



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

EPIGENÉTICA NUTRICIONAL

Trabalho submetido por
Patrícia Figueira
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2016



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

EPIGENÉTICA NUTRICIONAL

Trabalho submetido por
Patrícia Figueira
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Professora Doutora Alexandra Maia e Silva

Setembro de 2016

Dedicatória

Quero dedicar esta tese à minha Mãe e irmã, que são os dois grandes pilares da minha vida e, ao meu Pai que é a minha grande fonte de inspiração.

Agradecimentos

Quero agradecer à minha Mãe por todo o apoio, ajuda, carinho e força que me deu ao longo destes cinco anos de curso, pela sua dedicação em me ver sempre feliz, por sempre acreditar nas minhas capacidades e nunca me deixar desistir de nada. Agradeço também por tudo o que me ensinou e hoje proporciona e, acima de tudo, pessoa que é.

À minha irmã, que sempre me ajudou em tudo o que podia e que está sempre ao meu lado quando mais preciso.

Ao meu namorado, Tiago Saraiva, que acompanhou o meu percurso académico desde o início, e que sempre esteve ao meu lado quando mais precisei. Agradeço também pelo carinho, afeto e apoio que me dá e por ser tão disponível para me ajudar em tudo o que pode, o meu sincero obrigada!

Às minhas amigas Inês, Rafaela e Ana Teresa, que me acompanharam ao longo destes cinco anos de percurso e que foram um grande apoio em toda a minha vida, tanto ao nível pessoal como académico, muito obrigada!

Um especial obrigado à Inês Guedes, que desde o primeiro dia tive a sorte de a ter como minha parceira de curso e companheira de quarto, por todas as palavras de incentivo e amizade nos momentos mais difíceis, e também agradecer por ter estado presente em todos os momentos mais felizes, espero que continue sempre assim.

Por fim, mas não menos importante, quero agradecer à minha orientadora, Professora Doutora Alexandra Maia e Silva pela simpatia, disponibilidade e profissionalismo que demonstrou durante toda a realização deste trabalho.

Resumo

As Dietas ricas em gordura, açúcar, sal e pobres em carboidratos complexos, vitaminas e minerais aliadas a um estilo de vida mais sedentário, são responsáveis pelo aumento de doenças, como obesidade, diabetes, problemas cardiovasculares e cancro. O tipo de nutrição adquirido tem desempenhado um papel muito importante, não só como causa de doenças, como também na sua prevenção. Os nutrientes têm capacidade de interagir com os mecanismos moleculares do organismo e consequentemente modificar as suas funções fisiológicas.

A epigenética é definida como modificações do genoma, herdadas durante a divisão celular e que não envolve nenhuma mudança na sequência do DNA. Esta compreende um conjunto de mecanismos que promovem a regulação da expressão génica. Envolvem modificações moleculares do DNA, como a metilação do DNA e acetilação das histonas.

Os nutrientes têm a capacidade de provocar alterações epigenéticas e alterar a suscetibilidade a doenças.

O facto das alterações epigenéticas serem de carácter reversível, ao contrário das mutações dos genes, torna-se uma área bastante atrativa para intervenções no campo da nutrição.

O principal foco desta monografia é a identificação de nutrientes/agentes dietéticos que visam a modificação das histonas, metilação do DNA e que levam a uma ação preventiva de doenças crónicas, em particular do cancro.

Palavras-chave: DNA; Epigenética; Metilação do DNA; Modificações das histonas; Nutrientes

Abstract

Diets rich in fat, sugar, salt and poor in complex carbohydrates, vitamins and minerals, associated with a more sedentary lifestyle, are responsible for a rise in various illnesses, such as obesity, diabetes, cardiovascular problems and cancer. The type of nutrition attained has played a very important role not only in the development of diseases, but also in their prevention. Nutrients have the ability to interact with the molecular mechanisms of the organism and consequently modify its physiological functions.

Epigenetics is defined as modifications of the genome, inherited during cellular division and that does not involve any change in DNA sequence. It comprises of a set of mechanisms that promote the regulation of genetic expression. These involve molecular changes of the DNA, such as DNA methylation and histone acetylation.

Nutrients have the capacity to trigger epigenetic alterations and to modify susceptibility to illnesses.

The fact that epigenetic alterations have the characteristic of being reversible, unlike gene mutations, makes this an area of great interest with regards to interventions in the field of nutrition.

The main focus of this monograph is the identification of nutrients/dietary agents that target histone modification, DNA methylation and that lead to a preventive action for chronic illnesses, particularly cancer.

Keywords: DNA; Epigenetics; DNA methylation; Histone modification ; Nutrients

ÍNDICE

I.	Introdução	11
II.	Epigenética.....	14
2.1.	Modificações epigenéticas	15
2.2.	Metilação do DNA.....	16
2.3.	Modificação das Histonas.....	19
2.4.	Influência do meio ambiente sobre as modificações epigenéticas	21
III.	Alimentos que influenciam a expressão genética	23
3.1.	Polifenóis e Metilação do DNA	28
3.1.1.	Polifenóis do chá verde.....	29
3.1.2.	Genisteína	30
3.1.3.	Isotiocianato	32
3.1.4.	Licopeno	34
3.1.5.	Ácido cafeico	35
3.1.6.	Curcumina.....	35
3.1.7.	Resveratrol	37
3.2.	Polifenóis e modificação das histonas.....	38
3.2.1.	Sulforafano.....	39
3.2.2.	Alho.....	40
3.2.3.	Polifenóis do chá verde.....	41
3.2.4.	Curcumina.....	41
3.3.	Dietas epigenéticas	42
IV.	Terapêutica epigenética.....	45
4.1.	Prevenção de cancro	46
V.	Suplementos Alimentares.....	49
VI.	Conclusão e perspectivas Futuras	51
	Referências Bibliográficas.....	52

Índice de Figuras

Figura 1. Balanço entre gene-nutriente	13
Figura 2. Influência dos fatores epigenéticos na vida humana	15
Figura 3. Metilação do DNA catalizada por DNMTs.....	16
Figura 4. Metilação do DNA	17
Figura 5. Regulação transcricional epigenética	19
Figura 6. Modificações nos nucleossomas e nas histonas	21
Figura 7. Mecanismos epigenéticos e associações entre alterações do fenótipo e fatores ambientais	22
Figura 8. Nutrigenética, Epigenética nutricional, Nutrição transcriptômica, proteômica e Metabólica são essenciais para perceber a função dos nutrientes na carcinogénese	24
Figura 9. Influência dos compostos nutricionais nos mecanismos epigenéticos	26
Figura 10. Principais plantas com evidências de modificações epigenéticas	27
Figura 11. Metilação do DNA	28
Figura 12. Estrutura molecular da EGCG.....	29
Figura 13. Estrutura molecular da genisteína	31
Figura 14. Alvos quimioterápicos dos ITC	33
Figura 15. Estrutura molecular do licopeno.....	34
Figura 16. Análogos da curcumina	37
Figura 17. Estrutura molecular do resveratrol	38
Figura 18. Influência dos alimentos na modificação das histonas.....	39
Figura 19. Estrutura molecular do sulforafano	40
Figura 20. Estrutura molecular do alilo	41
Figura 21. Estrutura molecular da curcumina	42
Figura 22. Influência dos alimentos bioativos em eventos epigenéticos e genéticos	44
Figura 23. Influência dos alimentos bioativos em processos biológicos	46
Figura 24. Mecanismos epigenéticos envolvidos na carcinogénese	48

Lista de abreviaturas

bDMC - bisdemetoxicurcumina

Calb1 – calbindina 1

COX – ciclooxygenase

COX-1 - Ciclooxygenase 1

COX-2 - Ciclooxygenase 2

COMT - catecol O-metiltransferase

CYP 450 - citocromo P 450

DADS - sulfureto de dialilo

DATS - dissulfito de dialilo

DMC - desmetoxicurcumina

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DNMTs – DNA Metiltransferase

EGCG - Epigallocatequina-3-galato

EMT (epitelial-mesenchymal transition) – Transição epitélio mesenquimal

HAT – Histona acetiltransferase

HDAC – Histona desacetiltransferase

HDM - Histonas desmetilases

HMT - Histonas metiltransferases

hTERT – Transcriptase reversa da telomerase humana

iNOS – sintetase de óxido nítrico induzível

ITC- Isotiocianato

NF- κ B (Nuclear factor κ B) - Fator de transcrição nuclear κ B

Nrf2 (NF-E2-related factor 2) – fator de transcrição

OMS – Organização Mundial de Saúde

PcG - Grupo *Polycomb*

PEITC - Isotiocianato de feniletila

SAH - S-adenosil-homocisteína

SAM - S-adenosilmetionina

SFN - sulforafano

SA – Suplemento alimentar

TNF- α - Fator de necrose tumoral

VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) – Fator de crescimento endotelial vascular

I. Introdução

O genótipo representa todos os genes que um indivíduo possui, sendo fundamental perceber qual a relação entre genes, produtos genéticos, hábitos alimentares e compreender o que fazem esses genes e como são afetados (Ferguson, Shelling, Lauren, Heyes, & McNabb, 2007).

Atualmente estamos perante uma população mais preocupada com a alimentação, o que se tem relado num aumento de utilização de dietas e regimes alimentares para manter a forma física, por isso, é fundamental entender a forma como os nutrientes interagem com o genoma e o que pode interferir na nossa vida (Ferguson et al., 2007).

Nutrigenómica é a área de estudo científico da interação entre os genes específicos e os nutrientes bioativos. Permite-nos compreender as consequências dos nutrientes na expressão dos genes. Desta forma pode afetar a nossa saúde, alterando a expressão ou estrutura da composição genética de um indivíduo. O genoma humano pode ser afetado pelos nutrientes alterando a expressão dos genes; a dieta pode afetar os efeitos dos polimorfismos genéticos; altera o risco de desenvolver certas doenças e por fim o equilíbrio entre a genética individual e a saúde interferem nas consequências de uma dieta (Trivedi, Patel, Jani, & Trivedi, 2011).

A interação gene-nutriente têm demonstram através de estudos estar em constante atividade desde a fase de conceção até à vida adulta (Ordovas, 2007). O meio ambiente tem capacidade de atuar, sobre o DNA, os RNAs e nas proteínas. Estes eventos, podem provocar trocas a nível da cromatina que pode levar à remodelação ou reprogramação da expressão de alguns genes, onde certas regiões dos cromossomas se comportam como silenciadoras ou estimuladoras levando desta forma a alterações de fenótipo (Trujillo, Davis, & Milner, 2006).

Alguns polimorfismos genéticos podem alterar o equilíbrio entre o consumo e gasto de energia e influenciar desta forma problemas de saúde como a obesidade (Trujillo et al., 2006). Pouca prática de exercício físico, vida sedentária, consumo de muita energia, resistência à insulina são fatores de risco para doenças crónicas, estes fatores estão representados na Figura 1 (do lado esquerdo). Se optarmos por um estilo de vida mais saudável, incluindo a prática de exercício físico, ingestão de fibras, frutas, legumes,

proteínas, representado na figura 1 (do lado direito) diminuámos o risco de doenças crónicas (Trujillo et al., 2006).

O cancro é uma doença em que ocorre um crescimento descontrolado e desordenado das células levando à perda de controlo e funções celulares através de alterações genéticas. Estas células podem afetar os tecidos adjacentes e espalhar-se pelo corpo através de um processo denominado de metástase. Ocorre devido a erros na replicação do DNA ou pode ser adquirido através de carácter hereditário. Os proto-oncogenes e os genes supressores de tumor são responsáveis pelo controlo do ciclo de proliferação celular, em que no cancro ocorrem mutações somáticas nesses genes (Lu et al., 2006).

Os proto-oncogenes estimulam o processo de divisão celular, quando sofrem alguma mutação, tornam-se oncogenes e desta forma causam uma multiplicação celular excessiva. Os genes supressores de tumor quando inativados contribuem para o desenvolvimento do cancro pois inibem o processo de divisão das células (Chesson & Collins, 1997).

As taxas globais de pessoas afetadas com cancro estão a aumentar cada vez mais, prevê-se que aumente cerca de 50% em 2020 (Organização Mundial de Saúde, 2003). Para percebermos a influência que a alimentação tem na saúde e na doença temos de entender a influência que os nutrientes e os compostos bioativos dos alimentos têm no genoma (Muller & Kersten, 2003).

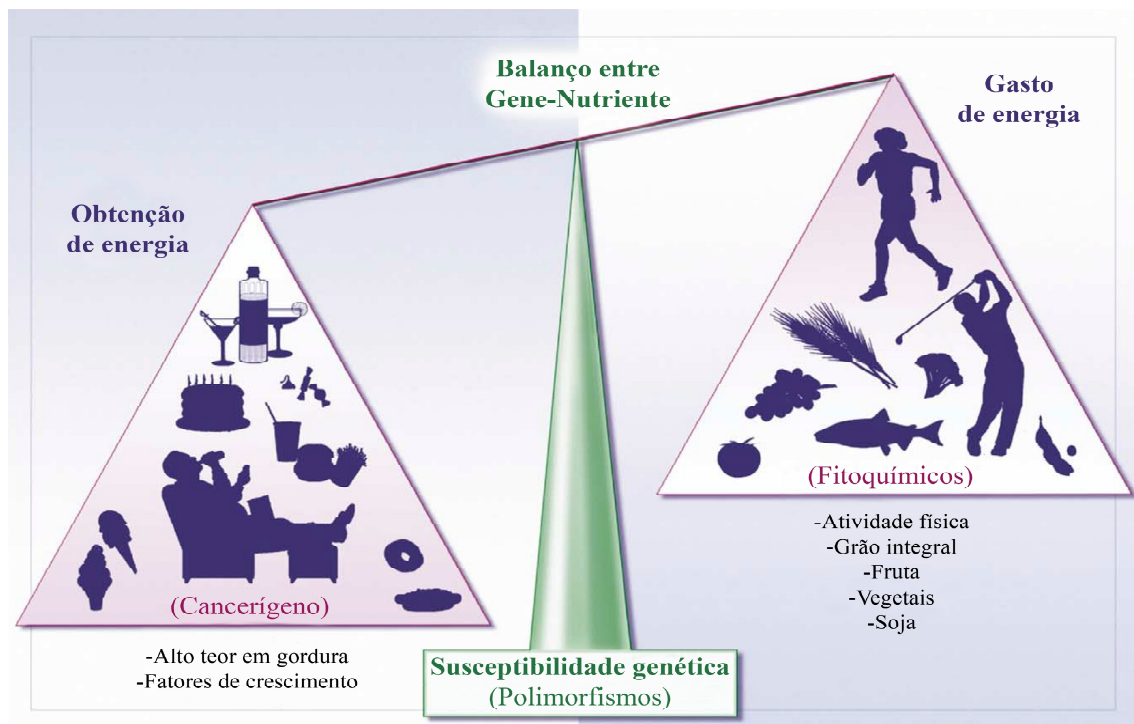


Figura 1. Balanço entre gene-nutriente (adaptado de Trujillo et al., 2006)

II. Epigenética

A epigenética foi objeto de várias alterações na definição ao longo dos anos, Holliday apresentou uma definição final para este termo definindo-a como “o estudo das alterações na expressão dos genes, que ocorrem em organismos como células diferenciadas e a herança mitótica de determinados padrões de expressão genética” (Jablonka & Lamb, 2002).

Desta forma, a epigenética pode ser definida como qualquer atividade reguladora da expressão dos genes incluindo a metilação do DNA, modificações das histonas e remodelação da cromatina que não envolva mudanças na sequência de DNA, podendo persistir por uma ou mais gerações (Link, Balaguer, & Goel, 2010). Tem como objetivo a regulação da transcrição como resposta a fatores ambientais, adaptação ao meio e defesa e permite que as células tenham características diferentes, mesmo possuindo o mesmo DNA (Trujillo et al., 2006).

Os estudos epigenéticos inicialmente eram focados principalmente no desenvolvimento embrionário, envelhecimento e cancro. Atualmente a epigenética destaca-se em muitas outras áreas como inflamação, obesidade, resistência à insulina, diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas e doenças imunológicas, sendo desta forma um assunto chave para no futuro conseguirmos reverter ou controlar o avanço dessas doenças (Trujillo et al., 2006).

