

Uloga polifenola u epigenetskoj regulaciji tumora

Mlinarić, Monika

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:008971>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-06**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

ULOGA POLIFENOLA
U EPIGENETSKOJ REGULACIJI TUMORA

THE ROLE OF POLYPHENOLS IN THE EPIGENETIC
REGULATION OF TUMORS

SEMINARSKI RAD

Monika Mlinarić

Preddiplomski studij biologije

(Undergraduate Study of Biology)

Mentor: prof. dr. sc. Nada Oršolić

Zagreb, 2018.

SADRŽAJ

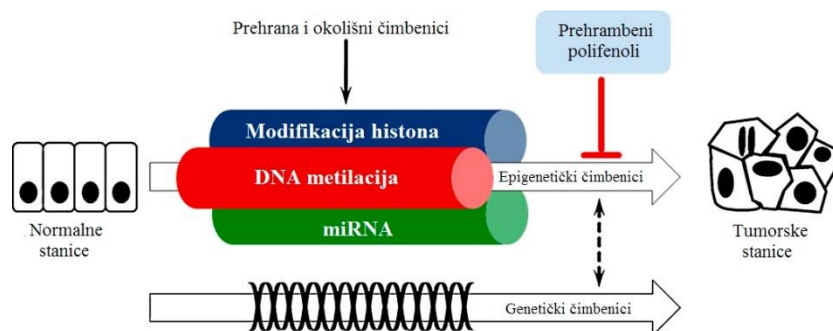
1. UVOD.....	3
2. EPIGENETSKE PROMJENE U TUMORA	3
2.1. Metilacija DNA.....	4
2.2. Modifikacija histona.....	5
2.3. miRNA.....	5
3. POLIFENOLI	6
3.1. Utjecaj polifenola na DNA metilaciju.....	7
3.1.1. Polifenoli iz čaja.....	8
3.1.2. Polifenoli iz kave.....	9
3.1.3. Genistein.....	9
3.1.4. Resveratrol.....	10
3.1.5. Kurkumin.....	10
3.2. Utjecaj polifenola na modifikaciju histona	10
3.2.1. EGCG	11
3.2.2. Kurkumin.....	12
3.2.3. Resveratrol.....	12
3.2.4. Genistein.....	12
3.2.5. Kvercetin.....	13
3.2.6. Kampferol.....	13
3.3. Utjecaj polifenola na ekspresiju miRNA.....	14
3.3.1. Kurkumin.....	14
3.3.2. Genistein.....	15
3.3.3. EGCG	15
3.3.4. Kvercetin.....	16
3.3.5. Resveratrol.....	16
3.3.6. Pterostilben	16
4. ZAKLJUČAK	17
5. KRATICE	19
6. LITERATURA.....	20
7. SAŽETAK	22
8. SUMMARY	23

1. UVOD

Tumori su danas među vodećim uzročnicima smrtnosti u svijetu zbog čega se i pomno istražuju. Radi se o nakupinama promijenjenih stanica nastalih kao posljedica nekontrolirane diobe stanice koja je pretrpjela genetsko oštećenje. Tijekom brojnih dioba događaju se i različite mutacije u stanicama koje onda tvore heterogenu masu, no heterogenost stanica ne nastaje samo zbog genetskih modifikacija, već tu sudjeluju i epigenetske modifikacije koje uključuju DNA metilaciju, modifikaciju histona i nekodirajuće miRNA molekule (mikro RNA, *micro RNA*). Dakle, razvoj tumora uvjetuje kombinacija genetskih i epigenetskih čimbenika, ali ono što je zanimljivo jest mogućnost utjecanja na epigenetske modifikacije i njihova reverzibilnost koja se danas pokušava iskoristiti u svrhe sprečavanja i liječenja tumora. Pokazalo se kako okoliš i prehrana mogu utjecati na razvitak tumora upravo preko epigenoma, tako da neke tvari mogu potaknuti nastanak tumora dok ga druge sprečavaju. Tvari koje imaju mogućnost mijenjanja epigenetskih modifikacija i samim time utjecanja na sprečavanje razvitka tumora su i polifenoli o kojima će se u ovom radu pričati. Polifenoli su tvari koje mogu sudjelovati u svakom od procesa razvitka tumora, uključujući: inicijaciju, proliferaciju, migraciju, angiogenezu i nastanak metastaza tumora. Zbog ovih se karakteristika polifenola ulaže nada u budućnost liječenja tumora prehranom.

2. EPIGENETSKE PROMJENE U TUMORA

Naziv „epigenetika“ prvi je uveo Conrad H. Waddington 1942. godine i opisao ju je kao reverzibilne izmjene u ekspresiji gena koja se odvijaju bez promjene u DNA slijedu. Epigenetika uključuje tri zasebna mehanizma (metilaciju DNA, modifikaciju histona i posttranskripcijsku regulaciju gena nekodirajućom miRNA) koji utječu na organizaciju genetičkog materijala u jezgri i transkripcijsku aktivnost. Rahlji, transkripcijski aktivan oblik genetičkog materijala je eukromatin, a transkripcijski inaktivan, kompaktniji, oblik je heterokromatin. Djelujući zajedno epigenetski mehanizmi utječu na ekspresiju gena tako da remoduliraju kromatin, što onda određuje hoće li pojedini gen biti utišan ili aktivan. Posljedično utječu i na diobu, rast, diferencijaciju i staničnu smrt stanica. Zbog ovako bitne uloge u stanici jasno je da se bilo kakva disregulacija u epigenetskim mehanizmima može ostvariti u obliku pretvorbe normalne stanice u tumorsku (Slika 1.). Disregulaciju mogu izazvati različite tvari koje se nalaze u hrani, ali isto tako i izloženost toksinima, štetnim kemikalijama ili radijaciji. Epigenetski mehanizmi u tumorskih stanica uzrokuju nepravilnu transkripciju što je povezano s neprikladnom aktivacijom i ekspresijom onkogenata te inaktivacijom tumor-supresor gena.



Slika 1. Epigenetske promjene uključene u kancerogenezu.

Kancerogeneza je dugotrajni proces u koji su uključeni i genetički i epigenetički faktori. Prehrambeni i okolišni čimbenici mogu utjecati na epigenetske promjene te potaknuti nastanak tumora, a neke tvari kao što su polifenoli imaju kemopreventivni utjecaj i mogu modulirati epigenetske promjene tako da spriječe nastanak tumora. (Preuzeto i prilagođeno prema Link, Balaguer & Goel 2010).

2.1. Metilacija DNA

Vjerojatno najproučavaniji epigenetski proces u sisavaca je metilacija DNA koja služi kako bi se kontrolirala transkripcija. Metilacija se odvija prijenosom metilne skupine s metil donora SAM-a (S-adenozil-metionin, *S-adenosyl-methionine*) uz enzim DNA metiltransferazu (DNMT, *DNA methyltransferase*) na citozin pri čemu nastaje 5-metil-citozin. Razlikujemo 3 forme ovog enzima: DNMT1 koji metilira pometiliranu DNA i tako ju održava u metiliranom stanju, te DNMT3A i DNMT3B koji metiliraju DNA *de novo* tijekom razvitka embrija. DNMT ne može metilirati bilo koji nukleotid, već samo citozine koji prethode gvaninima u DNA: CpG dinukleotide. Oni nisu jednoliko raspoređeni u DNA molekuli, već se nalaze u promotorskim regijama i velikim ponavljajućim slijedovima. Metilacija DNA započet će u CpG bogatoj promotorskoj regiji određenog gena, a visoka metiliranost (hipermetilacija) rezultat će smanjenom transkripcijskom aktivnošću tog gena sprečavanjem vezanja transkripcijskog faktora za promotor. Visoko metilirana DNA nalazi se u stanju heterokromatina koji je gusto pakiran i onemogućuje transkripciju. U normalnim uvjetima neki su CpG otoci u stanici hipermetilirani i transkripcijski inaktivni, a drugi hipometilirani i aktivni, dok se u tumora ova situacija izokrene. Hipometilacija DNA koja se pojavljuje u tumorskih stanica uzrokuje nestabilnost genoma i reaktivaciju utišanih gena, što postaje problem kada se aktiviraju onkogeni. Hipermetilacija promotorskih regija u tumora dovodi do utišavanja tumor-supresor gena. To uključuje hipermetilaciju gena povezanih s popravkom DNA, detoksikacijom kancerogena, kontrolom staničnog ciklusa, staničnom smrću, diferencijacijom, angiogenezom i metastaziranjem (Ong, Moreno & Ross 2012). Reaktivacija hipermetiliranih gena inaktivacijom DNMT-e postala je obećavajući pristup u prevenciji i terapiji tumora.

