UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Nutrigenomica: come modificare l'espressione genica con una dieta a base vegetale

Tesi di Laurea di:
Chiara De Caris

Docente Referente
Chiar.mo Prof. Marco Barucca

La nutrigenomica è la “disciplina che studia le relazioni tra il cibo e la struttura del Dna individuale, formulando modelli di alimentazione personalizzati. Si tratta della nuova disciplina che applica la genetica alla scienza della nutrizione. Lo scopo è disegnare diete su misura per ogni persona, partendo dall’analisi del suo Dna. La nutrigenomica consente di individuare gli alimenti più appropriati per ciascuno di noi. Il cibo diventa così una sorta di farmaco naturale preventivo.” [1]

Una dieta plant-based è ricca di elementi fitochimici che possono influenzare l’espressione genica.

[2]

Primo studio

Transcriptional changes in prostate of men on active surveillance after a 12-mo glucoraphanin-rich broccoli intervention—results from the Effect of Sulforaphane on prostate CAncer PrEvention (ESCAPE) randomized controlled trial [3]

<u>Cambiamenti trascrizionali nella prostata di uomini in sorveglianza attiva dopo assunzione di broccoli per 12 mesi</u>

Studio in doppio cieco controllato randomizzato parallelo a tre bracci.

49 uomini (all'inizio 61) in sorveglianza attiva → Biopsia prostatica a T0 e T12

Rilevazione cambiamenti nell'espressione genica in risposta a diete ricche di glucorafanina e analisi metaboliti

300 ml di zuppa di broccoli a settimana di 3 tipi in base al gruppo (diverse concentrazioni di glucorafanina)

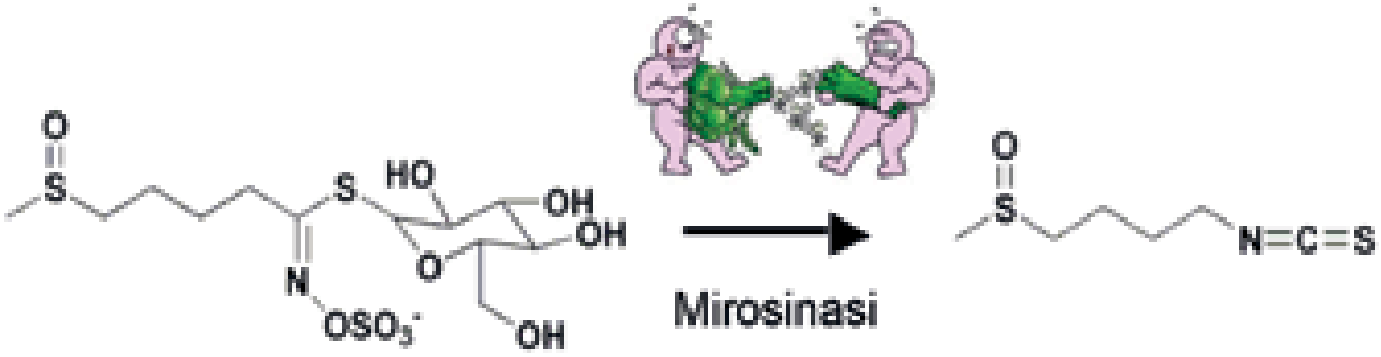
L'espressione genica nei tessuti di ogni paziente è stata quantificata, prima e dopo l'intervento dietetico, mediante sequenziamento dell'RNA

Glucosinolati (glicosidi contenenti zolfo ad esempio glucorafanina)

Tioglucosidasi di origine vegetale
oppure
Attività microbica del colon

- Glucosinolati con catene laterali alifatiche o aromatiche → Isotiocianati (sulforafano)
- Glucosinolati con catene laterali dell'indolo → Indolo-3-carbinolo e metaboliti associati

