

# CHOVÁNÍ A ZDRAVÍ

## II. GENY, CHOVÁNÍ A KOMPLEXNÍ CHOROBY

### HEALTH AND BEHAVIOUR

### II. GENES, BEHAVIOUR AND COMPLEX DISEASES

ŠÁRKA KUNZOVÁ<sup>1, 2</sup>, DRAHOSLAVA HRUBÁ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Masarykova univerzita, Lékařská fakulta, Ústav preventivního lékařství, Brno

<sup>2</sup>Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Brno

#### SOUHRN

Chronická neinfekční onemocnění představují závažný problém soudobé společnosti. Jejich etiologie má komplexní charakter. Jsou výsledkem v čase se vyvíjející interakce genetických a vnějších faktorů, jejichž podstatná část je vázána na životní styl a chování jedince. Genetická složka může být životním stylem modifikována, do jisté míry však sama chování a životní styl determinuje. Celoživotní vliv prostředí na genom je z velké části zprostředkován epigeneticky. Epigenetické mechanismy řídí chování genů, jsou podkladem fenotypové plasticity. Expozice faktorům modifikujícím epigenom v prenatálním a časně postnatálním období formuje vnímavost ke vzniku onemocnění, v dalším životě pak modifikuje manifestaci genetické vlohy a potenciálně participuje na patogenezi. Prenatálně indukované změny epigenomu mohou být předány na další generace potomků. Významným induktorem těchto alterací jsou nutriční faktory a kouření. V souvislosti s environmentální modifikací genové exprese je studována zejména DNA metylace, post-translační modifikace histonů a regulační aktivita nekódující RNA. Potenciální reverzibilita epigenetických procesů otevírá nové možnosti pro prevenci komplexních chorob. Poznatky o interakci genů, chování a prostředí potvrzují opodstatněnost primárně preventivních opatření a mohou přispět ke změně postojů ke zdraví.

**Klíčová slova:** epigenetika, chování, životní styl, nemoci civilizační – prevence

#### SUMMARY

Non-infectious diseases represent a serious health problem in current society. Their etiology is complex as they result from a time-evolving interaction of genetic and environmental factors, a significant part of which are based on individual behaviour and lifestyle. Lifestyle can modify the impact of genetic load; nonetheless, behaviour and lifestyle are themselves determined by genes to a certain extent. Lifelong environmental influences on the genome are largely mediated epigenetically. Epigenetic mechanisms modify the activity of genes and form a base of the phenotype plasticity. Exposure to epigenetic modifiers prenatally and in the early post-natal stage form susceptibility to diseases, modifying manifestation of a genetic predisposition later in life and potentially participating in pathogenesis. Prenatally induced changes of the epigenome can be passed on to subsequent generations of offspring. Nutritional factors and smoking are major inducers of these epigenetic alterations. The most studied epigenetic mechanisms in relation to environmentally induced modification of gene expression are DNA methylation, post-translational histone modifications, and non-coding RNA regulatory activity. The potential reversibility of epigenetic processes opens up new possibilities for the prevention of complex diseases. Knowledge of the interactions of genes, behaviour and environment confirm the validity of primary preventive measures and may contribute to changing attitudes to health.

**Key words:** epigenetics, behaviour, lifestyle, civilization-linked diseases – prevention

#### Úvod

Chronická neinfekční onemocnění, zejména kardiovaskulární (KVO) a nádorová onemocnění, diabetes 2. typu, obezita, chronická respirační onemocnění, představují závažný zdravotní problém, vykazují vysokou prevalenci v populaci a jsou hlavní příčinou morbidit a mortality ve vyspělých zemích. Jedná se o multifaktoriální choroby, jejichž rozvoj je determinován vzájemnou interakcí řady genetických a environmentálních faktorů. Jen malá část těchto vlivů je dosud známa. Podíl genů byl donedávna chápán jako jednoznačně určená a stabilní dispozice. Vliv environmentálních a behaviorálních faktorů byl vnímán jako přídatný. S rozšiřováním po-

znatků v oblasti genetiky se však ukazuje, že interakce genetických a vnějších faktorů je velmi komplexní, v čase se vyvíjející proces, zahrnující interakce geny-geny, geny-prostředí, geny-chování. Porozumění těmto souvislostem má důležité konsekvence pro prevenci komplexních chorob.

#### Geny a komplexní choroby

Chronická neinfekční onemocnění, označovaná vzhledem k etiologii jako multifaktoriální nebo komplexní choroby, nevykazují mendelistickou dědičnost (1). Jejich genetická složka je polygenní a nehomogenní ve smyslu rozsahu účinku jednotlivých genů (interakce mnoha genů s různou penetrancí). Představuje predis-

pozici k fenotypové manifestaci nemoci a interaguje s faktory zevními. Jejím podkladem může být určitá konstelace běžných alel více genů, uplatňuje se genový polymorfismus. Ukazuje se však, že fixní genomické variace zodpovídají jen za část rizika. Význam mají také vývojové a environmentální faktory (1, 2). Expozice vnějšímu prostředí v průběhu raného vývoje modifikuje manifestaci genetické vlohy, výsledný fenotyp pak určuje vnímavost jedince k environmentálním a behaviorálním vlivům v dalším životě. Fenotypová plasticita během života postupně klesá, kumulují se neadekvátní odpovědi na environmentální stimuly a narůstá riziko nemoci (2).