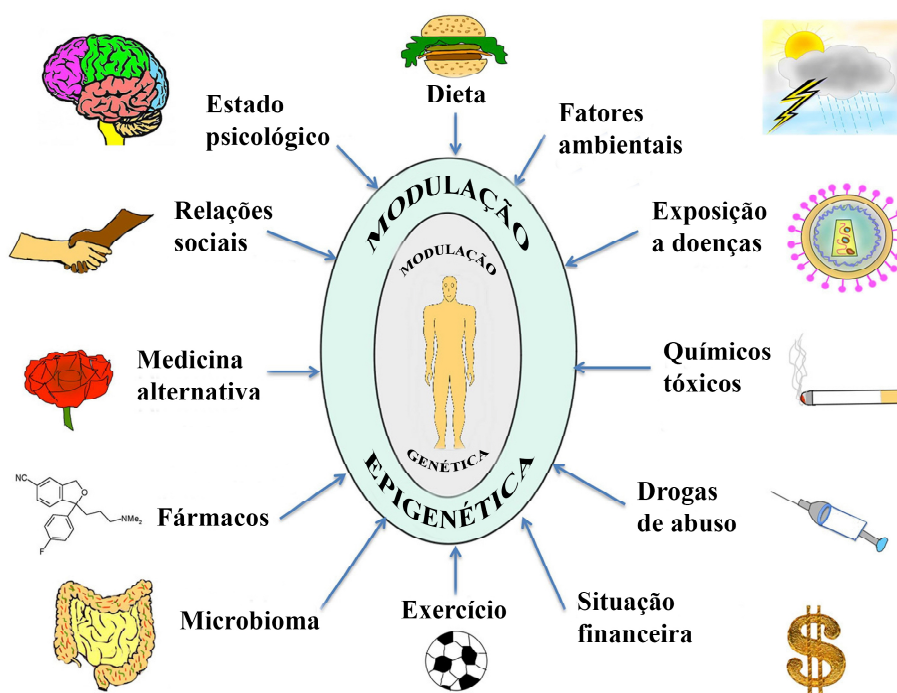


Figura 2. Influência dos fatores epigenéticos na vida humana (adaptado de Kanherkar, Bhatia-Dey, & Csoka, 2014)

As mudanças epigenéticas podem surgir desde a fase intra-uterina, passando pelo desenvolvimento do recém-nascido, pela puberdade e por fim na terceira idade. Estas mudanças ocorrem maioritariamente em momentos específicos da vida do ser humano.

As marcas epigenéticas podem ser herdadas de uma geração para outra através da meiose ou na geração seguinte através da replicação em condições em que a mudança epigenética ocorreu em primeiro lugar (Ordovas, 2007)

Os fatores ambientais têm capacidade para moldar a saúde e interferir com algumas doenças, envolvendo mecanismos epigenéticos que medeiam as interações gene-ambiente (Kanherkar, Bhatia-Dey, & Csoka, 2014). Na figura 2 está representado os fatores com capacidade de influenciar a modulação epigenética.

2.1. Modificações epigenéticas

A epigenética surge através do controlo do estado conformacional da cromatina, sendo realizado maioritariamente por dois mecanismos epigenéticos conhecidos: metilação do DNA e modificações pós-traducionais das histonas (Guil & Esteller, 2009).

2.2. Metilação do DNA

A metilação do DNA é um processo epigenético que se baseia na adição de um grupo metil (CH_3) ao carbono localizado na quinta posição da base de DNA citosina, através de uma ligação covalente, tendo como doador o grupo metilo a S-adenosilmetionina (SAM) (Meeran, Ahmed, & Tollefsbol, 2010).

Esta reação é catalizada pelas enzimas DNA metiltransferases (DNMTs), que realizam a transferência do grupo metil de S- adenosilmetionina (SAM) para a citosina formando-se a S-adenosilhocisteína (SAH), como está representado na figura 3A (Kim, Kim, Min, & Lee, 2012); Romani, Pistillo, & Banelli, 2015); Turek-Plewa & Jagodzinski, 2005).

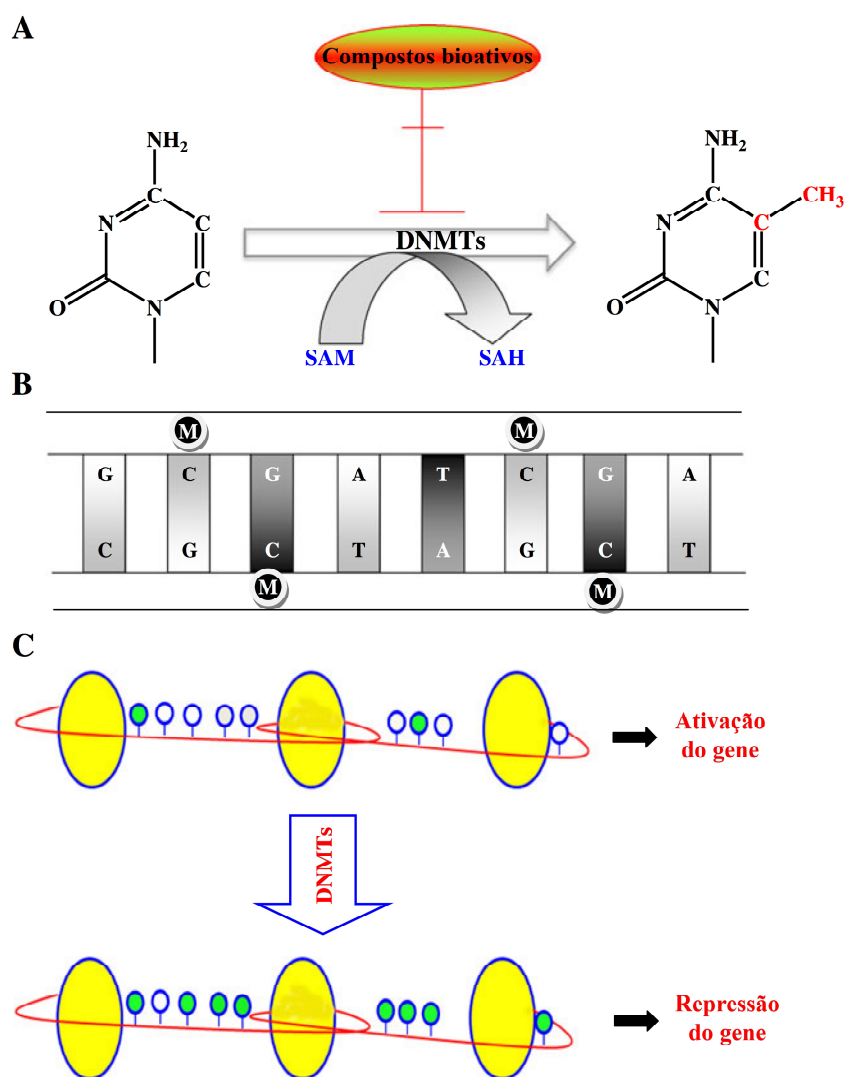


Figura 3. Metilação do DNA catalizada por DNMTs (adaptado Meeran, Ahmed, et al., 2010)

A metilação ocorre maioritariamente em regiões ricas em citosina e guanina, denominadas de ilhas CpG, estas encontram-se nas regiões promotoras dos genes. Em tecidos normais, estas ilhas não estão metiladas o que leva a que haja uma transcrição ativa dos genes envolvidos nos processos celulares (Mikeska & Craig, 2014).

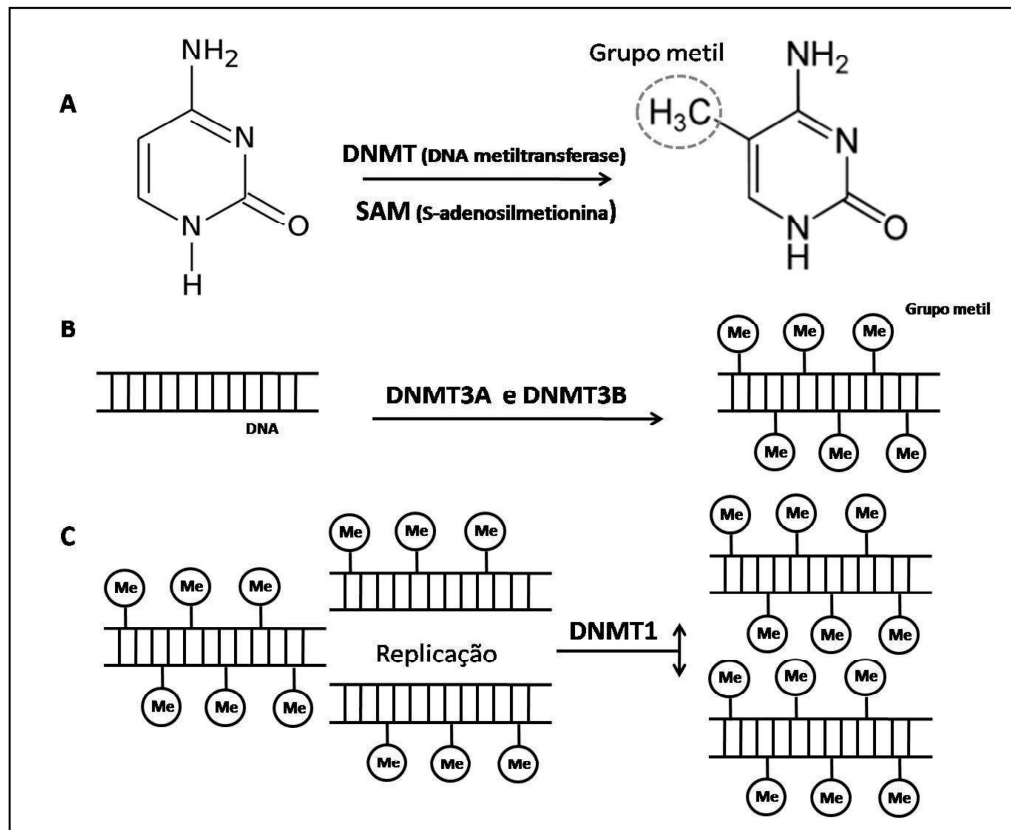


Figura 4. Metilação do DNA (adaptado de Turek-Plewa & Jagodzinski, 2005)

Na figura 4 podemos observar a metilação do DNA. No painel A o carbono 5' da citosina recebe um grupo metil pela ação de DNMTs na presença de SAM, no painel B as enzimas DNMT3A e 3B são responsáveis pela metilação *de novo* no DNA e por fim no painel C a manutenção da metilação é garantida pela DNMT1, em que atua em DNA hemi-metilado (Turek-Plewa & Jagodzinski, 2005).

Das modificações epigenéticas conhecidas, a metilação é a mais bem estudada em mamíferos. Existem 8 tipos de DNMTs, DNMT1, DNMT1b, DNMT1o, DNMT1p, DNMT2, DNMT3a, 3b e DNMT3L (Nowsheen et al., 2014). DNMT1 é uma enzima de manutenção da metilação, possui alta atividade na metilação de DNA hemi-metilado. A DNMT2 é expressa em baixos níveis em todos os tecidos e ainda não se descobriu ao certo a sua função. As DNMT3a e 3b são essenciais para a metilação *de novo* do DNA no início do desenvolvimento embrionário. Por último a DNMT3L está envolvida no *imprinting* materno (Bourc'his et al., 2001).

A metilação do DNA desempenha um papel fundamental durante a embriogénese na prevenção de doenças, daí ser fundamental existir uma exposição apropriada aos modeladores epigenéticos através da dieta (Li, Saldanha, & Tollefsbol, 2014). Esta pode influenciar a transcrição dos genes prevenindo a ligação à sequência específica do fatores de transcrição que requer a presença de CpG não metilado nos locais de ligação e pode ser mediado por proteínas que têm a capacidade de modificar a acetilação e metilação das histonas para o *locus* inibindo a transcrição dos genes (Meeran, Ahmed, et al., 2010).

Na metilação do DNA podemos ter hipermetilação e hipometilação em que a hipometilação desencadeia um aumento na expressão génica, podendo levar à ativação de genes silenciados incluindo oncogenes, enquanto que a hipermetilação diminui a expressão dos genes-alvo, como por exemplo os genes supressores de tumores (Ong, Moreno, & Ross, 2012).

Estes eventos de metilação do DNA têm sido descritos em lesões de um grau avançado de neoplasia, o que sugere que estes mecanismos de metilação podem ocorrer precocemente durante a carcinogénese (Ho & Beaver, 2011).

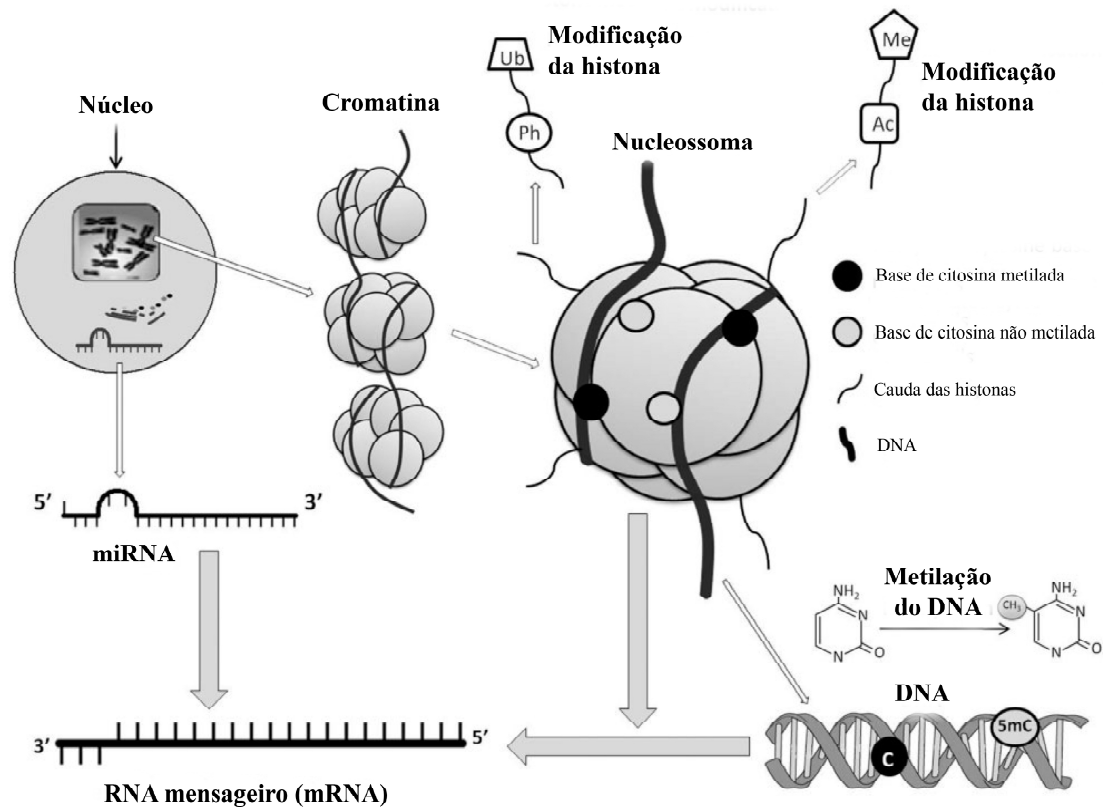


Figura 5. Regulação transcricional epigenética (adaptado de Hou, Zhang, Wang, & Baccarelli, 2012)

Na figura 5 podemos observar que a remodelação da cromatina é necessário para os primeiros passos da transcrição do gene, sendo realizada através da alteração da acessibilidade dos promotores e das regiões reguladoras. Os fatores epigenéticos, metilação do DNA, modificação das histonas e micro RNA, representados na figura 5, participam nestes processos de regulação controlando a expressão dos genes.

2.3. Modificação das Histonas

O DNA eucarionte está organizado numa estrutura denominada de cromatina, esta é formada por unidades repetitivas chamadas nucleossomas. Os nucleossomas são a unidade básica da cromatina, são constituídos por um octâmero de histonas (H2A, H2B, H3 e H4, sendo dois exemplares de cada) envolto por DNA (figura 6) (Shilatifard, 2006).

As histonas são proteínas básicas com um domínio globular C-terminal e uma cauda N-Terminal. A região N-terminal das cadeias peptídicas histónicas é responsável por todas as modificações relativas à estrutura da cromatina e por consequência dos processos de regulação celular que acontecem (Kooistra & Helin, 2012). A remodelação da cromatina e a modificação das histonas desempenham um papel importante na regulação da expressão dos genes (Ho & Beaver, 2011). Estas modulam a estrutura da cromatina; determinam o grau de condensação da cromatina para um controlo da expressão génica (Shankar et al., 2014). Existem vários tipos de modificações entre elas: acetilação de lisina, metilação de lisina e arginina, fosforilação de serina e treonina, ubiquitinação de lisina, glicosilação, sumoilação, ribosilação da adenosina difosfato e carbonilação (Margueron & Reinberg, 2013).

A modificação ao nível das histonas mais estudada é a acetilação das histonas. Este processo de acetilação da lisina é obtido através de duas enzimas, as histonas acetiltransferases (HATs) e histonas desacetilases (HDAC). As (HATs) têm uma especificidade relativamente baixa, uma vez que pode modificar vários resíduos de lisina diferentes. A transferência de grupos acetil provenientes da molécula acetil-CoA, mediada pelas HAT para as lisinas nas caudas de histona, neutraliza a carga positiva do aminoácido que resulta no enfraquecimento da sua interação com o DNA e no relaxamento da conformação da cromatina facilitando assim a atividade transcricional dos genes (Dell'Aversana, Lepore, & Altucci, 2012). A enzima HDAC funciona no sentido oposto, restabelecendo a carga positiva das terminações amina, possibilitando uma maior associação entre as histonas e o DNA, bloqueando os locais de ligação aos promotores e alterando a conformação da cromatina para um estado de repressão (heterocromatina), logo inibe a transcrição de genes (Dell'Aversana et al., 2012).

