

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

Ekaterina Pronevich

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

Epigenetické účinky kontaminantů potravin a životního prostředí a jejich role při  
vzniku nádorových onemocnění

Ekaterina Pronevich

Bakalářská práce

2020

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Ekaterina Pronevich**  
Osobní číslo: **C18390**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**  
Název tématu: **Epigenetické účinky kontaminantů potravin a životního prostředí a jejich role při vzniku nádorových onemocnění**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Vysvětlete, jakou roli hrají epigenetické faktory při vzniku a rozvoji nádorových onemocnění. Popište biochemické mechanismy účinku nejvýznamnějších skupin epigenetických faktorů, pozornost věnujte zejména vlivu metylace tumorsupresorových genů a vlivu hypometylace DNA na vznik nádoru.
2. Shrňte aktuální poznatky o kontaminantech potravin a znečišťujících látkách v životním prostředí, které působí jako účinné epigenetické faktory. Zamyslete se, jak mohou znalosti o epigenetických faktorech pomoci v rámci prevence vzniku nádorových onemocnění.
3. Popište úlohu epigenetických biomarkerů při identifikaci subpopulací se zvýšeným rizikem vzniku nádorů vlivem dietárních a environmentálních kontaminantů. Popište možnosti využití těchto biomarkerů v rámci preventivních protinádorových opatření.
4. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 9/2012 "Pravidla pro zveřejňování závěrečných prací a jejich základní jednotnou formální úpravu".

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Miloslav Pouzar, Ph.D.**

Ústav environmentálního a chemického inženýrství

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2018**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.



prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 16. 7. 2020

Ekaterina Pronevich

*Na tomto místě bych chtěla poděkovat panu doc. Ing. Miloslav Pouzar, Ph.D. za odborné vedení diplomové práce, podporu a rady při konzultacích.*

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce obsahuje základní informace o epigenetice. Epigenetika popisuje procesy působící na DNA, které jsou mitoticky stabilní a regulují genomovou aktivitu nezávislou na DNA sekvenci. Mezi epigenetické mechanismy patří metylace DNA, metylace histonu, interference RNA. Narušení těchto mechanismů je spojeno se vznikem nádorových onemocnění. K vyvolávání změn epigenetických mechanismů dochází vlivem toxických látek znečišťujících životní prostředí a kontaminantů potravin. Práce dále popisuje úlohu epigenetických biomarkerů, které slouží pro detekci nádorových onemocnění.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Epigenetické biomarkery, životní prostředí, nádor, epigenetické mechanismy, potraviny.

## **TITLE**

Epigenetic effects of food and environmental contaminants and their role in the cancer development.

## **ANNOTATION**

This bachelor's thesis contains basic information about epigenetics. Epigenetics describes processes acting on DNA that are mitotically stable and regulate genomic activity independent of DNA sequence. Epigenetic mechanisms include DNA methylation, histone methylation, RNA interference. Disruption of these mechanisms is associated with the development of cancer. The induction of changes in epigenetic mechanisms occurs under the influence of environmental and food contaminants. The work also describes the role of epigenetic biomarkers that are used to detect cancer.

## **KEYWORDS**

Epigenetic biomarkers, environmental, tumor, epigenetics mechanisms, food.

# OBSAH

OBSAH.....	8
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK.....	10
1 ÚVOD.....	11
2 TEORETICKÁ ČÁST.....	12
2.1 Epigenetika.....	12
2.1.1 Metylace DNA.....	13
2.1.1.1 DNA metyltransferázy (DNMTs).....	16
2.1.1.2 Demethylace DNA.....	16
2.1.2 Modifikace histonů.....	17
2.1.2.1 Metylace histonů.....	18
2.1.2.2 Histon metyltransferázy (HMTs).....	19
2.1.2.3 Acetylace histonů.....	19
2.1.3 RNA interference (RNAi).....	19
2.1.4 Imprinting.....	20
2.1.4.1 Epigenetické mechanismy imprintingu.....	20
2.1.4.2 Diferencovaně metylované oblasti (DMRs).....	21
2.1.4.3 Ztráta imprintingu (LOI) u rakoviny.....	21
2.1.4.4 Inaktivace chromozomu X.....	21
2.1.5 Oxidační stres.....	22
3 Epigenetické biomarkery.....	25
3.1 Biomarkery rakoviny.....	26
3.2 Metylace DNA jako mechanismus pro vývoj biomarkerů.....	27
3.3 Nekódující RNA (ncRNA) jako epigenetický biomarker.....	28
3.4 Epigenetické biomarkery rizikových environmentálních faktorů.....	31
4 Vliv epigenetických změn vyvolaných faktory životního prostředí, výživy a životního stylu na vznik nádorových onemocnění.....	32
4.1 Nebezpečné chemické látky znečišťující životní prostředí.....	33



4.2	Vliv výživy na vznik nádorových onemocnění.....	35
	Epigalokatechin galát (EGCG).....	36
	Kurkumin.....	37
	Apigenin.....	37
4.3	Minerály a vitamíny.....	38
4.4	Antioxidanty.....	38
5	ZÁVĚR.....	40
6	POUŽITÁ LITERATURA.....	41
7	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	47
8	SEZNAM TABULEK.....	47

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

COMT- Katechol-O-metyltransferáza  
SAH- S-adenosyl-L-homocystein  
SAM-S-adenosyl-L-metionin  
MTHFR-metylenetetrahydrofolát  
GSTP1-Glutathion-S-transferáza P  
DNMT-DNA metyltransferáza  
CpG-cytosin-guanin dinukleotidy  
MUC1- Mucin 1  
HMTs-Histon metyltransferáza  
PRMTs-protein arginin metyltransferáza  
HDAC-histon deacetyláza  
HAT-histon acetyltransferáza  
RNAi-RNA interference  
mRNA-mediátorova RNA  
ncRNA-nekódující RNA  
lncRNA-dlouhé nekódující RNA  
miRNA-krátké nekódující RNA  
RISC -RNA- indukované umlčovací komplexy  
piRNA Piwi-interagující RNA  
DMRs-Diferencovaně metylované oblasti  
ICRs-klíčová metylovaná imprintovaná centra  
ICs- klíčová metylovaná imprintovaná centra  
LOI- Ztráta imprinting  
ROS-Reaktivní druhy kyslíku  
RNS- reaktivní druhy dusíku  
RSS-reaktivní druhy síry  
RCS-reaktivní chloridy  
DNAm-Metylace DNA

# 1 ÚVOD

Epigenetika je dynamicky se rozvíjející vědní disciplína, která v posledních letech zaznamenala velký nárůst zájmu. Tato podoblast genetiky se věnuje studiu změn v genové expresi, které nejsou spojeny se změnami pořadí nukleotidů v nukleových kyselinách. Už od narození na naše tělo působí toxické látky kontaminující životní prostředí, nebo potraviny a dochází tak k vyvolávání epigenetických změn, což může způsobit vznik nádorových onemocnění. Mezi klíčové epigenetické mechanismy patří metylace histonů, RNA interference, metylace DNA. Těmto epigenetickým důsledkům lze zabránit konzumací zdravé a vyvážené stravy a také zdravým životním stylem. Tato bakalářská práce se zabývá rolí epigenetických faktorů při vzniku nádorových onemocnění, rozdělením a popisem jednotlivých epigenetických faktorů. V práci jsou shrnuty poznatky o látkách znečišťujících životní prostředí a potravinách, které působí jako epigenetické faktory. Dále jsou zde popsány úlohy epigenetických biomarkerů a možnosti jejich využití v rámci preventivních protinádorových opatření.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

Pojem epigenetika označuje stabilní změny v genové expresi, které nejsou spojeny se změnami pořadí nukleotidů v nukleových kyselinách. Zájem o tuto oblast vědy v posledních letech vzrostl, neboť epigenetické procesy významně ovlivňují klíčové fyziologické děje jako je imprinting, inaktivace chromozomů X, embryogeneze či vznik chorobných stavů, jako je rakovina. V případě rakoviny se dlouho předpokládalo, že se jedná o onemocnění s výlučnou genetickou etiologií. Dnes je zřejmé, že proces vzniku nádoru vyžaduje rovněž epigenetické změny ovlivňující metylaci DNA, modifikaci histonů a expresi mikroRNA. Tyto molekulární změny vedou k trvalým změnám v expresi genů, které regulují důležité vlastnosti nádorových buněk, jako je buněčný růst a invazivita. Na cílené modifikaci epigenetických procesů jsou též založeny některé z moderních postupů terapie nádorů. Úspěch tohoto přístupu byl zaznamenán např. u hematopoetických malignit, což potvrzuje význam epigenetických změn při vzniku rakoviny. Uvedené zjištění je významné nejen z pohledu terapie nádorových onemocnění, ale také s ohledem na jejich prevenci, diagnózu, stratifikaci rizika a prognózu (Taby, 2010).