2.2. Modifikacija histona

Histoni omogućuju nastanak kromatina, odnosno smatanje DNA molekule kako bi stala u jezgru stanice. To su proteini građeni od središnje domene i domene repa na N- kraju koji sadrži aminokiseline lizin, arginin i serin odgovorne za modificiranje kovalentnim vezanjem. Veza između DNA i histona zasniva se na naboju jer negativna DNA veže histone ovisno o naboju koji je određen posttranslacijskim histonskim modifikacijama. Modifikacije koje se odvijaju na repovima N-krajeva histona su: metilacija, acetilacija, fosforilacija, ribozilacija, ubikvitinacija, sumoilacija i biotinilacija (Link, Balaguer & Goel 2010). Kombinacija svih navedenih modifikacija čini „histonski kod“ koji regulira ekspresiju gena mijenjajući oblik kromatina iz eukromatina u heterokromatin i obratno. Prijelaz između ovih stanja reguliraju različiti enzimi. Acetilaciju histona vrši histon acetiltransferaza (HAT, *histone acetyltransferase*) koja neutralizira pozitivan naboj na lizinu i tako poništava vezu s DNA zbog čega kromatin postaje dekondeziran i aktivan. S druge strane histon deacetilaza (HDAC, *histone deacetylase*) deacetilira lizin u histonima i čini kromatin kondenziranijim. Metilacija histona ne utječe na naboj repa, već na kemijske karakteristike histona i njihov afinitet za transkripcijske faktore i druge regulatorne proteine (Supic, Jagodic & Magic 2013). Učinak metilacije je različit u pojedinim histonima, ali ju uvijek obavlja enzim histon metiltransferaza (HMT, *histone methyltransferase*), dok demetilaciju vrši histon demetilaza (HDM, *histone demethylase*). Fosforilacija histona potiče transkripcijsku aktivnost te ima ulogu u diobi i genomskoj stabilnosti. Poremećene histonske modifikacije, uključujući metilaciju, acetilaciju i fosforilaciju, povezane su s tumorigenezom zbog promjene genske ekspresije. U različitim tumorima pronađena je prekomjerna ekspresija HDAC koja rezultira smanjivanjem ekspresije tumor-supresor gena, a postala je zanimljiva strategija za sprečavanje i liječenje tumora inhibicijom enzima HDAC-inhibitorima (HDACi, *HDAC inhibitors*).

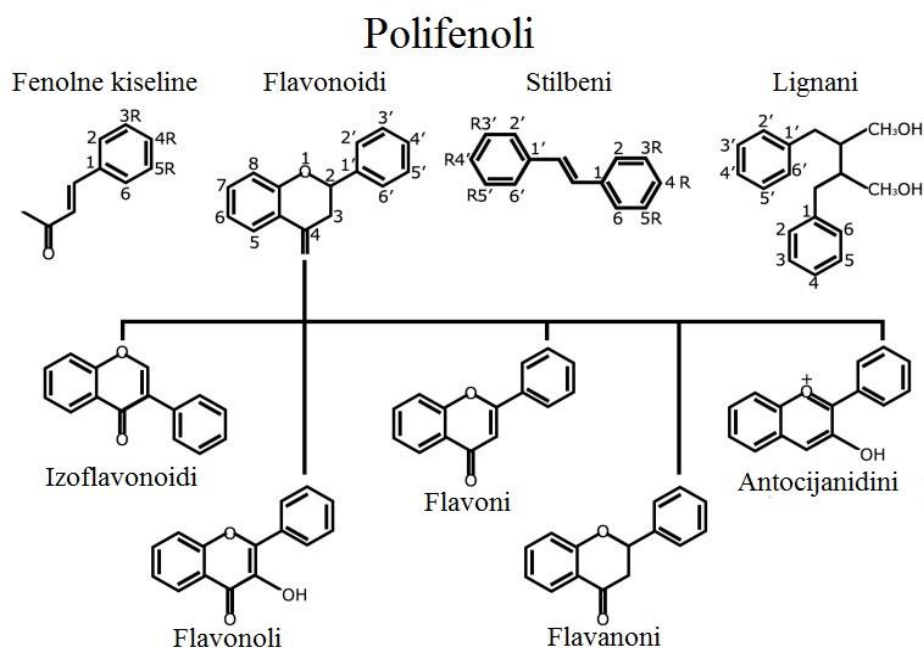
2.3. miRNA

MiRNA su endogene nekodirajuće RNA molekule koje se ne translatiraju u proteine, već imaju funkciju posttranskripcijske regulacije genske ekspresije. To obavljaju specifičnim vezanjem za komplementarnu mRNA (glasnička RNA, *messenger RNA*) koja se onda razara ili se zaustavi njena translacija i nastanak proteina. Različite miRNA nalazimo u svim stanicama gdje u normalnim uvjetima imaju ulogu u proliferaciji, diferencijaciji i apoptozi stanice. Međutim, nepravilna ekspresija onkogenih i tumor-supresorskih miRNA povezana je s nastankom tumora. U brojnim tumorima pronađena je prekomjerna količina miRNA-21 koja potiče

proliferaciju stanica i sprječava apoptozu (Chen, Xu & Chen 2015). Danas se u medicini miRNA može koristiti za klasifikaciju tumora gdje bi onda visoka koncentracija miRNA-21 značila lošu prognozu za pacijenta. MiRNA su uključene u brojne signalne puteve u stanici te zbog toga predstavljaju mogući cilj terapije za različite tumore.

3. POLIFENOLI

Polifenoli su sekundarni biljni metaboliti s različitim ekološkim funkcijama u biljaka: daju im mehaničku potporu, štite od UV-zračenja, djeluju kao obrana od biljojeda i patogena te mogu privlačiti oprašivače bojom ili mirisom. Odlikuje ih barem jedan aromatski prsten supstituiran hidroksilnom skupinom, no izuzev toga su kemijski vrlo heterogena skupina tvari (Slika 2.). Strukturno se dijele na dvije velike skupine: flavonoide i neflavonoide. Flavonoidi uključuju antocijanidine (npr. cijanidin i delphinidin iz crvenog kupusa, trešnji i grožđa), flavane (npr. katehin i EGCG iz čaja, kakaa, jabuka i crnog vina), flavanone (npr. hesperitin i naringenin iz naranči i limuna), flavone (mpr. apigenin i luteolin iz celera i peršina), flavonole (npr. kampferol i kvercetin iz jabuka, graha i brokule) i izoflavonoide (npr. daidzein i genistein iz mahunarki i soje) (Etienne-Selloum i sur. 2013). U grupu neflavonoida ubrajamo fenolne kiseline (benzojeve i cimetne kiseline) i stilbene (npr. resveratrol iz crnog vina i kurkumin iz kurkume) (Etienne-Selloum i sur. 2013).

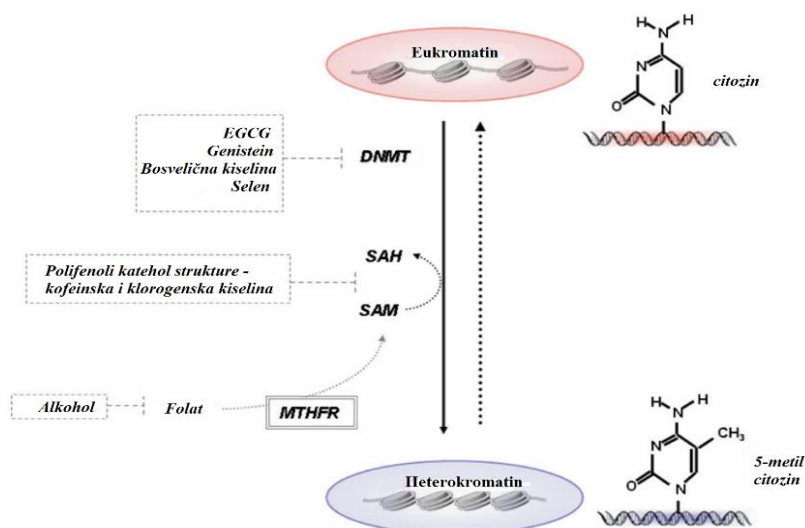


Slika 2. Struktura polifenola (Preuzeto i prilagođeno prema Losada-Echeberría i sur. 2017)

Kroz navedene primjere vidljivo je da su polifenoli sastavni dio svakodnevne prehrane u ljudi te kako je prehrana bogata polifenolima direktno povezana s manjom pojavom tumora. Uz to oni djeluju i na smanjenje rizika od kardiovaskularnih i degenerativnih bolesti. Mehanizam kojim polifenoli djeluju antikancerogeno uključuje utjecaj na unutarstanične signalne molekule povezane s inicijacijom i/ili promocijom tumora te mogućnosti da zaustave ili okrenu progresiju; također mogu potaknuti apoptozu tumorskih stanica (Link, Balaguer & Goel 2010). Mehanizam kemoprevencije polifenolima uključuje i mogućnost izmjenjivanja epigenetskih modifikacija u stanica tumora, što se danas pokušava iskoristiti u kliničke svrhe. Nadalje će se govoriti o utjecaju pojedinih polifenola na svaku od epigenetskih promjena: DNA metilaciju, modifikaciju histona i regulaciju ekspresije nekodirajuće miRNA.