As modificações pós-traducionais ocorrem na cauda N-terminal das histonas. São mediadas por enzimas que regulam o código histónico, este é definido como as combinações de modificações pós-traducionais nos diferentes resíduos de aminoácidos nas extremidades N-terminal que definem estados transcricionalmente ativos ou inativos. (Kouzarides, 2007); (Romani et al., 2015).

São várias as enzimas que estão envolvidas na modificação de histonas. As histonas metiltransferases (HMTs), promovem a transferência do grupo metil proveniente de SAM para os aminoácidos arginina e lisina. As histonas desmetilases (HDM) são

responsáveis por remover os grupos metil dos aminoácidos arginina e lisina (Sadakierska-Chudy & Filip, 2014).

Posteriormente outras modificações envolvidas na expressão génica em histonas foram descritas, surgindo desta forma o código das histonas (Strahl & Allis, 2000).

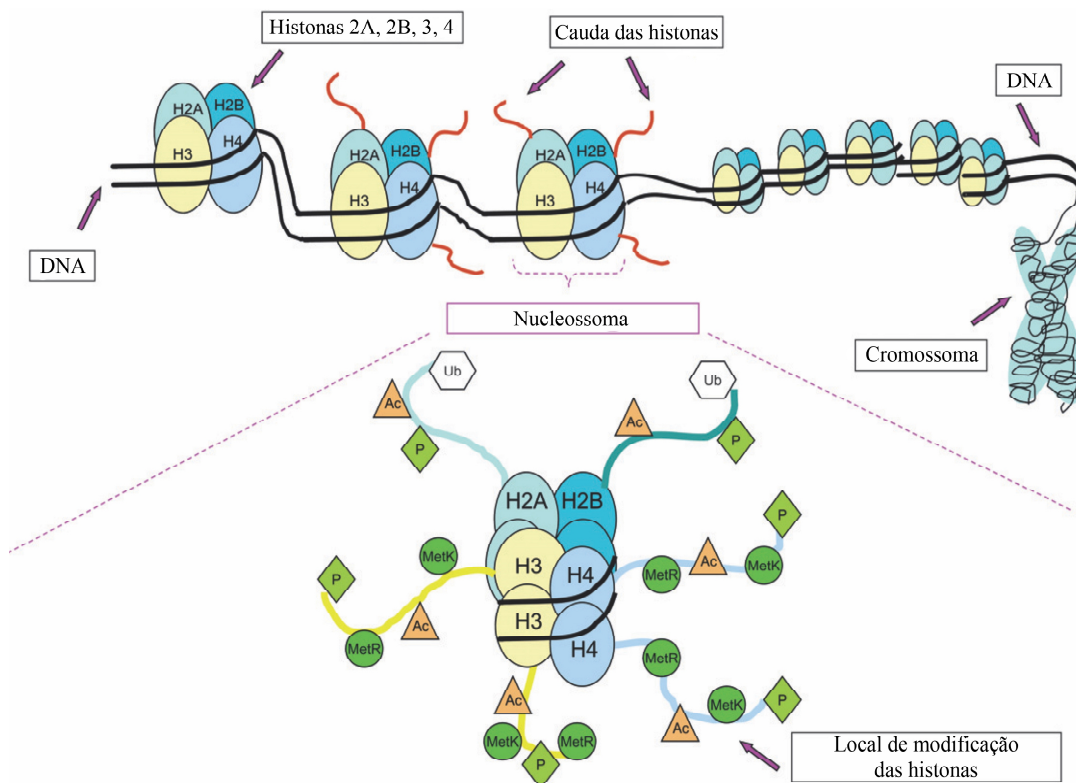


Figura 6. Modificações nos nucleossomas e nas histonas (adaptado de Choi & Friso, 2010)

2.4. Influência do meio ambiente sobre as modificações epigenéticas

Os fatores ambientais são considerados fatores desencadeantes de muitas alterações no corpo humano. Estamos continuamente expostos a vários fatores externos como o fumos, toxinas, álcool, stress, drogas, etc (Romani et al., 2015).

Estes fatores são prejudiciais para a nossa saúde e responsáveis por muitas mortes uma vez que levam à desregulação dos processos epigenéticos e a possíveis a mutações (Hou et al., 2012).

O DNA é exposto a uma grande variedade de agentes que podem influenciar a regulação epigenética. A metilação do DNA é considerada uma modificação estável, no entanto, é sensível a vários agentes incluindo os que reduzem a biodisponibilidade da S-adenosil-metionina, o maior doador de grupos metilo envolvidos na metilação do DNA. A desregulação epigenética afeta as histonas por serem mais dinâmicas são muito sensíveis às alterações ambientais uma vez que cada uma das enzimas envolvidas neste processo é alvo de uma potencial regulação epigenética (Romani et al., 2015).

Um exemplo de um inibidor enzimático é o cádmio, ao inibir as DNMTs leva à hipometilação sendo desta forma associado a vários tipos de cancro. Outro exemplo é o arsénio que atua na enzima SAM, este diminui a sua atividade sendo esta essencial para o processo de metilação do DNA (Vaissière, Sawan, & Herceg, 2008).

Outro fator importante nas alterações epigenéticas é o álcool, este pode influenciar o crescimento e desenvolvimento neuronal, afetar a memória e aprendizagem devido à capacidade de modificação da metilação dos genes. Estudos demonstram que doenças como o Alzheimer, Parkinson ou síndrome de Angelman estão relacionadas com genes epigeneticamente modificados como consequência da ingestão aguda de álcool (Liu, Balaraman, Wang, Nephew, & Zhou, 2009).

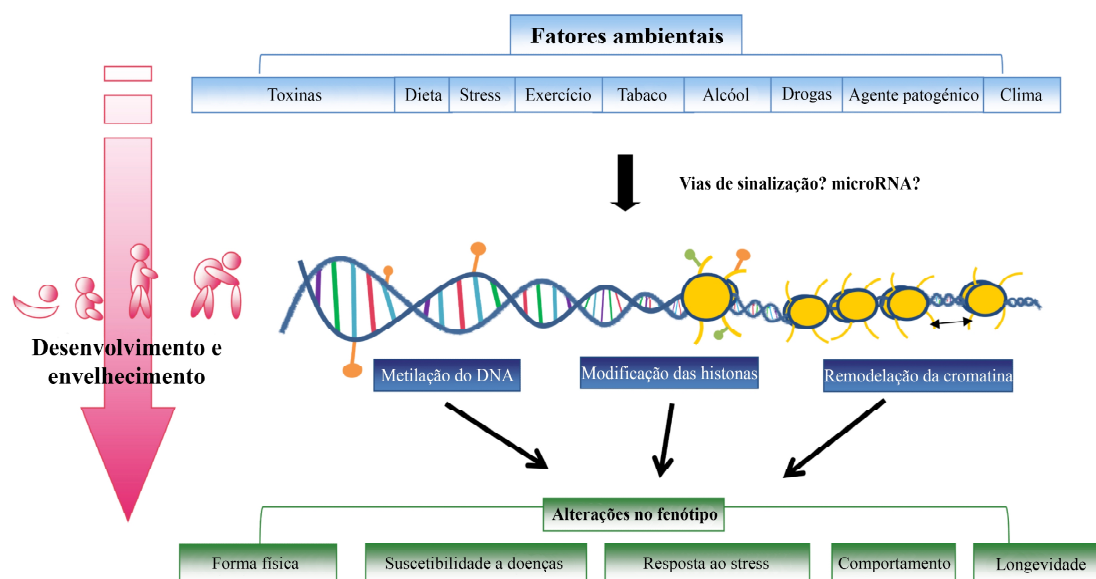


Figura 7. Mecanismos epigenéticos e associações entre alterações do fenótipo e fatores ambientais (adaptado de Tammen, Friso, & Choi, 2013)

III. Alimentos que influenciam a expressão genética

A nutrigenômica é a ciência que estuda o efeito dos nutrientes sobre a expressão dos genes, promovendo uma base para a compreensão da atividade biológica dos componentes dietéticos, favorecendo na descoberta de novas abordagens terapêuticas para vários tipos de doenças (Ferguson et al., 2007). Um dos fatores importantes na nutrigenômica é a forma como as células respondem à disponibilidade dos nutrientes e se adaptam à sua deficiência, afetando a informação genética.

A nutrigenética, por sua vez, é a ciência que estuda o efeito da variação genética na interação dieta-doença (Fenech et al., 2011).

Os componentes bioativos dos alimentos também têm capacidade de modificar a tradução de RNA para proteínas e afetar a sua atividade através de eventos pós-traducionais. O proteoma é um conjunto de proteínas e é complementar ao genoma pois é dinâmico e varia de acordo com o tipo e o estado funcional das células. Os alimentos bioativos ao afetarem as proteínas conseguem alterar o fenótipo (figura 8)(Kussmann, Raymond, & Affolter, 2006).

A metabólica consiste na identificação e quantificação de mabolitos, o metaboloma. O perfil metabólico permite-nos conhecer o estado fisiológico de cada indivíduo como o colesterol, triglicerídeos. A metabolômica investiga a ação das alterações ambientais sobre a regulação metabólica e interação entre células ou tecidos. Esta em condições ambientais específicas envolve a determinação de todos os metabolitos presentes. A metabólica demonstrou ser mais uma tecnologia existente na área da nutrição (Gibney et al., 2005).

A compreensão dos mecanismos epigenéticos, nutrigenéticos e nutrigenômicos são essenciais para compreender a necessidade de certos alimentos na dieta afim de se evitar o desenvolvimento de certas doenças e possíveis alterações de fenótipo (figura 8) (Davis & Milner, 2004).

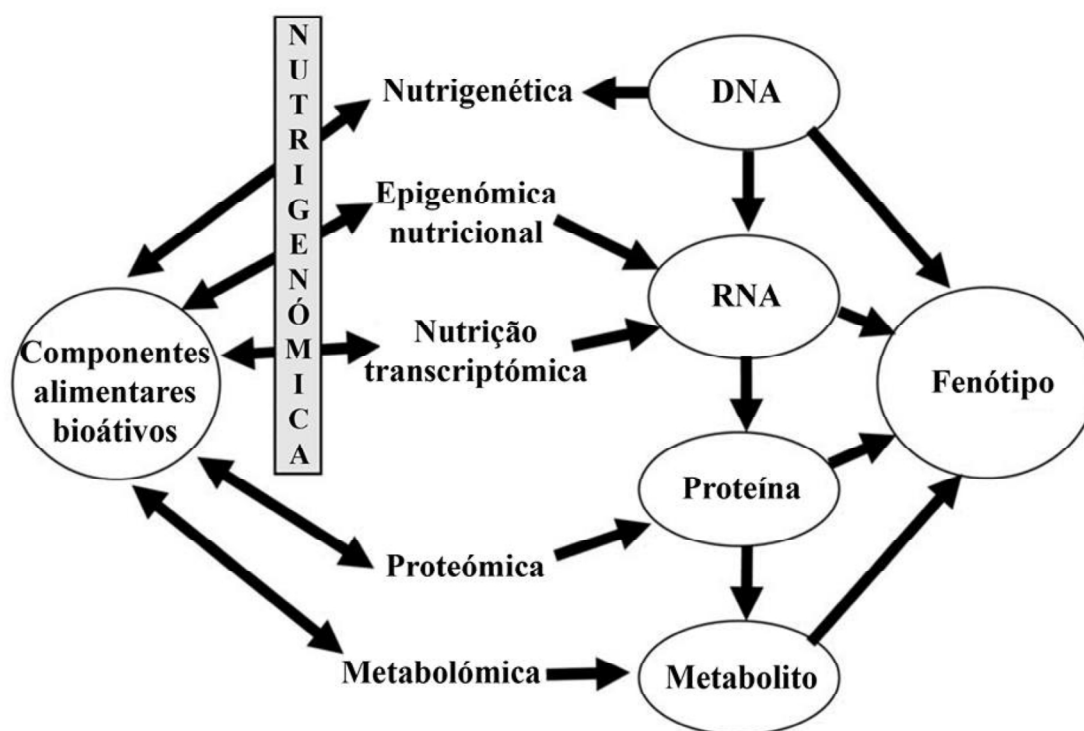


Figura 8. Nutrigenética, Epigenética nutricional, Nutrição transcriptômica, proteômica e Metabólica são essenciais para perceber a função dos nutrientes na carcinogênese (adaptado de (Trujillo et al., 2006)

Existem vários micronutrientes que interferem com a metilação do DNA, como o folato, metionina, colina, betaina e vitamina B12. Estes são doadores de metil podendo afetar a metilação do DNA (Choi & Friso, 2010).

A epigenética tem sido vista como um alvo molecular para a prevenção e tratamento do cancro bem como um alvo dos componentes dos alimentos bioativos. Muitos componentes bioativos da dieta têm mostrado resultados promissores que estão direta ou indiretamente relacionados com a inibição da atividade das DNMTs na prevenção e terapêutica do cancro (Meeran, Ahmed, et al., 2010).

A colina é um nutriente doador de metil e a sua presença durante a gravidez é essencial uma vez que é fundamental para o desenvolvimento da neurogênese do feto, pois é responsável pelo desenvolvimento da estrutura responsável pelo armazenamento da nossa memória ao longo da vida, denominada de hipocampo (Choi & Friso, 2010).

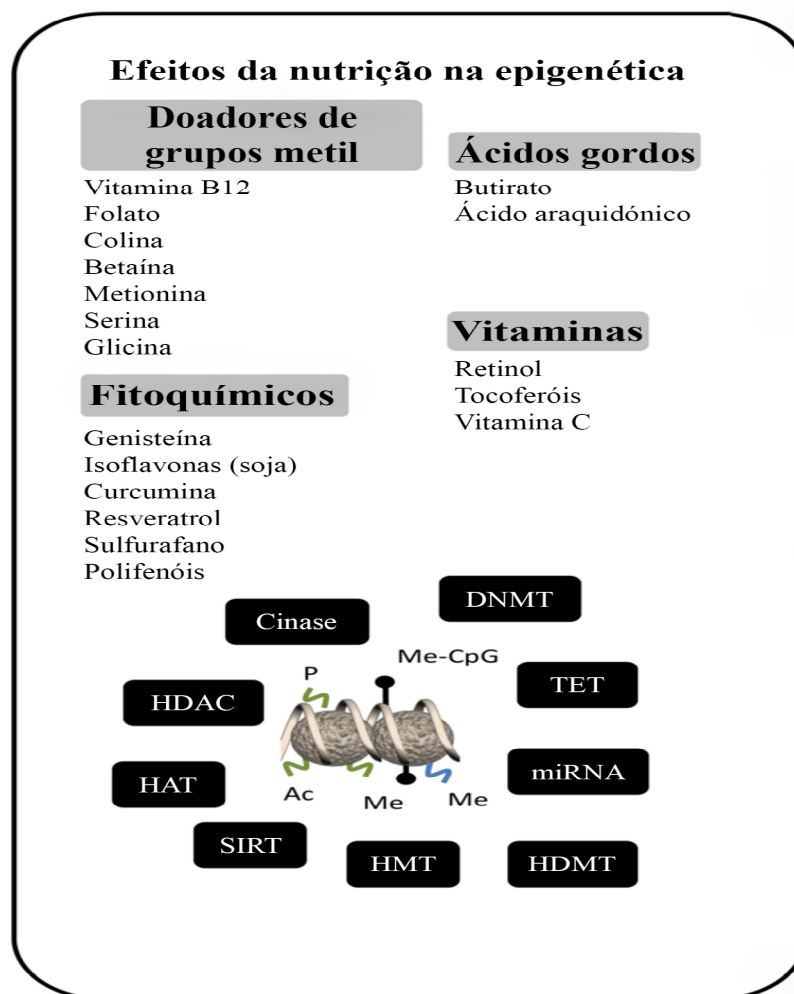
Neste estudo, a privação de colina durante o período de desenvolvimento embrionário causou hipermetilação num local específico de CpG no gene calbindina 1 (Calb1), este gene está envolvido no desenvolvimento do hipocampo. Assim, a deficiência de colina durante a embriogénese pode afetar a metilação do gene Calb1 e consequentemente alterar o desenvolvimento cerebral do feto (Choi & Friso, 2010).

Vários alimentos bioativos têm vindo a ser estudados como alimentos que à medida que o corpo se desenvolve podem prevenir o desenvolvimento do cancro, reduzindo a hipermetilação do DNA em genes supressores de tumores, como o p16 ou recetor beta do ácido retinóico, alguns desses alimentos são os polifenóis do chá, ginesteína da soja e isotiocianatos de alimentos vegetais, entre outros. Os efeitos dos polifenóis podem ser por inibição direta através da interação com o local de catalisação da molécula DNMT1 ou por influência indireta no estado de metilação através dos efeitos metabólicos (Choi & Friso, 2010).

Os nutrientes e os alimentos bioativos presentes na dieta podem alterar a metilação do DNA e consequentemente alterar a expressão genética. Estas alterações epigenéticas podem afetar processos fisiológicos e patológicos no corpo humano (Szarc vel Szic, Declerck, Vidaković, & Vanden Berghe, 2015).