### 2.1 Epigenetika

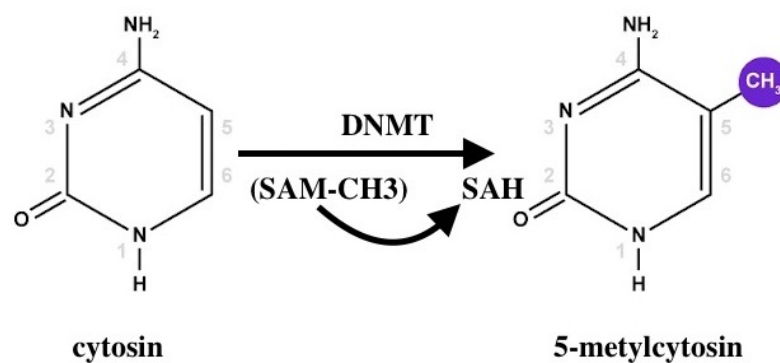
Termín epigenetika byl poprvé použit ve čtyřicátých letech minulého století britským evolučním biologem C. H. Waddingtonem (1905–1975) k popisu procesů, pomocí nichž genová regulace ovlivňuje vývoj organismu. Pojmem „epigenesis“ používaným již Aristotelem (384–322 př. n. l.) jsou dnes obvykle označovány kroky postupného vývoje organismu od embryonálního stádia k dospělému jedinci, které zahrnují procesy buněčné diferenciaci a organogeneze. Integrace konceptů epigenetice a genetiky dala vznik termínu „epigenetika“. Waddingtonův koncept epigenetiky měl poskytnout ucelený pohled na jeho experimenty prováděné na octomilce obecné (*Drosophila melanogaster*). Ty prokázaly, že teplotní šok je schopen způsobit změny v expresi genů, které vedly k poškození vývoje křídel. Pro následné křížení byli použiti pouze jedinci s normálně vyvinutými křídly. V 16. generaci se však překvapivě znovu objevili jedinci s poškozením, které odpovídalo původní reakci na teplotní šok. S postupujícím pochopením příslušných molekulárních mechanismů genetických procesů se vyvíjela i definice epigenetiky. Původní Waddingtonova definice se soustředila na interakce mezi genomem a prostředím, ale neobsahovala molekulární vhledy (Nicolglou, 2018).

Britský molekulární biolog Robin Holliday studoval vliv metylace DNA na expresi genů u normálních i u nádorových buněk. Jeho experimenty jasně prokázaly, že metylace DNA je hlavní příčinou umlčování genů u savčích buněk. V roce 1990 definoval R. Holliday (Holliday, 1997) epigenetiku jako „studium mechanismů časové a prostorové regulace genové aktivity během vývoje složitých organismů“.

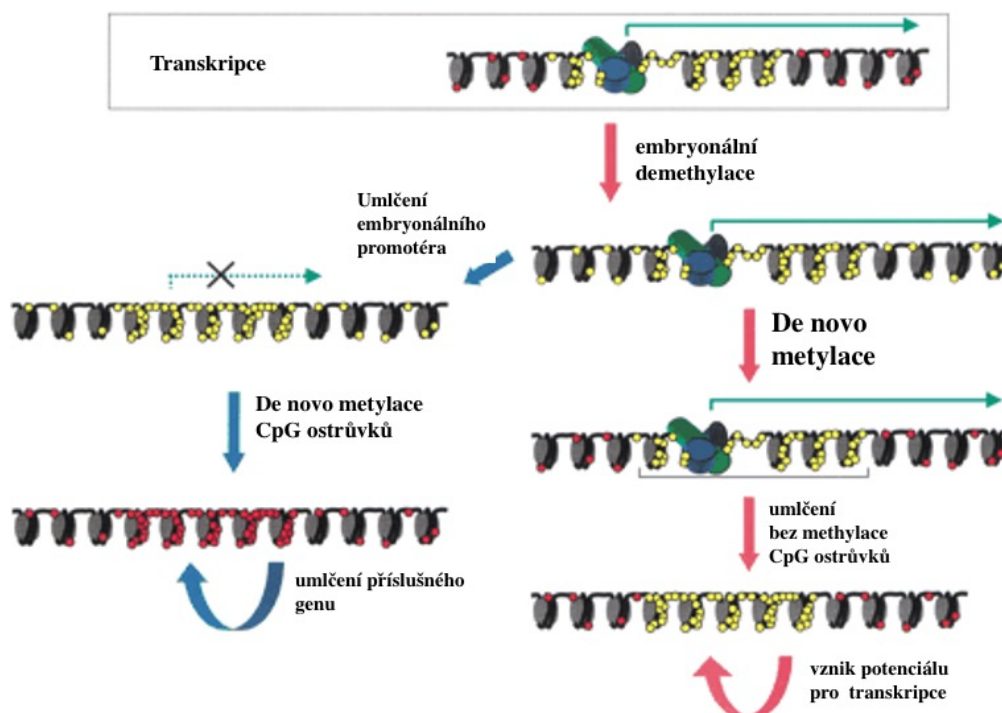
V jedné z dřívějších definic epigenetiky autorů Rigse a kol. je uvedeno, že jde o studium mitoticky a meioticky předávaných dědičných změn. Termín dědičnost je však obecně používán ve vztahu k mezigeneračnímu přenosu jednotlivých forem genů a není spojen s růstem buněk či tkání. Danou skutečnost by snad bylo možné přesněji popsat termínem „mitoticky stabilní“. Novější definice se zaměřuje na molekulární komponenty, které ovlivňují chromatin nezávisle na sekvenci DNA. E. D. Bird (Zhang, 2008) definuje epigenetiku jako „strukturální adaptaci chromozomálních oblastí tak, aby registrovala, signalizovala nebo udržovala změněné stavy aktivity“. Existuje však několik epigenetických komponent, které do této definice nespádají, jako např. nekódující RNA, drobné modifikace histonů a metylace promotorových úseků DNA, a proto se tato definice jeví nedostatečně komplexní. Autoři M. K. Skinner, M. Manikkam a C. Guerrero-Bosagna (Skinner, 2009) navrhli tedy komplexnější definici, která zahrnuje všechny molekulární komponenty. Epigenetiku tak definujeme jako „molekulární faktory a procesy působící na DNA a interagující s DNA, které jsou mitoticky stabilní a regulují genomovou aktivitu nezávislou na DNA sekvenci“. (Taby, 2010)

### 2.1.1 Methylace DNA

Methylace DNA se odehrává na pátém uhlíku v pyrimidinovém kruhu cytosinu. Je to proces, kdy dochází k navázání metylové skupiny z S-adenosyl-L-metioninu (SAM) na cytosin za katalýzy enzymem DNA metyltransferázou (DNMT), což je znázorněno na **Obr.1**. Methylace DNA má velký význam pro genomovou expresi. V každém typu buněk a tkání probíhá specifický typ modifikace cytosinu (Jeltsch, 2002). Methylace v buňkách lidských tkání je omezena na modifikaci cytosinu vyskytujícího se v oblastech genomu obsahujících cytosin-guanin dinukleotidy (CpG). Rozmístění CpG je v lidském genomu asymetrické. Oblasti s více než 200 páry bází s vysokou frekvencí CpG se nazývají CpG ostrůvky. Methylace DNA se podílí na genomovém imprintingu, inaktivaci X chromosomu (lyonizace) a regulaci specifických genů, kdy je kontrolována exprese genu (von Känel a Huber, 2013).



**Obrázek 1.** Reakční schéma metylace DNA (Zakhari, 2013)



**Obrázek 2.** Vliv metylace DNA na genovou expresi v organismu embrya (Bird, 2002)

Vliv demethylace a následné de-novo metylace CpG ostrůvků na genovou expresi v těle vyvíjejícího se embrya je znázorněn na **Obr.2**. Počínaje pomyslným transkripčním základním stavem vede demethylace CpG ostrůvků embryonálních buněk k substituci metylovaných míst (červených kruhů) nemetylovanými místy (žluté kruhy). Následují dva možné teoretické scénáře:

(i) transkripce příslušného genu není narušena, dojde k de-novo metylaci mimo příslušné CpG ostrůvky a následnému umlčení genu jiným způsobem, než je metylace CpG, při dědění tohoto genu tak vzniká potenciál pro jeho transkripci (ii) dojde k de novo metylaci CpG ostrůvků a vzniká tak dědičný potenciál pro umlčení příslušného genu. (von Känel a Huber, 2013).

Metylace DNA patří mezi nejčastěji uváděné epigenetické změny při rakovinových onemocněních. Nádorové buňky se liší od normálních metylační strukturou. Dochází buď k hypometylaci nebo hypermetylaci.

Hypometylace je způsobena inhibicí funkce enzymů DNA metyltransferáz (DNMTs,) což vede k nahrazení 5-metylcytosinu nemetylovanými cytosinovými zbytky a k následné nestabilitě chromatinu. Hypometylace DNA bývá spojena se zvýšenou genovou expresí protoonkogenů (Wilson, 2007).

Hypermetylace je charakteristická zvýšenou frekvencí výskytu 5-metylcytosinu v genomu. V nádorových buňkách bývají velké úseky DNA abnormálně metylovány, což způsobuje hypermetylaci některých ostrovů CpG v důsledku jejich umístění uvnitř takových genomických oblastí, které prošly rozsáhlým epigenetickým přeprogramováním. K hypermetylaci dochází v různých stádiích vývoje rakoviny, typický je tento jev zejména při vzniku rakoviny prsu (Sharma, 2010).

Na rozdíl od hypometylace, která zvyšuje genomickou nestabilitu a aktivuje protoonkogeny, přispívá hypermetylace k tumorogenezi tím, že umlčuje tumor supresorové geny (antionkogeny). Tumor supresorové geny se účastní buněčných procesů, které jsou nedílnou součástí vývoje a progresu rakoviny, včetně opravy DNA, buněčného cyklu, buněčné adheze, apoptózy a angiogeneze. Epigenetické umlčení tumor supresorových genů může také vést k iniciaci nádoru tím, že slouží jako druhý zásah v Knudsonově modelu dvou zásahů. Kromě přímé inaktivace tumor supresorových genů může hypermetylace DNA také nepřímo umlčet další třídy genů umlčením transkripčních faktorů a opravných genů DNA (Sharma, 2010).

Jedním z možných důsledků ovlivnění tumor supresorových genů aberantní metylací DNA je, že umlčení specifických genů hypermetylací poskytuje růstovou výhodu některým buňkám, což vede k jejich klonální selekci a proliferaci. K metylaci CpG ostrůvku specifického pro nádor může dojít prostřednictvím mechanismu, kterým jsou DNMT cíleny na specifické geny s onkogenními transkripčními faktory (Esteller, 2008).