### Epigenetika a metabolické programování

Genom obsahuje veškerou genetickou informaci, uloženou v DNA buňky. Je ovlivňován procesy genetickými a epigenetickými. Chování genů, to, jak se informace v nich zapsaná realizuje, je regulováno epigeneticky (3). Epigenetické procesy jsou nezbytné pro řízení tkáňově specifické genové exprese, ovlivňují transkripční a posttranskripční aktivitu genů a umožňují tak buněčnou diferenciaci a morfogenezi. Přenos epigenetické informace je podmíněn buněčnou pamětí; je uskutečňován mitoticky i meioticky. Epigenetické procesy nemění sekvenci nukleotidů v DNA, ovlivňují tedy fenotyp bez změny genotypu (4). Epigenetické modifikace jsou podkladem fenotypové plasticity; zajišťují adaptabilitu organismu, ovlivňují fyzický vzhled, metabolismus, chování, odpověď na stres, dlouhověkost a vnímavost k chorobám (3); jsou také příčinou odlišností u monozygotních dvojčat, charakterizovaných identickým genomem (5). Alterace epigenomu může vést až k vytvoření patologického fenotypu (vrozené vývojové vady, metabolické poruchy, nádory aj.). Epigenetické mechanismy představují propojení vnějších vlivů a změn fenotypu v průběhu celého života jedince, nicméně tento proces neprobíhá stále stejnou intenzitou (2, 3). Vliv životního stylu/chování obou rodičů sahá až do perikoncepčního období; po koncepci jsou tyto faktory zprostředkované matkou. Během intrauterinního vývoje potenciálně působí na plod řada faktorů: stres matky, malnutrice, hypoxie, medikamenty, patogeny, expozice škodlivinám, cigaretovému kouři, alkoholu a dalším návykovým látkám, rizika v pracovním prostředí – to vše ovlivňuje funkce placenty a také přímo indukuje změny ve fyziologii a metabolismu plodu. Pokud inzult přetrvává, reverzibilní adaptace se mění na trvalou změnu fenotypu. Tato „vývojová plasticita“ umožňuje přizpůsobení vnějšímu prostředí (5). Interakcí zděděného genotypu a environmentálních vlivů je tedy nastavena „vývojová trajektorie“ jedince, která v dalším životě formuje odpověď na prostředí. Podle konceptu vývojového původu nemoci vede nesoulad s reálnými podmínkami k onemocnění (2). Pro nastavení epigenomu – tzv. epigenetické programování – je zásadní doba prenatální a časné postnatální. Během rané embryogeneze, kdy se uplatňují vlivy pre- i perikoncepční, je epigeneticky modifikován vývoj orgánů plodu (mozek, hormonální systém, ledviny, srdce a cévy, játra, gonády aj.), ale také funkce placenty (5, 6). Genová exprese v placentě je pohlavně specifická. Pohlavní rozdíly existují i ve fetální epigenetické odpovědi na prenatální inzulty, jež jsou zřejmě příčinou rozdílů mezi muži a ženami v riziku rozvoje komplexních chorob (5). Ženské pohlaví vykazuje určitý protektivní účinek. V pozadí tohoto jevu

jsou odlišné mechanismy v různých vývojových stádiích, na nichž se podílejí pohlavní hormony (5).

Hlavními mechanismy epigenetické regulace jsou modifikace DNA, histonů a struktury chromatinu. V souvislosti s environmentální modifikací genové exprese je studována zejména DNA metylace, posttranslační modifikace histonů a regulační aktivita nekódující RNA, tzv. non-coding RNA (ncRNA) (3). DNA metylace je dosud nejlépe prostudovaným epigenetickým procesem. Jedná se o metylaci 5' pozice cytosínu na 5-metyl cytosin (5-mC); takto je metylováno 4–6 % cytosinových bází v celém lidském genomu, s odlišnostmi u různých typů buněk. Methylace je zprostředkována enzymy ze skupiny DNA metyltransferáz (DNMT), donorem metylové skupiny je S-adenosylmethionin. Většina metylací se vyskytuje na CpG dinukleotidech. Úseky DNA s častým výskytem CpG jsou označovány jako „CpG ostrůvky“; vyskytují se v promotorové oblasti řady genů. Methylace CpG ostrůvků reguluje transkripci genů. V normálních buňkách nejsou obvykle CpG ostrůvky metylovány, opak nastává během ontogeneze a stárnutí (7). DNA metylace je pro normální vývoj nezbytná, probíhá podle tkáňově specifických vzorců a umožňuje buněčnou diferenciaci. U ženských embryí se methylace podílí na procesu inaktivace X chromozomu. Metylační stav DNA je ovlivňován samotným genomem a může být modifikován dietou, psychosociálním stresem, kouřením, expozicí škodlivinám a dalšími vnějšími faktory (8). Aberantní methylace indukuje chromozomální instabilitu, ovlivňuje strukturu chromatinu a mění transkripční aktivitu genů s patologickými následky (9). V průběhu stárnutí se snižuje celková methylace DNA a v mnoha tkáních dochází k hypermethylaci CpG ostrůvků (7). Hypometylační stav s místně specifickým nárůstem methylace je epigenetický vzorec typický pro rakovinu (např. methylace promotoru tumor supresního genu, hypomethylace onkogenu) (9). Změny v celkové i genově specifické DNA metylaci byly popsány také u KVO; aterosklerotický plak je dokonce přirovnáván k nádorové tkáni (monoklonální proliferace buněk hladké svaloviny, zvýšená exprese genů pro růstové faktory) (10). Snížená globální methylace leukocytů je např. asociována se zvýšením homocysteinu a koreluje s výskytem KVO (10). Genově specifické změny methylace u jednotlivých komplexních chorob jsou předmětem studia (9). Obezita je asociována se změnou metylačního stavu řady genových promotorů, mezi nimi také serotoninového transportního genu, který má klíčovou roli v regulaci příjmu potravy, tělesné hmotnosti a energetické rovnováhy (11). Ukazuje se, že úroveň methylace určitých genů koreluje nejen s manifestací daného onemocnění, ale také s výskytem jeho komplikací (např. rozvoj renální insuficience u diabetiků) a může tak v budoucnu umožnit identifikaci jedinců s vyšším rizikem nebo jedinců vhodných pro specifickou léčbu (12). Nově je studována hydroxymethylace DNA (3). Je asociována se změnami transkripce a souvisí s procesem demethylace, jejímž meziproduktem je hydroxymethylcytosin (5-hmC).

Posttranslační modifikace histonů představují kovalentní modifikaci N-konce histonových proteinů; zahrnují acetylaci, metylaci, fosforylaci, ubiquitinaci, ADP-ribosylaci, biotinylaci aj. Histony vytvářejí s DNA komplex označovaný jako nucleosom, je složen ze čtyř párů čtyř typů histonových proteinů. Histonové modifikace se uplatňují v regulaci genové transkripce, DNA

replikace, reparace a kondenzace (7). Histonové modifikace ovlivňují genovou expresi kontrolou dynamiky chromatinu; působí změnou iontového náboje konce histonu nebo fungováním jako vazebná platforma pro další proteiny. Jsou zajišťovány a udržovány enzymy, které jsou součástí chromatin remodelujících komplexů. Přeměna euchromatinu na heterochromatin stabilizuje genom a brání transkripci specifických genů.