As plantas também têm demonstrado ser muito importantes para alcançar o equilíbrio entre a dieta e a saúde. Na figura 9 podemos ver que vários compostos polifenólicos como o resveratrol, catequinas do chá e flavonóides que são encontrados nos vegetais, frutas e sumos derivados de plantas ou bebidas que exercem um efeito cardioprotetor, quimiopreventivo e possuem propriedades anti-inflamatórias (Szarc vel Szic et al., 2015).

Nutrição Epigenética



Nutrição Personalizada

Figura 9. Influência dos compostos nutricionais nos mecanismos epigenéticos (adaptado de Szarek et al., 2015)

Há várias dietas identificadas como mediadoras de processos epigenéticos. O chá verde, brócolos, soja têm recebido uma especial atenção devido ações na prevenção de doenças humanas como o cancro, diabetes e doenças cardiovasculares alterando o perfil epigenómico das células. A compreensão dos efeitos das dietas epigenéticas durante a embriogénese mostra perspectivas promissoras para o desenvolvimento de um novo regime dietético pré-natal que visa prevenir o risco de desenvolver determinados tipos de doenças (Li et al., 2014).

Uma dieta rica em fotoquímicos desempenha um papel importante na regulação da progressão patológica e em processos biológicos normais. As doenças ligadas a modificações genéticas e epigenéticas podem ser potenciadas por fatores ambientais e dietéticos (Shankar et al., 2014).

Os fatores nutricionais, medicamentos, produtos químicos, e contaminantes inorgânicos podem alterar o epigenoma. Substâncias fotoquímicas presentes na fruta, legumes,, bebidas e especiarias têm demonstrado potenciais propriedades anticancerígenas. Estudos demonstram que os fotoquímicos podem ter como alvo vários fatores epigenéticos, como DNMTs e HDCAs, o que pode ser útil na prevenção ou tratamento de várias doenças (Shankar et al., 2014).

De seguida vou abordar alguns fotoquímicos e qual a sua ação perante diferentes tipos de cancro.

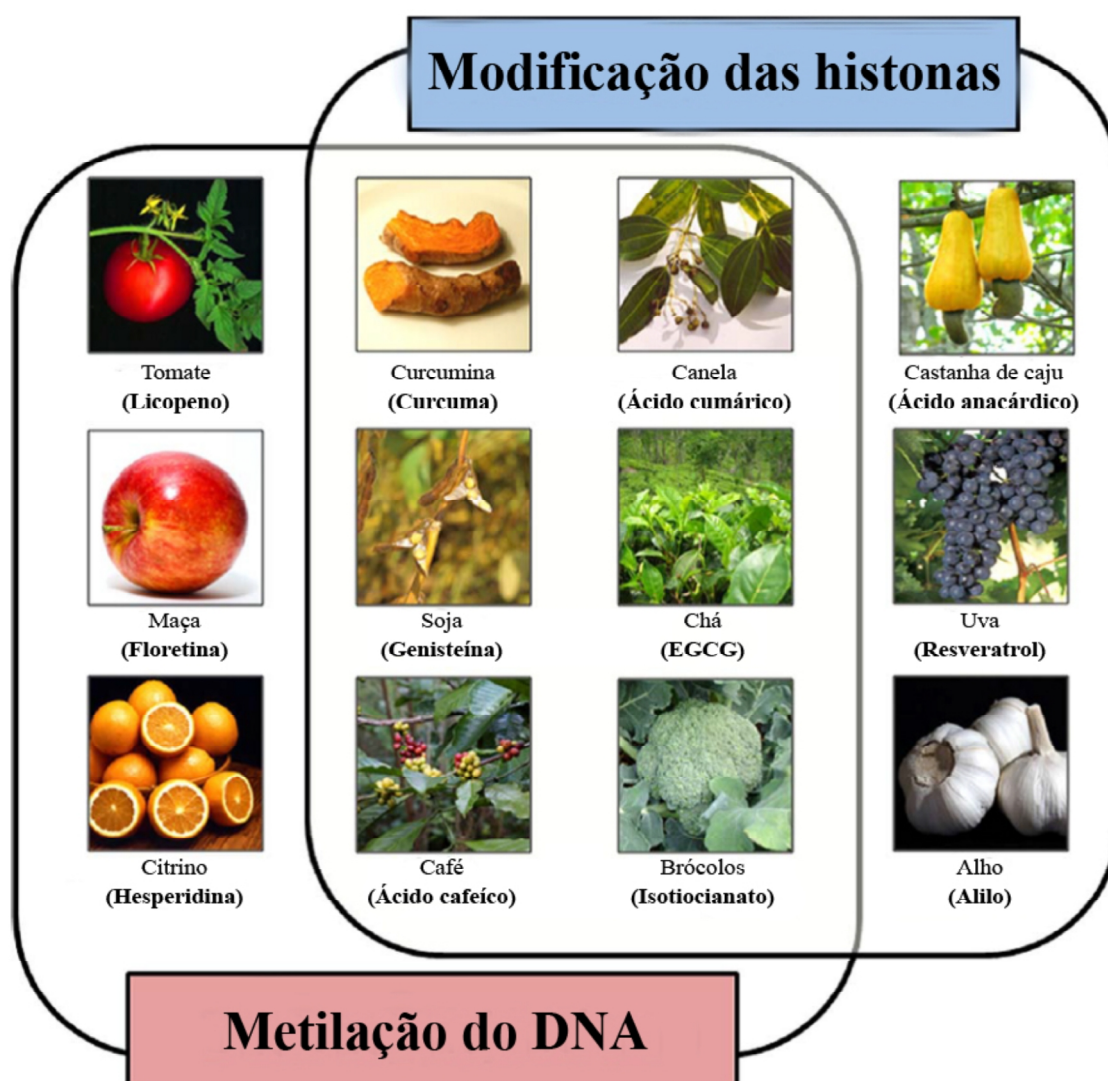


Figura 10. Principais plantas com evidências de modificações epigenéticas (adaptado de Link et al., 2010)

A figura 10 ilustra as plantas que demonstram ter maior evidência de alterações epigenéticas em células cancerígenas. Os princípios ativos de cada planta estão escritos entre parenteses.

3.1. Polifenóis e Metilação do DNA

A hipermetilação inativa os genes supressores do tumor e consequentemente há silenciamento dos genes. A reversão da hipermetilação dos genes pode ser obtida através da inibição da atividade das DNMT em células cancerígenas. Estudos realizados demonstram que apesar dos efeitos promissores que os inibidores das DNMT apresentam, estes possuem uma baixa especificidade. Vários polifenóis têm demonstrado potencial como inibidores das DNMT, e capacidade de inverter o silenciamento induzido por metilação e reativar a transcrição dos genes supressores de tumores (Link et al., 2010).

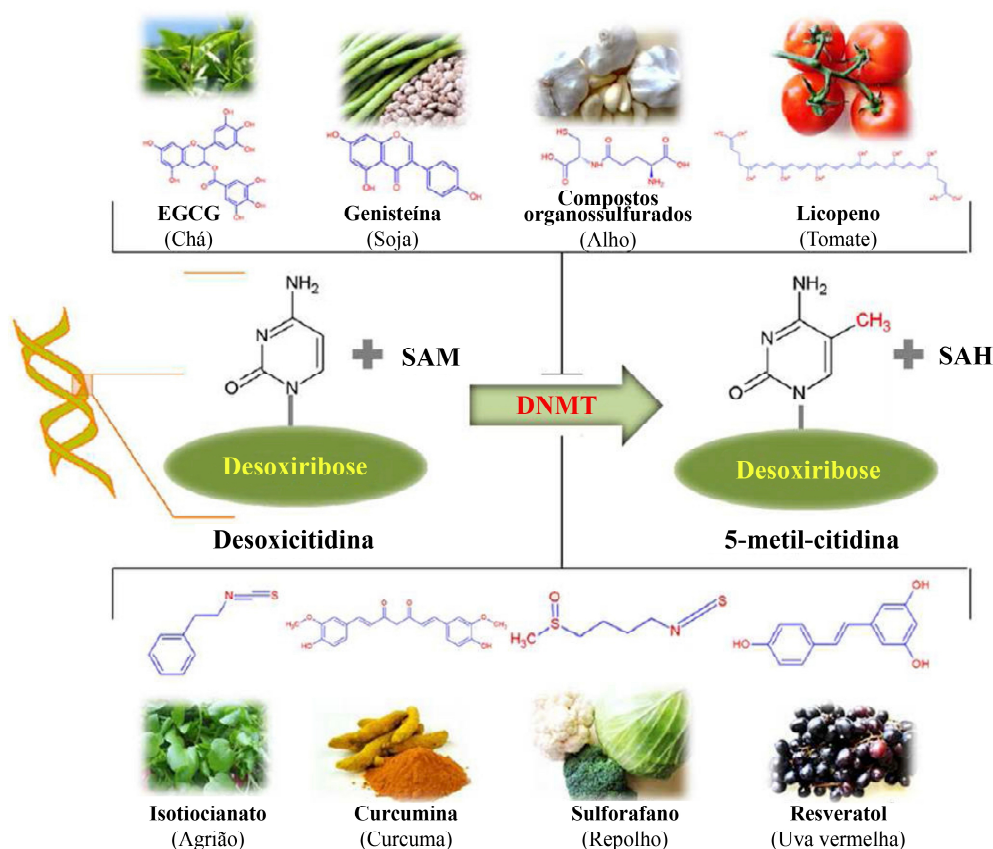


Figura 11. Metilação do DNA (adaptado de Shankar et al., 2014)

3.1.1. Polifenóis do chá verde

O chá é consumido em todo o mundo e tem muitos benefícios para a saúde. O chá preto e o chá verde são os mais estudados, sendo consumido através das folhas (*Camellia sinensis*). Tem sido demonstrado que os polifenóis presentes no chá verde e preto podem ter um potencial de reduzir o risco de várias doenças, incluindo o cancro (Shankar et al., 2014). O chá verde contém vários compostos fenólicos ou flavonoides que são referidos como catequinas. A epigallocatequina galato (EGCG), a catequina mais abundante, é considerada o componente mais eficaz para prevenção de várias doenças humanas como o cancro, doenças cardiovasculares, hipertensão, hiperdislipidémias através de mecanismos como a oxidação e indução da apoptose das células. A EGCG tem a capacidade de alterar direta ou indiretamente os padrões da metilação do DNA inibindo a atividade enzimática dos DNMTs (Li et al., 2014).

A EGCG demonstrou capacidade de inibir a di-hidrofolato redutase (DHFR), levando à redução da metilação e síntese de RNA em células tumorais. Estudos demonstram que a metilação de DNA alterada, mediada por EGCG, pode ser conseguida através do aumento da formação de S-adenosil-L-homocisteína (SAH), um potente inibidor de DNMT, produzido a partir da desmetilação de SAM (Shankar et al., 2014). *In vitro*, a EGCG é um forte antioxidante e inibidor da ativação de alguns cancros, como o cancro da mama, pâncreas, boca e próstata. Induz a paragem do ciclo celular e apoptose das células tumorais (Ho & Beaver, 2011).

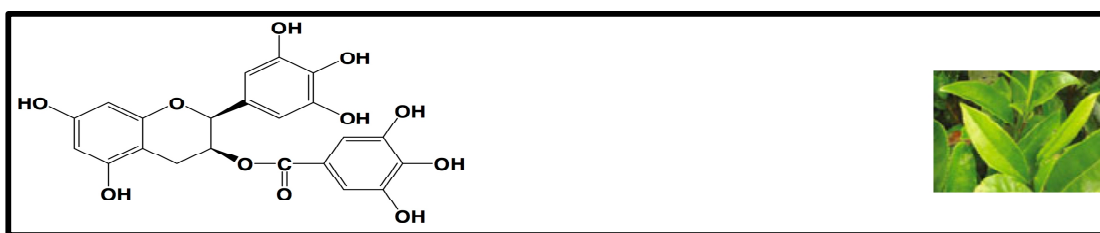


Figura 12. Estrutura molecular da EGCG (Meeran, Ahmed, et al., 2010)

3.1.2. Genisteína

A genisteína é a principal isoflavona obtida das sementes de soja (*Glycine max*), pertencendo ao grupo de fitoestrógenos (Schnekenburger, Dicato, & Diederich, 2014). A genisteína é uma isoflavona enriquecida de produtos de soja, como o leite de soja e tofu. Os alimentos ricos em soja têm sido estudados devido às suas funções bioativas na inibição de vários tumores e outras doenças crônicas. Atua como um fitoestrogénio para competir com o estradiol e interagir com a via de sinalização de ER (ER- associated signal pathway) (Shankar et al., 2014).

Estudos recentes demonstram que a genisteína está envolvida na regulação da transcrição dos genes através de modificações epigenéticas incluindo a metilação do DNA e modificação das histonas (Shankar et al., 2014).

A soja possui um papel muito importante na prevenção do cancro da mama pois apresenta um teor elevado de isoflavonas. Esta substância tem um modo de ação semelhante ao tamoxifeno, que é muito utilizado no tratamento deste tipo de cancro (Eeles, 2000).

A incidência de cancro da próstata e da mama em países asiáticos, onde os alimentos são ricos em genisteína e fazem parte da sua alimentação diária, é muito inferior aos Estados unidos, o que sugere que a genisteína é um composto preventivo de tumores da mama e da próstata (Li et al., 2014).

Os seus efeitos na supressão da carcinogénese são notáveis aquando uma exposição precoce à genisteína no útero. A genesteína presente na soja pode atuar como modelador epigenético para interferir com o início da reprogramação epigenética, levando a alterações do fenótipo e consequentemente alterações na suscetibilidade a certas doenças (Li et al., 2014).

O mecanismo de ação dos flavonoides baseia-se na inibição indireta das DNMTs. Os flavonoides são substratos de catecol O-metiltransferase (COMT), estes são metilados e a concentração de SAH aumenta, sendo este um potente inibidor de DNMTs, o seu aumento leva a que as DNMTs deixem de ter capacidade de realizar a metilação (Gros et al., 2012).

Estudos realizados demonstraram que a genisteína em fases iniciais do cancro da mama exerce uma função anticancerígena, pois a sua presença em baixas concentrações, desmetilou parcialmente a região promotora do gene GSTP1, sendo a sua expressão reativada em células do cancro da mama (Link et al., 2010).

Num outro estudo realizado em células cancerígenas em cultura, a genisteína sozinha mostrou uma atividade significativa anti-leucêmica e este efeito foi potenciado quando foi usado em combinação com 5-aza-29-desoxicitidina, um potente inibidor da DNMT e um agente eficaz para o tratamento da leucemia. Através destes resultados concluiu-se que a genisteína pode ter um potencial para aumentar a eficácia clínica da 5-aza-29-desoxicitidina, tendo um efeito inibitório na metilação de DNA. Por outro lado estudos “transgeracionais” utilizados em ratos demonstraram que a exposição neonatal à genisteína pode induzir um adenocarcinoma uterino no qual está implicado a hipometilação anormal nas ilhas CpG do gene na ligação à proteína 1 (XBP1) ao longo da vida (Choi & Friso, 2010).

A literatura defende que o consumo de genisteína durante a adolescência em mulheres reduz o risco de cancro da mama enquanto que o consumo de genisteína em adultos não tem efeito protetor e considera-se perigosa devido a uma pequena porção de estradiol presente na genisteína (Li et al., 2014).

Também tem havido muitas controvérsias em relação ao consumo de genisteína na gravidez pois esta pode afetar a incidência de cancro da mama no feto, prevenindo desta forma o seu aparecimento. Os resultados obtidos em ratos expostos a genisteína durante a gravidez varia de estudo para estudo, indicando que um consumo apropriado durante a gravidez pode ser o fator chave para os efeitos transgeracionais da genisteína na prevenção de cancro. No entanto, existem poucas evidências sobre a relação da dieta materna de genisteína com a prevenção de doenças cardiovasculares, doenças crónicas e a diabetes (Li et al., 2014).

Estudos sobre a metilação do DNA com genisteína têm mostrado resultados inconsistentes. Em culturas de células o tratamento com genisteína demonstrou inibir a metilação do DNA através da inibição das DNMT em várias células cancerígenas, no entanto *in vivo* os resultados revelaram-se opostos (Singh, Singh, Singh, Naqvi, & Singh, 2014).



Figura 13. Estrutura molecular da genisteína (Meeran, Ahmed, et al., 2010)

3.1.3. Isotiocianato

Isotiocianato (ITC) é um composto formado a partir de glucosinolatos, por ação de uma enzima mirosinase, estes encontram-se maioritariamente nos vegetais crucíferos como os brócolos, couve de bruxelas, repolho, couve-flor, entre outros (Bishop & Ferguson, 2015).

Há evidências de que o consumo destes vegetais leva a uma diminuição do risco de cancro, pois têm capacidade de induzir apoptose em linhas celulares. Os ITC demonstraram através de um estudo um efeito protetor contra a neoplasia colo-retal, pois a administração oral de glucosinolato (precursor do isotiocianato de alilo) a partir de couves de bruxelas cruas ricas em sinigrina, levou a uma ampliação da resposta apoptótica nas criptas colo-retais após exposição a um carcinogénico químico (Aggarwal & Shishodia, 2006).