### 2.1.1.1 DNA metyltransferázy (DNMTs)

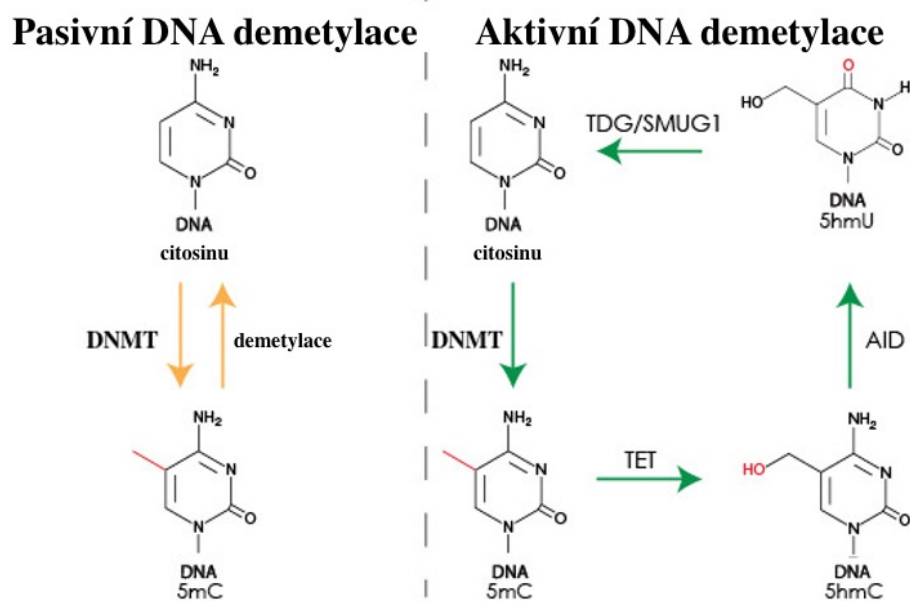
Metylace DNA je dědičná a enzymaticky řízená modifikace DNA, která se podílí na různých biologických procesech. U savců existují tři katalyticky aktivní DNMTs (rodina enzymů DNA metyltransferáz) katalyzující přenos metylové skupiny na DNA. Všechny známé DNA metyltransferázy využívají S-adenosyl-L-metionin jako donor metylové skupiny (viz. **Obr. 1.**). DNMT1 je zodpovědná za regulaci metylace DNA při replikaci. DNMT3A a DNMT3B, které obecně katalyzují de novo metylaci buď nemetylované DNA nebo hemimetylované DNA, což napomáhá udržování fyziologicky vhodného stupně metylace. Tyto enzymy společně tvoří základ stabilní epigenetické transkripční paměti. DNMT1 má větší molekulovou hmotnost – 184 kDa, oproti DNMT3A a DNMT3B s molekulovou hmotností 100 až 130 kDa (Liao, 2015).

Při nedostatku DNMTs dochází k abnormálnímu vývoji embrya nebo k jeho úmrtí. DNMT1, DNMT3A a DNMT3B bývají často nadměrně exprimovány v rakovinových buňkách. Zajímavé je, že DNMT1 a DNMT3B jsou obě schopné přispívat k umlčení genů v lidských rakovinových buňkách. Mucin 1 (MUC1) je heterodimerní protein. MUC1-C je důležitý pro regulaci genové exprese v různých typech nádorových buněk. MUC1-C indukuje expresi DNMT a změny vzorců metylace DNA. MUC1-C selektivně a koordinovaně aktivuje DNMT1 a DNMT3b geny v rakovinových buňkách a tím globální a genově specifické změny v metylaci DNA (Rajabi, 2016).

### 2.1.1.2 Demetylace DNA

Při demetylací dochází k odstranění metylové skupiny z 5-metylcytosinu. Demetylace může probíhat pasivně i aktivně. Při pasivní demetylací nedochází k metylaci nového řetězce po replikaci. Aktivní demetylace DNA je zprostředkována mnoha enzymy a může k ní docházet nezávisle na replikaci DNA, což je znázorněno na **Obr. 3.** (Bhutani, 2011)





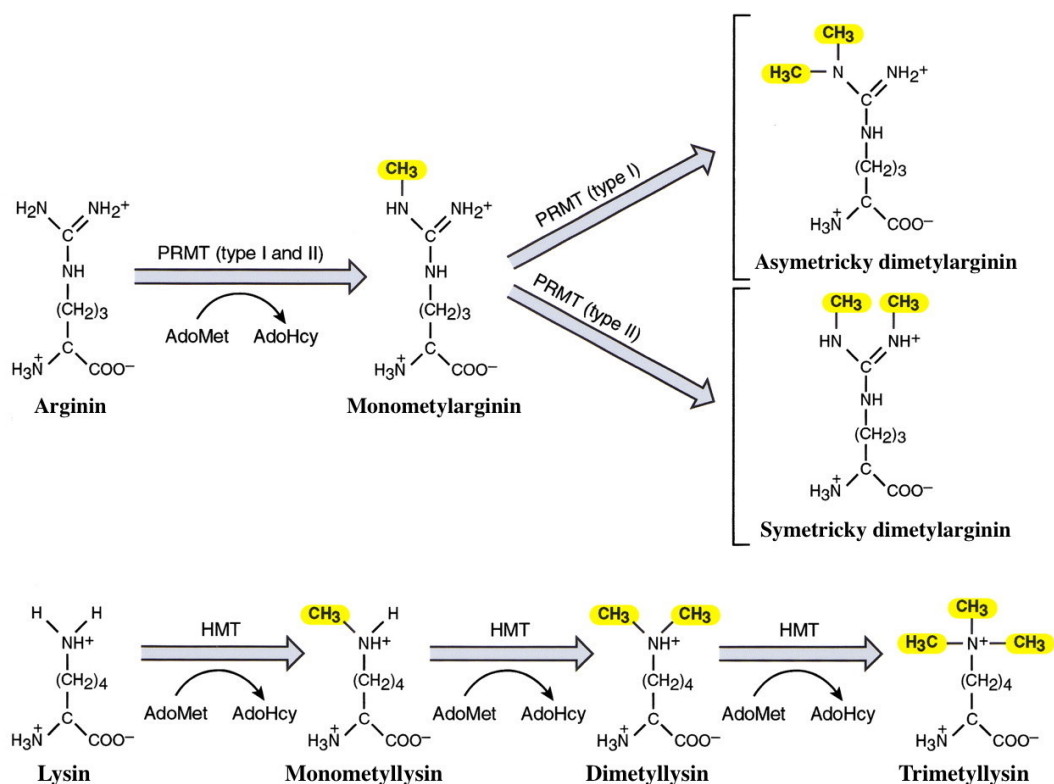
Obrázek 3. Pasivní a aktivní DNA demethylace (May 2013)

### 2.1.2 Modifikace histonů

Histony jsou bazické nukleoproteiny v jádře eukaryotních buněk. Histon se skládá z N-(amino)-terminální části a globulární části. Společně s molekulou DNA tvoří nukleozóm. Základní formy histonů lze rozlišit pomocí elektroforézy na H1, H2A, H2B, H3 a H4. K hlavním funkcím těchto proteinů patří podíl na vytváření trojrozměrné struktury chromozomů, vzájemná interakce a interakce s jinými chromozomálními proteiny. Pro H3 a H4 histony je charakteristický vysoký obsah biogenní aminokyseliny – argininu. Proteinogenní aminokyseliny-lysin obsahují histony H1, H2A, H2B. H1 histon hraje roli při stabilizaci nukleozómu (Inbar-Feigenberg, 2013). Nerovnovážná modifikace histonu je jednou z hlavních charakteristik všech typů rakoviny. U lidských nádorů obecně modifikace histonu H4 znamenají ztrátu monoacetylovaných a trimetylovaných forem. Ztráty se vyskytují převážně u monoacetylovaných zbytků Lys16 a trimetylovaných zbytků Lys20 histonu H4 ve spojení s hypometylovanými repetitivními sekvencemi DNA (Waldmann, 2013).

### 2.1.2.1 Metylace histonů

Metylace proteinů probíhají na karboxylových skupinách glutamátu, leucinu a isoprenylovaného cysteinu, nebo na atomech dusíku postranního řetězce dusíkových zbytků lysinu, argininu a histidinu. Histony jsou metylovány pouze na argininových zbytcích na histonu H3 a lysinových zbytcích na histonech H3 a H4. Arginin může být buď mono- nebo dimetylován. Dimetylováný arginin se může vyskytovat v symetrických nebo asymetrických konfiguracích. Existují dva typy enzymů, které daný proces katalyzují – enzym typu I katalyzující tvorbu NG-monometylargininu a asymetrických zbytků NG-dimethylargininu a enzym typu II, který katalyzuje tvorbu NG-monometylargininu a symetrického NG-dimethylargininu. Lysin má tři formy, mono-, di- a trimetylovou. Metylace na konci H3 histonu je spojena s aktivací i umlčením genů. Metylace argininu se uskutečňuje na pozici 2, 17 a 26. Metylace lysinu na pozici 4, 36 a 79 je spojena s aktivací transkripce, při metylaci lysinu na pozici 9 a 27 dochází k potlačení exprese příslušných genů, což je znázorněno na **Obr. 4** (Zhang, 2001).



**Obrázek 4.** Pasivní a aktivní DNA demethylace (May 2013)

### 2.1.2.2 Histon metyltransferázy (HMTs)

Histon metyltransferázy (HMTs) katalyzují přenos metylové skupiny ze SAM na histony H3 a H4. Enzym katalyzující přenos metylových skupin z S-adenosyl-L-metioninu (SAM) na guanidinové dusíky argininových zbytků se nazývá protein arginin metyltransferáza (PRMTs). PRMTs proteiny se dělí na dva typy podle toho, zda katalyzují symetrickou nebo asymetrickou dimetylaci (Zhang, 2001).