Interakcí s chromatinovými modulátory regulují genovou expresi také nekódující RNA (ncRNA). Podílí se též na inaktivaci jednoho z X chromozomů u ženského pohlaví: ncRNA exprimovaná na neaktivním X chromozomu je označována jako Xist (13). U řady ncRNA třídy long je popisována asociace s buněčným stresem a rakovinou, je zkoumán jejich možný podíl na karcinogenním účinku tabákové specifických nitrosaminů (14). V poslední době je velká pozornost věnována studiu malých ncRNA, délky 19–25 nukleotidů, označovaných jako micro RNA (miRNA). Primárním mechanismem jejich působení je posttranskripční útlum cílových genů inhibicí translace miRNA nebo regulací její degradace. Existuje zpětná vazba mezi miRNA, DNA metylací, histonovou modifikací a remodelací chromatinu (5). Tyto miRNA mají regulační úlohu v hlavních buněčných procesech, ovlivňují metabolismus, proces diferenciaci a proliferaci, apoptosu a imunitní systém (7, 8). Environmentální faktory mohou měnit genovou expresi odstraněním starých či expresí nových miRNA. U nádorových buněk byla zjištěna aberantní miRNA exprese, vyvolaná změnami v DNA metylaci (9). V souvislosti s kouřením je aberantní miRNA exprese potvrzena také v buňkách placenty, spermích, bronchiálních epitelálních buňkách (6). Exogenně dodaná miRNA (např. miRNA obsažená v rýži) v animálních studiích alterovala proteinovou expresi; miRNA tak představuje možné spojení diety a fenotypu (3). U člověka bylo dosud popsáno více než tisíc různých miRNA. Cirkulující miRNA jsou experimentálně využívány jako biomarkery (10).

### Transgenerační přenos

Epidemiologické studie i studie na zvířecích modelech dokládají, že dlouhodobé následky expozice nepříznivým podmínkám v průběhu raného vývoje nejsou limitovány pouze na jednu generaci. Environmentální inzult působící na těhotnou ženu (F0 generace), ovlivňuje plod (F1 generace), jenž je tak přímo exponován v kritickém období svého vývoje, ale také jeho zárodečné buňky či jejich prekursor (F2 generace). Germinální buňky jsou přítomny v těle plodu od raných fází jeho vývoje; mohou být ovlivněny přímo (indukce genetických a epigenetických změn, narušení procesu reprogramování) anebo nepřímo, somatickou indukcí efektu účinkem na úrovni plodu (15). Fenomén přenosu „zkušenosti s prostředím“ (tj. environmentálně indukované změny fenotypu, které nejsou podloženy změnami v DNA sekvenci) je označován jako intergenerační nebo multigenerační v případě, že je limitován na generaci přímo exponované environmentálnímu inzultu (F0, F1, F2). Mechanismy těchto efektů nejsou zcela objasněny, pravděpodobně zahrnují komplexní interakci environmentálních, metabolických a epigenetických faktorů (15). Přenos účinku expozice na fenotyp přímo neexponované generace (F3 generace) je označován jako transgenerační, uskutečňuje se prostřednictvím gamet a jeho podkladem je zřejmě

dědičnost epigenetických změn (16). K zajištění jaderné totipotence v průběhu normálního vývoje dochází mezi generacemi k vymazání přítomných epigenetických vzorců a jejich znovunastavení (17). Tento proces probíhá během zrání zárodečných buněk (F1) v rodičovském organismu (F0), další kolo reprogramování se uskutečňuje po fertilizaci (F1) v preimplantačním stadiu vývoje. Během pohlavní determinace embrya (F1) probíhá epigenetické reprogramování také v jeho primordiálních zárodečných buňkách (F2). Ke stanovení, zda jsou epigenetické alterace předány transgeneračně, je proto nezbytné studium F3 generace (18, 19). V této souvislosti jsou zkoumány meioticky stabilní změny v DNA metylaci, exprese ncRNA a histonové modifikace (15). Experimentálně je doložen přenos mechanismem histonových modifikací a ncRNA v mužských zárodečných buňkách, uchováním metylace imprintovaných genů během demetylačního procesu v raném embryonálním vývoji a prostřednictvím transgenů, které vykazují odolnost vůči epigenetickému reprogramování v gametách i u embrya (17). Aktuálním tématem ve zkoumání transgenerační epigenetické dědičnosti je podíl repetitivních a transposibilních elementů (tj. segmentů DNA, které mohou měnit svoji pozici v genomu) a malých ncRNA, ovlivňujících epigenetické procesy v zárodečných buňkách. V tomto případě se jedná o endogenní malé interferující RNA (endo-siRNA) a malé RNA interagující s PIWI proteiny (piRNA) (16). Jednodušší je studium transgenerační epigenetické dědičnosti v otcovské linii, protože u matky dochází navíc k fyziologickým interakcím s potomkem během těhotenství. Ke zkoumání uvedených mechanismů je využíváno specifických animálních modelů, neboť humánní studie mohou mít pouze observační charakter (15). Epigenetické vzorce tedy mohou být přeneseny na další generace buď přímo, přetrváním během meiozy, nebo nepřímo, replikací v další generaci za podmínek, které tuto změnu indukují. Jedná se v podstatě o přenos informací o vlastnostech prostředí s cílem podpořit adaptaci a zajistit přežití. Vývojová plasticita sice umožňuje organismu adaptovat se na prostředí, ale případný nesoulad mezi prostředím predikovaným a reálným (např. životní styl soudobé společnosti charakterizovaný pozitivní energetickou bilancí) vede k indukcí fenotypu disponujícího pro rozvoj onemocnění a zesílení rizika pro několik následných generací (20). Efekty epigenetických změn se pak projeví v dalším životě jako výsledek kumulace inadekvátních odpovědí na environmentální stimuly (2).