Há vários fatores que determinam a suscetibilidade de um indivíduo ao cancro como a manutenção das enzimas da fase I e II. A fase I está relacionada principalmente com as enzimas do citocromo P450 que desempenha um papel importante no metabolismo dos xenobióticos e carcinogénicos. Neste processo vários produtos químicos são ativados em compostos com características eletrófilos altamente reativos podendo provocar instabilidade genómica levando a danos no DNA. O efeito quimiopreventivo dos ITCs atua pela inibição da bioativação de alguns tipos de carcinomas por enzimas da metabolização da fase I. As enzimas da fase II são igualmente importantes na prevenção de doenças atuando na desintoxicação do corpo e no metabolismo e excreção de drogas e fármacos (M, Kaefer, & Milner, 2011).

Estudos realizados comprovam que a administração de ITCs possui efeitos quimiopreventivos contra carcinogénicos induzidos por tabaco em modelos de roedores de cancro do pulmão e do esófago (Singh et al., 2014).

De entre os isotiocianatos, o sulforafano e o isotiocianato de feniletila (PEITC) são os indutores mais eficazes das enzimas de defesa celular e detoxificadoras. O Sulfurafano (SFN), produto da hidrólise de glucorafanina é um fotoquímico dietético obtido a partir dos brócolos. O seu efeito como agente de desmetilação ainda não foi bem estudado, no entanto este composto foi encontrado para regular negativamente a atividade da DNMT1 em células CaCo-2 do cancro do colon (Link et al., 2010). O indol-3-carbinol é também um isotiocianato bastante estudado, está associada à diminuição do risco de

cancro da mama, próstata e ovário por possuir propriedades protetoras do fígado e anticancerígenas.

Estudos revelam que induz alterações na proteína hTERT em células normais e cancerígenas do cancro da mama. O tratamento do cancro da mama em células MCF-7 e MDA-MB-231 com SFN resultou na inibição da transcriptase reversa da telomerase (hTERT). O SFN tem capacidade de inibir a expressão da DNMT1 e 3. No entanto SFN tem um efeito reduzido sobre DNMT3B em células MDA-MB-231 e MCF10A (Meeran, Patel, & Tollefsbol, 2010).

O Isotiocianato de feniletila (PEITC) tem demonstrado inibir o processo cancerígeno. PEITC tem capacidade de impedir o crescimento e induz a apoptose de vários tipos de células cancerígenas. Um estudo realizado às células LNCaP no tratamento de cancro da próstata com PEITC resultou na desmetilação de promotor do gene GSTP1, inibiu a atividade de HDCA e induziu a acetilação e desacetilação de uma histona específica (Link et al., 2010). Na figura 14 podemos ver todos os alvos moleculares em que os ITCs atuam.

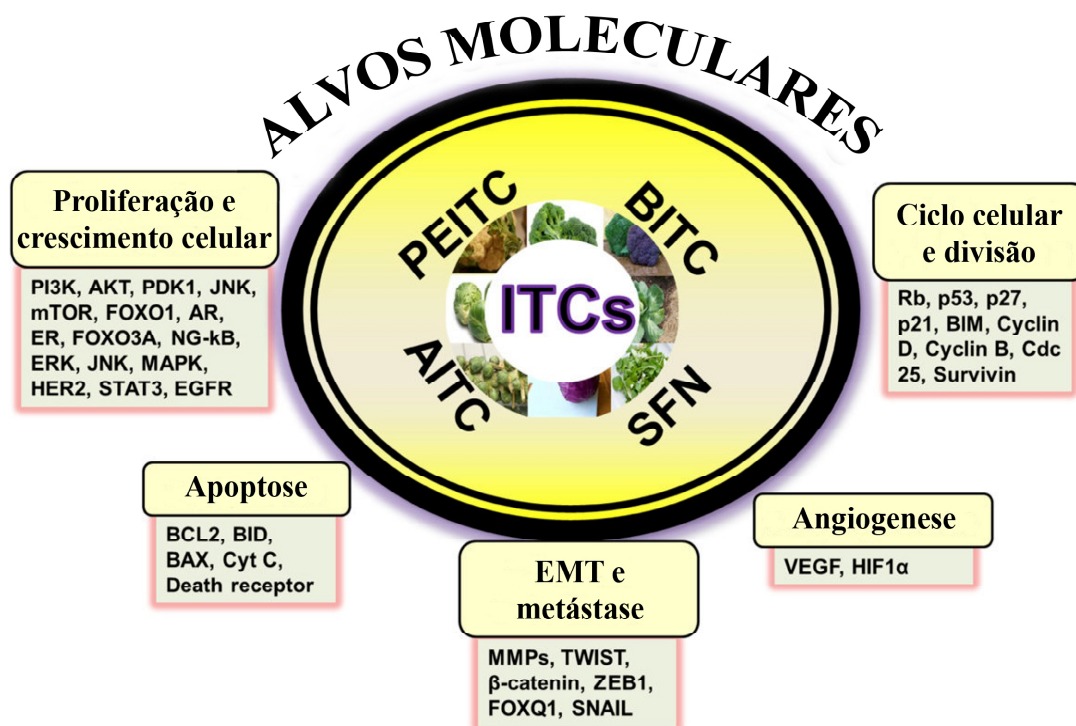


Figura 14. Alvos quimioterápicos dos ITC (adaptado de Naidoo, Naidoo, Yende-zuma, & Gengiah, 2015)

3.1.4. Licopeno

O licopeno é um pigmento carotenoide e fotoquímico, encontrado principalmente no tomate e seus derivados, é responsável pela cor vermelha da fruta. Devido à sua estrutura química é um antioxidante potente com capacidade de reduzir a lesão oxidativa no DNA (Shankar et al., 2014).

Este pode modular a expressão de muitos genes importantes para o controlo do ciclo celular, como a reparação do DNA e apoptose em células cancerígenas (Link et al., 2010).

O licopeno mostrou ser mais importante no tratamento do cancro da próstata uma vez que tem capacidade em diminuir consideravelmente a progressão do ciclo celular (Xie et al., 2010).

Os tecidos prostáticos invadidos por cancro da próstata apresentam níveis elevados de lesão oxidativa, num estudo realizado em pessoas afetadas com este tipo de cancro, foi-lhes administrada um molho de tomate com cerca de 30mg de licopeno por dia durante 3 semanas. Os investigadores concluíram que houve um aumento da apoptose das células tumorais, em comparação com o grupo de doentes que não ingeriram licopeno (Chen et al., 2001).

Desta forma, concluíram que o risco de lesão é mais reduzido em doentes que consomem regularmente licopeno, pois este tem a capacidade de interferir na progressão do cancro da próstata (Chen et al., 2001).

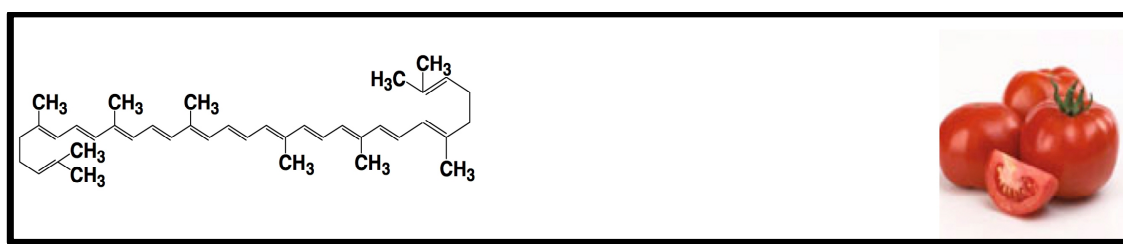


Figura 15. Estrutura molecular do licopeno (Meeran, Ahmed, et al., 2010)

3.1.5. Ácido cafeico

O Ácido cafeico é um polifenol dietético que afeta a biodisponibilidade do SAM. Este atua como um doador de metilo universal e é necessário para a metilação. Os polifenóis geralmente inibem a manutenção da metilação através da interação com DNMT1 (Aggarwal & Shishodia, 2006).

Um estudo realizado ao consumo de café concluiu que o seu consumo reduz a probabilidade de cancro da próstata no entanto o mesmo não se verifica com o chá. O ácido cafeico suprime a expressão da ciclooxigenase-B 2 (COX 2) através da ligação ao Fyn e bloqueio da atividade cinase do Fyn. O Fyn é um oncogene da família da proteína tirosina quinase, podendo desta forma provocar cancro da pele (Bishop & Ferguson, 2015).

O ácido cafeico e o ácido clorogênico demonstraram ter capacidade de desmetilação. Estes compostos são polifenóis do café conteúdo catecol. Estudos realizados sobre os efeitos moduladores destes compostos na metilação sintética do substrato de DNA *in vitro* e sobre o estado de metilação do promotor da região *RAR β* em duas linhas de células do cancro da mama, a presença do ácido cafeico demonstrou inibir a concentração da DNA metilado catalisado por DNMT1. Esta inibição deveu-se ao aumento da formação de SAH. O tratamento de células cancerígenas do cancro da mama MCF-7 e MAD-MB-231 e com os dois componentes (Bishop & Ferguson, 2015).

O ácido cafeico tem capacidade de inibir a atividade do NF- κ B, impedindo a ligação do NF- κ B à sua sequência alvo de DNA levando à diminuição da produção das enzimas pró-inflamatórias como a iNOS e a COX-2. O NF- κ B, encontra-se no citoplasma como parte de um complexo inativo sendo um fator de transcrição sensível ao sistema redox que é muito importante para estabelecer ligação entre a inflamação e o cancro (Nair, Li, & Kong, 2007).

3.1.6. Curcumina

O polifenol curcumina é um fotoquímico natural obtido da especiaria açafrão-da-índia (*curcuma longa*). Foi descrita para o tratamento de doenças inflamatórias e é conhecida por diferentes nomes em diferentes culturas (Goel, Kunnumakkara, & Aggarwal, 2008).

O princípio ativo chama-se curcumina, tem demonstrado efeitos anti-angiogénicos, antioxidantes e capacidade para regular fatores de transcrição, citoquinas, proteínas

kinases e enzimas associadas à inflamação. é um pigmento amarelo presente na cúrcuma, caril em pó. O processo de inflamação desempenha um papel importante na prevenção e no tratamento em doenças crônicas (Kunnumakkara, Anand, & Aggarwal, 2008).

A curcumina para além do seu poder anti-inflamatório, tem um grande potencial terapêutico em vários cancros (Shishodia, Chaturvedi, & Aggarwal, 2007), suprimindo múltiplos estádios da carcinogénese como a iniciação, promoção e progressão (Ho & Beaver, 2011).

O cancro é uma desordem hiperproliferativa marcada por metástases nos órgãos vitais do nosso corpo através da invasão e angiogenese. A curcumina bloqueia a transformação, proliferação e invasão das células tumorais (Anand, Sundaram, Jhurani, Kunnumakkara, & Aggarwal, 2008).

A curcumina tem um potencial terapêutico para doenças crônicas em que a inflamação desempenha um papel importante como a doença de Parkinson, Alzheimer, esclerose múltipla, cancro, entre outras. Também desempenha uma ação importante na cicatrização de feridas (Aggarwal & Harikumar, 2009).

A curcumina inibe a atividade das isoenzimas do citocromo P450 da fase I, resultando na diminuição da ativação metabólica de compostos carcinogêneos e induzindo a atividade das enzimas GST destoxicadoras da fase II, o que explica o seu poder quimiopreventivo (Shishodia et al., 2007).

A curcumina possui atividade anticancerígena tanto *in vitro* como *in vivo* através de uma variedade de mecanismos. Esta inibe a proliferação e induz a apoptose numa ampla variedade de tipos de células de cancro *in vitro* como o cancro da pele, sangue, cavidade oral, pulmão, pâncreas e trato intestinal (Goel et al., 2008).

O seu efeito anti-angiogenico foi demonstrado através de um estudo em ratos em que a curcumina preveniu totalmente a indução da síntese de VEGF e inibiu o fator básico de crescimento dos fibroblastos (bFGF) (Dulak, 2005).

A curcuma contem 3 análogos, a curcumina, desmetoxicurcumina (DMC) e bisdemetoxicurcumina (bDMC). A junção destes 3 componentes demonstrou ter uma atividade mais potente do que qualquer um sozinho. A curcumina inibe a ativação da NF- κ B (Kunnumakkara et al., 2008). O fator de transcrição NF- κ B é expresso na maior parte dos cancros, a sua expressão foi avaliada em linhas celulares de cancro humano em cultura, tumores carcinogêneos mamários em ratos e em biopsias de pacientes com cancro. Concluiu-se que a curcumina suprime a produção do fator de necrose tumoral TNF- α , uma citocina pró-inflamatória que leva à ativação da cínase da proteína

reguladora I κ B, necessária à translocação do NF- κ B para o núcleo. Recentemente um dos principais metabolitos da curcumina, tetra-hidrocurcumina demonstrou ter capacidade de inibir a atividade de um análogo das DNMT1 (Link et al., 2010).

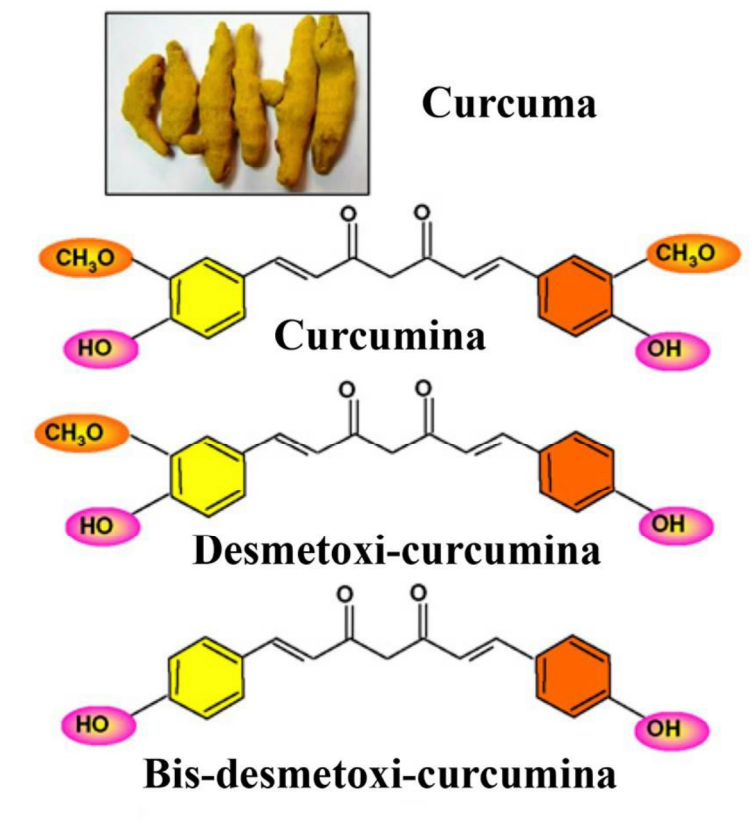


Figura 16. Análogos da curcumina adaptado de (Kunnumakkara et al., 2008)

3.1.7. Resveratrol

O Resveratrol é um polifenol encontrado nas sementes das uvas, mirtilos, amoras e amendoins (Meeran, Ahmed, et al., 2010). Este possui fortes propriedades anti-inflamatórias e anticancerígenas sobre as vias de sinalização que controlam a divisão celular, crescimento celular, apoptose e metástases de tumores (Shankar et al., 2014).

Foi demonstrada uma atividade inibitória fraca sobre a atividade dos DNMT em relação a outros componentes alimentares bioativos como o EGCG. O resveratrol impede o silenciamento epigenético de BRCA-1 induzida pelo recetor de hidrocarboneto aromático (AHR) em células MCF-7 do cancro da mama (Link et al., 2010). A proteína BRCA1 é um supressor de tumor envolvido na reparação do DNA no cancro da mama

(Papoutsis, Lamore, Wondrak, Selmin, & Romagnolo, 2010). O promotor BRCA-1 em células tratadas com resveratrol demonstrou ter uma associação reduzida com o recetor hidrocarboneto aromático, DNMT1 e MBD2 (Ong et al., 2012).



Figura 17. Estrutura molecular do resveratrol (Meeran, Ahmed, et al., 2010)

3.2. Polifenóis e modificação das histonas

Os polifenóis para além de terem capacidade de alterar a metilação do DNA, parecem conseguir regular a expressão dos genes através da modificação das histonas. Vários polifenóis são conhecidos por possuir um potente HAT e atividades inibidoras de HDAC (Meeran, Ahmed, et al., 2010).

De seguida vou explicar melhor quais os efeitos dos polifenóis na modificação dos histonas e qual o seu potencial quimiopreventivo.

Na Figura 18 podemos observar a ação de alguns fotoquímicos derivados de diferentes fontes de alimentos no processo de modificação das histonas, acetilação e desacetilação. A EGCG, a genisteína e curcumina desempenham papel importante na acetilação das histonas, abrindo a cromatina, ativando a transcrição e os genes inibitórios do crescimento tumoral. Já outros fotoquímicos como a genisteína, sulfurafano e alho atuam na desacetilação das histonas, condensando a cromatina impedindo a transcrição.