S-metil cisteina solfossido (SMCSO) → metaboliti bioattivi

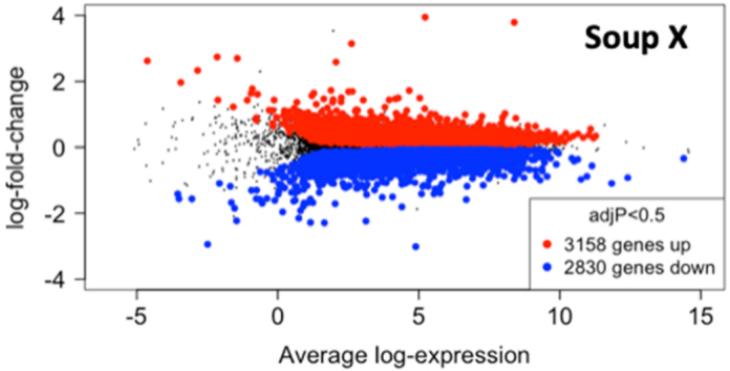


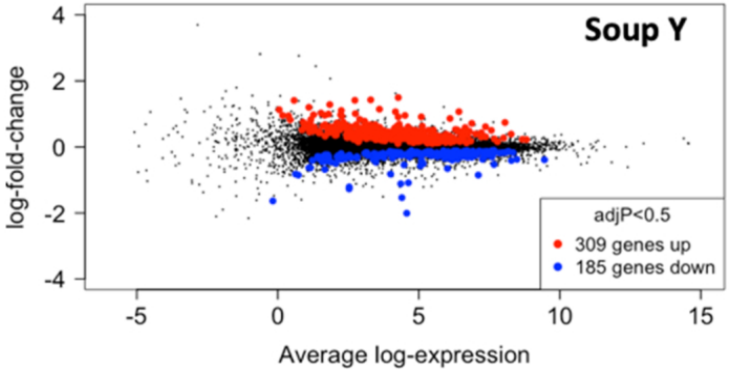
Glucosinolato: Glucorafanina

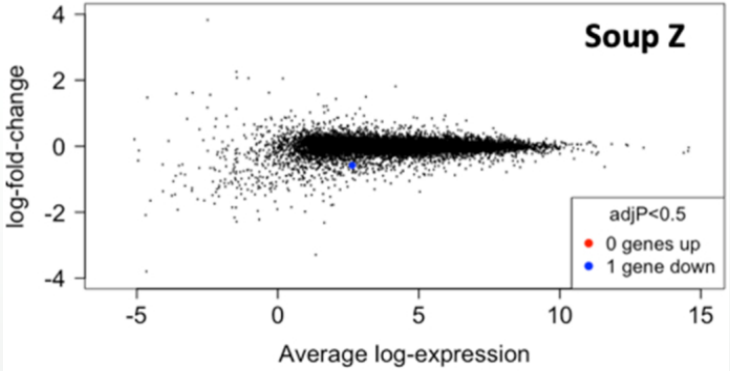
Isotiocianato: Sulforafane

[4]

Gruppo 1 (controllo)	Zuppa X genotipo *Myb28* B / B 72 ± 2,8 µmol di 4-metilsolfinilbutil glucosinolato (glucorafanina)
Gruppo 2	zuppa Y *Genotipo Myb28* B / V (V rappresenta un allele *Myb28* introgresso da *B. villosa)* *214 ± 7,3* µmol di 4-metilsolfinilbutil glucosinolato (glucorafanina)
Gruppo 3	Zuppa Z *Genotipo Myb28* V / V 492 ± 3,2 µmol di 4-metilsolfinilbutil glucosinolato (glucorafanina)


Soup X
log-fold-change
Average log-expression
adjP<0.5
3158 genes up
2830 genes down


Soup Y
log-fold-change
Average log-expression
adjP<0.5
309 genes up
185 genes down


Soup Z
log-fold-change
Average log-expression
adjP<0.5
0 genes up
1 gene down

Gruppo 1	Cambiamenti significativi nella trascrizione genica (diverse centinaia). Rischio di carcinogenesi. La quantità di glucorafanina consumata era inferiore alla soglia riportata negli studi epidemiologici per ridurre il rischio di progressione del cancro.
Gruppo 2	Minori cambiamenti nell'espressione genica.
Gruppo 3	Soppressione totale dei cambiamenti dell'espressione genica.

I cambiamenti nell'espressione genica sono dose-dipendenti.