### Postnatální vývoj

Epigenom nastavený během raného vývoje z velké části perzistuje do dospělosti, nicméně i postnatálně přetrvává jistá míra plasticity. Během života může např. dojít ke změně aktivity genů vázaných na X chromozom (ženské pohlaví) ve smyslu asymetrické inaktivace X chromozomu (asymetrické zastoupení aktivních genů od matky a otce) (21). Vlivy pocházející ze životního stylu rodiny ovlivňují vyvíjející se organismus v dětství a adolescenci. Environmentální a psychosociální faktory modifikují epigenetickými mechanismy vývoj mozku, jeho morfologické a funkční charakteristiky a vulnerabilitu vůči stresu s patofyziologickými a behaviorálními konsekvencemi (22). Užívání návykových látek v dětství a adolescenci je spojeno s dlouhodobými psychopatologickými změnami,

zprostředkovanými epigeneticky (23). Také v dospělosti mohou faktory environmentální (znečištění vzduchu, oxid uhelnatý, oxidy síry, azbest, alkohol, radiace, arzen aj.), behaviorální (kouření, výživa, pohybová aktivnost, spánkový deficit) a psychosociální epigeneticky modifikovat neuroendokrinní regulaci, metabolismus, funkce imunitního systému a narušovat klíčové buněčné procesy (reparace DNA, regulace buněčné smrti) (24). Tyto efekty participují na patogenezi komplexních chorob. Patofyziologické změny, provázející konkrétní onemocnění (chronický zánět, stavy hyperglykémie aj.), indukují další epigenetické modifikace, přispívající k progresi choroby a rozvoji komplikací (11). Fyziologická modulace genové exprese probíhá v rámci cirkadiánního rytmu, kdy dochází k pravidelným změnám acetylace histonů v genech, tzv. cirkadiánních hodin. Melatonin, hlavní hormonální regulátor cirkadiánního rytmu, moduluje histonovou acetylaci a DNA metylaci. Narušení těchto procesů (např. v důsledku spánkového deficitu) vede k neuroendokrinní a metabolické deregulaci a je asociováno např. s rizikem obezity nebo zhoubných nádorů (25, 26). Alterace metylace hodinových genů byla zjištěna také u Parkinsonovy choroby (27). Epigenom se mění přirozeně s věkem. Stárnutí je charakteristické epigenetickou nestabilitou; snížení metylační kapacity vede k celkové hypometylaci DNA a selektivní deregulaci epigenetických procesů s paradoxní hypermetylací určitých genových promotorů napříč genomem (7). To je zřejmě příčinou nárůstu malignit s věkem. Stále není jasné, zda tyto změny v epigenetických vzorcích jsou programované, či náhodné, pravděpodobně na nich participují genetické i vnější faktory. Kromě změn metylace se s věkem objevují také změny v miRNA i modifikaci histonů (7). Tkáňově specifické změny epigenomu se podílejí na fyziologickém procesu stárnutí a projevech chronických degenerativních poruch (snížení orgánových funkcí či kostní denzity, zhoršení paměti aj.) (7).

### Výživa a geny

Nutriční stav matky a její výživa během gravidity a laktace participují na metabolickém programování (28). Matčina obezita, nadměrný nárůst hmotnosti v graviditě a gestační diabetes jsou jasně prokázanými rizikovými faktory pro metabolické poruchy a KVO u potomků v dospělosti (11). Suboptimální výživa plodu modifikuje epigenetické procesy a indukuje tak změnu fenotypu ve smyslu dispozice k rozvoji komplexních chorob (diabetu, hypercholesterolémie, obezity, hypertenze, rakoviny, neurodegenerativních a afektivních poruch, schizofrenie aj.) (11). Dlouhodobé účinky mateřské výživy na epigenom potomků poprvé demonstrovala studie na dětech matek exponovaných hladomoru v r. 1944 (5). Charakter změny epigenomu závisí na tom, ve které fázi raného vývoje došlo k expozici, jak dlouho inzult trval a jaká byla jeho intenzita (2). Vliv diety je zkoumán především na zvířecích modelech a výsledky potvrzují, že kontrola hmotnosti a adekvátní přísun nutrientů v průběhu těhotenství a laktace jsou klíčové pro optimální nastavení metabolismu, endokrinní regulaci i funkce nervového systému. Těhotenská dieta s vysokým obsahem tuků je studována v souvislosti s obezitou; epigenetickými mechanismy narušuje periferní cirkadiánní systém plodu, vede k neuroendokrinním alteracím, které ovlivňují regulaci příjmu potravy, energetický metabolismus, mezokor-

tikolimbický systém odměny a preferenci tučného jídla (11). Nízkoenergetická dieta je asociována s rozvojem diabetu 2. typu a také s modulací stresové reaktivity (11). Nízkoproteinová dieta ovlivňuje regulaci krevního tlaku a disponuje k rozvoji hypertenze (11). Obsah proteinů ve stravě těhotných modifikuje také metabolismus tuků a cukrů a celkovou metylaci DNA potomka (3). Nejvíce studovanými dietními faktory jsou metylové donory (methionin, serin, folát, betain, cholin aj.), jejichž metylová skupina je využívána k metylaci DNA a histonů. Jednonukleotidové polymorfismy (SNP) genů regulujících metabolismus folátu a cholinu ovlivňují vnímavost k deficitu metylových donorů. Kyselina listová, jako kofaktor remetylace homocysteinu na methionin, má klíčovou úlohu pro optimální průběh genové exprese. Deficit folátu narušuje metylační procesy a snižuje míru genové exprese včetně exprese tumor-supresních genů; tak narůstá riziko vzniku vrozených vývojových vad, některých typů zhoubných nádorů, KVO a neurologických poruch (11). Suplementace folátem v humánních studiích redukovala riziko metabolického syndromu u dětí a naopak podávání vysokých dávek folátu v kombinaci s deficitem vit. B12 v graviditě korelovalo se zvýšeným rizikem inzulínové rezistence a obezity potomků (11). Výzkum usiluje o nalezení epigenetických biomarkerů k časně identifikaci jedinců s rizikem rozvoje komplexního onemocnění. Jsou zkoumány možnosti terapeutických (nutričních či farmakologických) intervencí, které by korigovaly epigenetické změny navozené environmentálním inzultem in utero. V této souvislosti jsou studovány foláty, isoflavon genistein, leptin, omega 3 PUFA, minerály, vitaminy B, D a řada dalších (5, 28). Bioaktivní komponenty potravy mohou modifikovat genovou expresi celoživotně. Jedním z mechanismů je ovlivnění dostupnosti univerzálního metylového donoru S-adenosil methioninu. Na metabolickém procesu jeho vzniku se podílejí: vitaminy B6 a B12, folát, betain, cholin, aminokyseliny methionin, cystein, serin a glycin. Pokud chybí některá z komponent, DNA metylace a histonová modifikace jsou narušeny. K tomu dochází zejména při deficienci vitaminu B, která často provází chronickou konzumaci alkoholu. Nízký příjem folátu v průběhu života pozitivně koreluje s výskytem schizofrenie a nádorových onemocnění (29). Předmětem studia je celá řada nutrientů s epigenetickým potenciálem: minerály (zinek, selen), vitaminy (retinol, kyselina askorbová, tokoferol, karotenoid lykopen), polyfenoly (epigallocatechin-3-gallate v zeleném čaji, fytoestrogen genistein v sóji, resveratrol v hroznovém vínu, kurkumin v kurkumě), organické sloučeniny síry (sulforaphan v brokolici, dialyl disulfid v česneku), polynenasycené mastné kyseliny (PUFA), zejména omega 3 PUFA, mastné kyseliny s krátkým řetězcem (11, 28). Z mastných kyselin např. butyrát vzniká v gastrointestinálním traktu trávením vlákniny střevní mikroflórou; je zdrojem energie pro buňky tlustého střeva a představuje pravděpodobně spojovací článek mezi epigenetickými mechanismy a změnou mikrobiomu při obezitě (11).