### 2.1.2.3 Acetylace histonů

Hlavní úlohou acetylace histonů je snížení pozitivního náboje histonového aminoterminálního konce, což vede ke snížení kondenzace chromatinu a zvýšení transkripční aktivity na DNA. Při acetylaci lysinu nastává neutralizace části kladného náboje v jeho koncové části, což má za následek oslabení spojení histonů s DNA, ale také oslabení vzájemné interakce histonů. Acetylace vede ke genové aktivaci. (Shahbazian, 2007)

Porucha acetylace histonu, která je zprostředkována pomocí HDAC (histon deacetyláza), vede k potlačení transkripce daného genu. HDAC se často vyskytují nadměrně u různých typů rakoviny. HDAC udržují hladinu acetylace histonu ve spojení s HAT (histon acetyltransferáza). Při absenci HAT dochází k narušení stability genomu a tím k ovlivnění vzniku rakoviny (Shahbazian, 2007).

### 2.1.3 RNA interference (RNAi)

RNA interference (RNAi) je děj, při kterém se párují nekódující molekuly RNA s cílovými úseky mediátorové RNA (mRNA), což vede k inhibici genové exprese mRNA. Tento proces patří mezi formy posttranskripčního umlčení genu (tím, že je bráněno vzniku proteinu z již vytvořené mRNA, PTGS) a transkripčního umlčení genu (je bráněno vzniku transkriptu, TGS). RNAi probíhá v několika krocích. Nejprve v buňce dochází k tvorbě maléRNA (sRNA), což mohou být miRNA (micro RNA), siRNA (short interfering RNA) nebo piRNA (Piwi-interagující RNA). Po úpravě se molekuly sRNA začlení do ribonukleových částic, kde dochází k další úpravě nekódujících RNA (ncRNA). Dvouvláknová sRNA se rozdělí na jedno degradované vlákno a druhé vlákno zůstává součástí ribonukleové částice. Komplex složený z proteinů argonaut (AGO) a jednovláknové siRNA nebo miRNA má název RISC (RNA- indukované umlčovací komplex). Komplex rozpoznává cílovou molekulu působení RNAi na základě komplementarity bází se sRNA. Po navázání RISC komplexu na cílovou mRNA dochází k interferenci mezi molekulami sRNA s vláknem mRNA, což vede k inhibici translace mRNA. Při interakci mezi

interferující nekódující molekulou RNA a mRNA může docházet ke dvěma následným dějům, a to buď k úplné degradaci cílové mRNA, kdy RISC páruje dokonale se sekvencí mRNA, anebo k inhibici translace mRNA, kdy RISC páruje nedokonale se sekvencí mRNA, a tím dochází k zabránění jakékoli translace mRNA (Hannon, 2002).

RNAi může ovlivnit vznik nádoru prostřednictvím sRNA. sRNA mohou fungovat jako supresory nádorů nebo onkogenu. Mohou přispívat k rakovině buď zvýšenou nebo sníženou expresí v nádorových buňkách. Tumor supresorova funkce může být indukována ztrátou nebo sníženou expresí sRNA, jejíž normální funkcí by bylo potlačení exprese onkogenu. Nevhodná exprese onkogenu by pak vedla k buněčné transformaci. Důsledkem těchto změn je zvýšená tvorba onkoproteinu. Při nadbytku sRNA má funkci onkogenní a utlumí tvorbu proteinu kodovaných tumor supresorovými geny (Dykxhoorn, 2008).

## **2.1.4 Imprinting**

Genomický imprinting je epigeneticky regulovaný proces. Způsobuje, že k expresi genů dochází v závislosti na tom, od kterého z rodičů pocházejí. Při imprintingu dochází k expresi pouze jedné ze dvou alel příslušného genu, alela neaktivní se nazývá imprintovaná. V případě některých genů dochází tedy k expresi alely zděděné po otci a jde o tzv. paternální imprinting. U jiných genů je exprimována pouze alela zděděná po matce a jde o tzv. maternální imprinting (Ferguson-Smith, 2011).

### **2.1.4.1 Epigenetické mechanismy imprintingu**

Biochemický proces vedoucí k imprintingu musí splňovat čtyři základní podmínky. Zaprvé musí být schopen ovlivnit transkripci, dále musí být dědičný v somatických buňkách, také musí umožňovat vymazání imprintingu v rané fázi vývoje zárodečných buněk, a nakonec umožňovat ustanovení imprintingu v pozdějším stádiu jejich vývoje. Metylace DNA je jediná epigenetická modifikace, která splňuje všechny tyto čtyři podmínky. DNA metylace modifikuje převážně CpG dinukleotidy a je spojena s umlčením transkripce. Rodičovské chromozomy mají odlišnou míru metylace. Tyto oblasti jsou nazývány diferencovaně metylované oblasti (DMRs) (Ferguson-Smith, 2011).

#### **2.1.4.2 Diferencovaně metylované oblasti (DMRs)**

DMRs spadají do dvou kategorií: jedny získávají svůj status DMR po oplodnění (somatické nebo sekundární DMRs), druhé se stanou diferencovaně metylovanými v průběhu vývoje zárodku (zárodečné DMRs). Somatické DMRs jsou někdy omezeny na buňky určitých tkání a závisí na přítomnosti zárodečné DMRs. V zárodečné DMRs jsou klíčová metylovaná imprintovaná centra (ICRs), nezbytná pro monoalelickou expresi. V zárodečné oblasti jsou klíčová metylovaná imprintovaná centra (ICs), která jsou nezbytná pro monoalelickou expresi. De novo metyltransferáza DNMT3A a regulační faktor DNMT3L jsou nezbytné pro vyvolání nové metylace DMRs v zárodečné linii. DNMT3L interaguje s DNMT3A a ovlivňuje strukturu enzymu a jeho schopnost vázat se na DNA a metylovat ji (Ferguson-Smith, 2011).

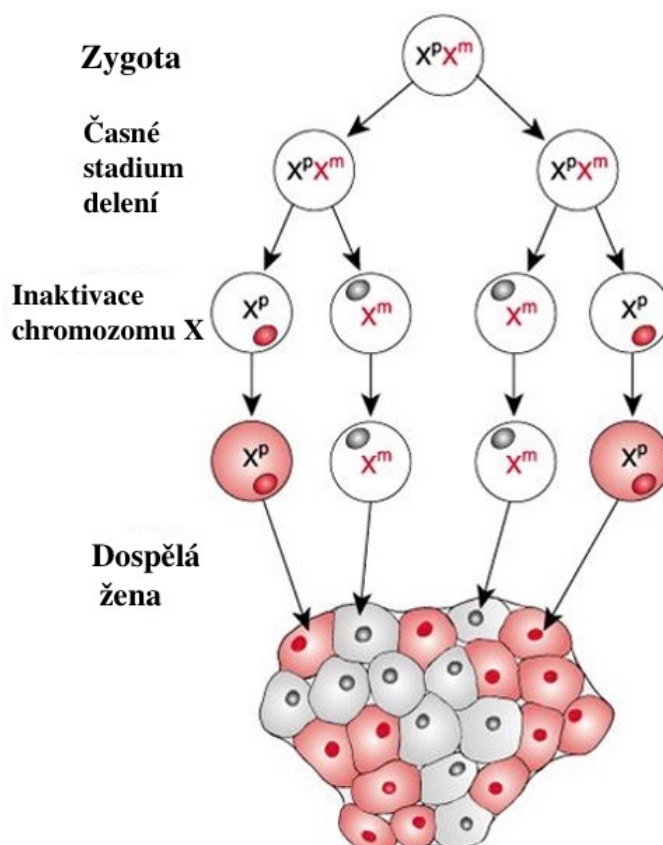
#### **2.1.4.3 Ztráta imprintingu (LOI) u rakoviny**

LOI je definována jako epigenetická modifikace specifická pro rodičovský původ, která je narušena a může zahrnovat zvýšenou i sníženou míru metylace nebo jiných chromozomálních markerů nebo ztrátu exprese normálního vzorce genů specifických pro rodičovský původ (Feinberg, 2002). LOI je spojena se zvýšením exprese IGF2, která může následně hrát důležitou roli při vzniku lidských rakovin. LOI se vyskytuje nejen ve tkáních rakoviny tlustého střeva, ale také v odpovídajících normálních tkáních a buňkách periferní krve (Cui, Hengmi, 2007). Gen IGF2 kóduje inzulinový růstový faktor II, je strukturně homologní. IGF2 způsobuje růst a metabolické účinky buněk. Ztráta imprintingu IGF2 je abnormální epigenetická aktivace normálně inaktivní mateřské alely. IGF2 byl první gen, u kterého bylo objeveno LOI u několika dětských nádorů spojených s Beckwithův-Wiedemannovým syndromem (BWS), jako je Wilmsův tumor, hepatoblastom, rabdomyosarkom atd. Wilmsův tumor se projeví v dětském věku nádorem ledvin. LOI nepostihuje jen děti, vyskytuje se i u většiny solidních nádorů postihujících dospělé pacienty (Cui, 2002 a Jelinic, 2007).