3.1. Utjecaj polifenola na DNA metilaciju

Inhibicija nastanka tumora polifenolima zasniva se na aktivaciji gena demetilacijom promotora tumor-supresor gena. Kao što je već spomenuto, hipermetilacija tumor-supresor gena uzrokuje njegovo utišavanje zbog čega može doći do pretvorbe stanice u tumorsku. Jedan od načina kemoprevencije jest inhibicija enzima koji vrši ovu metilaciju - DNMT (Slika 3.). Postoje sintetski inhibitori koji nisu pokazali veliki učinak na DNMT zbog nespecifičnosti. Osim njih postoje i prirodni inhibitori, polifenoli s potencijalom inhibicije DNMT koji imaju mogućnost reaktivacije gena utišanog metilacijom. Drugi način kemoprevencije je utjecaj na količinu dostupnog SAM-a koji služi kao donor metilne skupine (Slika 3.). Brojni su polifenoli pokazali ovakva antikancerogena svojstva djelujući na metilaciju DNA, a neki od njih su polifenoli iz čaja i kave, genistein, kurkumin, kvercetin, kampferol, resveratrol itd.



Slika 3. Utjecaj polifenola na metilaciju DNA
(Preuzeto i prilagođeno prema Supic, Jagodic & Magic 2013)

3.1.1. Polifenoli iz čaja

Čajevi sadrže različite polifenole koji pokazuju antikancerogena svojstva djelujući na metilaciju DNA, tu se ubrajaju katehini, epikatehini, epikatehin galati i apigalokatehini. No daleko najjači utjecaj na inhibiciju DNMT-e pokazuje EGCG (epigalokatehin-3-O-galat, *epigallocatechin-3-O-gallate*) (Tablica 1.) iz zelenog čaja. Inhibicijom DNMT-e sprečava se metilacija i omogućava reaktivacija utišanih gena, a sama inhibicija EGCG-om može se dogoditi na nekoliko načina. EGCG se može vezati u katalitičko mjesto DNMT1 i tako ga direktno inhibirati. Drugi način je aktivacijom enzima COMT (katehol-O-metiltransferaza, *catechol-O-methyltransferase*) koji metilira i inaktivira katehole, uključujući i EGCG, demetilirajući SAM pri čemu nastaje SAH (S-adenozil-L-homocistein, *S-adenosyl-L-homocysteine*) (Link, Balaguer & Goel 2010). Na ovaj način EGCG indirektno inhibira DNMT, jer je SAH DNMT inhibitor. Treći način je inhibicija dihidrofolat-reduktaze (*dihydrofolate reductase*) zbog čega se inhibira sinteza DNA i RNA (Slika 3.). Dugoročnom konzumacijom zelenog čaja moguće je umanjiti rizik od nastanka tumora. Različita su istraživanja pokazala učinak EGCG-a na metilaciju DNA i u daljnjem tekstu spomenut će se samo neke od njih. EGCG je pokazao mogućnost inhibicije DNMT-e u staničnim linijama tumora jednaka (KYSE 150), debelog crijeva (HT29), prostate (PC3) i dojke (MCF-7 i MDA-MB-231) demetilirajući promotore i tako reaktivirajući gene *p16^{INK4a}*, *RAR β* , *MGMT*, *hMHL1*, *GSTP1* (Ong, Moreno & Ross 2012). Djelomična demetilacija dokazana je i u stanica tumora usne šupljine gdje je EGCG utjecao na hipermetilirani *RECK* gen te je pokazana povećana ekspresija *RECK* mRNA (Link, Balaguer & Goel 2010). Obrada EGCG-om uzrokovala je reaktivaciju ekspresije estrogenih receptora (ER- α) u ER- α -negativnih stanica tumora dojke (MDA-MB-231); također EGCG je inhibirao proliferaciju ER-pozitivnih (MCF-7) i ER-negativnih (MDA-MB-231) stanica tumora dojke, a nije pokazao učinak na normalne MCF10A stanice (Henning i sur. 2013). U staničnim linijama tumora dojke (MCF-7) i promijelocitne leukemije (HL60) EGCG je umanjio proliferaciju stanica i potaknuo apoptozu u uvjetima *in vitro*; a u staničnim linijama tumora pluća (H460 i A549) inhibirao je rast stanica (Supic, Jagodic & Magic 2013). Primjena EGCG-a inhibirala je UV-B induciranu fotokarcinogenezu i globalnu hipometilaciju u SKH-1 miševa bez dlake (Penta, Somashekar & Meeran 2018). Iako brojna istraživanja pokazuju pozitivan učinak, neka nisu primijetila učinak EGCG-a na demetilaciju DNA što bi moglo biti zbog drugačijih metoda analize, specifičnosti gena ili staničnih linija na koje EGCG ne može utjecati. U svakom slučaju, EGCG se sve više pokušava iskoristiti u kliničke svrhe kao inhibitor DNMT-e koji bi reaktivirao utišane tumor-supresor gene i omogućio sprečavanje kancerogeneze.

3.1.2. Polifenoli iz kave

Polifenoli iz kave su kofeinska i klorogenska kiselina (Tablica 1.) koje djeluju demetilirajuće slično kao i polifenoli iz čaja. One djeluju na način da koriste SAM kao donor metilne skupine zbog čega nastaje SAH koji inhibira DNMT1. U staničnim linijama tumora dojke (MCF-7 i MDA-MB-231) prisutnost kofeinske i/ili klorogenske kiseline inhibira metilaciju promotorske regije *RARβ* (Link, Balaguer & Goel 2010).

3.1.3. Genistein

Genistein (4',5,7-trihidroksiflavan) (Tablica 1.) je polifenolni izoflavonoid kojeg nalazimo u soji. To je fitoestrogen jer se u stanici može vezati na estrogene receptore (ER- α i ER- β). Na njegova antikancerogena svojstva ukazuje i smanjena učestalost tumora u Aziji, u odnosu na ostatak svijeta, koja se povezuje s prehranom bogatom polifenolima. U soji nalazimo i druge izoflavonoide kao što je daidzein, no genistein pokazuje najjači učinak na inhibiciju DNMT-e. Učinak genisteina se ostvaruje preko direktnog vezanja u katalitičko mjesto DNMT-e čime se ona inhibira. Brojna istraživanja *in vitro* i *in vivo* pokazuju antikancerogeni učinak genisteina koji djeluje potičući apoptozu te inhibirajući metastaziranje i angiogenezu. Genistein reaktivira ekspresiju gena *p16^{INK4a}*, *RARβ* i *MGMT* demetilirajući promotore u staničnim linijama tumora jednjaka (KYSE510), također reaktivira gen *RARβ* u stanica tumora prostate (LNCaP i PC3) (Ong, Moreno & Ross 2012). U staničnim linijama tumora prostate genistein je pokrenuo demetilaciju promotora tumor-supresor gena (*GSTP1* i *EPHB2*) zbog čega se povećala i koncentracija njihovih proteinskih produkata (Supic, Jagodic & Magic 2013). Genistein inhibira i rast tumorskih stanica bubrega (A498, ACHN i HEK-293) djelujući na demetilaciju promotora i reaktivaciju tumor supresor gena (*BTG3*) inhibirajući DNMT-u i MBD2. (Ong, Moreno & Ross 2012). Obrada stanične linije tumora dojke (MCF-7 i MDA-MB-231) genisteinom pokazalo je kako on ima učinak na smanjenje razine DNMT-e, i to na sva tri oblika ovog enzima; a učinak ovisi o koncentraciji genisteina (Stepanić, Kujundžić & Gall Trošelj 2014). Da učinak ovisi o koncentraciji pokazuje i to da u zdravih premenopausalnih žena konzumacija veće količine izoflavonoida (genistein, daidzein, glicitein) pokazuje povećanu metilaciju gena povezanih s tumorom dojke (*p16*, *RASSF1A*, *RARβ2*, *ER*, *CCND2*) (Link, Balaguer & Goel 2010). Dakle, genistein u ograničenim količinama ima kemopreventivna svojstva i pokazuje pozitivan učinak na različite tumore. Osim djelovanja na epigenetske modifikacije, genistein djeluje antikancerogeno i zbog učinka na inhibiciju tirozin-kinaza te na inhibiciju NF- κ B i Akt signalnih puteva uključenih u kancerogenezu.