Nutriční epigenomika tak směřuje k prevenci nemoci a oddálení stárnutí prostřednictvím diety, nicméně výzkum v této oblasti má své limity. Epigenetické znaky jsou tkáňově specifické, a proto lze výsledky výzkumu na buněčných liniích či tkáních jen obtížně extrapolovat na celý organismus. Studie na modelových organismech zase pracují s geneticky podobnými (inbredními) jedinci

a genetické faktory mohou účinek prostředí na genom druhově specificky modifikovat. U epigenetických studií na člověku je obtížné odlišit, zda jsou změny vyvolány prostředím, anebo geneticky. Ve srovnání se zvířecími modely jsou lidé exponováni většímu spektru environmentálních faktorů, které mohou s geny interagovat. Je proto těžké odvodit epigenetické efekty konkrétních environmentálních vlivů (3). Poznatky o vlivu výživy na epigenom mají významné konsekvence pro prevenci nemocí na individuální i populační rovině (17). Je třeba stanovit optimální strategie pro zlepšení zdraví těhotných žen a novorozenců. S tím naléhavě souvisí kouření těhotných a problematiku substituční terapie nikotinem v graviditě a během laktace (30).

### Kouření a geny

Kvalita životního prostředí (ovzduší, pitná voda, UV záření atd.) a expozice škodlivinám (endokrinní disruptory, mutageny, karcinogeny z ovzduší, cigaretového kouře a pracovního prostředí, škodlivé látky a kontaminanty v potravinách aj.) celoživotně ovlivňují zdraví jedince. Mohou iniciovat genotoxické procesy, ale také indukovat epigenetické změny s transgeneračním efektem (18). Kouření je nejvýznamnějším izolovaným preventabilním faktorem životního stylu a také nejčastější příčinou zhoršených podmínek intrauterinního vývoje ve vyspělých zemích. Prenatální expozice kouření je jednoznačně asociována se zvýšením rizika KVO, obezity, diabetu 2. typu, chronické obstrukční nemoci plic (CHOPN), astmatu, rakoviny, poruch reprodukce a neurobehaviorálních poruch (18, 31). Cigaretový kouř obsahuje velké množství chemických látek (především nikotin, dehet, polycyklické aromatické uhlovodíky, arzen, kadmium aj.), z nichž mnohé mají mutagenní, karcinogenní a epigenetické účinky (32). Škodliviny z krevního oběhu matky různou měrou procházejí placentární bariérou do krevního oběhu plodu. Některá xenobiotika jsou v placentě zadržována a ovlivňují její morfologické a funkční charakteristiky s nepříznivými důsledky pro růst a vývoj plodu (intrauterinní růstová retardace) (19). Rychle se dělící buňky plodu i extraembryonální tkáň jsou velmi citlivé k účinkům cizorodých látek. Účinek závisí na délce a intenzitě expozice a na jejím načasování. Hlavní fyziologicky aktivní komponentou cigaretového kouře je nikotin. Je rychle absorbován z respiračního traktu a placentární bariérou přestupuje do krevního oběhu plodu, kde jsou jeho koncentrace obdobné jako v krvi matky (30). Většina nikotinu z fetálního oběhu je metabolizována matkou, ale část se fetální močí vyloučí do amniotické tekutiny, odkud může být zpět resorbován kůží. Mechanismy enzymatické ochrany plodu nejsou plně vytvořeny, proto je metabolismus nikotinu ve fetálních játrech pomalý, koncentrace nikotinu ve fetálních tkáních jsou vyšší než v krvi matky; plod je tedy exponován vyšší koncentrací po delší dobu. Hladina nikotinu v mateřském mléce je 2–3x vyšší než v plazmě matky. Metabolity nikotinu nitrosaminy mají genotoxické účinky. Nikotin indukuje epigenetické změny, podporuje oxidační proces a je spolu s dalšími komponentami cigaretového kouře zdrojem oxidačního stresu (30). Jeho působením dochází k převaze oxidačních procesů, redukcí účinnosti DNA polymerasy a DNA reparačních enzymů, což vede ke strukturálním změnám DNA, nepřesné replikaci a mutacím. To negativně ovlivňuje růst a vývoj dítěte, vnímavost

k nemocem a podporuje degenerativní procesy (30). Dle současných poznatků prenatální expozice kouření cestou epigenetického programování metabolismu disponuje jedince k obezitě (podpora tvorby tukové tkáně v pozdějším věku, vyšší intraabdominální hromadění tuku, centrální a periferní hypoaktivita), dyslipidémií, rozvoji aterosklerózy, hypertenzi (reprogramování mechanismů kontroly krevního tlaku), zvyšuje prevalenci diabetu 2. typu, nepříznivě ovlivňuje respirační funkce, narušuje vývoj plic, strukturu a stárnutí plicních tkání, zvyšuje riziko rozvoje respiračních chorob (astma, CHOCHP) (31) (18). Epigenetické změny indukované kouřením na úrovni placenty narušují její funkce a jsou asociovány s intrauterinní růstovou retardací (33, 24). Nikotin i další složky cigaretového kouře ovlivňují globální i genově specifickou metylaci DNA; prenatálně indukované změny přetrvávají do dětství a adolescence (33). Kouření rodičů pre- i perikoncepčně je spojováno s transgeneračním přenosem epigenetických modifikací (24). Kouření má závažné zdravotní důsledky, přesto zůstávají postoje vůči kouření v naší společnosti velmi benevolentní.