#### **2.1.4.4 Inaktivace chromozomu X**

Inaktivace chromozomu X neboli lyonizace probíhá v somatických buňkách. Inaktivace chromozomu X je typická pro ženy s karyotypem 46, XX, ale může nastat i u mužů s karyotypem 47, XXY (Klinefelterův syndrom). Každá somatická buňka obsahuje jak aktivní, tak neaktivní chromozom X. Neaktivní chromozom X je označován Xi (Barrovo tělísko), aktivní chromozom X je označován Xa. Inaktivní chromozom X je charakteristický nízkým stupněm acetylace histonů

H4 a silně metylovanými CpG ostrůvky v promotorových oblastech přítomných genů. Inaktivace chromozomu X zahrnuje několik kroků: výběr, zahájení a šíření. Volba mezi chromozomy X a iniciace inaktivace X se objevuje v raných fázích vývoje embrya. (Panning, 1998). Inaktivace mužské zárodečné linie odpovídá XP inaktivaci. Mateřská zárodečná linie se označí XM. K inaktivaci chromozomu X dochází během fáze růstu oocytů, což zajišťuje, že XM procházející na embrya XX a XY, jak je znázorněno na **Obr. 5** (Shen, 2008).



**Obrázek 5.** Inaktivace chromozomu X v ženských somatických buňkách (Cook, 2007)

### 2.1.5 Oxidační stres

Oxidační stres je stav, při kterém se v buňkách vyskytuje přebytek volných radikálů – částice s nepárovým elektronem (viz. **Tab. 1**). Oxidační stres lze považovat za nerovnováhu mezi reaktivními metabolity a antioxidanty v buňce. Psychologický stres či environmentální faktory mohou způsobit změnu fyziologických procesů, které následně mohou vyústit v narušení biochemické homeostázy. Změna homeostázy vede ke zvýšení produkce volných radikálů, která převyšuje detoxikační schopnost lokálních tkání. Tyto nadbytečné volné radikály pak interagují s jinými molekulami uvnitř buněk a způsobují oxidační poškození proteinů, membrán a genů (Betteridge, 2000).

Volné radikály	Částice neradikálové povahy
Superoxid $O_2\cdot^-$	Peroxid vodíku $H_2O_2$
Hydroxylový radikál $HO\cdot$	Kyselina chlorná $HOCl$
Alkoxidový radikál $RO\cdot$	Ozon $O_3$
Peroxidový radikál $ROO\cdot$	Singletový kyslík $^1O_2$
Radikál oxidu dusného $NO\cdot$	Peroxyinitrit $ONOO^-$
Radikál oxidu dusičitého $NO_2\cdot$	Dusitany $NO_2^-$

**Tabulka 1.** Reaktivní formy kyslíku a dusíku (Štípek, 2000)

Antioxidanty neutralizují aktivitu volných radikálů. Tělo je může produkovat samo nebo je získat z potravin bohatých na vitamíny (A, C, E). Antioxidanty ovlivňují funkci žláz s vnitřní sekrecí, činnost jednotlivých orgánů i endotel lymfatických a žilních cest (Reuter, 2010).

Zdroje vnitřního oxidačního stresu zahrnují peroxisomy a enzymy. Enzymy jsou hlavní zdroj oxidačního stresu a většina z nich působí v mitochondriích. Vnější zdroje oxidačního stresu zahrnují UV záření, chemické sloučeniny (látky znečišťující životní prostředí, alkohol) a fyzické cvičení. Reaktivní částice podílející se na vzniku oxidačního stresu lze rozdělit do čtyř skupin na základě příslušného hlavního atomu: reaktivní formy kyslíku (ROS), reaktivní formy dusíku (RNS), reaktivní formy síry (RSS) a reaktivní chloridy (RCS) (Reuter, 2010).

V normálních buňkách jsou pro transdukcii signálu potřebné nízké koncentrace ROS. Rakovinové buňky, které vykazují zrychlený metabolismus, produkují vysoké koncentrace ROS, aby si udržely svou vysokou míru proliferace. Důležité je, že koncentrace ROS lze použít ke sledování poškození (Sosa, 2013).

Oxidační stres vyvolaný přebytkem ROS nebo RNS může mít na buňky buď škodlivé, nebo pozitivní účinky a může být generován intracelulárními nebo extracelulárními zdroji. Oxidační stres může způsobit karcinogenezi mutací jaderné nebo mitochondriální DNA nebo způsobením strukturálního poškození intracelulárních lipidů a proteinů. Rostoucí nádorová hmota může také vyvolat intracelulární a extracelulární oxidační stres, který může přechodně nebo trvale modifikovat jeho maligní vlastnosti (Matés, 2012).

Endogenní zdroje ROS nebo RNS v nádorech zahrnují narušený mitochondriální genom nebo proteom. Exogenní zdroje ROS nebo RNS v nádorech zahrnují ischemii a reperfúzi. Jednou z klíčových charakteristik nádorových buněk je jejich zvýšená schopnost přežít ve srovnání s normálními buňkami. ROS jsou tumorogenní (nádor tvořící) na základě své schopnosti zvyšovat rychlost buněčné proliferace, přežití a buněčnou migraci. ROS mohou indukovat poškození DNA, což vede ke genetickým lézím, které iniciují tumorogenicitu a následnou progresi nádoru.

Na druhé straně ROS mohou také indukovat buněčné stárnutí a buněčnou smrt, a proto mohou fungovat jako protinádorová činidla. Zda ROS podporují přežití nádorových buněk nebo působí jako protinádorová činidla závisí na buňce, tkáních, lokalizaci produkce ROS a koncentraci jednotlivých ROS (Matés, 2012).

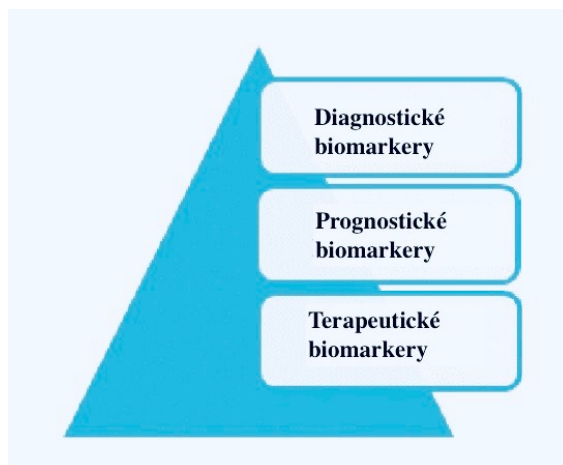


### 3 Epigenetické biomarkery

Epigenetické biomarkery umožňují hodnocení míry epigenetických změn ve tkáních nebo periferních tekutinách, jako jsou vzorky moči, krve (plazmy i sérum) a stolice. Slouží jako markery pro detekci onemocnění, progresu a terapeutické odpovědi. I přesto, že se většina výzkumů epigenetických biomarkerů zaměřila na rakovinu, tyto markery byly také použity pro diagnózu jiných nemocí, jako jsou například neurologické, metabolické a kardiovaskulární poruchy, autoimunitní choroby a poruchy genomického imprintu. Detekce epigenetických biomarkerů může pomoci při zjišťování mechanismů vzniku chorobných stavů nebo při diagnostice onemocnění (Jeremias, 2020).

Epigenetické biomarkery splňují několik důležitých kritérií. Vyznačují se dlouhodobou stabilitou a jsou relativně snadno detekovatelné, vysoce selektivní, citlivé na stresové faktory prostředí a poskytují informace o změnách expozice ve zdravé a postižené nádorové tkáni v různých časech a různých koncentracích/dávkách. Epigenetické biomarkery mají oproti jiným běžně používaným transkripčním biomarkerům několik výhod: mohou být přesnější, specifitější, stabilnější a snadněji měřitelné. Dalšími relativními výhodami jsou: 1) epigenetické znaky se dají detekovat v tělních tekutinách, což eliminuje potřebu vzorků z biopsie, jak se někdy vyžaduje pro monitorování transkripčních biomarkerů; 2) epigenetické mechanismy se obvykle podílejí na počátečních stádiích vývoje chorob, a proto jsou epigenetické biomarkery pro včasnou diagnózu vhodnější než transkripční biomarkery; 3) různá stadia a typy rakoviny se vyznačují jedinečnými metylačními znaky; ty by mohly být východiskem pro vývoj konkrétních a přesných biomarkerů, které by pomohly při hodnocení typu nádoru i při prognóze a léčbě nemocí (Andersen, 2015).

Aby byly epigenetické biomarkery prakticky využitelné, musí splňovat tři základní podmínky. Zaprvé by měly tyto metody být dostatečně dostupné, tak aby mohly být účinně použity v dané populaci a pro danou nemoc. Zadruhé by měly metody mít přiměřenou citlivost a specifitost. Zatřetí by měly být široce použitelné jak pro jednotlivce, tak i pro celou populaci a měly by být ze snadno získatelné tkáně. (Andersen, 2015).