Considerazioni finali:

Sulforafano

↓

Stress ossidativo acuto

↓

Induzione di geni regolati da NRF2

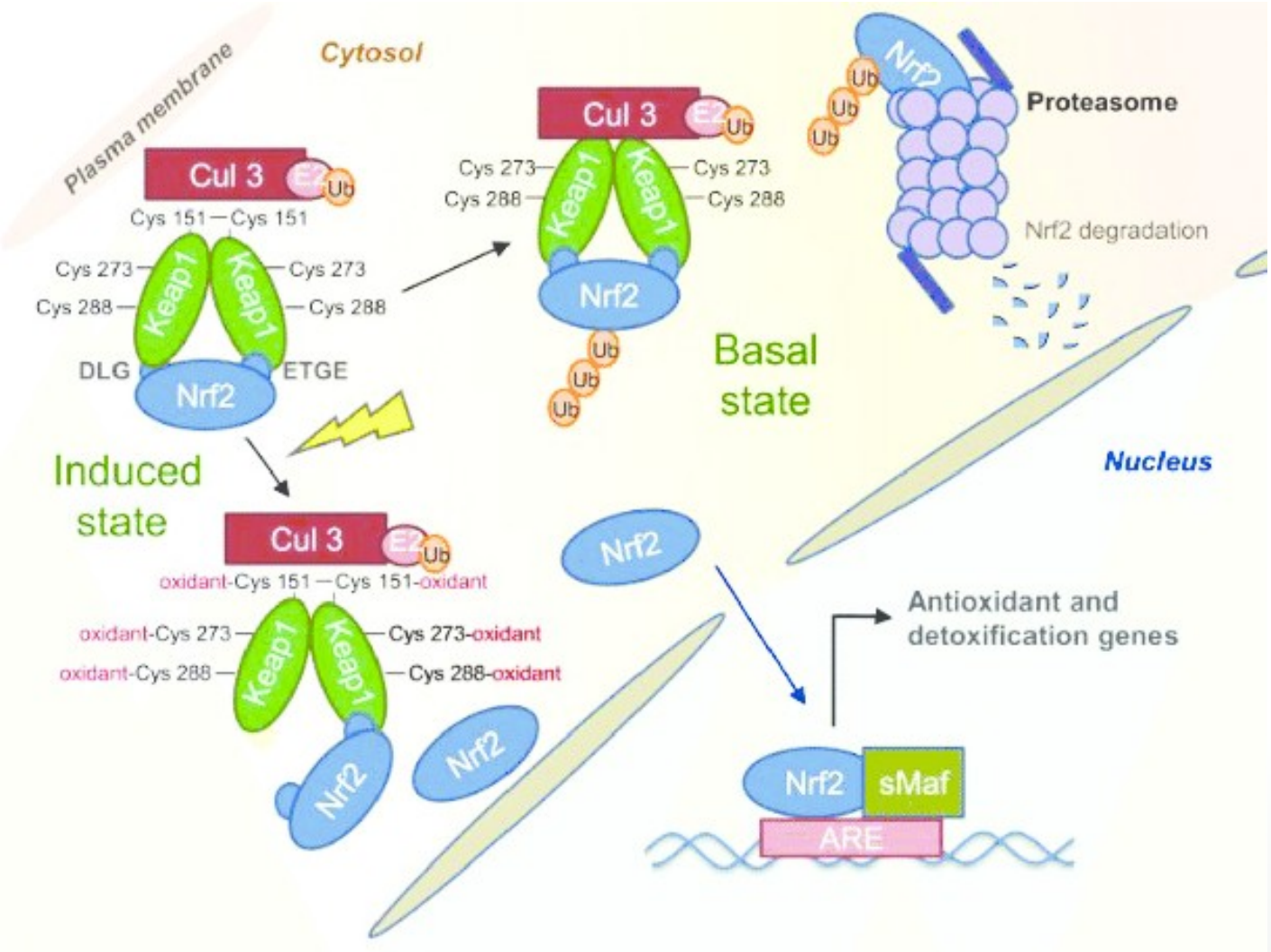
↓

Modulazione stato redox cellulare

↓

Effetto antiaging (come per altre malattie croniche dovute all’età)