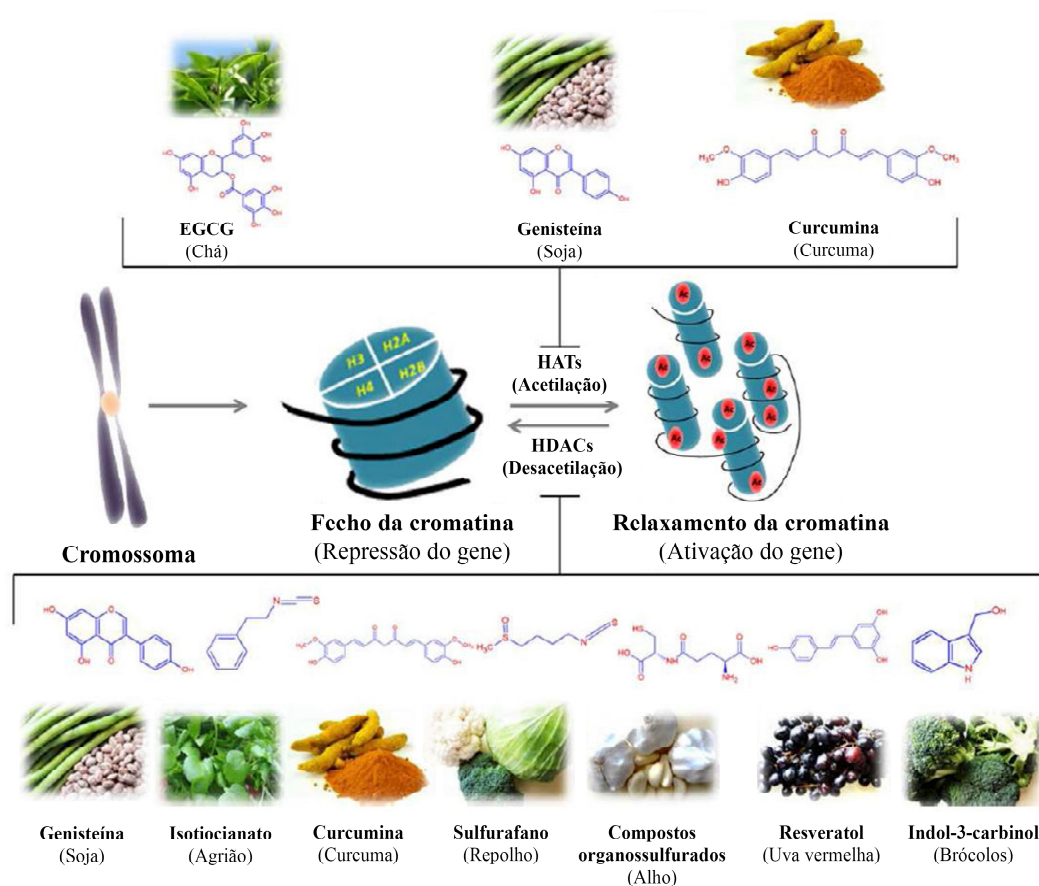


Figura 18. Influência dos alimentos na modificação das histonas adaptado de (Shankar et al., 2014)

3.2.1. Sulforafano

O sulforafano (SFN) é um composto bioativo fotoquímico presente em vários alimentos presentes na nossa alimentação diária como os brócolos, repolho, couve-flor, couves, entre outros. Este tem sido alvo de estudos que provam reduzir o risco de desenvolvimento de tumores. Medeia a prevenção de tumores a partir da promoção da apoptose celular, ciclo celular e de enzimas desintoxicantes da fase II (Ho & Beaver, 2011). O sulforafano tem chamado mais atenção devido à sua função inibidora da desacetilação das histonas (HDCA) na atividade enzimática que leva a um aumento da acetilação das histonas ao nível global e local de vários genes (Li et al., 2014).

Em relação aos fatores ambientais, estes desempenham um papel importante na interação entre o genoma e os fenótipos individuais através da regulação epigenética.

Estudos epidemiológicos revelam que o consumo precoce de SFN através dos

vegetais é mais eficaz do que o consumo numa fase mais tardia da vida. As populações asiáticas que consomem mais vegetais numa idade mais precoce do que os caucasianos têm tido menos incidência em relação a algumas doenças como o cancro da mama e o cancro da próstata sugerindo que o consumo de vegetais durante a gravidez pode reduzir significativamente o risco de cancro nos seus filhos (Li et al., 2014).

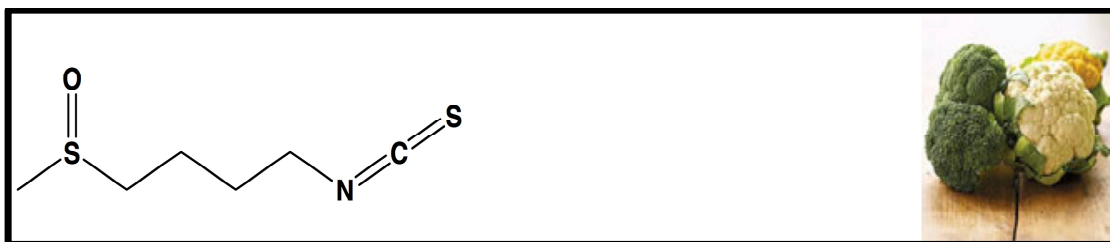


Figura 19. Estrutura molecular do sulforafano (Meeran, Ahmed, et al., 2010)

3.2.2. Alho

O alilo é obtido a partir do alho e foi dos primeiros compostos a surgir na acetilação das histonas (Ong et al., 2012); (Ho & Beaver, 2011).

O alho é muito utilizado como ingrediente para uso culinário, pertence ao género *Allium*. Esta planta é muito conhecida devido às suas propriedades anti-inflamatórias e antissépticas (Aggarwal & Shishodia, 2006).

O alho quando triturado ou mastigado liberta compostos como o sulfureto de dialilo (DADS) e dissulfito de dialilo (DATS). Estudos demonstram que o tratamento com DATS induz a apoptose e aumenta a acetilação das histonas o que é favorável em relação ao cancro da próstata (Link et al., 2010).

O alho inibe a atividade de HDAC nas células de leucemia DS19 e K562, promove a acetilação das histonas H3 e H4 (Link et al., 2010).

Nos últimos anos têm sido realizados estudos para descobrir qual o impacto do alho na nossa saúde, mais concretamente, a sua função em relação às células cancerígenas. Um estudo realizado em animais (ratos), demonstrou que dependendo dos compostos do alho, as funções anticancerígenas são diferentes dependendo do tipo de cancro. Deste modo a DADS possui atividade contra o cancro da mama, pulmões, esófago e estomago e ainda tem a capacidade de inibir o aparecimento ou evolução do cancro da pele, quando apicado topicamente. O alho pode apresentar-se sob a forma de pó, extratos

e óleo, em que na forma de extratos é mais eficaz em relação ao cancro do colo-uterino e em pó no cancro da mama (Shukla & Singh, 2007).



Figura 20. Estrutura molecular do alilo (Meeran, Ahmed, et al., 2010)

3.2.3. Polifenóis do chá verde

A EGCG foi dos primeiros compostos estudados a ser reconhecido como um modulador epigenético, esta atua tanto ao nível da metilação do DNA como na modificação das histonas (Ohga et al., 2009).

A EGCG é a catequina mais potente na modulação das histonas em células cancerígenas, possui uma especificidade para várias enzimas HAT e tem um grande potencial quimiopreventivo de inflamação crónica através da inibição da acetilação de p65 e expressão dos genes alvo de NF-κB, sendo desta forma um potencial agente quimiopreventivo na inflamação crónica (Shankar et al., 2014).

Além do efeito sobre a atividade das enzimas HAT e HDCA, também demonstrou atuar no grupo polycomb (PcG), complexos de proteína PRC2 e PRC1 em células do cancro da pele (Link et al., 2010).

Tanto o PRC2 como o PRC1 participam na regulação epigenética favorecendo a metilação das histonas e reduzindo a acetilação das histonas, que resulta na compactação da cromatina e no silenciamento dos genes em células cancerígenas. Uma vez que a EGCG não é tóxica para células normais, existe a possibilidade de a usar em tratamentos anticancerígenos seja como um agente isolado ou co-adjuvante em tratamentos anticancerígenos, por períodos relativamente longos (Link et al., 2010).

3.2.4. Curcumina

Estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* demonstram um poder na modificação das histonas, em particular na atividade da HAT, posteriormente descobriu-se o forte

poder inibitório da curcumina na atividade da família p300/CBP em células extraídas de vários tumores. A família p300/CBP é responsável pelo crescimento de várias células tumorais. O seu mecanismo de ação é na inibição da atividade da p300 relativamente à conformação da cromatina e não na transcrição do molde de DNA, promovendo a sua degradação sem afetar outros HATs (Chan & La Thangue, 2001).

A curcumina apresenta-se também como um agente terapêutico bastante promissor devido aos efeitos secundários, verificados ao longo dos diversos ensaios, apresentarem níveis muito baixos. A inibição da atividade da p300/CBP mostrou estar associada à repressão das histonas H3/H4 e proteínas não-histónicas como a p53 (Goel et al., 2008); (Chan & La Thangue, 2001).

Estudos mais recentes, mas inconclusivos têm sugerido a ação da curcumina como efeito inibidor da HDAC. Utilizando células do linfoma de burkitt, o tratamento com a curcumina foi associado com a regulação negativa da HDAC1, HDAC3 e proteína HDAC8, ao contrário da proteína H4 que foi regulada positivamente (Link et al., 2010).

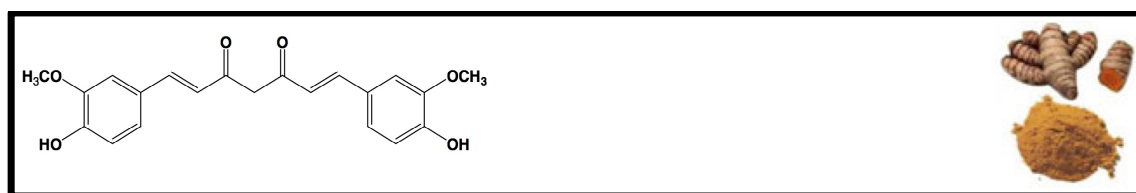


Figura 21. Estrutura molecular da curcumina (Meeran, Ahmed, et al., 2010)

3.3. Dietas epigenéticas

O impacto da epigenética sobre a embriogénese na dieta materna ocorre na pré-gravidez e na fase gestacional, que têm influência no desenvolvimento do feto e biodisponibilidade dos nutrientes através da placenta (Kanherkar et al., 2014).

A alimentação durante a gravidez tem vindo a ser considerado um dos fatores mais importantes na embriogénese e no desenvolvimento fetal podendo levar à prevenção de efeitos adversos que podem levar a defeitos congénitos. O folato tem sido um dos suplementos pré-natal mais eficaz no que toca à prevenção de defeitos do tubo neural, como a espinha bífida e anencefalia. Também se provou que pode reduzir a incidência de outras doenças congénitas como anomalias cardíacas congénitas e anomalias no trato

urinário. Este, desempenha um papel importante na metilação do DNA e RNA para a proliferação celular (Leung et al., 2013). A suplementação materna em genisteína é outro componente bastante estudado e comprovado que os efeitos desta no epigenoma diminuiu a incidência de certos tipos de cancro em comparação com pessoas que não consumiram quantidades adequadas desta isoflavona presente na soja (Wang et al., 2012).

De uma forma resumida existem alguns alimentos que durante a gravidez ajudam a diminuir o risco do feto contrair doenças como o cancro, a diabetes, doenças cardiovasculares e deformações congénitas (Yiu & Li, 2015).

O folato é importante para o metabolismo do carbono e para a síntese de DNA, proteínas e fosfolípidos. É obtido exclusivamente a partir da dieta e é convertido em 5,10-metilenotetrahidrofolato (MTHF). Este atua como doador de metilo, convertendo homocisteína para metionina e atua na metilação do DNA (Yiu & Li, 2015).

A deficiência em folato não tem o mesmo impacto em todos os tecidos nem nos diferentes estádios de desenvolvimento. As associações feitas entre o folato e a epigenética por vezes tornam-se pouco consistentes uma vez que dependem do tipo de célula, do epigenoma e do genótipo, e podem variar consoante a quantidade de folato consumida. É evidente que a adição extra de folato na dieta pode exercer efeitos diferentes, dependendo da quantidade consumida, da altura em que é consumida e da genética da pessoa. O folato é essencial para o funcionamento eficiente da MTHFR, pois existe um polimorfismo no gene MTHFR onde a timina substitui a citosina no nucleótido 677. Sendo assim existem duas formas de proteína: a do tipo selvagem (C), que funciona normalmente e a sensível à temperatura (T), que tem uma atividade reduzida. Pessoas que possuam gene (CC) ou (CT) têm um metabolismo de folato normal. Pessoas com (TT) e baixa ingestão de ácido fólico têm níveis de homocisteína mais elevados aumentando o risco de doenças (Kirkbride et al., 2012).

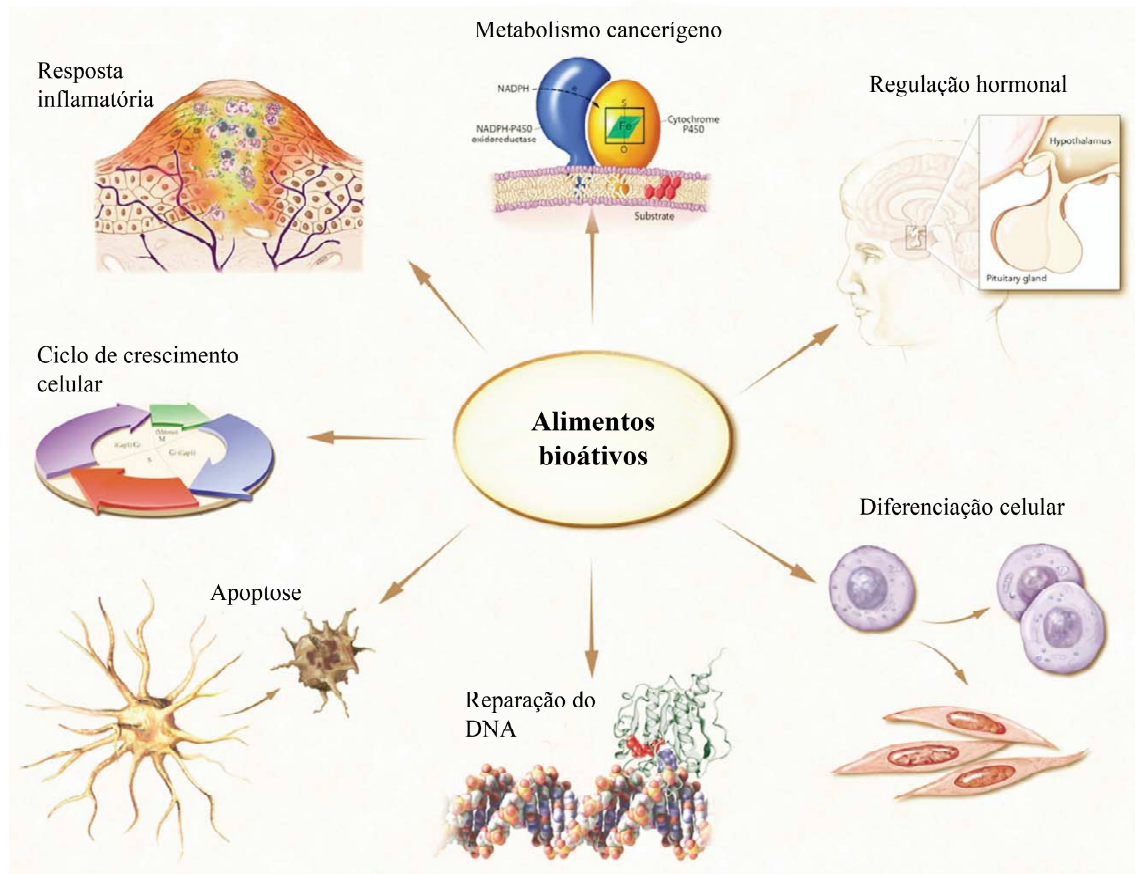


Figura 22. Influência dos alimentos bioativos em eventos epigenéticos e genéticos (adaptado de Trujillo et al., 2006)

IV. Terapêutica epigenética

O uso de fármacos para corrigir defeitos epigenéticos é uma nova e fascinante área para o desenvolvimento de fármacos para prevenção e terapia do cancro. Os fármacos epigenéticos sozinhos ou em combinação com os fármacos convencionais demonstram um grande avanço da ciência, uma vez que os fármacos convencionais de tratamento do cancro hoje são muito tóxicos (Link et al., 2010).

Alguns medicamentos com capacidade de alterar marcações epigenéticas já se encontram em fase de testes, contudo a grande questão é descobrir um mecanismo em que o fármaco atue somente em locais específicos e não promova uma alteração química global no genoma (Aparicio et al., 2009).