**Obrázek 6.** Kategorie biomarkerů (Manasa ,2017)

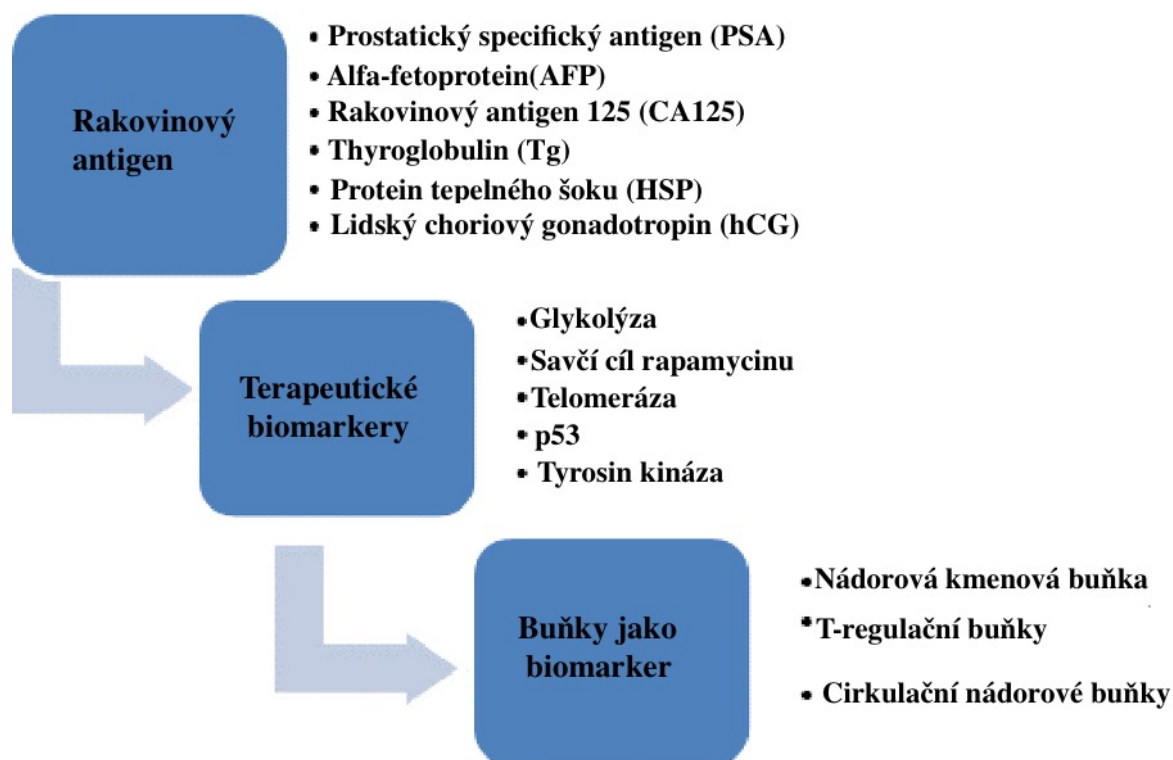
Biomarkery můžeme podle funkcí rozdělit do tří kategorií (viz. **Obr.6**). Diagnostické biomarkery slouží k určení přítomnosti postižené tkáně. Biomarkery prognostické určují především agresivitu onemocnění a jeho pravděpodobný vývoj. Terapeutické biomarkery umožňují zjistit reakci na určitou léčbu a zvolit pro daný případ nejpřínosnější způsob léčby. (Manasa ,2017)

### **3.1 Biomarkery rakoviny**

Rakovina je definována jako skupina nemocí včetně genetických modifikací, které zahrnují bodové mutace, přeskupení genů a genové amplifikace, způsobující změny v molekulárních drahách, jež regulují buněčný růst, přežití a metastázy. Pokud se tyto typy změn objeví u velkého počtu pacientů trpících specifickým typem nádoru, lze takové progrese využít a na tyto biomarkery se zaměřit při diagnostice cílené terapie, jak je znázorněno na **Obr. 7**.(Manasa ,2017)

Epigenetické znaky slouží jako důležité biomarkery, které jsou klinicky užitečné při detekci rakoviny, její prognóze a predikci léčby. Například metoda Cologuard je první screeningovou technikou využívající vzorků DNA ze stolice, která využívá hodnocení stupně metylace DNA k odhadu rizika vzniku kolorektálního karcinomu. Měření DNAm v oblasti promotoru GSTP1 (Glutathion-S-transferáza P) poskytuje molekulární diagnostický nástroj pro diagnózu rakoviny prostaty. Muži s rakovinou prostaty vykazují zvýšený stupeň metylace DNA v tomto lokusu v mnoha tělních tekutinách včetně plazmy, séra a moči. U jedinců s diagnózou gliomu bylo prokázáno, že zvýšená metylace na promotoru genu MGMT je spojena s delší dobou

přežití, což potvrzuje užitečnost epigenetických biomarkerů při prognóze vývoje onemocnění. Nakonec se také ukázalo, že epigenetické změny mohou sloužit k predikci odpovědi na různé postupy léčby rakoviny, včetně radiační a hormonální léčby a chemoterapie. Například metylace promotoru MGMT u pacientů s glioblastomem vede k předpokladu pozitivní reakce na chemoterapii i radioterapii (Ladd-Acosta, 2016).



**Obrázek 7 .** Typy epigenetických biomarkerů používaných k diagnostice rakoviny (Manasa ,2017)

### 3.2 Methylace DNA jako mechanismus pro vývoj biomarkerů

Methylace DNA (DNAm) byla identifikována jako nejslibnější mechanismus pro vývoj epigenetických biomarkerů. DNAm je velmi stabilní mechanismus, schopný poskytovat spolehlivá data z celé řady biologických materiálů, jako jsou tkáně, krev (plazma a sérum), sputum, moč, atd. Znaky DNAm mají potenciál poskytovat informace o interspecifické i intraspecifické vnímavosti na stresové faktory prostředí. (viz. **Tab. 2**) (Jeremiaset , 2020).

<b>DNAm</b>	<b>Typ karcinomu</b>	<b>Aplikace</b>	<b>Pramen</b>
SEPT9	Kolorektální	Detekce	Krev
NDRG4, BMP3, (mutace KRAS)	Kolorektální	Detekce	Stolice
VIM	Kolorektální	Detekce	Stolice
SHOX2	Plíce	Detekce	Bronchiální tekutina
MGMT	Mozek	Předpověď	Tumor

**Tabulka 2.** *Typy biomarkerů metylace DNA užívané k diagnostice rakoviny. (Hu, 2017)*

### 3.3 Nekódující RNA (ncRNA) jako epigenetický biomarker

Nekódující RNA (ncRNA) zahrnuje jak krátké nekódující řetězce RNA (miRNA), tak i dlouhé nekódující řetězce RNA (lncRNA). miRNA jsou zapojeny do různých biologických procesů, jako je vývoj a diferenciaci lidských embryonálních kmenových buněk do neurálních kmenových buněk a karcinogeneze. miRNA cirkulující v řadě tělních tekutin jsou užitečnými biomarkery pro diagnostiku a prognózu rakoviny. MiR-21 je jednou z prvních miRNA používaných k diagnostice různých typů rakoviny, jako je rakovina prostaty, rakovina pankreatu, rakovina jater. V dnešní době existuje velké množství typů biomarkerů založených na miRNA, které jsou využívány pro prognózu rakoviny (viz. **Tab. 3**). (Hu, 2017)

lncRNA hrají důležitou regulační roli při transkripci, translaci, modifikaci chromatinu a buněčné organizaci. Bylo zjištěno, že poruchy regulace lncRNA jsou spojeny s různými lidskými nemocemi. lncRNA představují další skupinu biomarkerů pro diagnostiku a prognózu rakoviny (viz. **Tab. 4**) a také pro diagnózu nenádorových kardiovaskulárních a neurodegenerativních onemocnění (např. schizofrenie, Alzheimerova choroba). (Hu, 2017)

<b>miRNA</b>	<b>Typ rakoviny</b>	<b>Aplikace</b>
miR-21	Rakovina pankreatu, jater, děložního čípku	Diagnostický a prognostický biomarker
miR-9	Rakovina žlučových cest	Prognostický biomarker
miR-205	Rakovina močového měchýře, prostaty	Diagnostický a prognostický biomarker
miR-103	Rakovina prsu	Potenciální diagnostický biomarker
miR-10a	Rakovina děložního čípku, prsu, močového měchýře	Potenciální biomarkery agresivní progresi
miR-18a	Rakovina jícnu, rakovina slinivky břišní, hepatocelulární rakovina	Potenciální diagnostický biomarker
miR-221	Rakovina hrtanu, prsu	Diagnostický a prognostický biomarker
miR-20a	Rakovina děložního čípku, konečníku, prostaty	Potenciální biomarkery agresivní progresi
miR-152	Rakovina močového měchýře	Diagnostický biomarker
miR-744	Rakovina pankreatu	Diagnostický a prognostický biomarker
miR-196a	Rakovina prsu	Prognostický biomarker
miR-193b	Rakovina vaječníku	Diagnostický a prognostický biomarker
miR-34a	Rakovina prostaty	Diagnostický a prognostický biomarker

**Tabulka 3.** *Typy biomarkerů miRNA používaných k diagnostice rakoviny (Hu, 2017)*

<b>lncRNA</b>	<b>Typ rakoviny</b>	<b>Aplikace</b>
HOTAIR	Rakovina plic, prsu, kolorektální rakovina, jícnu, hrtanu, nosohltanu	Prognostický biomarker
UCA1	Rakovina močového měchýře, vaječnicků	Prognostický biomarker
PANDAR	Rakovina močového měchýře	Diagnostický a prognostický biomarker
HOXA13	Rakovina jater, gliom	Diagnostický biomarker
linc-UBC1	Rakovina močového měchýře	Negativní prognostický biomarker
H19	Rakovina prostaty, gliomu, prsu, močového měchýře, ledvin	Diagnostický biomarker
PCA3/TMPRSS2-ERG	Rakovina prostaty	Diagnostické biomarkery
ANRIL	Rakovina prsu	Prognostický biomarker
MEG3	Rakovina prsu, plic, močového měchýře, ledvin.	Biomarkery agresivní progresi
XIST	Rakovina prostaty, prsu	Diagnostický a prognostický biomarker
SUMO1P3	Rakovina močového měchýře	Potenciální diagnostický a prognostický biomarker
CCAT1	Rakovina prsu, žlučníku	Potenciální diagnostický a prognostický biomarker
HULC	Rakovina jater	Diagnostický a prognostický biomarker

**Tabulka 4.** *Typy biomarkerů lncRNA používaných k diagnostice rakoviny. (Hu, 2017)*

### **3.4 Epigenetické biomarkery rizikových environmentálních faktorů.**

Kromě úlohy, kterou epigenetické biomarkery hrají při diagnóze a prognóze chorobných procesů, slouží také k odhadu vlivu znečištění životního prostředí na živé organismy. Epigenetické biomarkery mohou sloužit k posouzení vlivu znečišťujících látek na vývoj plodu při nitroděložní expozici či krátce po porodu. Epigenetické biomarkery jsou schopné popsat vztah mezi kontaminací životního prostředí toxickými látkami a změnami genotypů a fenotypů organismů žijících v daném prostředí. Biomarkery pomáhají odhalit molekulární základ adaptace na kontaminaci a změnu životního prostředí, umožní dřívější detekci, lepší monitorování znečištěných míst. Epigenetické biomarkery jsou užitečným zdrojem při hodnocení ekologických rizik chemických látek (Ladd-Acosta, 2016).