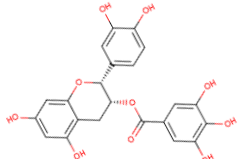
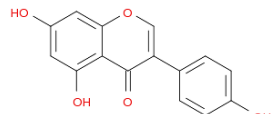
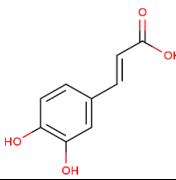
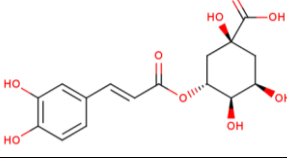
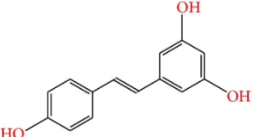
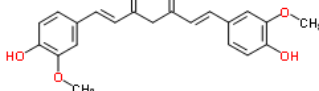
3.1.4. Resveratrol

Resveratrol (3,5,4'-trihidroksistilben) (Tablica 1.) je stilben koji pripada fitoaleksinima s antiupalnim djelovanjem, nalazimo ga u grožđu i crvenom vinu. Pokazao je učinak na inhibiciju rasta tumorskih stanica te se povezuje s pozitivnim kardiovaskularnim učincima. Resveratrol inhibira DNMT1 i omogućava aktivaciju tumor-supresor gena *BRCA-1* u MCF-7 stanica tumora dojke (Supic, Jagodic & Magic 2013). U kombinaciji s vitaminom D₃ pokazuje učinak na demetilaciju promotora tumor-supresor gena *PTEN* u MCF-7 stanica tumora dojke, ali ne daje rezultate u MDA-MB-231 staničnoj liniji; moguće je djelovanje i na demetilaciju tumor-supresor gena *RASSF1A* (Slika 6.). Resveratrol i pterostilben u kombinaciji djeluju na aktivaciju ER- α demetilacijom promotora u ER- α -negativnim stanicama tumora dojke (Lee i sur. 2018).

3.1.5. Kurkumin

Kurkumin (1,6-hepta-dien-3,5-dion-1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-(1E,6E)) (Tablica 1.) je stilben kojeg nalazimo u začinima, a dolazi iz biljke *Curcuma longa*. Odavno su poznati pozitivni učinci kurkumina, a istraživanjima se pokazalo kako ima antikancerogena, antiupalna i antioksidativna svojstva. Kurkumin može direktno inhibirati DNMT1 kovalentnim vezanjem u njegovo katalitičko mjesto i tako spriječiti hipermetilaciju. Učinak je pokazan na stanicama leukemije (MV4-11) gdje je nakon obrade došlo do hipometilacije (Hardy & Tollefsbol 2011). Kurkumin u kombinaciji s genisteinom ima učinak na demetilaciju *RAR β 2* tumor-supresor gena u stanica tumora grlića maternice (Supic, Jagodic & Magic 2013).

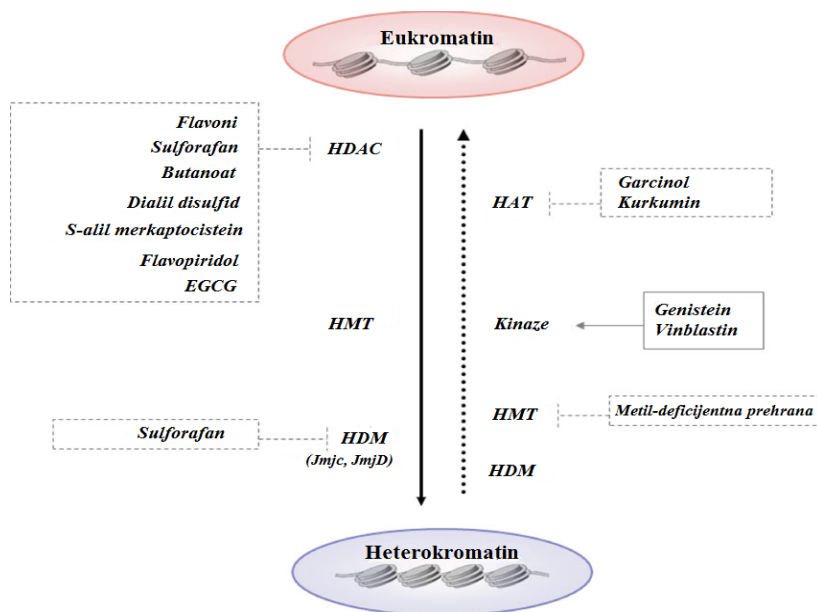
Tablica 1. Struktura polifenola uključenih u epigenetske modifikacije*

EGCG epigalokatehin -3-O-galat		Genistein (4',5,7- trihidroksiflavon)	
Kofeinska kiselina 3,4-dihidroksi-cimetna kiselina		Klorogenska kiselina 3-(3,4-dihidroksi cinamoil) kinska kiselina	
Resveratrol (3,5,4'- trihidroksistilben)		Kurkumin 1,6-hepta-dien-3,5-dion- 1,7-bis(4-hidroksi-3- metoksifenil)-(1E,6E)	

*(Preuzeto iz <http://phenol-explorer.eu/>)

3.2. Utjecaj polifenola na modifikaciju histona

Osim što imaju utjecaj na metilaciju DNA, polifenoli mijenjaju ekspresiju gena i utjecajem na modifikaciju histona u stanici. Imaju mogućnost aktivacije epigenetski utišanih gena te inaktivacije aktivnih gena u stanica tumora. Regulacija ovih procesa zbiva se također na razini enzima koji sudjeluju u modificiranju histonskih repova, a to su HAT, HDAC, HMT i HDM, a može se odvijati njihova aktivacija ili inhibicija (Slika 4.). Polifenoli s ovakvim svojstvima su EGCG, genistein, kurkumin, kvercetin, kampferol, resveratrol, itd.



Slika 4. Utjecaj polifenola na modifikaciju histona
(Preuzeto i prilagođeno prema Supic, Jagodic & Magic 2013)

3.2.1. EGCG

Osim na inhibiciju metilacije DNA EGCG (Tablica 1.) djeluje i na modifikacije histona, a pokazuje učinak na acetilaciju i metilaciju potičući transkripcijsku aktivnost tumor-supresor gena. Svoj učinak EGCG pokazuje inhibicijom HDAC-e i pojačanom acetilacijom histona u stanica tumora kože, prostate i dojke. Inhibirajući HMT EGCG demetilira H3K9 zbog čega se omogućava ekspresija inhibitora staničnog ciklusa *cip1/cip21* i *p27*, također utječe na inhibiciju HDAC-e i posljedično na pojačanu ekspresiju tumor-supresor gena *p21*, *p16* i *p53* u stanica tumora kože (Penta, Somashekar & Meeran 2018). Zbog inhibicije HDAC-e pojačava se razina acetilacije u stanici te dolazi do nastanka transkripcijski aktivnog eukromatina. Acetiliraju se lizini 5, 12 i 16 na histonu 4 te lizini 9 i 14 na histonu 3 (Supic, Jagodic & Magic 2013). U stanica tumora prostate EGCG je inhibirajući HDAC-u pojačao acetilaciju tumor-supresor gena *p53*, a u stanica tumora dojke inhibirajući HDAC-u aktiviran je ER α (Kim i sur. 2017).

