

FENOLI IZ MASLINOVOG ULJA KAO EPIGENETSKI MODULATORI



prof. dr. sc. Tea Bilušić
Kemijsko-tehnološki fakultet
Sveučilište u Splitu



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET



- antropološka i genetička istraživanja smatraju da sva ljudska bića dijele zajedničkog pretka
- Industrijska revolucija i Moderno doba (početak tzv. zapadnjačkog načina života) predstavljaju samo 7 i 4 generacije

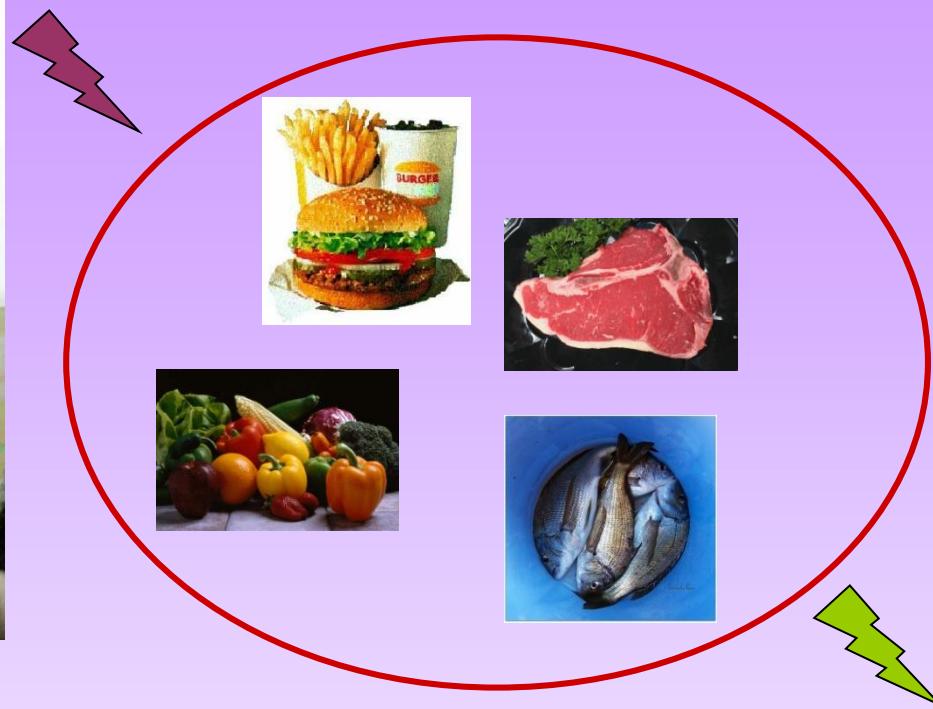
Povijesni miljokazi u generacijama čovječje vrste

povijesni miljokaz	generacija	%
• moderni <i>Homo sapiens</i>	6666	8,7
• Neolitička revolucija	366	0,48
• Industrijska revolucija	7	0,009
• pojava tzv. junk food (Moderno doba)	4	0,005



...o dostupnim nutrijentima ovisi stupanj prilagodbe svih živih vrsta

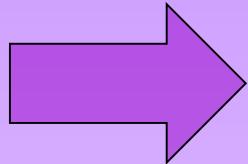
C. Darwin: "Porijeklo vrsta"



- kako su nutrijenti iz hrane oblikovali i još uvijek oblikuju ljudsku vrstu?
- kako objasniti evolucijske promjene na molekularnoj razini i njihovu povezanost s dostupnošću nutrijenata iz hrane?



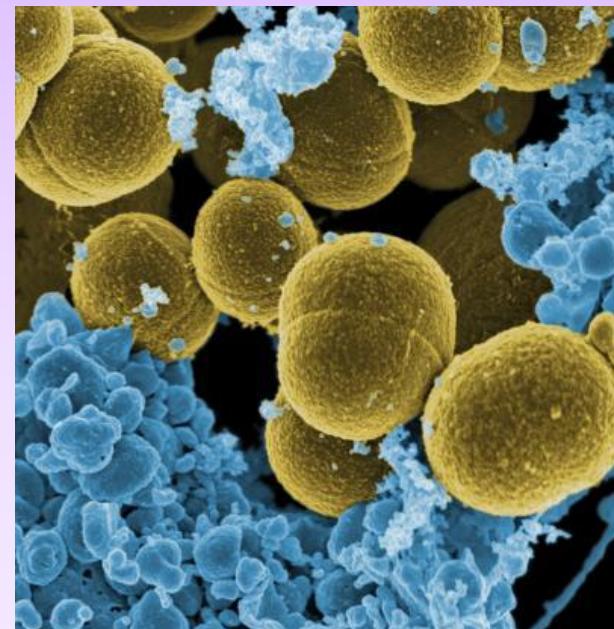
- prehrambene potrebe
- fizička aktivnost
- san
- izloženost Sunčevom svjetlu