### Geny ovlivňují životní styl a modifikují účinek chování

Komplexní nemoci mají polygenní základ ovlivňovaný environmentálními faktory. Kombinace genotypu a epigenotypu určuje vnímavost ke vzniku onemocnění a jeho komplikací. Genové polymorfismy představují dispozici k rozvoji komplexních chorob také ve smyslu jisté determinace životního stylu a ovlivnění vnímavosti k jednotlivým jeho faktorům. Příkladem takového působení jsou specifické SNP v CD14 genu, které v kombinaci s kouřením vedou k signifikantní alteraci produkce IgE, uplatňující se v patogenezi astmatu (8). Varianty detoxifikačních genů zase modulují efekt intrauterinní expozice tabáku orientací metabolismu chemických látek na tvorbu biologicky aktivnějších metabolitů (34). Závislost na nikotinu je komplexní jev, na němž se podílí mnoho genů. Studie na dvojčatech prokazují vysoký stupeň dědičnosti (přibližně 50 %), geny ovlivňují počátek i trvání kouření, rozvoj závislosti, počet denně vykouřených cigaret i úspěšnost léčby nikotinismu (35). Genetická vloha modifikuje výživové zvyklosti, časové vzorce příjmu potravy a jídelní preference. Byla prokázána signifikantní asociace některých SNP v genech kódujících adipokiny se specifickou strukturou stravy (množství tuku a sacharidů ve stravě) (36). Genetická predispozice ovlivňuje také abusivní pití alkoholu, časný počátek pití, pití spojené se stresem i rozvoj závislosti (37).

### Snížení genetického rizika u komplexních chorob lze dosáhnout změnou chování

Chování tvořící životní styl není pouze přídatným faktorem ke genetické výbavě, ale aktivním činitelem ovlivňujícím fenotyp jedince. Vezmeme-li v úvahu behaviorální či environmentální modifikaci genové exprese, většina genových polymorfismů má malý nebo žádný efekt, pokud nejsou v kombinaci s nezdravým chováním (38). Pohyb má mnoho příznivých účinků na zdraví a některé z nich jsou epigeneticky zprostředkovány. Mechanismy tohoto působení nejsou zcela objasněny, předpokládá se vliv hormonů, oxidačního stresu, mediátorů zánětu a změn přísunu živin buňkám (11). Bezprostředně po 60minutovém cvičení dochází v kosterní svalové tkáni ke změnám v histonové modi-

fikaci, remodelaci chromatinu a transkripční aktivaci. Jedinci s vyšší pohybovou aktivností mají signifikantně vyšší úroveň globální genomické DNA metylace v periferní krvi než ti s nízkou pohybovou aktivností (39). Epigenetika se podílí na ochranném účinku pohybu ve vztahu k nádorům; např. zvýšená pohybová aktivnost po dobu jednoho roku byla inverzně asociována s hypermetylací promotoru tumor supresního genu APC u rakoviny prsu (40). Animální modely naznačují, že také část neuroprotektivních účinků cvičení je zprostředkována epigeneticky (41). Zvýšení pohybové aktivnosti prokazatelně zmírňuje projevy genetické predispozice k obezitě; dle odhadů podle počtu rizikových alel je fyzicky aktivní životní styl spojen se 40% redukcí genetického rizika (38). Účinek pohybové aktivnosti se projevuje i v souvislosti s genem FTO, jenž silně ovlivňuje vnímavost jedince k rozvoji obezity (42). Asociace rizikové alely genu FTO s obezitou je snížena o 27 % u fyzicky aktivních dospělých osob oproti neaktivním (42). Uvedená zjištění podtrhují význam pohybové aktivnosti zejména u osob k obezitě geneticky predisponovaných. Dalším genem asociovaným s obezitou je CTSS gen kódující catalepsin S, protein podporující rozvoj tukové tkáně. Účinek běžných variant tohoto genu (SNP) může být modifikován obsahem proteinů v dietě (43). Dieta s vysokým obsahem masa, obilovin, mléka, tuků a brambor je asociována s celkovou DNA hypometylací, na rozdíl od stravy s vysokým obsahem ovoce a zeleniny, která vykazuje protektivní účinek (44). Redukce hmotnosti v důsledku nízkoenenergetické diety u dospělých jedinců ovlivňuje úroveň metylace řady genů v podkožní tukové tkáni, včetně genů účastnících se kontroly hmotnosti a sekrece inzulinu nebo asociovaných s procesem angiogeneze či deprese (45). Kalorická restrikce bez redukce esenciálních nutrientů se v animálních modelech jeví jako efektivní environmentální faktor pro prodloužení života a pravděpodobně participuje na oddálení s věkem spojených degenerativních chorob také u lidí (46). Výzkum hodnotící data účastníků studie INTERHEART a prospektivní studie FINRISK prokázal, že riziko infarktu myokardu a KVO, asociované se SNP v chromozomální oblasti 9p21, je modifikovatelné stravovacími návyky, v tomto případě dostatečnou konzumací syrového ovoce a zeleniny (47).