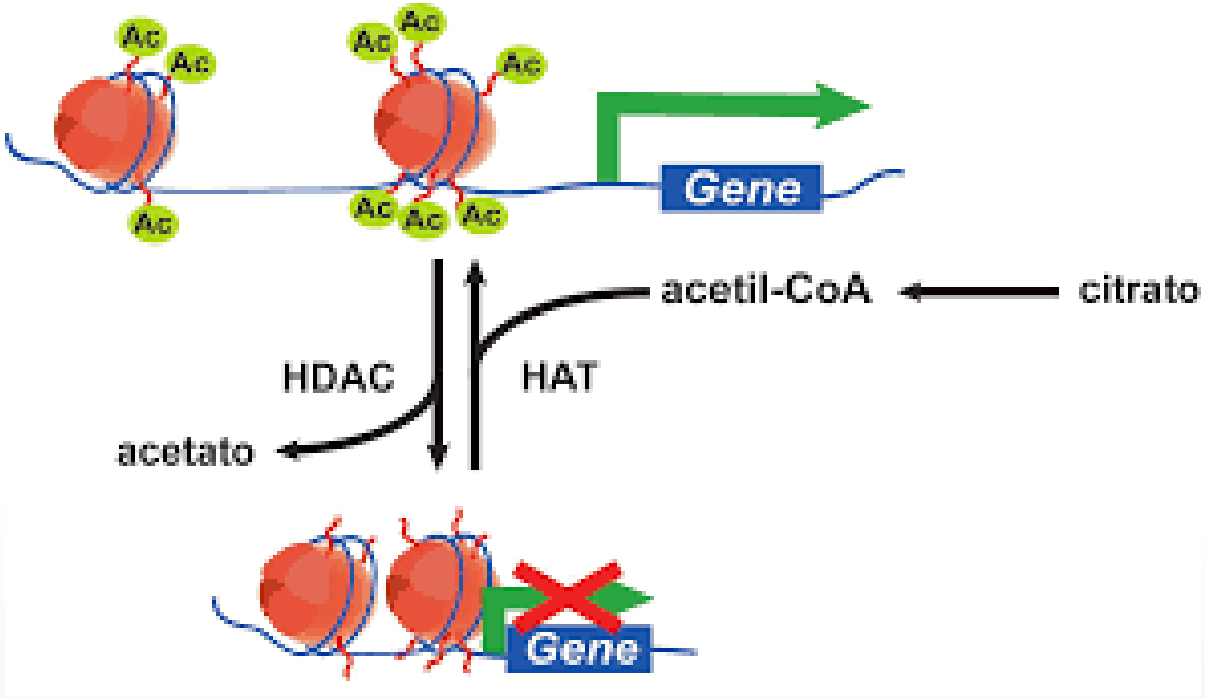
Non sono stati osservati cambiamenti nell’espressione dei geni regolati da NRF2, probabilmente perché si verificano nelle poche ore immediatamente successive al consumo, ma l’esposizione regolare, una volta a settimana, può migliorare o stabilizzare lo stato redox del tessuto prostatico che inibisce cambiamenti dell’espressione genica associati alla carcinogenesi


Cytosol
Plasma membrane
Cul 3
E2
Ub
Cys 151
Cys 151
Cys 273
Cys 273
Cys 288
Cys 288
Keap1
Keap1
DLG
ETGE
Nrf2
Cul 3
E2
Ub
Cys 273
Cys 273
Cys 288
Cys 288
Keap1
Keap1
Nrf2
Ub
Ub
Ub
Basal state
Nrf2
Ub
Ub
Ub
Proteasome
Nrf2 degradation
Induced state
Cul 3
E2
Ub
oxidant-Cys 151
Cys 151-oxidant
oxidant-Cys 273
Cys 273-oxidant
oxidant-Cys 288
Cys 288-oxidant
Keap1
Keap1
Nrf2
Nrf2
Nrf2
Nucleus
Antioxidant and detoxification genes
Nrf2
sMaf
ARE

[5]

- In alternativa gli effetti potrebbero essere causati da regolazione epigenetica

Riduzione della deacetilazione dell'istone 3 (HDAC3) e alterazione della metilazione globale del DNA delle cellule prostatiche



[6]

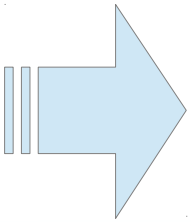
In conclusione i risultati di questo studio sono coerenti con quelli dei precedenti, secondo cui diete ricche di glucosinolati sono inversamente correlate con l'incidenza o la progressione del cancro alla prostata, quindi se ne raccomanda il consumo per mantenere e promuovere la salute

Secondo studio

<u>Considerazioni sui modulatori dietetici materni per la regolazione epigenetica e la programmazione dell'epigenoma fetale</u>

