- Trujillo, E., Davis, C., & Milner, J. (2006). Nutrigenomics, Proteomics, Metabolomics, and the Practice of Dietetics. *Journal of the American Dietetic Association*, 106(3), 403–413. <http://doi.org/10.1016/j.jada.2005.12.002>
- Ulrich, C. M. (2005). Nutrigenetics in cancer research--folate metabolism and colorectal cancer. *The Journal of Nutrition*, 135(11), 2698–702. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16251633>
- Vaiserman, A. (2015). Epidemiologic evidence for association between adverse environmental exposures in early life and epigenetic variation: a potential link to disease susceptibility? *Clinical Epigenetics*, 7(1), 96. <http://doi.org/10.1186/s13148-015-0130-0>
- Vaquero, A., Scher, M., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Serrano, L., & Reinberg, D. (2007). SIRT1 regulates the histone methyl-transferase SUV39H1 during heterochromatin formation. *Nature*, 450(7168), 440–444. <http://doi.org/10.1038/nature06268>
- Vaquero, A., Sternglanz, R., & Reinberg, D. (2007). NAD⁺-dependent deacetylation of H4 lysine 16 by class III HDACs. *Oncogene*, 26(37), 5505–5520. <http://doi.org/10.1038/sj.onc.1210617>
- Villagra, A., Sotomayor, E. M., & Seto, E. (2010). Histone deacetylases and the immunological network: implications in cancer and inflammation. *Oncogene*, 29(2), 157–173. <http://doi.org/10.1038/onc.2009.334>
- Wang, M., & Kaufman, R. J. (2014). The impact of the endoplasmic reticulum protein-folding environment on cancer development. *Nature Reviews Cancer*, 14(9), 581–597. <http://doi.org/10.1038/nrc3800>
- Wang, Y., Zhao, N., Qiu, J., He, X., Zhou, M., Cui, H., ... Zhang, Y. (2015). Folic acid supplementation and dietary folate intake, and risk of preeclampsia. *European Journal of Clinical Nutrition*, 69(10), 1145–1150. <http://doi.org/10.1038/ejcn.2014.295>

- Wierzbicki, A. S. (2007). Homocysteine and cardiovascular disease: a review of the evidence. *Diabetes & Vascular Disease Research: Official Journal of the International Society of Diabetes and Vascular Disease*, 4(2), 143. <http://doi.org/10.3132/dvdr.2007.033>
- Wittwer, J., Rubio-Aliaga, I., Hoeft, B., Bendik, I., Weber, P., & Daniel, H. (2011). Nutrigenomics in human intervention studies: Current status, lessons learned and future perspectives. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(3), 341–358. <http://doi.org/10.1002/mnfr.201000512>
- Yang, T., Fu, M., Pestell, R., & Sauve, A. a. (2006). SIRT1 and endocrine signaling. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 17(5), 186–191. <http://doi.org/10.1016/j.tem.2006.04.002>
- Youn, J., Lee, J.-S., Na, H.-K., Kundu, J. K., & Surh, Y.-J. (2009). Resveratrol and Piceatannol Inhibit iNOS Expression and NF- κ B Activation in Dextran Sulfate Sodium-Induced Mouse Colitis. *Nutrition and Cancer*, 61(6), 847–854. <http://doi.org/10.1080/01635580903285072>
- Zhang, R., Chen, H.-Z., Liu, J.-J., Jia, Y.-Y., Zhang, Z.-Q., Yang, R.-F., ... Liang, C.-C. (2010). SIRT1 Suppresses Activator Protein-1 Transcriptional Activity and Cyclooxygenase-2 Expression in Macrophages. *Journal of Biological Chemistry*, 285(10), 7097–7110. <http://doi.org/10.1074/jbc.M109.038604>
- Zykova, T. A., Zhu, F., Zhai, X., Ma, W.-Y., Ermakova, S. P., Lee, K. W., ... Dong, Z. (2008). Resveratrol directly targets COX-2 to inhibit carcinogenesis. *Molecular Carcinogenesis*, 47(10), 797–805. <http://doi.org/10.1002/mc.20437>