V souvislosti s účinky faktorů životního stylu na zdraví je zajímavé zjištění týkající se postojů ke zdraví. Jedinci s vyšším behaviorálním rizikem mají tendenci vysvětlovat vznik onemocnění přítomností genetické dispozice (48) a vliv behaviorálních faktorů naopak podceňují. V konečném důsledku pak nepovažují za důležité dozvědět se více o možnosti ovlivnění rizika životním stylem. Je otázkou, zda je tento jejich postoj příčinou behaviorálního rizika a přetrvávání nezdravých návyků, nebo je naopak výsledkem neúspěšných pokusů realizovat doporučení ke změně životního stylu. Právě osoby, u nichž je nejvíce potřebná úprava životního stylu, mají tendenci podhodnocovat doporučení ke změně a na behaviorální intervenci reagují defenzivně. Jejich přesvědčení o kauzálním vlivu genetiky však skýtá potenciál k obnovení zájmu o životní styl vysvětlením vzájemných vztahů genů, chování a zdraví (49) a při správné interpretaci může podpořit realizaci behaviorální změny. Poznatky o interakci geny-prostředí tak mohou ovlivnit chování.

## Závěr

Epigenetický výzkum přináší porozumění principům tvorby vývojového základu nemoci a mechanismům, jimiž nutriční, behaviorální, psychosociální a jiné vnější faktory ovlivňují fenotyp exponovaného jedince a další generace jeho potomků. Poznání o proměnách epigenomu během života otevírá do budoucna nové možnosti prevence. Nicméně již nyní lze dosáhnout mnoho dobrého zvýšením informovanosti veřejnosti o účinku časných environmentálních vlivů na zcela konkrétní pozdější riziko komplexních chorob a o podstatě preventivního potenciálu zdravého životního stylu. Plné uvědomění si těchto souvislostí může přispět k převzetí odpovědnosti za zdraví na individuální úrovni, ke zvýšení motivace a compliance jedinců indikovaných ke změně životního stylu, ale také ke změně postojů k rizikovému chování na úrovni společnosti.

### Poděkování:

Podpořeno Evropským fondem pro regionální rozvoj – projektem FNUSA-ICRC (Reg. č. CZ.1.05/1.1.00/02.0123) a Ministerstvem zdravotnictví – grant IGA (NT 13434-4/2012).

### LITERATURA

1. Marian AJ. Molecular genetic studies of complex phenotypes. *Transl Res.* 2012 Feb;159(2):64-79.
2. Hanson M, Godfrey KM, Lillycrop KA, Burdge GC, Gluckman PD. Developmental plasticity and developmental origins of non-communicable disease: theoretical considerations and epigenetic mechanisms. *Prog Biophys Mol Biol.* 2011 Jul;106(1):272-80.
3. Tammen SA, Friso S, Choi SW. Epigenetics: the link between nature and nurture. *Mol Aspects Med.* 2012 Aug 10. In press.
4. Skinner MK. Role of epigenetics in developmental biology and transgenerational inheritance. *Birth Defects Res C Embryo Today.* 2011 Mar;93(1):51-5.
5. Chen M, Zhang L. Epigenetic mechanisms in developmental programming of adult disease. *Drug Discov Today.* 2011 Dec;16(23-24):1007-18.
6. Maccani MA, Marsit CJ. Epigenetics in the parent. *Am J Reprod Immunol.* 2009 Aug;62(2):78-89.
7. Huidobro C, Fernandez AF, Fraga MF. Aging epigenetics: causes and consequences. *Mol Aspects Med.* 2012 Jul-Aug;34(4):765-81.
8. Durham AL, Wiegman C, Adcock IM. Epigenetics of asthma. *Biochim Biophys Acta.* 2011 Nov;1810(11):1103-9.
9. Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis.* 2010 Jan;31(1):27-36.
10. Udali S, Guarini P, Moruzzi S, Choi S-W, Friso S. Cardiovascular epigenetics: from DNA methylation to microRNAs. *Mol Aspects Med.* 2012 Sep 6. doi: 10.1016/j.mam.2012.08.001.
11. Milagro FI, Mansego ML, De Miguel C, Martínez JA. Dietary factors, epigenetic modifications and obesity outcomes: progresses and perspectives. *Mol Aspects Med.* 2012 Jul-Aug;34(4):782-812.
12. Sapienza C, Lee J, Powell J, Erinle O, Yafai F, Reichert J, et al. DNA methylation profiling identifies epigenetic differences between diabetes patients with ESRD and diabetes patients without nephropathy. *Epigenetics.* 2011 Jan;6(1):20-8.
13. Lillycrop KA, Burdge GC. Epigenetic mechanisms linking early nutrition to long term health. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2012 Oct;26(5):667-76.
14. Silva JM, Perez DS, Pritchett JR, Halling ML, Tang H, Smith DI. Identification of long stress-induced non-coding trans-