Fattori dietetici:

metionina (~ 10 mmol di metile / giorno)
5metilTHF (~ 5-10 mmol di metile / giorno)
colina (~ 30 mmoli metile / giorno)



metilazione

↓

Modificazione colore mantello prole in topi agouti

Curcumina	Riduce la metilazione del DNA
Genisteina (fitoestrogeno della soia)	• Inibizione dose-dipendente dei DNMT. • L'esposizione prenatale influenza l'eritropoiesi fetale. Induce alterazioni per tutta la vita nell'espressione genica e nella metilazione del DNA delle cellule ematopoietiche.
Sulforafano	DNMT1 "downregulated" e induzione demetilazione del gene della ciclina D2 (CCND2) nella linea cellulare Caco-2 dell'adenocarcinoma colorettale umano.
Isotiocianati (verdure crucifere)	Demetilazione e riespressione di GSTP1.
Resveratrolo	• Fitoalessina polifenolica presente nella buccia dell'uva. • Debole inibitore di DNMT.

Quercetina	• Flavonoide abbondante in cipolle, tè verde, mele e frutti di bosco • Attiva HAT e inibisce HDAC
Resveratrolo, sulforafano, diallil solfuro	Inibiscono HDAC
Curcumina	• Inibisce HAT tramite legame covalente agli enzimi HAT • Previene iperacetilazione dell'istone mediante induzione di HDAC
EGCG, curcumina, genisteina, sulforafano e resveratrolo	• Regolazione miRNA • Proprietà antitumorali

Nuovo campo di ricerca sull'epigenetica nutrizionale → Prevenzione malattie croniche in età adulta

La nutrigenomica studia come i fattori nutrizionali influenzano l'espressione genica. Una dieta plant-based ha effetti positivi sulla prevenzione di numerose patologie.
Un'alimentazione ricca di verdure crucifere, contenenti glucorafanina, convertita poi in sulforafano,sopprime i cambiamenti trascrizionali che porterebbero a carcinogenesi. Si è visto che questo meccanismo è dose-dipendente, in quanto bassi livelli di glucorafanina non riescono a bloccare i processi cancerosi.
Il primo studio ha analizzato 3 gruppi di uomini in sorveglianza attiva per tumore alla prostata, a cui sono stati somministrati 300 ml di zuppa di broccoli a settimana. I livelli di glucorafanina erano bassi nel primo gruppo (controllo), intermedi nel secondo e alti nel terzo.
In seguito a biopsia prima e dopo un periodo di dieta di 12 mesi, l'RNA è stato sequenziato e si sono analizzati i cambiamenti trascrizionali.
Nel secondo studio sono stati analizzati diversi fattori dietetici presenti nella dieta materna, che possono provocare cambiamenti dell'epigenoma fetale, correlati alla prevenzione di svariate patologie anche nella vita adulta.
Le sostanze analizzate sono ad esempio la genisteina, il sulforafano, gli isotiocianati, il resveratrolo, la quercetina e la curcumina. Esse agiscono tramite metilazione del DNA, modificazioni istoniche e regolazione dei miRNA.

Bibliografia

[1] https://www.treccani.it/
[2] https://domenicorogolibiologo.wordpress.com/2019/03/02/la-dieta-mediterranea-protegge-il-nostro-dna-dallo-stress-ossidativo/amp/
[3] Transcriptional changes in prostate of men on active surveillance after a 12-mo glucoraphanin-rich broccoli intervention—results from the Effect of Sulforaphane on prostate CAncer PrEvention (ESCAPE) randomized controlled trial
Am J Clin Nutr. 2019 Apr; Volume 109(4): pagine 1133–1144.
Maria H Traka, Antonietta Melchini, Jack Coode-Bate, Omar Al Kadhi, Shikha Saha, Marianne Defernez, Perla Troncoso-Rey, Helen Kibblewhite, Carmel M O'Neill, Federico Bernuzzi, Laura Mythen, Jackie Hughes, Paul W Needs, Jack R Dainty, George M Savva, Robert D Mills, Richard Y Ball, Colin S Cooper, and Richard F Mithen1,5
[4] ALIMENTAZIONE RAGIONATA E COMPONENTI NUTRITIVI. Le Brassicacee: preziosa fonte di componenti nutraceutici. natural 1 maggio 2016 pagina 78
[5] https://www.researchgate.net/figure/Regulation-of-Nrf2-by-Keap1-In-basal-conditions-Nrf2-is-sequestered-in-the-cytoplasm-by_fig1_311857355
[6] Giornale Italiano dell’Arteriosclerosi 2019; 10 (1): pagina 10