3.2.2. Kurkumin

Uloga kurkumina u tumorskih stanicama uključuje zaustavljanje diobe te poticanje nekroze i apoptoze. Kurkumin (Tablica 1.) može djelovati na modifikaciju histona inhibirajući acetilaciju HAT-om kovalentnim vezanjem u katalitičko mjesto ovog enzima, na ovaj način deacetiliraju se histoni 3 i 4. Također djeluje i na inhibitore HDAC-e što aktivira ovaj enzim i sprečava hiperacetilaciju u tumorima. Kurkumin je pokazao i mogućnost inhibicije HDAC-e što dovodi do jače acetilacije. Acetilacijom histona omogućava se prijelaz gena u oblik heterokromatina i transkripcijska aktivnost. Uloga kurkumina vidljiva je u Burkittovom limfomu gdje smanjuje ekspresiju HDAC1, HDAC3 i HDAC8 te pojačava ekspresiju histona 8 (Link, Balaguer & Goel 2010). Učinak je pokazan i na inhibiciji HDAC1 i HDAC2 u tumorima grlića maternice i prostate zbog čega se povećala acetilacija *p53*, a time i transkripcijska aktivnost (Kim i sur. 2017).

3.2.3. Resveratrol

U različitim uvjetima resveratrol (Tablica 1.) može potaknuti inhibiciju ili aktivaciju određene deacetilaze u stanici. Može djelovati na modifikacije histona tako da inhibira HDAC-u kovalentnim vezanjem u katalitičko mjesto. Može inaktivirati HDAC2, HDAC4, HDAC7 i HDAC8 te pojačati razinu acetilacije nekih gena u stanici, primjerice tumor-supresor gena *p53* (Kim i sur. 2017). Također, resveratrol aktivira SIRT1 (NAD⁺ ovisna histon deacetilaza, *NAD⁺ dependent histone deacetylase sirtuin 1*) (Slika 6.) što je bitno za kemopreventivna svojstva ove tvari. SIRT1 deacetilira H3K9 unutar promotora gena za antiapoptotičke proteine i uzrokuje njihovu smanjenu ekspresiju te poticanje stanične smrti; aktivnost SIRT1 povezana je i s utišavanjem onkogenih u tumorima dojke (Link, Balaguer & Goel 2010). U stanicama tumora dojke resveratrol pokazuje učinak i na aktivaciju epigenetski utišanog tumor-supresor gena *BRCA1* acetilacijom H4 i H3K9 te demetilacijom H3K9 u promotora (Supic, Jagodic & Magic 2013).

3.2.4. Genistein

Genistein (Tablica 1.) je još jedan polifenol koji osim na metilaciju DNA, pokazuje učinak i na modifikaciju histona i to inhibicijom HDAC-e te aktivacijom HAT-e. Pokazano je kako djeluje na inhibiciju HDAC1 u stanicama tumora crijeva te HDAC6 i SIRT1 u stanicama tumora prostate, također djeluje i na metilaciju i acetilaciju histona u stanicama tumora dojke (Kim i sur. 2017). U tumorima prostate genistein potiče acetilaciju histona 3 i 4, a time pojačava ekspresiju tumor-supresor gena *p16* i *p21* (Zhang & Chen 2011). Osim na acetilaciju, genistein djeluje i na metilaciju histona gdje učinak aktivacije i inhibicije ovisi o metiliranom ostatku. U nekih

histona metilacija dovodi do aktivacije transkripcije, dok u drugih uzrokuje utišavanje. Primjerice, u stanica tumora prostate demetilacijom H3K9 aktiviraju se tumor-supresor geni *PTEN* i *CYLD* (Zhang & Chen 2011).

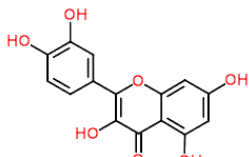
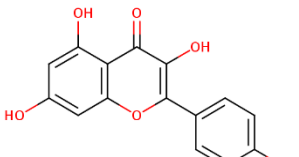
3.2.5. Kvercetin

Kvercetin (5,7,3',4'-flavon-3-ol) (Tablica 2.) je antikancerogeni flavonol koji se nalazi u različitom voću i povrću, posebno u crvenom luku i kelju. Ponaša se antioksidativno, antikancerogeno i antiupalno. U stanici djeluje na aktivaciju SIRT1 vežući se u aktivno mjesto tog enzima, ali daje slabiji učinak nego resveratrol. U stanica jetre (HepG2) izloženih hipoksiji kvercetin aktivira SIRT1 koji deacetilira onkogen *c-myc* i smanjuje njegovu transkripcijsku aktivnost (Stepanić, Kujundžić & Gall Trošelj 2014). Inhibirajući HDAC1 kvercetin je pokazao učinak na zaustavljanje staničnog ciklusa i pokretanje apoptoze. U stanica leukemije (HL-60) kvercetin je pokrenuo apoptozu aktivirajući kaspazu-8, također pojačao je ekspresiju Fas liganda (FasL) acetilirajući histon 3 u promotoru tog gena (Lee, Chen & Tseng 2011). Kvercetin se pokazao i kao aktivator HAT-e i inhibitor HDAC-e, što u oba slučaja dovodi do pojačane acetilacije te posljedično do jače transkripcijske aktivnosti acetiliranog gena.

3.2.6. Kampferol

Kampferol (3,5,7-trihidroksi-2-(4-hidroksifenil)-4H-kromen-4-on) (Tablica 2.) je flavonol kojeg nalazimo kao dio brojnih biljaka, uključujući voće i povrće, primjerice brokule, rajčice, luka, jabuka, breskve itd. Kao i kvercetin, ima antioksidativna, antiupalna i antikancerogena svojstva. U stanica tumora pokazuje utjecaj na smanjivanje proliferacije, a djeluje kao HDAC-inhibitor. U staničnim linijama leukemije (K562 i U937) kamperfol inhibira PI3K i defosforilira Akt, a također pojačava ekspresiju SIRT3 deacetilaze (Stepanić, Kujundžić & Gall Trošelj 2014). Može djelovati i kao inhibitor histon demetilaza.

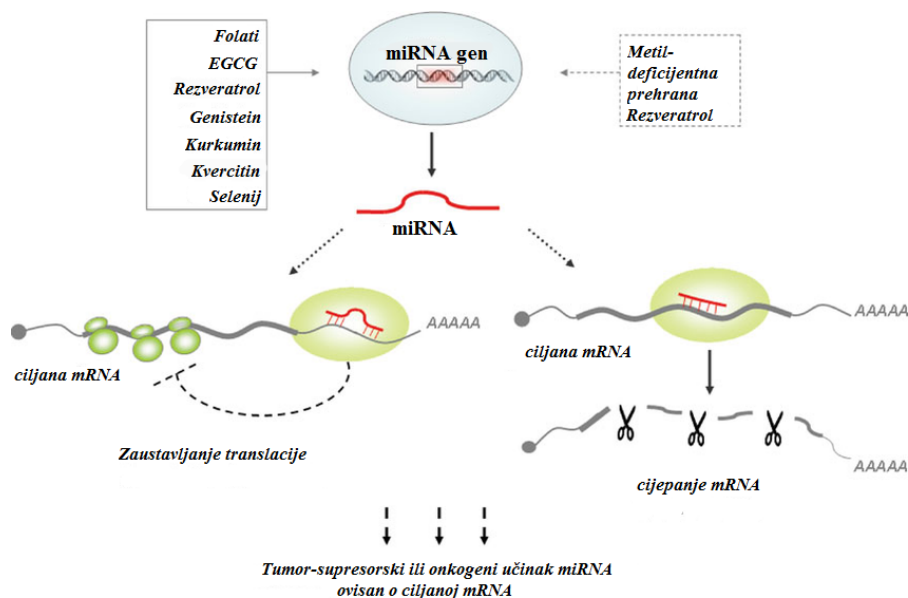
Tablica 2. Struktura polifenola uključenih u epigenetske modifikacije*

KVERCITIN 5,7,3',4'-flavon-3-ol		KAMPFEROL 3,5,7-trihidroksi-2-(4-hidroksifenil)-4H-kromen-4-on	
---	---	--	---

*Napomena: Polifenoli koji, osim na modifikaciju histona, pokazuju učinak i na DNA metilaciju već su prethodno prikazani u Tablici 1. (Preuzeto iz <http://phenol-explorer.eu/>)

3.3. Utjecaj polifenola na ekspresiju miRNA

Novija istraživanja pokazuju kako polifenoli utječu na ekspresiju gena putem djelovanja na miRNA i to ciljano na onkogene i tumor-supresorske miRNA u stanici (Slika 5.). Polifenoli koji imaju ovakav utjecaj su: EGCG, genistein, kvercetin, kurkumin, kampferol, resveratrol, itd.