- cripts that have altered expression in cancer. *Genomics*. 2010 Jun;95(6):355-62.
15. Roseboom TJ, Watson ED. The next generation of disease risk: Are the effects of prenatal nutrition transmitted across generations? Evidence from animal and human studies. *Placenta*. 2012 Nov;33 Suppl 2:e40-4.
  16. Daxinger L, Whitelaw E. Understanding transgenerational epigenetic inheritance via the gametes in mammals. *Nat Rev Genet*. 2012 Jan 31;13(3):153-62.
  17. Drake AJ, Liu L. Intergenerational transmission of programmed effects: public health consequences. *Trends Endocrinol Metab*. 2010 Apr;21(4):206-13.
  18. Perera F, Herbstman J. Prenatal environmental exposures, epigenetics, and disease. *Reprod Toxicol*. 2011 Apr;31(3):363-73.
  19. Nelissen EC, van Montfoort AP, Dumoulin JC, Evers JL. Epigenetics and the placenta. *Hum Reprod Update*. 2011 May-Jun;17(3):397-417.
  20. Gluckman PD, Hanson MA, Buklijas T, Low FM, Beedle AS. Epigenetic mechanisms that underpin metabolic and cardiovascular diseases. *Nat Rev Endocrinol*. 2009 Jul;5(7):401-8.
  21. Wong CC, Caspi A, Williams B, Houts R, Craig IW, Mill J. A longitudinal twin study of skewed X chromosome-inactivation. *PLoS One*. 2011 Mar 22;6(3):e17873.
  22. Murgatroyd C, Spengler D. Epigenetics of early child development. *Front Psychiatry*. 2011;2:16.
  23. Toyokawa S, Uddin M, Koenen KC, Galea S. How does the social environment 'get into the mind'? Epigenetics at the intersection of social and psychiatric epidemiology. *Soc Sci Med*. 2012 Jan;74(1):67-74.
  24. Maccani MA, Knopik VS. Cigarette smoke exposure-associated alterations to non-coding RNA. *Front Genet*. 2012;3:53.
  25. Blask DE. Melatonin, sleep disturbance and cancer risk. *Sleep Med Rev*. 2009 Aug;13(4):257-64.
  26. Sukumaran S, Almon RR, DuBois DC, Jusko WJ. Circadian rhythms in gene expression: Relationship to physiology, disease, drug disposition and drug action. *Adv Drug Deliv Rev*. 2010 Jul 31;62(9-10):904-17.
  27. Lin Q, Ding H, Zheng Z, Gu Z, Ma J, Chen L, et al. Promoter methylation analysis of seven clock genes in Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2012 Jan 24;507(2):147-50.
  28. Jiménez-Chillarón JC, Díaz R, Martínez D, Pentinat T, Ramón-Krauel M, Ribó S, et al. The role of nutrition on epigenetic modifications and their implications on health. *Biochimie*. 2012 Nov;94(11):2242-63.
  29. Lima SC, Ribeiro Pinto L, Herceg Z. The effects of diet on epigenetic processes - chapter 27. In: Tollefsbol T, editor. *Handbook of epigenetics: the new molecular and medical genetics*. San Diego: Academic Press; 2011. p. 449-58.
  30. Maritz GS. Perinatal exposure to nicotine and implications for subsequent obstructive lung disease. *Paediatr Respir Rev*. 2013 Mar;14(1):3-8.
  31. Hrubá D. Riziko kouření v těhotenství se stále podceňuje. Tolerovat kouření v těhotenství je neodborné a neetické. *Prakt Gyn*. 2011;15(1):34 -9.
  32. Suter M, Ma J, Harris A, Patterson I, Brown KA, Shope C, et al. Maternal tobacco use modestly alters correlated epigenome-wide placental DNA methylation and gene expression. *Epigenetics*. 2011 Nov;6(11):1284-94.
  33. Breton CV, Byun HM, Wenten M, Pan F, Yang A, Gilliland FD. Prenatal tobacco smoke exposure affects global and gene-specific DNA methylation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 Sep 1;180(5):462-7.
  34. Aagaard-Tillery KM, Suter MA, Harris A, Abramovici A, Cantu J. Epigenetics and reproduction and the developmental origins of health and disease. *Anim Reprod*. 2010 Jul-Sep;7(3):103-16.
  35. Benowitz NL. Nicotine addiction. *N Engl J Med*. 2010 Jun 17;362(24):2295-303.
  36. Bienertová-Vašků J, Bienert P, Forejt M, Tomandl J, Brázdová Z, Vašků A. Genotype X nutrient association of common polymorphisms in obesity-related genes with food preferences and time structure of energy intake. *Br J Nutr*. 2010 Feb;103(3):352-9.
  37. Young-Wolff KC, Kendler KS, Prescott CA. Shared genetic contributions to early-onset drinking and drinking to cope motives. *Addict Behav*. 2012 Oct;37(10):1176-80.
  38. Fisher EB, Fitzgibbon ML, Glasgow RE, Haire-Joshu D, Hayman LL, Kaplan RM, et al. Behavior matters. *Am J Prev Med*. 2011 May;40(5):e15-30.
  39. Zhang FF, Cardarelli R, Carroll J, Zhang S, Fulda KG, Gonzalez K, et al. Physical activity and global genomic DNA methylation in a cancer-free population. *Epigenetics*. 2011 Mar;6(3):293-9.
  40. Coyle YM, Xie XJ, Lewis CM, Bu D, Milchgrub S, Euhus DM. Role of physical activity in modulating breast cancer risk as defined by APC and RASSF1A promoter hypermethylation in nonmalignant breast tissue. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007 Feb;16(2):192-6.
  41. Elsner VR, Lovatell GA, Bertoldi K, Vanzella C, Santos FM, Spindler C, et al. Effect of different exercise protocols on histone acetyltransferases and histone deacetylases activities in rat hippocampus. *Neuroscience*. 2011 Sep 29;192:580-7.
  42. Kilpeläinen TO, Qi L, Brage S, Sharp SJ, Sonestedt E, Demerath E, et al. Physical activity attenuates the influence of FTO variants on obesity risk: a meta-analysis of 218,166 adults and 19,268 children. *PLoS Med*. 2011 Nov;8(11):e1001116.
  43. Hooton H, Ångquist L, Holst C, Hager J, Rousseau F, Hansen RD, et al. Dietary factors impact on the association between CTSS variants and obesity related traits. *PLoS One*. 2012;7(7):e40394.
  44. Zhang FF, Morabia A, Carroll J, Gonzalez K, Fulda K, Kaur M, et al. Dietary patterns are associated with levels of global genomic DNA methylation in a cancer-free population. *J Nutr*. 2011 Jun;141(6):1165-71.
  45. Bouchard L, Rabasa-Lhoret R, Faraj M, Lavoie MÈ, Mill J, Pèrusse L, et al. Differential epigenomic and transcriptomic responses in subcutaneous adipose tissue between low and high responders to caloric restriction. *Am J Clin Nutr*. 2010 Feb;91(2):309-20.
  46. Speakman JR, Mitchell SE. Caloric restriction. *Mol Aspects Med*. 2011 Jun;32(3):159-221.
  47. Do R, Xie C, Zhang X, Männistö S, Harald K, Islam S, Bailey SD, et al. The effect of chromosome 9p21 variants on cardiovascular disease may be modified by dietary intake: evidence from a case/control and a prospective study. *PLoS Med*. 2011 Oct;8(10):e1001106.
  48. Wang C, Coups EJ. Causal beliefs about obesity and associated health behaviors: results from a population-based survey. *Int J Behav Nutr Phys Act*. 2010 Mar 3;7:19.
  49. O'Neill SC, McBride CM, Alford SH, Kaphingst KA. Preferences for genetic and behavioral health information: the impact of risk factors and disease attributions. *Ann Behav Med*. 2010 Oct;40(2):127-37.

*Došlo do redakce:* 27. 8. 2012

*Přijato k tisku:* 26. 10. 2012

MUDr. Šárka Kunzová  
Ústav preventivního lékařství LF MU  
Kamenice 5  
625 00 Brno  
E-mail: kunzova.s@seznam.cz