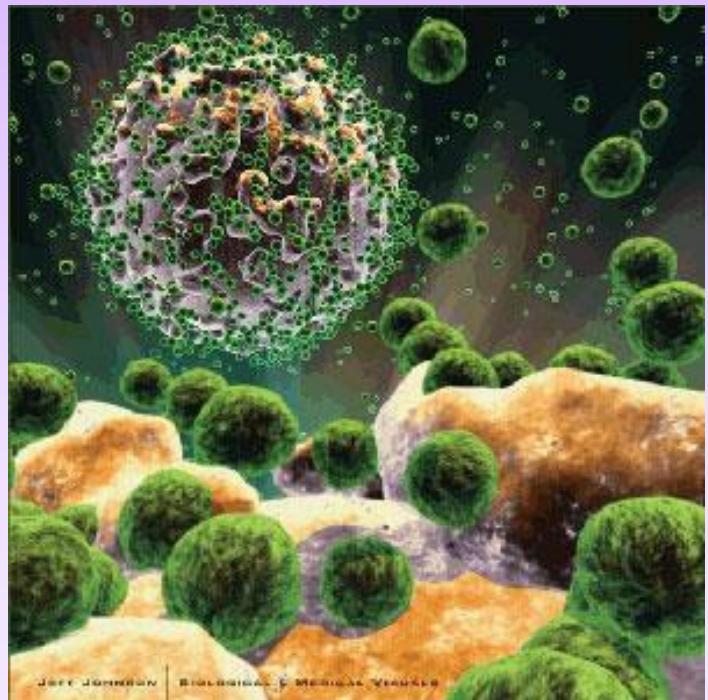
homeostaza = dinamička ravnoteža!



- prirodnu selekciju određuje interakcija između genoma vrste i faktora iz okoliša (prehrana, način života...) tijekom perioda od nekoliko generacija
- ovisno o podudarnosti ili nepodudarnosti s utjecajima okoliša, genetska svojstva mogu doživjeti pozitivnu ili negativnu selekciju
- ukoliko su uvjeti okoliša **konstantni**, dolazi **do stabilne selekcije** genetskih svojstava optimalnih za održanje vrste



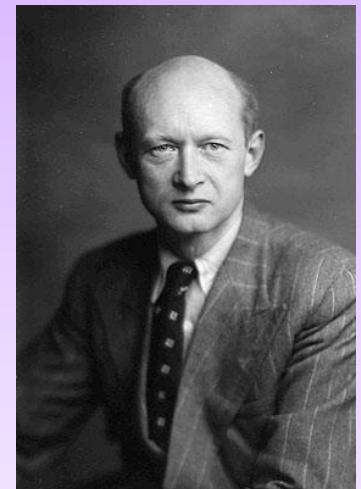
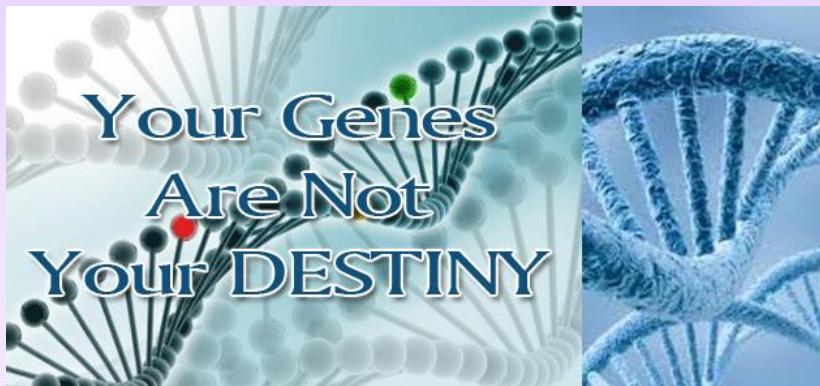
- ukoliko se uvjeti okoliša neprestano mijenjaju, dolazi do **nepodudarnosti** između okoliša i genoma
- postoje mišljenja da su promjene koje su se dogodile u načinu prehrane i života čovjekovih predaka (od prije *cca* 10 000 godina) zapravo vrlo svježe na vremenskoj skali evolucije da bi se ljudski genom stigao prilagoditi \Rightarrow **hipoteze o pojavi kroničnih oboljenja suvremenog čovjeka**