Slika 5. Utjecaj polifenola na miRNA
(Preuzeto i prilagođeno prema Supic, Jagodic & Magic 2013)

3.3.1. Kurkumin

Kurkumin (Tablica 1.) djeluje na ekspresiju miRNA u stanici i to na nekoliko načina. Može direktno inhibirati transkripciju miRNA vežući se na promotor što onemogućava vezanje transkripcijskog faktora AP1 (aktivirajući protein 1, *activator protein 1*), a može poticati i sekreciju miRNA u egzosome te tako smanjiti njihovu koncentraciju u stanici. U brojnih tumora zabilježena je povećana razina miRNA-21 koja uzrokuje proliferaciju stanica i inhibiciju apoptoze, gdje je kurkumin pokazao mogućnost smanjivanja ekspresije ove miRNA. Ovaj učinak pokazan je na stanicama tumora debelog crijeva i pluća gdje je smanjivanje ekspresije miRNA-21 rezultiralo smanjenom proliferacijom i indukcijom apoptoze, a u tumora debelog crijeva i gušterače kurkumin je spriječio migraciju stanica i nastanak metastaza (Chen, Xu & Chen 2015). Antikancerogena svojstva kurkumina uključuju i inhibiciju različitih signalnih puteva povezanih s promocijom tumora, neki od njih su: *MAPK*, *PI3K/Akt*, *NF-κB* i *COX-2*. MiRNA-21 inhibira *PTEN* zbog čega se pokreće *PI3K/Akt* signalni put koji potiče proliferaciju i inhibira apoptozu, kurkumin u ovom slučaju inhibira miRNA-21 koja onda neće djelovati na *PTEN* (Chen, Xu & Chen 2015). Uz miRNA-21, kurkumin djeluje i na brojne druge miRNA sa

sličnim učincima. U stanica tumora gušterače (BxPC3) kurkumin je snizio razinu ekspresije miRNA-22 što je rezultiralo smanjenom ekspresijom nekih gena (Link, Balaguer & Goel 2010). Kurkumin je djelovao i na smanjenje ekspresije *Bcl2* gena povećanjem ekspresije miRNA-15a i miRNA-16 u stanica tumora dojke (MCF7), a smanjena ekspresija *Bcl2* gena potaknula je apoptozu budući da on kodira za antiapoptotičke proteine (Supic, Jagodic & Magic 2013). U tumora dojke kurkumin djeluje i na smanjivanje rizika od nastanka metastaza smanjujući razinu upalnih citokina povećanom ekspresijom miRNA-181b (Debnath i sur. 2017).

3.3.2. Genistein

Kao i kurkumin, genistein (Tablica 1.) u tumorskih stanica djeluje na snižavanje razine ekspresije miRNA što onda dovodi do različitih posljedica. Genistein u stanica tumora prostate potiče ekspresiju tumor-supresorske miRNA-574-3p i inhibira ekspresiju onkogene miRNA-1260b (Debnath i sur. 2017). Slično djeluje i na stanice tumora dojke gdje potiče ekspresiju tumor-supresorske miRNA-23b i inhibira ekspresiju onkogene miRNA-155 (Debnath i sur. 2017). Obradan genisteinom u stanica tumora jajnika (UL3A i UL3B) rezultira snižavanjem razine ekspresije miRNA što ima utjecaj na aktivaciju ER α i ER β , također djeluje na inhibiciju migracije i invazije tumorskih stanica (Supic, Jagodic & Magic 2013). U stanica tumora jajnika genistein inhibira proliferaciju i migraciju stanica smanjujući ekspresiju miRNA-27a, a sličan učinak ima i u tumora gušterače gdje djeluje na miRNA-146a (Link, Balaguer & Goel 2010).

3.3.3. EGCG

EGCG (Tablica 1.) pokazuje utjecaj na brojne miRNA u različitim tumorima i povezuje se s regulacijom signalnih puteva, stanične proliferacije i apoptoze. U stanica tumora dojke (4T1) EGCG pokazuje učinak na inhibiciju M2 polarizacije makrofaga preko regulacije miRNA-16 koja egzozomima dolazi iz tumorskih stanica do tumoru pridruženih makrofaga (TAMs, *tumor associated macrophages*) (Debnath i sur. 2017). EGCG potiče ekspresiju miRNA-16 u stanica tumora jetre (HepG2) što dovodi do smanjene ekspresije *BCl2* gena i indukcije apoptoze (Link, Balaguer & Goel 2010). EGCG pokazuje antikancerogena svojstva i u slučaju neuroblastoma, gdje pojačava ekspresiju tumor-supresorskih miRNA (7-1, 34a i 99a) i smanjuje ekspresiju onkogenih miRNA (92, 93 i 106b) (Debnath i sur. 2017).

3.3.4. Kvercetin

Kvercetin (Tablica 2.) ima mogućnost stopiranja metastaziranja i stanične proliferacije te djeluje na inhibiciju apoptoze preko mehanizama povezanih s miRNA. Potiče ekspresiju tumor-supresorskih miRNA, a inhibira ekspresiju onkogenih. U stanica tumora debelog crijeva (HT29) kvercetin potiče ekspresiju miRNA-146a koja zaustavlja aktivaciju NF- κ B (Supic, Jagodic & Magic 2013). Regulacijom ekspresije miRNA-146a u stanica tumora dojke zaustavlja proliferaciju i metastaziranje stanica (Debnath i sur. 2017).

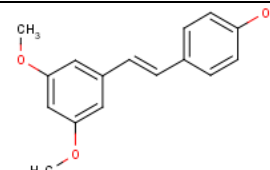
3.3.5. Resveratrol

Resveratrol (Tablica 1.) također pokazuje učinak na regulaciju razine ekspresije miRNA, koja onda često ima utjecaj na regulaciju antiapoptotičkih proteina. Resveratrol može djelovati na već spomenutu miRNA-21 koja je izražena u brojnih tumora. Smanjena ekspresija miRNA-21 u stanica tumora gušterače uzrokuje inhibiciju *Bcl2* gena (Lee i sur. 2018). Također, resveratrol djeluje na poticanje apoptoze u stanica akutne limfoblastične leukemije (CCRF-CEM) poticanjem ekspresije miRNA-16-1 i miRNA-15a (Lee i sur. 2018). Obrada resveratrolom u stanica tumora debelog crijeva (SW480) rezultira smanjenom razinom onkogenih miRNA koje su povezane s *PTEN-om* i *PDCD4*, a djeluje i na tumor-supresor miRNA-663 koja je povezana s TGF faktorom (Supic, Jagodic & Magic 2013). U stanica tumora debelog crijeva također je pokazan utjecaj na promociju apoptoze povećanom ekspresijom miRNA34c (Debnath i sur. 2017). Uz ove, resveratrol djeluje i na brojne druge miRNA u različitim tumorima djelujući na snižavanje ili porast ekspresije (Slika 6.), što onda daje različite učinke koji se mogu iskoristiti u svrhu terapije.