Faktory prostředí mohou působit na epigenetické procesy, jejichž změna může být následně zaznamenána jako „epigenetická paměť“ ve specifických oblastech DNA. Jako odezva organismu na tento faktor je například diferencovaně metylované oblasti DNA (DMRs). Pokud vznik DMR vede k následné změně v transkripci genů, označíme ji jako „funkční DMRs“. Přítomnost funkčního DMRs může v počátečním stádiu umožnit včasnou diagnostiku nemocí nebo poruch (Jeremias,2020).

## **4 Vliv epigenetických změn vyvolaných faktory životního prostředí, výživy a životního stylu na vznik nádorových onemocnění.**

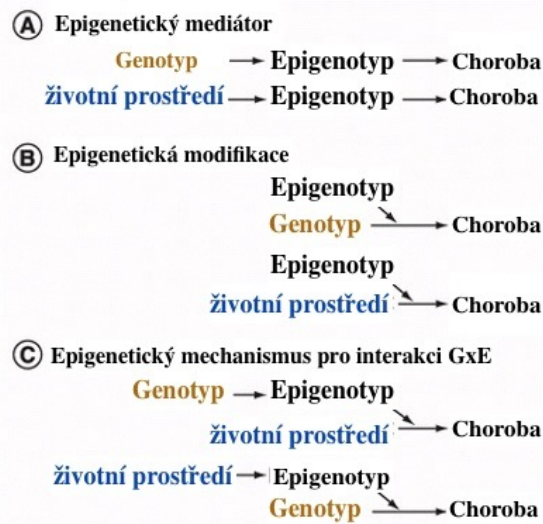
Epidemiologie je věda, která zkoumá příčiny a míru šíření nemocí v populacích. Epidemiologická data slouží jako podklad pro návrhy preventivních opatření pro ochranu lidského zdraví. Oblasti genetické a environmentální epidemiologie se primárně snaží identifikovat genetické a environmentální rizikové faktory onemocnění. Epigenetika může poskytnout informace o genetických a ekologických rizikových faktorech onemocnění (Ladd-Acosta, 2016).

Pojmem epigenom se označují epigenetické regulátory genomu, včetně metylace DNA, modifikace histonu, organizace DNA a změn nekódujících RNA. Epigenetické regulátory určují aktivitu genů, ale neovlivňují primární strukturu DNA. Epigenom funguje jako most mezi genomem jednotlivce a jeho reakcí na různé toxické látky v životním prostředí. (Khan,2019).

Epigenetické procesy ovlivňují mechanismy vzniku nemocí, jak je znázorněno na **Obr. 8.**

- a) epigenetické procesy mohou být kauzálně zapojeny do řetězce příčin a následků vedoucích ke vzniku onemocnění
- b) epigenetické procesy mohou modifikovat existující genetická nebo environmentální rizika.
- c) epigenetické procesy mohou zasahovat do způsobu jakým jsou environmentální faktory zapojeny do procesu vzniku nemoci (Ladd-Acosta, 2016).





**Obrázek 8.** Způsoby ovlivnění vzniku nemoci epigenetickými procesy (Ladd-Acosta,2016)

Znečištění životního prostředí může vést k epigenetickým změnám chromatinu (DNA a histony), včetně metylace a acetylace. Prostředí může ovlivnit epigenom jedince ve třech hlavních fázích. V první fázi prostředí působí na epigenom na rodové a rodičovské úrovni, což vede k transgenerační epigenetické změně, včetně imprintingu. Druhá fáze probíhá v prenatálním stádiu a má významné účinky na epigenetické procesy, což ovlivňuje vývoj v postnatálním období života. Třetí fáze se odehrává v průběhu postnatálního vývoje (Khan,2019).

Prostředí ovlivňuje buňky v těle daného jedince a tím způsobuje změnu jejich funkcí a vlastností, mezi které patří například utváření a udržování jejich struktur. Má přímý vliv na funkční proteiny, které regulují přístup k chromatinu v jádru. Také má vliv na epigenetické jevy, které mohou regulovat genovou transkripci. Environmentální faktory ovlivňují změny epigenetických enzymů, jako jsou DNA metyltransferáza (DNMT), histonmetyltransferázy (HMT), histonacetyltransferázy (HAT) a histon deacetylázy (HDAC), nebo změnou nekódující RNA tak, aby ovlivnila transkripci genu a stabilitu mRNA (Khan,2019).

#### 4.1 Nebezpečné chemické látky znečišťující životní prostředí

Toxické látky, které se vyskytují v životním prostředí, ovlivňují epigenetické procesy hlavně prostřednictvím metylace DNA a modifikací histonu. K toxickým látkám ovlivňujícím epigenom patří: těžké kovy a znečišťující látky (jako je arsen, kadmium, rtuť, nikl, chrom), pesticidy a návykové látky (jako je alkohol, nikotin, konopí, kokain, metamfetamin a opioidy) (viz. Tab. 5). (Lippmann,2020)

<b>Toxická látka</b>	<b>Výskyt</b>	<b>Druh rakoviny</b>	<b>Vliv na epigenetický mechanismy</b>
Arsen (As)	V zemské kůře, vodě	Rakovina kůže, močového měchýře, jater, plic a prostaty	Inhibice metylace DNA. Úbytek SAM a potlačena exprese genů DNMT1 a DNMT3A DNA metyltransferázy
Kadmium (Cd)	V zemské kůře, spalování uhlí, kontaminovaná strava	Rakovina plic, prostaty, slinivky břišní, ledvin, jater, žaludku a močového měchýře	Indukce oxidačního stresu, indukce metylace DNA a indukce aktivity DNMT
Nikl (Ni)	Ve vzduchu, vodě a jídle	Rakovina plic	Změna acetylace histonů pokles acetylaci H2A, H2B, H3 a H4
Chrom (Cr)	Ve vzduchu, vodě a jídle	Rakovina plic	Indukce oxidačního stresu a poškození DNA spojená s tvorbou aduktů Cr-DNA, cross-links proteino- -DNA a jednovláknovými a dvouřetězcovými zlomy DNA.
Rtuť (Hg)	Recyklace odpadu, vodní prostředí	Rakovina plic	Aberantní metylaci DNA v genových lokusech

**Tabulka 5.** *Vliv toxických látek na vznik nádorových onemocnění (Lippmann,2020)*

## 4.2 Vliv výživy na vznik nádorových onemocnění.

Některé přírodní bioaktivní sloučeniny, které se nacházejí v potravinách a bylinách, mohou modulovat genovou expresi působením na různé prvky epigenetického aparátu. Živiny, které jsou složkami metabolismu uhlíku, jako je folát, riboflavin, pyridoxin, kobalamin, cholin, betain a metionin, ovlivňují metylaci DNA regulací hladin S-adenosyl-L-metioninu, donoru metylové skupiny a S-adenosyl-L-homocysteinu, který je inhibítozem enzymů katalyzujících metylaci DNA. Další přírodní sloučeniny ovlivňují modifikaci histonu a hladiny nekódujících RNA. K takovým látkám patří např. vitamin D, který modifikuje histonové acetylázy nebo resveratrol, který aktivuje sirtuin ovlivňující funkci deacetyláz a regulující onkogenní a tumor-supresorové mRNA. Je prokázáno, že epigenetické abnormality jsou příčinou různých zdravotních postižení, včetně rakoviny. Přírodní sloučeniny jsou přímými nebo nepřímými regulátory epigenomu.

Dieta s vysokým obsahem ovoce a zeleniny je spojena s nižším výskytem rakoviny v důsledku velkého počtu stopových prvků a biologicky aktivních látek přítomných v těchto produktech (viz **Tab. 6.**) (Nasir, 2020).

Rostlina	Bioaktivní prvek	Epigenetické funkce
Jablko	Floretin	Demethylace
Kešu oříšky	Kyselina listová	Inhibitor acetylace histonů
Citrus	Hesperidin	Inhibitor DNMT
Skořice	Kyselina skořicová	Inhibitor DNMT
Kávovník	Kyselina kofeinová	Inhibitor DNMT
Česnek	Allyl merkaptan	Acetylace histonů
Réva	Resveratrol	Inhibitor DNMT
Sója	Genistein	Inhibitor DNMT
Čaj	EGCG	Inhibitor DNMT
Kurkuma	Kurkumin	Inhibitor DNMT

**Tabulka 6.** Epigenetické funkce bioaktivních složek rostlin. (Nasir, 2020)

### **Epigalokatechin galát (EGCG)**

Epigalokatechin představuje 50 % všech bioaktivních látek přítomných v zelený čaji, má anti-karcinogenní vlastnosti. Protinádorový mechanismus epigalokatechinu souvisí s jeho schopností ovlivňovat stupeň metylace DNA. Epigalokatechin ovlivní stupeň metylace buď přímou inhibicí DNMT nebo nepřímou inhibicí DNMT zvýšením hladiny SAH (Xiang, 2016). S-adenosyl-L-metioninu (SAM) poskytuje metylovou skupinu vážící se na katecholaminy. Tato reakce je katalyzována enzymem COMT (Katechol-O-metyltransferáza). Po odštěpení metylové skupiny je SAM přeměněn na S-adenosyl-L-homocystein (SAH). EGCG má svou epigenetickou roli v prevenci rakoviny, zastavení buněčného cyklu, programování buněčné smrti, prevenci oxidačního stresu a angiogeneze. Inhibuje proliferaci nádorových buněk. Protože metylace způsobuje umlčení genů, EGCG reaktivuje umlčené geny přímou interakcí s DNMT a podílí se na demethylaci enzymu COMT (Nasir, 2020).