Atualmente os fármacos de ação epigenética têm como alvo inibir a expressão da DNMTs e HDACs. Outras moléculas que regulam a expressão dos genes estão também envolvidas em processos epigenéticos, logo outros alvos poderão ser incluídos, mas ainda permanecem desconhecidos (Valdespino & Valdespino, 2015).

Entre os inibidores da DNMT, temos os inibidores de nucleósidos como 5-azacitidina (5-Aza-CR ou vidaza) e 5-aza-desoxicitidina (5-aza-CdR ou decitabina), estes são os fármacos de ação epigenética mais estudados. Incorporam-se com o DNA que está em replicação reativando os genes previamente silenciados (Valdespino & Valdespino, 2015).

No que diz respeito aos inibidores de HDAC, trichostatina A (TSA), ácido hidroxiâmico (SAHA), suberoilnilida do ácido valproico e butirato de fenilo, têm sido amplamente utilizados com algum sucesso em vários estudos, estes reduzem os níveis de HDACs e induzem a morte de células tumorais (Valdespino & Valdespino, 2015).

Embora o uso de fármacos epigenéticos demonstrar ser muito positivo, a terapia epigenética tem as suas limitações. A inibição das DNMT e HDAC podem ativar os oncogenes devido à falta de especificidade, resultando numa progressão de tumor mais acelerada (Sato et al., 2003). Além disso o facto dos estados epigenéticos poderem ser revertidos pode acontecer voltarem ao seu estado original, devido à natureza de padrões de metilação do DNA (Costello & Plass, 2001). O grande desafio será assegurar que os efeitos destes fármacos atuem nos genes alvos nas células tumorais e reduzir ou anular os efeitos tóxicos nas células normais.

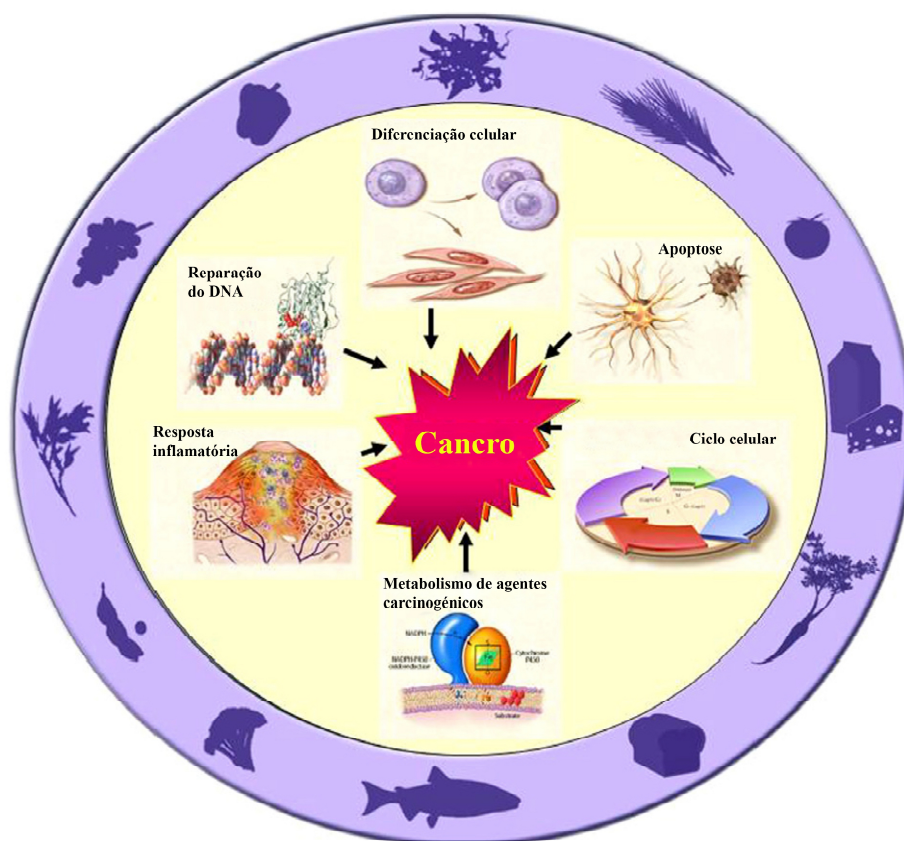


Figura 23. Influência dos alimentos bioativos em processos biológicos (adaptado de (Milner, 2008))

4.1. Prevenção de cancro

Apesar de uma pequena percentagem de tumores ser de origem hereditária, acredita-se que a maioria dos cancros resultam de alterações que se acumulam ao longo da vida devido à exposição a vários fatores externos, como os nutrientes, infeções, atividade física, tabaco, clima, etc. Embora o início do tumor seja devido a alterações genéticas, as alterações da expressão epigenética são também muito importante no desenvolvimento da doença (Link et al., 2010).

O cancro é geralmente visto como uma alteração genética que danifica a estrutura do DNA e induz mutações que se manifestam em proteínas com funções anormais o que

antecipa o desenvolvimento da doença. Mais recentemente surgiram evidências do papel que as alterações epigenéticas exercem durante o desenvolvimento da doença. Os genes envolvidos na regulação do ciclo celular, como reparação do DNA, angiogenese, apoptose são inativados pela hipermetilação das respectivas ilhas CpG (Milner, 2008).

Estudos realizados na prevenção do cancro demonstram que os nutrientes afetam afetam as principais vias de sinalização em diferentes tipos de cancro. Até ao momento mais de 1000 tipos de fotoquímicos diferentes contribuem para uma ação preventiva contra o cancro atuando nas principais vias de sinalização desreguladas em diferentes tipos de cancro como o metabolismo carcinogénico, reparação de DNA, proliferação celular/apoptose, diferenciação, inflamação, equilíbrio oxidante/antioxidante, e angiogénese. As fibras alimentares possuem um efeito protetor contra o cancro do intestino. Os ácidos gordos de cadeia longa (LC-PUFA) atuam positivamente em vários processos fisiológicos incluído todas as doenças degenerativas e crónicas (Ruxton, Reed, Simpson, & Millington, 2007).

Os fotoquímicos, são considerados cruciais na luta contra vários tipos de cancro pois participam em diversas etapas do metabolismo, podendo atuar como antioxidantes e na redução da proliferação de células cancerígenas.

Por exemplo a soja como já foi referido anteriormente tem um grande potencial contra o cancro da mama devido à elevada concentração em isoflavonas, assim como o licopeno tem um grande potencial contra o cancro da próstata (Aggarwal & Shishodia, 2006).

Do ponto de vista clínico as alterações epigenéticas ao contrário das alterações genéticas (mutações, deleções de genes, etc) são potencialmente reversíveis pois os genes metilados silenciados podem ser desmetilados, e os complexos de histona podem ser transcripcionalmente ativos através de modificações de acetilação e metilação das histonas pelos nutrientes, ou intervenções dietéticas (Link et al., 2010).

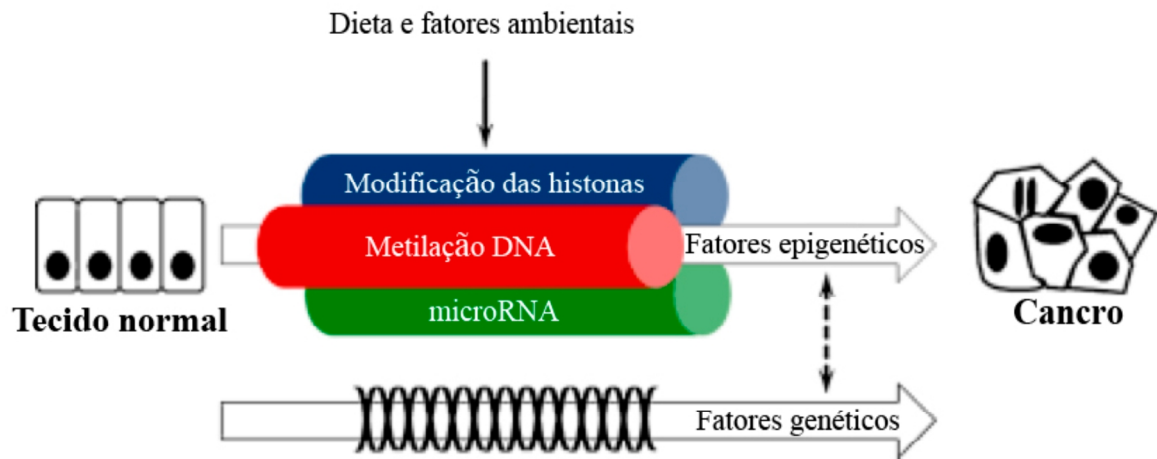


Figura 23. Mecanismos epigenéticos envolvidos na carcinogénese (adaptado de Link et al., 2010)

V. Suplementos Alimentares

Os suplementos alimentares (SA) estão cada vez a ser mais consumidos pelos Portugueses, estes ajudam na prevenção de problemas de saúde e na carência de certos nutrientes.

Segundo o Inflarmed (2016) os suplementos alimentares são definidos como: Géneros alimentícios que se destinam a complementar e ou suplementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de determinadas substâncias nutrientes ou outras com efeito nutricional ou fisiológico, estemes ou combinadas, comercializadas em forma doseada, tais como cápsulas, pastilhas, comprimidos, pílulas e outras formas semelhantes, saquetas de pó, ampolas de líquido, frascos com conta-gotas e outras formas similares de líquidos ou pós que se destinam a ser tomados em unidades medidas de quantidade reduzida (INFARMED, 2016).

Em condições normais, uma alimentação saudável e variada confere a um individuo todas as substancias necessárias para um bom funcionamento dos nossos órgãos. O que se verifica atualmente é que a alimentação é cada vez mais um fator com menos importância dada resultando no sedentarismo, obesidade, problemas cardíacos, stresse, etc. Daí o recorrer aos SA nos últimos anos ser cada vez maior (Salgueiro, 2009).

Os SA consumidos numa proporção correta acarretam benefícios para a saúde, mas se consumidos de forma excessiva podem trazer problemas. O farmacêutico tem um papel muito importante no que toca a esta área, pois tem de estar bem informado para poder dar o melhor aconselhamento e desta forma minimizar os efeitos adversos afim de melhorar a qualidade de vida das pessoas, pois estes produtos não são inócuos ao organismo e não devem ser administrados inconscientemente (Campos, Costa, & Falcão, 2000). O farmacêutico deve ter sempre presente que o consumo excessivo de determinados nutrientes podem levar a riscos para a saúde, daí ser importante seguir todas as indicações do fabricante e explicar ao utente todos os efeitos que o SA possa ter, sintomas, interações, efeitos adversos, etc (Wiedenmayer, 2006).

Praticamente todos os alimentos anteriormente falados existem à venda sob a forma de SA.

O chá verde por exemplo está disponível para vários tipos de efeitos, como poder antioxidante, efeito quimiopreventivo, anticancerígeno e anti-inflamatório. Também é muito utilizado nos dias de hoje para a perda de peso. No entanto o chá verde possui cafeína, o que faz com que se tenha de evitar o seu consumo à noite pois pode provocar insónias, dores de cabeça, nervosismos, diarreia, tremor, azia e tonturas (Esquivel & Jiménez, 2011).

O selénio também se encontra disponível sob a forma de SA e é muito utilizado devido aos seus efeitos antioxidantes e às suas propriedades preventivas de alguns cancros (Combs & Lü, 2006). O facto do selénio estar presente em baixas concentrações na nossa alimentação fez com que os SA ganhassem mais visibilidade. Apesar do selénio ser um mineral importante, não pode ser ingerido em quantidades elevadas por torna-se tóxico ao organismo. Uma intoxicação por selénio normalmente leva a distúrbios gastrointestinais, hálito a alho, perda de cabelo, danos neurológicos, fadiga e dores de cabeça (Scientific Committee on Food, 2003);(Ellis & Salt, 2003).

As isoflavonas são compostos derivados de plantas com uma atividade estrogénica. Um exemplo de isoflavona já anteriormente referido é a soja. A soja e os produtos à base de soja, possuem uma quantidade significativa de isoflavonas na dieta humano sendo por isso cada vez mais estudadas e conhecidas no mercado. Estudos epidemiológicos relacionam o consumo de dietas ricas em soja com a diminuição de incidência de cancros, doenças cardiovasculares, osteoporose (Tham, Gardner, & Haskell, 1998). Dado a sua atividade estrogénica, as isoflavonas têm sido muito utilizadas por mulheres para combater os sintomas da menopausa, pois podem ligar-se seletivamente aos recetores dos estrogénios e atuar como agonistas ou antagonistas dependendo das situações. No caso da produção de hormona estar diminuída, atua como agonista e quando as concentrações da hormona apresentam níveis normais atua como antagonista (Adlercreutz, Hämäläinen, Gorbach, & Goldin, 1992);(Tikkanen & Adlercreutz, 2000).

Os SA atualmente estão disponíveis em várias superfícies, como nas farmácias, parafarmácias, lojas de produtos naturais, supermercados e online. Estes produtos são utilizados por iniciativa própria do utente daí ser muito importante o papel do farmacêutico pois cabe-lhe a ele esclarecer todas as dúvidas colocadas pelos utentes e esclarecer se o produto em questão é o mais adequado.

VI. Conclusão e perspectivas Futuras

Milhares de pessoas são vítimas de doenças crónicas como o cancro e morrem todos os anos. A dieta tem um papel muito importante na nossa vida, não só para prevenção de doenças como para manter o nosso organismo saudável e equilibrado porque nós somos o que comemos. A dieta tem um grande impacto nos nossos genes pois os nutrientes começam a interagir com eles, modelando a sua expressão, desde a vida uterina até à fase adulta. Desta forma a dieta representa uma excelente forma de modificar a sua expressão. Ao modificar a expressão podem provocar modificações pós-traducionais de forma exagerada que ocorrem nos diferentes mecanismos epigenéticos, originando diferentes tipos de patologias.

Dado o aumento significativo de pessoas afetadas com cancro em Portugal a área da epigenética pode tornar-se cada vez mais interessante. Acredita-se que um dos possíveis tratamentos para o cancro surja a partir da compreensão dos mecanismos envolvidos no silenciamento e ativação de genes, para além dos que são conhecidos pela genética molecular.

A nutrigenómica é a ciência que investiga a forma como os nutrientes influenciam o funcionamento dos genes no nosso organismo, esta representa uma grande evolução na área da nutrição contribuindo para um conhecimento mais aprofundado da interação do genoma humano com os alimentos, e a forma como isso pode alterar o nosso genótipo.

As pessoas cada vez mais procuram estar mais informadas sobre o que fazer para prevenção. A procura pelos suplementos alimentares aumentou significativamente, pois as pessoas não conseguem obter através da alimentação as vitaminas, minerais e fotoquímicos essenciais. Os SA de certa forma facilitam a forma de obter todos os nutrientes necessários sem dar muito trabalho.

O farmacêutico possui um papel muito importante no aconselhamento ao utente devendo aconselhar sempre uma dieta personalizada e estilo de vida saudável, assim como exercício físico ajustado à variabilidade genética e ao perfil metabólico de cada um.

Posto isto, é cada vez mais importante darmos a devida atenção ao nosso estilo de vida, em particular à alimentação pois como podemos constatar pode influenciar a nossa qualidade de vida.

Referências Bibliográficas

- Adlercreutz, H., Hämäläinen, E., Gorbach, S., & Goldin, B. (1992). Dietary phyto-oestrogens and the menopause in Japan. *The Lancet*, 339(8803), 1233. JOUR. [http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736\(92\)91174-7](http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736(92)91174-7)
- Aggarwal, B. B., & Harikumar, K. B. (2009). Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 41(1), 40–59. <http://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.06.010>
- Aggarwal, B. B., & Shishodia, S. (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochemical Pharmacology*, 71(10), 1397–1421. <http://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.02.009>
- 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>
- Aparicio, A., North, B., Barske, L., Wang, X., Bollati, V., Weisenberger, D., ... Issa, J. P. (2009). LINE-1 methylation in plasma DNA as a biomarker of activity of DNA methylation inhibitors in patients with solid tumors. *Epigenetics*, 4(3), 176–184. <http://doi.org/10.4161/epi.4.3.8694>
- Bishop, K. S., & Ferguson, L. R. (2015). The interaction between epigenetics, nutrition and the development of cancer. *Nutrients*, 7(2), 922–947. <http://doi.org/10.3390/nu7020922>
- Campos, M. da G., Costa, M. L., & Falcão, A. (2000). Intervenção Farmacêutica na Determinação de Interações Planta-Medicamento. *Boletim LEF* 27, 1–9.
- Chan, H. M., & La Thangue, N. B. (2001). p300/CBP proteins: HATs for transcriptional bridges and scaffolds. *Journal of Cell Science*, 114(Pt 13), 2363–2373.
- Chen, L., Stacewicz-, M., Duncan, C., Sharifi, R., Ghosh, L., Breemen, R. Van, ... Bowen, P. E. (2001). Oxidative DNA Damage in Prostate Cancer Patients Consuming Tomato Sauce-Based Entrees as a Whole-Food Intervention Background : Human prostate tissues are vulnerable to oxidative DNA damage . The risk of prostate cancer is lower in men reporting higher , 93(24).