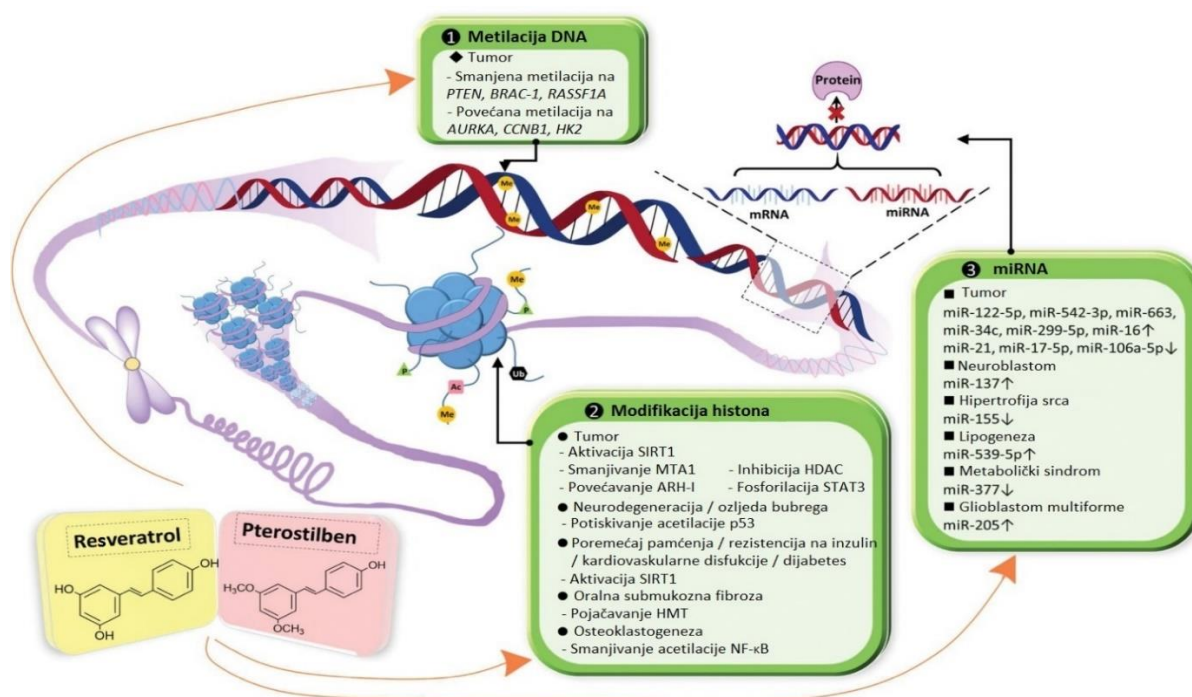
3.3.6. Pterostilben

Pterostilben (3',5'-dimetoksi-4-stilbenol) (Tablica 3.) je stilben strukturno i funkcionalno sličan resveratrolu, također je fitoaleksin s antiupalnim djelovanjem. Nalazimo ga u bademima, borovnicama i ostalom sličnom voću. U tumorskih stanica pokazuje učinak na ekspresiju miRNA (Slika 6.) koju može potaknuti ili inhibirati. U stanica tumora dojke (MDA-MB-231) uzrokuje povećanu ekspresiju miRNA-205 zbog čega dolazi do utišavanja ekspresije *Src* onkogeni, također se utišava *Src/Fak* signalni put i posljedično dolazi do zaustavljanja rasta tumora i metastaziranja (Lee i sur. 2018). Pterostilben pokazuje učinak i na sniženu ekspresiju NF- κ B povećanjem ekspresije miRNA-448 (Lee i sur. 2018).

Tablica 3. Struktura polifenola koji pokazuju učinak na miRNA*

PTEROSTILBEN 3',5'-dimetoksi- 4-stilbenol	
--	--

*Napomena: Ostali polifenoli s ovakvim utjecajem nisu prikazani u ovoj tablici, jer se već nalaze u Tablicama 1 ili 2. (Preuzeto iz <http://phenol-explorer.eu/>)



Slika 6. Uloga resveratrola i pterostilbena u epigenetskim modifikacijama

Na slici je prikazan utjecaj resveratrola i pterostilbena na sve tri opisane modifikacije. Dio navedenih učinaka već je opisan u tekstualnom dijelu rada, a u kvadratima na slici nabrojani su i neki dodatni učinci koje ovi tvari imaju. (Preuzeto i prilagođeno prema Lee i sur. 2018)

4. ZAKLJUČAK

Iz navedenih primjera jasno se vidi da polifenoli mogu odigrati jako bitnu ulogu u tijeku brojnih ljudskih bolesti, među kojima je i rak. Djelovanjem na DNA metilaciju, modifikaciju histona i na razinu ekspresije miRNA polifenoli mogu izmjenjivati epigenetske modifikacije čime mogu imati utjecaj na inhibiciju razvoja i rasta tumora. Naime, u tumora je pronađena nepravilna ekspresija epigenetskih čimbenika koje polifenoli mogli regulirati i vratiti u normalno stanje, odnosno u ono prije tumorigeneze. Iako pokazuju ovakve učinke, polifenoli

se ne mogu već sutra početi koristiti u terapiji. Većina ovih istraživanja rađena je *in vitro* na staničnim linijama i nisu mogući učinci u živim organizmima, a to je uglavnom zbog nedostupnosti polifenola u tijelu. Kada se unesu oralno polifenoli završavaju u probavnom sustavu i prolaze vrlo brzi metabolizam zbog čega samo mali dio krvlju dođe do ciljanih organa, ostatak se izluči iz tijela (Asensi i sur. 2011). Nešto bolji učinci su primijećeni nakon intravenske primjene, ali se i dalje ne ostvaruje puni potencijal (Asensi i sur. 2011). Kako bi polifenoli mogli djelovati antikancerogeno na tumor u tijelu trebali bi se primijeniti direktno na taj tumor ili se mora povećati njihova biodostupnost nakon unošenja. Jedna opcija je korištenje nekoliko polifenola odjednom koji bi onda djelovali sinergistički i aditivno, a druga je korištenje strukturnih analoga koji bi onemogućili metabolizam samih polifenola te tako omogućili njihovo iskorištavanje u ciljanim organima. Osim biodostupnosti, problem koji se susreće u terapiji je i vrlo visoka koncentracija polifenola korištena u uvjetima *in vitro* koje je gotovo nemoguće dosegnuti *in vivo* (Supic, Jagodic & Magic 2013). No čak i kad bi se postigla ta visoka koncentracija na ciljanom mjestu u tijelu, postavlja se pitanje o toksičnosti polifenola te o njihovom specifičnom djelovanju u pojedinim tkivima. Epigenetske modifikacije su tkivno specifične i učinak jednog polifenola nije isti u svim tkivima, zbog toga terapija može rezultirati suprotnim učincima. Dodatni problem predstavlja i nespecifičnost polifenolnih inhibitora enzima uključenih u epigenetske procese zbog čega može doći do neželjenih učinaka. Primjerice moglo bi doći do globalne hipometilacije i aktivacije onkogeno (Supic, Jagodic & Magic 2013). Problem predstavlja i doziranje polifenola u terapiji, i količinski i vremenski. Dakle, potrebna su brojna dodatna istraživanja o učincima polifenola u terapiji, budući da pokazuju iznimna antikancerogena svojstva, a vrlo malu iskoristivost. Moraju se odrediti pozitivni i negativni učinci polifenola na zdrave osobe i osobe s tumorima različitih stadija (Supic, Jagodic & Magic 2013). Također, mora se odrediti i specifična doza koja bi se koristila u terapiji pojedinog tumora. U kemoprevenciji veliku ulogu igra prehrana te se konzumirajući odabrane tvari može smanjiti rizik od nastanka tumora, naravno ovo je dugoročni učinak i rizik se ne može drastično smanjiti ako je već kasno. Ukoliko se omogući potpuno razumijevanje mehanizama specifičnog djelovanja i načina potpunog iskorištenja, polifenoli predstavljaju budućnost prevencije i liječenja tumora.

5. KRATICE

- Akt - protein kinaza B (*protein kinase B*)
- AP1 (aktivirajući protein 1, *activator protein 1*)
- BRCA-1 - *breast cancer 1*, tumor-supresor gen
- CCND2 - G1/S-specifičan ciklin-D2 (*G1/S-specific cyclin-D2*)
- COMT - katehol-O-metiltransferaza (*catechol-O-methyltransferase*)
- COX-2 - ciklooksigenaza 2 (*cyclooxygenase 2*)
- CYLD - *Cylindromatosis (turban tumor syndrome)*
- DNMT - DNA metiltransferaza (*DNA methyltransferases*)
- EGCG - epigalokatehin-3-O-galat (*epigallocatechin-3-O-gallate*)
- EPHB2 - tip B efrin receptor 2 (*ephrin type-B receptor 2*)
RASSF1A - *ras association domain-containing protein 1A*
- ER - receptor za estrogen (*estrogen receptor*)
- GSTP1 - glutation S-transferaza P1 (*glutathione S-transferase P1*)
- H3K9 - lizin 9 na histonu 3
- HAT - histon acetiltransferaza (*histone acetyltransferase*)
- HDAC - histon deacetilaza (*histone deacetylase*)
- HDACi - HDAC-inhibitorI (*HDAC inhibitors*)
- HDM - histon demetilaza (*histone demethylase*)
- hMLH1 - ljudski mutL homolog 1 (*human mutL homolog 1*)
- HMT - histon metiltransferaza (*histone methyltransferase*)
- MAPK - mitogenom aktivirana protein kinaza (*mitogen activated protein kinase*)
- MGMT - O6-metilguanin-DNA metiltransferaza (*O6-methylguanine-DNA methyltransferase*)
- miRNA - mikro RNA (*micro RNA*)
- mRNA - glasnička RNA (*messenger RNA*)
- NF- κ B - *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*
- p16^{INK4a} - inhibitor 2A ciklin ovisne kinaze (*cyclin-dependent kinase Inhibitor 2A*)
- p21^{Cip1} (p21^{Waf1}) - inhibitor 1 ciklin-ovisne kinaze (*cyclin-dependent kinase inhibitor1*)
- p27^{Kip1} - inhibitor 1B ciklin-ovisne kinaze (*cyclin-dependent kinase inhibitor 1B*)
- PDCD4 - protein 4 programirane stanične smrti (*programmed cell death protein 4*)
- PI3K - fosfoinozitol 3-kinaza (*phosphoinositide 3-kinase*)
- PTEN - fosfatidilinozitol-3,4,5-trifosfat-3-fosfataza (*phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate-3-phosphatase*)
- RAR β - retinoidni receptor (*retinoic acid receptor beta*)
- RECK - *reversion-inducing-cysteine-rich protein with kazal motifs*
- SAH - S-adenozil-L-homocistein (*S-adenosyl-L-homocysteine*)
- SAM - S-adenozil-metionin (*S-adenosyl-methionine*)
- SIRT1(NAD⁺ovisna histon-deacetilaza, *NAD⁺dependent histone-deacetylase sirtuin1*)
- Src - protoonkogeni tirozin protein kinaza (*proto-oncogene tyrosine-protein kinase*)
- TGF - transformirajući faktor rasta (*Transforming growth factor*)