- učestalost spontanih mutacija na staničnoj DNK procjenjuje se na 0.5% na milijun godina \Rightarrow tijekom perioda od 10 000 godina ljudski se genom vrlo malo mijenja ($\sim 0.005\%$)
- istraživanja načina prehrane tijekom perioda povijesti ljudske vrste pokazuju da se najveća promjena u prehrani odnosi na udio i vrstu esencijalnih masnih kiselina te na udio antioksidansa u hrani

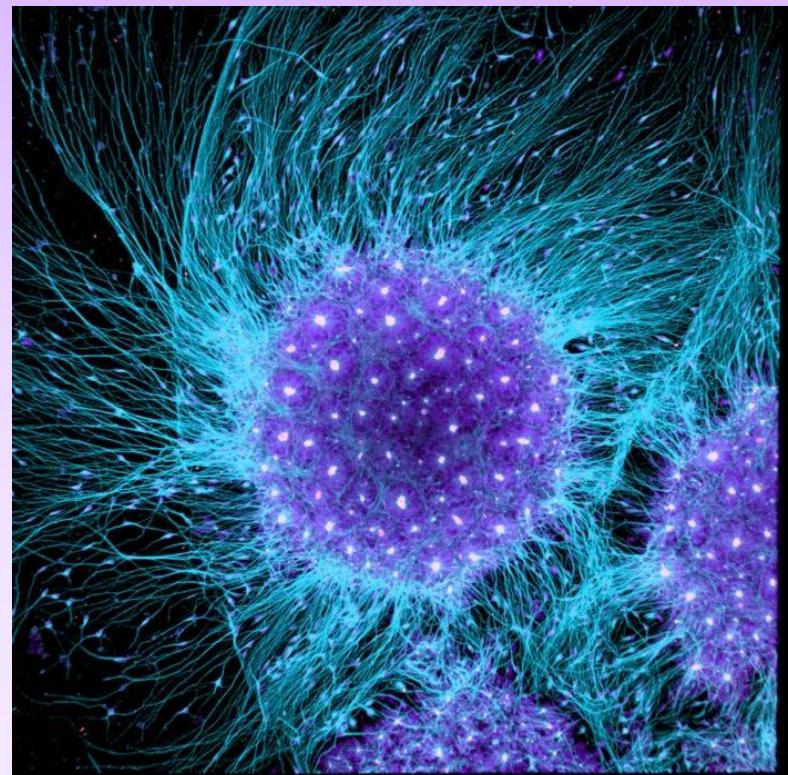


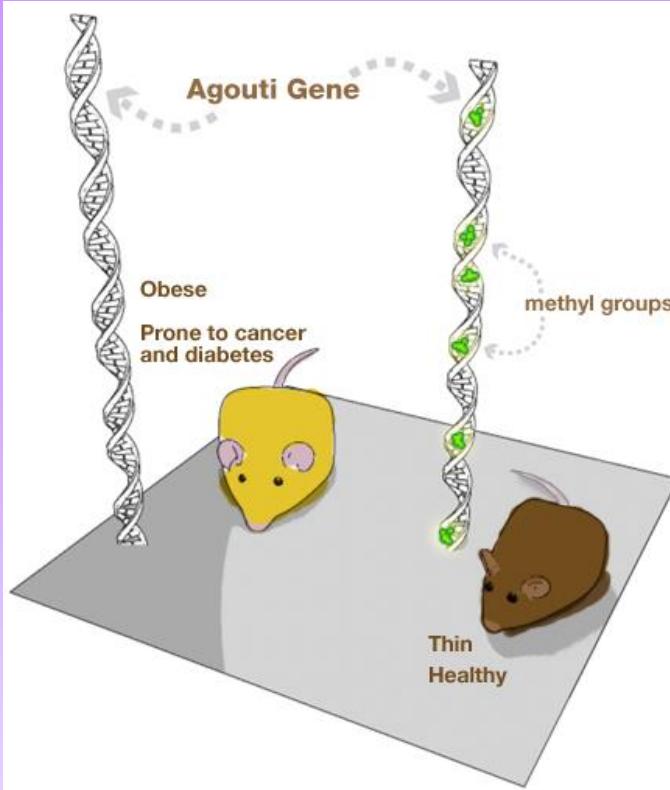
- epigenetika – nasljedna pojava koja se odnosi na ekspresiju gena bez promjena baza u DNK;
Cold Spring Epigenetics meeting (2008): „Epigenetske karakteristike karakteriziraju stabilan i nasljedan fenotip koji je posljedica promjena na kromosomu, ali bez promjena u DNK sekvenci“
 - omogućava uvid u nove spoznaje o regulaciji gena koje se odnose na mehanizam razvoja, prijepisa genske poruke i funkciranja metabolizma koji se nalaze iznad genetske kontrole
 - termin epigenetika (1941) Conrad Hal Waddington – "most" između genotipa i fenotipa tijekom razvoja organizma
 - epigenetika = nasljedna, specifična s obzirom na tip stanica i reverzibilna
- MI SMO VIŠE OD SAME SUME GENA U NAŠEM ORGANIZMU!!



C. H. Waddington

- epigenetske promjene ne utječu direktno na gene, ali ako se javljaju tijekom više generacija mogu proizvesti “**selekcijski pritisak**” na gene pri čemu se funkcija gena može promijeniti