- Chesson, a, & Collins, a. (1997). Assessment of the role of diet in cancer prevention. *Cancer Letters*, 114(1–2), 237–45. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9103302>
- Choi, S.-W., & Friso, S. (2010). Epigenetics: A New Bridge between Nutrition and Health. *Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)*, 1(1), 8–16. <http://doi.org/10.3945/an.110.1004>
- Combs, G. F., & Lü, J. (2006). Selenium as a cancer preventive agent. In D. L. Hatfield, M. J. Berry, & V. N. Gladyshev (Eds.), *Selenium: Its Molecular Biology and Role in Human Health* (pp. 249–264). inbook, Boston, MA: Springer US. http://doi.org/10.1007/0-387-33827-6_22
- Costello, J. F., & Plass, C. (2001). Methylation matters. *Journal of Medical Genetics*, 38(5), 285–303. <http://doi.org/10.1136/jmg.38.5.285>
- Davis, C. D., & Milner, J. (2004). Frontiers in nutrigenomics, proteomics, metabolomics and cancer prevention. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 551(1–2), 51–64. <http://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.01.012>
- Dell'Aversana, C., Lepore, I., & Altucci, L. (2012). HDAC modulation and cell death in the clinic. *Experimental Cell Research*, 318(11), 1229–1244. JOUR. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2012.01.025>
- Dulak, J. (2005). Nutraceuticals as anti-angiogenic agents: Hopes and reality. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 56(SUPPL. 1), 51–67. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2011.04980.x>
- Eeles, R. a. (2000). Future possibilities in the prevention of breast cancer: intervention strategies in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Breast Cancer Research : BCR*, 2(4), 283–90. <http://doi.org/10.1186/bcr70>
- Ellis, D. R., & Salt, D. E. (2003). Plants, selenium and human health. *Current Opinion in Plant Biology*, 6(3), 273–279. [http://doi.org/10.1016/S1369-5266\(03\)00030-X](http://doi.org/10.1016/S1369-5266(03)00030-X)
- Esquivel, P., & Jiménez, V. M. (2011). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 46(2), 488–495. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028>
- Fenech, M., El-Sohemy, A., Cahill, L., Ferguson, L. R., French, T. A. C., Tai, E. S., ... Head, R. (2011). Nutrigenetics and nutrigenomics: Viewpoints on the current status and applications in nutrition research and practice. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, 4(2), 69–89. <http://doi.org/10.1159/000327772>

- Ferguson, L. R., Shelling, A. N., Lauren, D., Heyes, J. A., & McNabb, W. C. (2007). Nutrigenomics and gut health. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 622(1–2), 1–6. JOUR. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2007.05.001>
- Gibney, M. J., Walsh, M., Brennan, L., Roche, H. M., German, B., & Ommen, B. van. (2005). Metabolomics in human nutrition: opportunities and challenges 1–3. *American Journal of Clinical Nutrition*, 497–503. <http://doi.org/82/3/497> [pii]
- 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>
- Gros, C., Fahy, J., Halby, L., Dufau, I., Erdmann, A., Gregoire, J.-M., ... Arimondo, P. B. (2012). DNA methylation inhibitors in cancer: Recent and future approaches. *Biochimie*, 94(11), 2280–2296. JOUR. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2012.07.025>
- Guil, S., & Esteller, M. (2009). DNA methylomes, histone codes and miRNAs: Tying it all together. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 41(1), 87–95. JOUR. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2008.09.005>
- Ho, E., & Beaver, L. (2011). Dietary factors and epigenetic regulation for prostate cancer prevention. *Advances in Nutrition: ...*, 2(6), 497–510. <http://doi.org/10.3945/an.111.001032.497>
- Hou, L., Zhang, X., Wang, D., & Baccarelli, A. (2012). Environmental chemical exposures and human epigenetics. *International Journal of Epidemiology*, 41(1), 79–105. <http://doi.org/10.1093/ije/dyr154>
- INFARMED. (2016). Produtos-fronteira entre Suplementos Alimentares e Medicamentos, 1–10. Retrieved from http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/FRONTEIRA_SUP_ALIMENTARES/PRODUTOS_FRONTEIRA_SULEMENTOS_MEDICAMENTOS.
- Jablonka, E., & Lamb, M. J. (2002). The changing concept of epigenetics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 981, 82–96. <http://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb04913.x>
- Kanherkar, R. R., Bhatia-Dey, N., & Csoka, A. B. (2014). Epigenetics across the human lifespan. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2(September), 49. <http://doi.org/10.3389/fcell.2014.00049>; [10.3389/fcell.2014.00049](http://doi.org/10.3389/fcell.2014.00049)

- Kim, E. T., Kim, C. H., Min, K. S., & Lee, S. S. (2012). Effects of Plant Extracts on Microbial Population, Methane Emission and Ruminal Fermentation Characteristics in In vitro. *Asian Australas. J. Anim. Sci*, 25(6), 806–811. <http://doi.org/10.5713/ajas.2011.11447>
- Kirkbride, J. B., Susser, E., Kundakovic, M., Kresovich, J. K., Davey Smith, G., & Relton, C. L. (2012). Prenatal nutrition, epigenetics and schizophrenia risk: can we test causal effects? *Epigenomics*, 4(3), 303–315. <http://doi.org/10.2217/epi.12.20>
- Kooistra, S. M., & Helin, K. (2012). Molecular mechanisms and potential functions of histone demethylases. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 13(5), 297–311. JOUR. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/nrm3327>
- Kouzarides, T. (2007). Chromatin Modifications and Their Function. *Cell*, 128(4), 693–705. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.005>
- Kunnumakkara, A. B., Anand, P., & Aggarwal, B. B. (2008). Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. *Cancer Letters*, 269(2), 199–225. <http://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.03.009>
- Kussmann, M., Raymond, F., & Affolter, M. (2006). OMICS-driven biomarker discovery in nutrition and health. *Journal of Biotechnology*, 124(4), 758–787. JOUR. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2006.02.014>
- Leung, B. M. Y., Kaplan, B. J., Field, C. J., Tough, S., Eliasziw, M., Gomez, M. F., ... Gagnon, L. (2013). Prenatal micronutrient supplementation and postpartum depressive symptoms in a pregnancy cohort. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 13(1), 2. <http://doi.org/10.1186/1471-2393-13-2>
- Li, Y., Saldanha, S. N., & Tollefsbol, T. O. (2014). Impact of epigenetic dietary compounds on transgenerational prevention of human diseases. *The AAPS Journal*, 16(1), 27–36. <http://doi.org/10.1208/s12248-013-9538-7>
- Link, A., Balaguer, F., & Goel, A. (2010). Cancer Chemoprevention by Dietary Polyphenols: Promising Role for Epigenetics, 48(Suppl 2), 1–6. <http://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181a15ae8>.Screening
- Liu, Y., Balaraman, Y., Wang, G., Nephew, K. P., & Zhou, F. C. (2009). Alcohol exposure alters DNA methylation profiles in mouse embryos at early neurulation. *Epigenetics : Official Journal of the DNA Methylation Society*, 4(7), 500–11. <http://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2008.02497.x>.Plasma
- Lu, Q., Qiu, X., Hu, N., Wen, H., Su, Y., & Richardson, B. C. (2006). Epigenetics,

- disease, and therapeutic interventions. *Ageing Research Reviews*, 5(4), 449–467. <http://doi.org/10.1016/j.arr.2006.07.001>
- M, C., Kaefer, & Milner, J. A. (2011). Herbs and Spices in Cancer Prevention and Treatment. *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*, 19(6), 347–361. <http://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2007.11.003>.The
- Margueron, R., & Reinberg, D. (2013). Chromatin Structure and the Inheritance of Epigenetic Information, 100, 130–134. <http://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.02.012>.Investigations
- Meeran, S. M., Ahmed, A., & Tollefsbol, T. O. (2010). Epigenetic targets of bioactive dietary components for cancer prevention and therapy. *Clinical Epigenetics*, 1(3–4), 101–116. <http://doi.org/10.1007/s13148-010-0011-5>
- Meeran, S. M., Patel, S. N., & Tollefsbol, T. O. (2010). Sulforaphane causes epigenetic repression of hTERT expression in human breast cancer cell lines. *PLoS ONE*, 5(7). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0011457>
- Mikeska, T., & Craig, J. M. (2014). DNA methylation biomarkers: Cancer and beyond. *Genes*, 5(3), 821–864. <http://doi.org/10.3390/genes5030821>
- Milner, J. A. (2008). Nutrition and cancer: Essential elements for a roadmap. *Cancer Letters*, 269(2), 189–198. <http://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.05.030>
- Muller, M., & Kersten, S. (2003). Nutrigenomics: goals and strategies. *Nat Rev Genet*, 4(4), 315–322. <http://doi.org/10.1038/nrg1047>
- Naidoo, A., Naidoo, K., Yende-zuma, N., & Gengiah, T. N. (2015). NIH Public Access, 19(2), 161–169. <http://doi.org/10.3851/IMP2701>.Changes
- Nair, S., Li, W., & Kong, A. N. T. (2007). Natural dietary anti-cancer chemopreventive compounds: Redox-mediated differential signaling mechanisms in cytoprotection of normal cells versus cytotoxicity in tumor cells. *Acta Pharmacologica Sinica*, 28(4), 459–472. <http://doi.org/10.1111/j.1745-7254.2007.00549.x>
- Nowsheen, S., Aziz, K., Tran, P. T., Gorgoulis, V. G., Yang, E. S., & Georgakilas, A. G. (2014). Epigenetic inactivation of DNA repair in breast cancer. *Cancer Letters*, 342(2), 213–222. <http://doi.org/10.1016/j.canlet.2012.05.015>
- Ohga, N., Hida, K., Hida, Y., Muraki, C., Tsuchiya, K., Matsuda, K., ... Shindoh, M. (2009). Inhibitory effects of epigallocatechin-3 gallate, a polyphenol in green tea, on tumor-associated endothelial cells and endothelial progenitor cells. *Cancer Science*, 100(10), 1963–1970. <http://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2009.01255.x>
- Ong, T. P., Moreno, F. S., & Ross, S. A. (2012). Targeting the epigenome with

- bioactive food components for cancer prevention. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, 4(5), 275–292. <http://doi.org/10.1159/000334585>
- Ordovas, J. (2007). Diet / Genetic Interactions and Their Effects on Inflammatory Markers, 65(12), 203–207. <http://doi.org/10.1301/nr.2007.dec.S203>
- Papoutsis, A. J., Lamore, S. D., Wondrak, G. T., Selmin, O. I., & Romagnolo, D. F. (2010). Resveratrol Prevents Epigenetic Silencing of BRCA-1 by the Aromatic Hydrocarbon Receptor in Human Breast Cancer Cells 1, 2. *The Journal of Nutrition*, 1607–1614. <http://doi.org/10.3945/jn.110.123422.AhR>
- Romani, M., Pistillo, M. P., & Banelli, B. (2015). Environmental Epigenetics: Crossroad between Public Health, Lifestyle, and Cancer Prevention. *Biomed Res Int*, 2015, 587983. <http://doi.org/10.1155/2015/587983>
- Ruxton, C. H. S., Reed, S. C., Simpson, J. A., & Millington, K. J. (2007). The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: A review of the evidence. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 20(3), 275–285. <http://doi.org/10.1111/j.1365-277X.2007.00770.x>
- Sadakierska-Chudy, A., & Filip, M. (2014). A Comprehensive View of the Epigenetic Landscape. Part II: Histone Post-translational Modification, Nucleosome Level, and Chromatin Regulation by ncRNAs. *Neurotoxicity Research*, 27(2), 172–197. <http://doi.org/10.1007/s12640-014-9508-6>
- Salgueiro, I. (2009). Suplementos Alimentares Sujeitos Ao Haccp. *Segurança E Qualidade Alimentar*, 6, 17–19. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Sato, N., Maitra, A., Fukushima, N., Adenocarcinoma, D., Heek, N. T. Van, Matsubayashi, H., ... Goggins, M. (2003). Frequent Hypomethylation of Multiple Genes Overexpressed in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Frequent Hypomethylation of Multiple Genes Overexpressed in Pancreatic, (12), 4158–4166.
- Schnekenburger, M., Dicato, M., & Diederich, M. (2014). Plant-derived epigenetic modulators for cancer treatment and prevention. *Biotechnology Advances*, 32(6), 1123–1132. JOUR. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.03.009>
- Scientific Committee on Food. (2003). Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Vitamin E. SCF/CS/NUT/UPPLEV/31 Final., (April), 1–18.
- Shankar, S., Kumar, D., Srivastava, R. K., Sharmila Shankar, Dhruv Kumar, and R. K.

- S., Shankar, S., Kumar, D., ... Sharmila Shankar, Dhruv Kumar, and R. K. S. (2014). Epigenetic Modifications by Dietary Phytochemicals: Implications for Personalized Nutrition. *Pharmacol Ther*, 138(1), 1–17.
<http://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.11.002>.Epigenetic
- Shilatifard, A. (2006). Chromatin modifications by methylation and ubiquitination: implications in the regulation of gene expression. *Annual Review of Biochemistry*, 75, 243–269. <http://doi.org/10.1146/annurev.biochem.75.103004.142422>
- 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.currproblecancer.2007.04.001>
- Shukla, Y., & Singh, M. (2007). Cancer preventive properties of ginger: A brief review. *Food and Chemical Toxicology*, 45(5), 683–690. JOUR.
<http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2006.11.002>
- Singh, B. N., Singh, H. B., Singh, A., Naqvi, A. H., & Singh, B. R. (2014). Dietary phytochemicals alter epigenetic events and signaling pathways for inhibition of metastasis cascade: Phyto blockers of metastasis cascade. *Cancer and Metastasis Reviews*, 33(1), 41–85. <http://doi.org/10.1007/s10555-013-9457-1>
- Strahl, B. D., & Allis, C. D. (2000). The language of covalent histone modifications. *Nature*, 403(6765), 41–45. JOUR. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/47412>
- Szarc vel Szic, K., Declerck, K., Vidaković, M., & Vanden Berghe, W. (2015). From inflammaging to healthy aging by dietary lifestyle choices: is epigenetics the key to personalized nutrition? *Clinical Epigenetics*, 7(1), 33.
<http://doi.org/10.1186/s13148-015-0068-2>
- Tammen, S. A., Friso, S., & Choi, S. W. (2013). Epigenetics: The link between nature and nurture. *Molecular Aspects of Medicine*, 34(4), 753–764.
<http://doi.org/10.1016/j.mam.2012.07.018>
- Tham, D. M., Gardner, C. D., & Haskell, W. L. (1998). Potential health benefits of dietary phytoestrogens: A review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 83(7), 2223–2235.
<http://doi.org/10.1210/jc.83.7.2223>
- Tikkanen, M. J., & Adlercreutz, H. (2000). Dietary soy-derived isoflavone phytoestrogens: Could they have a role in coronary heart disease prevention? *Biochemical Pharmacology*, 60(1), 1–5. [http://doi.org/10.1016/S0006-2952\(99\)00409-8](http://doi.org/10.1016/S0006-2952(99)00409-8)

- Trivedi, R., Patel, P. N., Jani, H. J., & Trivedi, B. A. (2011). Nutrigenomics: From molecular nutrition to prevention of disease. *BioTechnology: An Indian Journal*, 5(2), 112–116. <http://doi.org/10.1016/j.jada.2006.01.001>
- 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>
- Turek-Plewa, J., & Jagodzinski, P. P. (2005). The role of mammalian DNA methyltransferases in the regulation of gene expression. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 10(4), 631–647.
- Vaissière, T., Sawan, C., & Herceg, Z. (2008). Epigenetic interplay between histone modifications and DNA methylation in gene silencing. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 659(1–2), 40–48. <http://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.02.004>
- Valdespino, V., & Valdespino, P. M. (2015). Potential of epigenetic therapies in the management of solid tumors. *Cancer Management and Research*, 7, 241–51. <http://doi.org/10.2147/CMAR.S70358>
- Wang, H., Khor, T. O., Shu, L., Su, Z.-Y., Fuentes, F., Lee, J.-H., & Kong, A.-N. T. (2012). Plants vs. cancer: a review on natural phytochemicals in preventing and treating cancers and their druggability. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 12(10), 1281–305. <http://doi.org/10.2174/187152012803833026>
- Wiedenmayer, K. R. S. S. C. a. M. A. G. S. G. M. E. (2006). Developing pharmacy practice A focus on patient care HANDBOOK – 2006 EDITION, 87. Retrieved from <http://www.fip.org/files/fip/publications/DevelopingPharmacyPractice/DevelopingPharmacyPracticeEN.pdf>
- Xie, S.-H., Liu, A.-L., Chen, Y.-Y., Zhang, L., Zhang, H.-J., Jin, B.-X., ... Lu, W.-Q. (2010). DNA damage and oxidative stress in human liver cell L-02 caused by surface water extracts during drinking water treatment in a waterworks in China. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 51(3), 229–235. <http://doi.org/10.1002/em>
- Yiu, T. T., & Li, W. (2015). Pediatric cancer epigenome and the influence of folate. *Epigenomics*, 7(6), 961–73. <http://doi.org/10.2217/epi.15.42>