6. LITERATURA

- Asensi, M., Ortega, A., Mena, S., Feddi, F. & Estrela, J. M. Natural polyphenols in cancer therapy. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* **48**, 197–216 (2011).
- Chen, J., Xu, T. & Chen, C. The critical roles of miR-21 in anti-cancer effects of curcumin. *Ann. Transl. Med.* **3**, 330 (2015).
- Debnath, T., Deb Nath, N. C., Kim, E. K. & Lee, K. G. Role of phytochemicals in the modulation of miRNA expression in cancer. *Food Funct.* **8**, 3432–3442 (2017).
- Etienne-Selloum, N., Dandache, I., Sharif, T., Auger, C. & Schini-Kerth, V. B. Polyphenolic compounds targeting p53-family tumor suppressors: Current progress and challenges. *Futur. Asp. Tumor Suppressor Gene* 129–167 (2013).
- Hardy, T. M. & Tollefsbol, T. O. Epigenetic diet: Impact on the epigenome and cancer. *Epigenomics* **3**, 503–518 (2011).
- Henning, S. M., Wang, P., Carpenter, C. L. & Heber, D. Epigenetic effects of green tea polyphenols in cancer. *Epigenomics* **5**, 729–741 (2013).
- Kim, E., Bisson, W. H., Löhr, C. V., Williams, D. E., Ho, E., Dashwood, R. H., & Rajendran, P. Histone and Non-Histone Targets of Dietary Deacetylase Inhibitors. *Natl. J. Physiol. Pharm. Pharmacol.* **7**, 232–235 (2017).
- Lee, P. S., Chiou, Y. S., Ho, C. T. & Pan, M. H. Chemoprevention by resveratrol and pterostilbene: Targeting on epigenetic regulation. *BioFactors* **44**, 26–35 (2017).
- Lee, W. J., Chen, Y. R. & Tseng, T. H. Quercetin induces FasL-related apoptosis, in part, through promotion of histone H3 acetylation in human leukemia HL-60 cells. *Oncol. Rep.* **25**, 583–591 (2011).
- Link, A., Balaguer, F. & Goel, A. Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: Promising role for epigenetics. *Biochem. Pharmacol.* **80**, 1771–1792 (2010).

- Losada-Echeberria, M., Herranz-López, M., Micol, V. & Barrajón-Catalán, E. Polyphenols as Promising Drugs against Main Breast Cancer Signatures. *Antioxidants* **6**, 88 (2017).
- Malireddy, S., Kotha, S. R., Secor, J. D., Gurney, T. O., Abbott, J. L., Maulik, G., Maddipati, K.R. & Parinandi, N. L. Phytochemical Antioxidants Modulate Mammalian Cellular Epigenome: Implications in Health and Disease. *Antioxid. Redox Signal.* **17**, 327–339 (2012).
- Neveu, V., Perez-Jiménez, J., Vos, F., Crespy, V., du Chaffaut, L., Mennen, L., Knox, C., Eisner, R., Cruz, J., Wishart, D. & Scalbert, A. Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. *Database (Oxford)*. **2010**, 1–9 (2010).
- Ong, T. P., Moreno, F. S. & Ross, S. A. Targeting the epigenome with bioactive food components for cancer prevention. *J. Nutrigenet. Nutrigenomics* **4**, 275–292 (2012).
- Penta, D., Somashekar, B. S. & Meeran, S. M. Epigenetics of skin cancer: Interventions by selected bioactive phytochemicals. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* **34**, 42–49 (2018).
- Stepanić, V., Kujundžić, R. N. & Gall Trošelj, K. Epigenome , Cancer Prevention and Flavonoids and Curcumin. *Epigenetics and Epigenomics* (2014).
- Supic, G., Jagodic, M. & Magic, Z. Epigenetics: A new link between nutrition and cancer. *Nutr. Cancer* **65**, 781–792 (2013).
- Zhang, Y. & Chen, H. Genistein, an epigenome modifier during cancer prevention. *Epigenetics* **6**, 888–891 (2011).

<http://phenol-explorer.eu/> (Pristupljeno: 07.07.2018.)

7. SAŽETAK

Polifenoli su sekundarni biljni metaboliti koji u ljudskom tijelu pokazuju pozitivne učinke na različite bolesti, uključujući i tumore. Tumor nastaje kao posljedica genetskih i epigenetskih promjena, a polifenoli mogu utjecati na inhibiciju razvoja i rasta tumora mijenjajući reverzibilne epigenetske modifikacije. U ovom je radu opisan upravo učinak polifenola na izmjenu aberantnih epigenetskih modifikacija u tumorskih stanicama. Polifenoli su se pokazali kao inhibitori DNA metiltransferaze pri čemu sprečavaju metilaciju DNA i omogućavaju transkripcijsku aktivnost. Pokazali su učinak i na modifikacije histona (acetilaciju i metilaciju) gdje aktivacijom ili inhibicijom uključenih enzima (histon acetil- i metil-transferaze te histon deacetilaze i demetilaze) mogu regulirati stanje kromatina, a preko toga i transkripciju. Treći način regulacije genske ekspresije pokazan je u obliku smanjivanja ili povećavanja razine ekspresije različitih miRNA koje onda utječu na ekspresiju ostalih faktora uključenih u kancerogenezu. Preko ova tri mehanizma omogućena je regulacija transkripcijske aktivnosti što je bitno za izmjenu nepravilnih ekspresija tumor-supresorskih gena i onkogenata u tumorskih stanicama. Utišavanjem onkogenata i reaktivacijom epigenetički utišanih tumor-supresor gena polifenoli inhibiraju rast tumora. Iako daju dobre rezultate u uvjetima *in vitro*, polifenoli se još uvijek ne mogu koristiti u svrhu terapije zbog nespecifičnog djelovanja na enzime, zbog tkivno specifičnih epigenetskih modifikacija te zbog nedostupnosti u živom organizmu. Ukoliko se riješe ovi problemi, polifenoli predstavljaju budućnost kemoprevencije i terapije tumora.

8. SUMMARY

Polyphenols are secondary plant metabolites that show positive effects on various human diseases, including tumors. Tumor appears as a result of genetic and epigenetic changes, and polyphenols can affect the inhibition of tumor growth by altering the reversible epigenetic modification. This paper describes the effect of polyphenols on the aberrant epigenetic modification in tumor cells. Polyphenols have been shown to inhibit DNA methyltransferase which results in inhibition of DNA methylation and activation of transcriptional activity. They also demonstrated the effect on histone modification (acetylation and methylation) where activation or inhibition of involved enzymes (histone acetyl- and methyl-transferase, histone deacetylase and demethylase) can regulate the chromatin state and with that a transcriptional activity. The third model of regulation of gene expression has been shown to reduce or increase the expression level of different miRNAs, which then influence the expression of other factors involved in carcinogenesis. Through these three mechanisms it is possible to regulate transcriptional activity which is essential for the modification of improper expression of tumor-suppressor genes and oncogenes in tumor cells. By silencing of the oncogenes and the reactivation of epigenetically silenced tumor-suppressor genes polyphenols inhibit tumor growth. Although providing good results in *in vitro* conditions, polyphenols can not yet be used for therapy because of non-specific action on enzymes, tissue-specific epigenetic modification and lack of bioavailability in the living organism. If these problems are solved, polyphenols represent the future of chemoprevention and tumor therapy.