- primjeri koji se smatraju nasljednim epigenetskim promjenama (pretilost djece ili tolerancija na laktozu)





- gen agouti - odgovoran za žuto krzno i proždrljivost te podložnost za pojavu raka i dijabetesa
- agouti gen nije metiliran = pretio miš žute boje dlake s visokim rizikom za pojavu dijabetesa i karcinoma
(Waterland and Jirtle, 2003, Moll Cell Biol, 23(15), 2093-300)

These Two Mice are Genetically Identical and the Same Age



While pregnant, both of their mothers were fed Bisphenol A (BPA) but DIFFERENT DIETS:

The mother of this mouse received a **normal mouse diet**

The mother of this mouse received a diet **supplemented** with choline, folic acid, betaine and vitamin B12

jedina razlika u kontroli procesa metilacije DNK

MONOZIGOTNI BLIZANCI

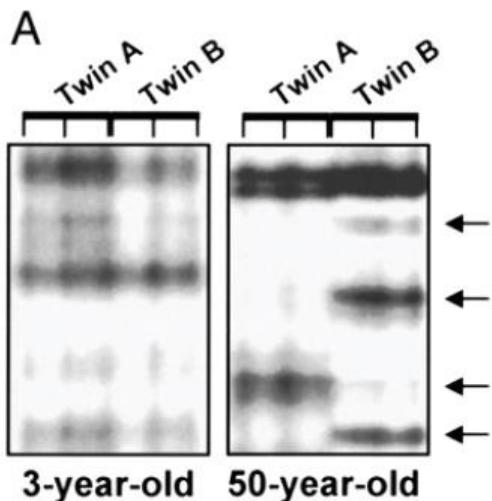
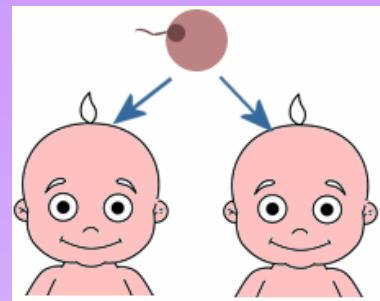


Figure 2. Differential DNA methylation between two sets of monozygotic twins, one set at age 3 (left), one set at age 50 (right) using AIMS (amplification of inter-methylated sites). Different bands, corresponding to sibling-specific changes of DNA methylation, are indicated with arrows. (Panel A of Figure 2 in Fraga et al., 2005. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *PNAS* 102:10604–10609. Copyright 2005 National Academy of Sciences, USA.)



MB učestalost = 1 na 250

epigenetske razlike povećavaju se tijekom godina

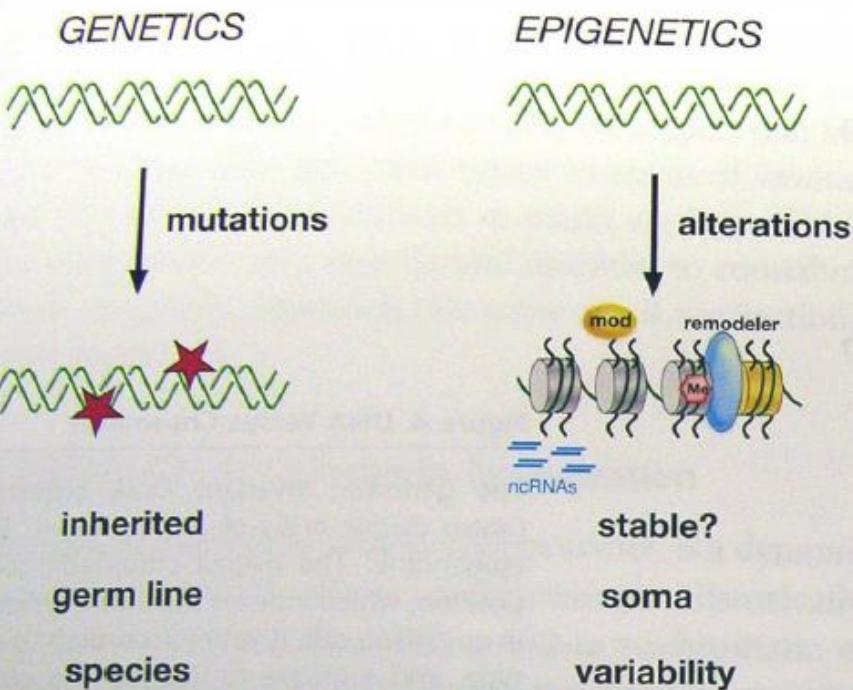


Figure 3. Genetics Versus Epigenetics

EPIGENETSKE PROMJENE

- DNK metilacija
- modifikacije histona (acetilacija, metilacija, fosforilacija, ubikvitinacija)
- promjene na mikro RNK

- Pojava promjene fenotipa kod pčela promjenom načina prehrane (promjene u procesu metilacije DNK) (Kucharski *et al.*, Science, 2008)



- Etanol utječe na fenotip odrasle osobe remeteći epigenom u ranoj fazi razvoja embrija (Kaminen-Ahola *et al.*, 2010, PLOS Genetics)
- Folat i nedostatak metilne skupine u prehrani mijenja ekspresiju enzima DNK metiltransferaze kod miševa što dovodi do utišavanja ekspresije nekih gena (Ghoskal *et al.*, 2006, J Nutr)

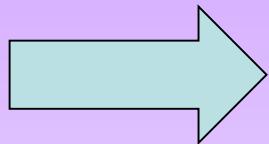
Utjecaji načina prehrane su kompleksni i manifestiraju se poslije dugog perioda!

- Utjecaj okoliša može se manifestirati tijekom nekoliko generacija (kod biljaka, životinja i kod ljudi)
- **Epigenetska „memorijska“ – dinamična priroda epigenetike i mogućnost brisanja**
- Crijevna mikroflora – sredstvo za prijenos promjena tijekom generacija
- Povećana stopa kroničnih bolesti kod djece čije su majke u ranom fazi trudnoće bile izložene kalorijskom deficitu
- Prehrana bogata metilnim donorima (folna kiselina, vitamin B₁₂, kolin) – prevencija transgeneracijske pretilosti (Waterland et al., 2008, Int J Obes)
- Avon Longitudinal Study (rane 1990, UK) – pušenje može imati učinak na buduće generacije – utjecaj na pretilost
- Overxalix Study (Švedska) – gladovanje ili prejedanje tijekom trudnoće može imati utjecaj pojavu dijabetesa ili na srčana oboljenja kod potomaka

Jedan okolišni faktor može utjecaj na potomstvo u ovisnosti o spolu!

Fenolni sekoiridoidi iz maslinovog ulja kao epigenetski modulatori

- Oleocanthal
 - Oleuropein
 - Oleacein
 - Verbascoside
 - Tyrosol
 - Hydroxytyrosol
-

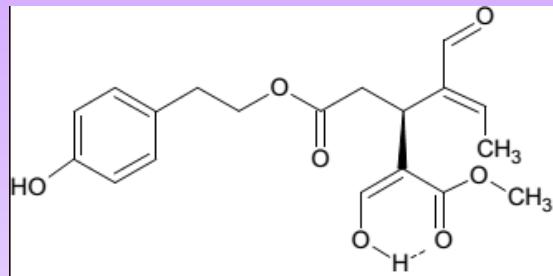




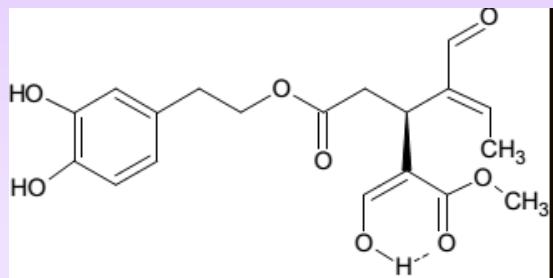
- Maslinovo ulje nije tek običan prehrambeni proizvod ili uobičajen prehrambeni izvor masti
- Maslinovo ulje sadrži jedinstvene prirodne, biološki aktivne komponente u vrlo malim količinama, ali koje su iznimno važne za zdravlje čovjeka
- Do sada jedini poznati izvor ovih specifičnih spojeva je jedino plod masline i maslinovo ulje
- **Maslinovo ulje = prirodna spona hrane i lijeka!**

NOVI FENOLNI SPOJEVI U MASLINOVOM ULJU

OLEOKORONAL



OLEOMISIONAL



grčka sorta Koroneiki



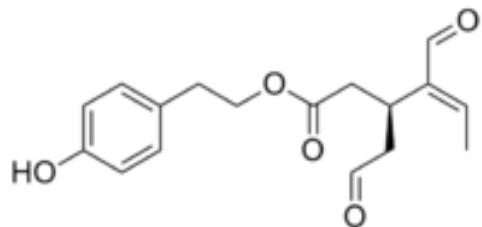
FENOLI IZ MASLINE UTJEĆU NA:

-  krvožilni sustav čovjeka
-  dijabetes i metabolički sindrom
-  reumatoidne bolesti
-  neurodegenerativne bolesti
-  karcinom (19 istraživanja provedeno u periodu od 1990 do 2011 koje su uključivale oko 35 000 ljudi pokazalo je da je unos maslinovog ulja obrnuto proporcionalan s pojmom karcinoma; karcinom dojki je manji za 62% kod žena koje prakticiraju Mediteransku prehranu)
-  bolesti jetre
-  epigenetske promjene



OLEOKANTAL

0,2 mg/kg – 498 mg/kg



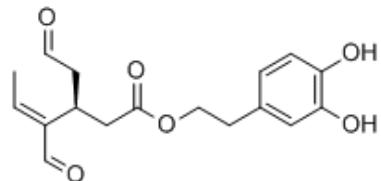
- daje izrazito oštar, pikantan okus ekstra djevičanskog maslinovog ulja („pali” u grlu)
- za razliku od drugih „pikantnih” spojeva (karvakrol iz origana, alicin iz luka, izotiocijanati iz gorušice, timol iz timijana) ima lokalizirano djelovanje u usnoj šupljini – djeluje samo na receptore smještene u srednjem dijelu ždrijela
- djelovanje slično ibuprofenu – protuupalna aktivnost (osteoartiris, reumatoidni artritis)
- provedena istraživanja na pacijentima koji boluju od Alzheimerove bolesti pokazuju neuroprotektivnu aktivnost oleokantala
- antiproliferacijska aktivnost na neke tipove karcinoma dojke i karcinoma prostate
- 25 g maslinovog ulja dnevno može osigurati unos > 15 mg oleokantala



OLEOKANTAL

- navodnjavanje smanjuje koncentraciju oleokantala u ulju
- postupak mljevenja ploda zajedno s košticom smanjuje koncentraciju oleokantala u ulju (dolazi do ubrzanog procesa oksidacije djelovanjem enzima peroksidaze)
- korištenje dvofazne centrifuge bez vode utječe na povećanu koncentraciju oleokantala u ulju (spoј je topiv u vodi)
- čuvanje ulja izvan dosega svjetla i zraka radi smanjenja procesa oksidacije fenola
- oleokantal je stabilan pri termičkoj obradi (pri temperaturama od čak 240 °C tijekom perioda od 90 min)

OLEACEIN



- po strukturi sličan oleokantalu
- derivat hidroksitirozola i vrlo jaki antioksidans u maslinovom ulju

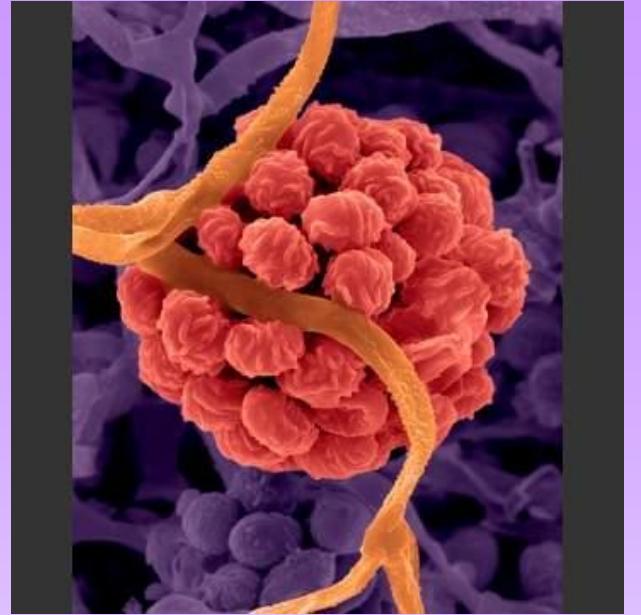
- Maslinovo ulje utječe na ekspresiju mnogih gena u organizmu (Konstantinidou i sur., 2009)
- Ekstrakt lista masline koji sadrži 16% oleuropeina sudjeluje u regulaciji gena koji su uključeni u adipogenezu kod miševa (Shen i sur., 2014)
- Hidroksitirozol inhibira rast tumorskih stanica dojke na način da utječe na regulaciju gena koji su uključeni u apoptozu, stanični ciklus, proliferaciju i diferencijaciju stanica (Nan, 2014)
- Polifenoli mogu modulirati epigenetske mehanizme – metilaciju DNK, modifikaciju histona, mikro RNK ekspresiju (Cuevas i sur., 2013)
- Izloženost okolišnim faktorima koji utječu na epigenom posebno je važna tijekom određenih perioda razvoja organizma: trudnoća, dojenje, neonatalni period, rani razvoj djeteta, pubertet
- Epigenetske promjene koje se dogode u periodu embrionalnog razvoja imati će bitno veći utjecaj na ukupni epigenetski status organizma jer se epigenetske promjene mitozom prenose iz stanice u stanicu (Van den Berghe, 2012)

- Zdravstveni učinak maslinovog ulja tijekom perioda trudnoće kao i tijekom prve godine života dokazan je u mnogim znanstvenim studijama
- Unos hidroksitirozola tijekom trudnoće poboljšava kognitivne funkcije i razvoj mozga (Zherg i sur., 2015)
- Unos maslinovog ulja tijekom trudnoće utječe na regulaciju gena uključenih u antioksidacijsku obranu organizma i smanjuje učestalost upalnih procesa u organizmu (Higa i sur., 2014)
- Maslinovo ulje povoljno utječe na sastav crijevne mikroflore i na taj način djeluje preventivno na epigenetske promjene (Zampa i sur., 2006; Hidalgo i sur., 2014)

Udio fenolnih sekoiridoida u maslinovom ulju prije i nakon perioda duge suše

T. Bilušić, S. Roca, V. Smrečki, P. Magiatis

	nakon suše	nakon kiše
Oleocanthal	128,77	58,20
Oleacein	156,70	89,58
Ligstroside aglycon (monoaldehyde form)	67,43	31,71
Oleuropein aglycon (monoaldehyde form)	236,25	98,42
Ligstroside aglycon (dialdehyde form)*	320,87	130,89
Oleuropein aglycon (dialdehyde form)**	326,22	259,29
Total tyrosol derivatives	522,42	349,20
Total hydroxytyrosol derivatives	713,82	318,89
Total polyphenols analysed	1.236,23	668,10



„Mi smo čuvari našeg genoma. Način na koji ljudi žive i njihov životni odabir ne tiče se samo njih, već on ima učinak na njihovu djecu i unuke.“

**Professor Marcus Pembrey
Institute of Child Health, London**