### **Kurkumin**

Kurkumin je polyfenolická sloučenina přítomná v běžně používaném koření, kurkumě a kari. Osvědčil se při léčení ran, způsobuje protinádorový a protizánětlivý účinek. Inhibuje působení DNMT a přispívá k blokování reaktivních míst DNMT1. Slouží jako hypometylační činidlo, inhibuje aktivitu protoonkogenů a prometastatických genů. Hraje roli při prevenci rakoviny tlustého střeva(Nasir,2020).

### **Apigenin**

Apigenin je rostlinný flavonoid (4, 5, 7-trihydroxyflavon), přítomný v mnoha druzích ovoce a zeleniny. Velké množství apigeninu je též obsaženo v sušených květech heřmánku. Je známou účinnou protirakovinovou látkou. Zabraňuje rakovině indukci apoptózy v různých rakovinných buňkách včetně prsu, hepatomu a kůže. Apigenin způsobuje inhibici proteinové kinázy, také inhibuje in vitro DNMT aktivitu a snižuje růst nádoru prostřednictvím jeho epigenetických modifikací. Také způsobuje aktivaci kaspázy, tvorbu ROS a mitochondriální poškození (Nasir,2020).

### **Genistein**

Vyskytuje se hojně v sójových výrobcích. Je znám jako fytoestrogen, nebo estrogenová sloučenina, která má protinádorové vlastnosti. Genistein hraje roli při inhibici DNMT, indukci expresi tumor-supresorových genů a acetylaci histonu. Genistein inhibující DNMT může zvýšit reaktivaci genů umlčených metylací. Genistein brání DNMT1, 3a, 3b a expresi hTERT. Genistein iniciuje hypometylacii a hyperacetylaci, které reaktivují expresi tumor-supresorových genů p16 a p21 potlačujících růst nádoru prostaty (Nasir, 2020).

### 4.3 Minerály a vitamíny

Minerály a vitamíny jsou nezbytnou součástí lidské výživy. Nacházejí se v hojném množství v různých potravinách. Nedostatek mikroživin vede k abnormalitám. Například zinek a folát se účastní procesu reparace DNA. Minerály a vitamíny mají vliv hlavně na metylaci DNA, ochrannou roli proti oxidačnímu stresu, inhibují proliferaci buněk modifikací zánětlivého procesu. Hrají důležitou roli v metabolických procesech. Enzym metylenetetrahydrofolát (MTHFR) je zodpovědný za metabolismus kyseliny listové a udržování normální hladiny homocysteinu v krvi. Kyselina listová poskytuje rovnováhu pro replikaci DNA. Nízký příjem kyseliny listové v potravě vede k vysokým hladinám homocysteinu, které jsou příčinou kardiovaskulárních chorob. DNMT podporuje funkci vitamínů v epigenetickém mechanismu. Kromě toho byla po konzumaci multivitaminů pozorována významná ochrana proti metylaci v rakovinných buňkách plic. Nedostatek kteréhokoliv z donorů metylu v potravě může změnit stav metylace DNA a vést k onkogenezi. Vzhledem k tomu, že folát je důležitým donorem metylu, může nedostatek způsobit rakovinu jater, prsu, mozku, plic, tlustého střeva a konečníku.

Selen (Se) je minerál, který se nachází v ořechách a hovězím mase. Selen má protirakovinné vlastnosti díky antioxidačnímu účinku chrání buňky před oxidačním stresem a zabraňuje apoptóze. Nedostatek Se vede k progresi rakoviny a je prokázáno, že na vývoji rakoviny se podílí několik proteinů vázajících Se (Nasir, 2020).

### 4.4 Antioxidanty

Antioxidanty jsou látky, které neutralizují volné radikály čímž chrání buňky před oxidačním stresem. Už víme, že oxidační stres přispívá k vývoji a růstu nádoru. Inhibice oxidačního stresu proto může chránit buňky před karcinogenní transformací. Na druhé straně, rakovinné buňky, které mají zvýšené hladiny ROS, jsou pod zvýšeným vnitřním oxidačním stresem a potřebují antioxidanty pro své přežití. Zvyšování endogenní antioxidační kapacity je atraktivní strategií pro prevenci karcinogeneze, zatímco zvyšující se hladiny ROS nad prahovou hodnotu, která vede k smrti rakovinných buněk, se jeví jako slibná strategie pro léčbu rakoviny (Wichansawakun, 2019).

Řada bioaktivních prvků přítomných v potravinách vykazuje antioxidační i prooxidační účinky na cílové rakovinné buňky (viz. **Tab.7**). Antioxidační i prooxidační účinky mohou způsobit změnu prostředí rakovinných buněk. EGCG působí jako antioxidant při pH 7, zatímco při kyselém pH vykazuje prooxidační chování. Antioxidační a prooxidační vlastnost bioaktivních

prvků může také záviset na jejich koncentraci. Stručně řečeno, antioxidační a prooxidační účinky bioaktivních prvků se projevují na různá stádia karcinogeneze a také modulují protirakovinovou odpověď na chemoterapii. (Saha, 2017).

Složka potravy	Role v oxidačním stresu	Role v karcinogenezi
Alkohol	Podporuje produkci ROS . Snižuje hladiny buněčných antioxidantů, čímž mění rovnováhu mezi reaktivními metabolity a antioxidanty v buňce. Vede k oxidačnímu stresu ve více tkáních.	Zvyšují riziko rakoviny prsu
Sacharidy	Vede ke zvýšenému oxidačnímu stresu	Zvyšují riziko rakoviny prsu
Mastné kyseliny	Omega-3 redukuje oxidační stres.	Inhibují karcinogeneze
Vláknina	Snížení hladiny oxidačního stresu	Inhibují karcinogeneze
Flavonoidy	Má antioxidační účinky. Inaktivace radikálů $O^{2-}$ . Cytoprotektivní účinek v důsledku vychytávání ROS .Cytotoxický účinek způsobený generováním $H_2O_2$ .	Chemopreventivní kandidáti na léčbu rakoviny, zejména díky své schopnosti vyvolat apoptózu.
Vitamíny	Vitamin E hraje důležitou roli v antioxidaci. Vitamin A se rychle oxiduje v přítomnosti kyslíku	Vitamin D zabraňuje rakovině tlustého střeva, prsu, prostaty a vaječníků

**Tabulka 7.** Role složek potravy při ovlivňování oxidačního stresu a karcinogeneze. (Saha, 2017)

## 5 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce popisuje vliv kontaminovaných potravin a životního prostředí na epigenetické změny a jejich roli při vzniku nebo prevenci nádorových onemocnění.

První část práce je zaměřena na popis jednotlivých biochemických mechanismů účinku nejvýznamnějších skupin epigenetických faktorů, které hrají roli při vzniku a rozvoji nádorových onemocnění, kdy největší pozornost jsem věnovala mechanismu metylace DNA. Při metylaci DNA dochází k navázání metylové skupiny z S-adenosyl-L-metioninu na cytosin za katalýzy enzymem DNA metyltransferázou. Bylo zjištěno, že nádorové buňky se liší od normálních metylační strukturou. Dochází buď k hypometylaci, nebo hypermetylaci. Na rozdíl od hypometylace, která zvyšuje genomickou nestabilitu a aktivuje protoonkogeny, hypermetylace umlčuje tumor supresorové geny antionkogeny. Tumor supresorové geny se účastní buněčných procesů, které jsou nedílnou součástí vývoje a progresu rakoviny.

Druhá část se věnuje biomarkerům, které jsou ukazateli epigenetických změn ve tkáních, nebo periferních tekutinách. Biomarkery slouží pro detekci onemocnění. Biomarkery můžeme rozdělit podle funkcí na diagnostické, prognostické a terapeutické. Mezi nejpoužívanější biomarkery rakoviny mohou být produkty metylace DNA a biomarkery založená na detekci nekódujících RNA.

Poslední část se pak věnuje vlivu složení potravin a kontaminace životního prostředí na vznik nádorových onemocnění. Kontaminanty potravin a látky znečišťující životní prostředí hrají největší roli při vyvolávání epigenetických změn, ke kterým dochází v podstatě už od narození dítěte. Mezi složky potravin vyvolávající tyto změny můžeme zařadit například sacharidy, které zvyšují oxidační stres nebo alkohol, který snižuje hladinu antioxidantů v těle. Naproti tomu konzumace vlákniny, mastných kyselin (omega 3), flavonoidů (kurkumin, apigenin, genistein), minerálních látek a vitamínů působí protinádorově. Toxicky a epigeneticky na naše tělo mohou působit i stopové látky v životním prostředí. Řadíme mezi ně například arsen, rtuť, chrom, nikl a kadmium. Dále to mohou být také pesticidy a návykové látky (alkohol, nikotin, konopí, kokain, metamfetamin a opioidy).

Epigenetika je nová stále rozvíjející vědní disciplína. V dnešní době již existuje spousta referenčních testů, které pracují na bázi detekce biomarkeru a díky tomu může dojít k dřívějšímu odhalení rakovinového bujení. Možnou ochranou před epigenetickými poruchami tělního systému může být vyvážená a pestrá strava, nebo mentální rovnováha člověka.



## 6 POUŽITÁ LITERATURA

1. NASIR, Ayesha, Mir. M. Hassan BULLO, Zaheer AHMED, et al., 2020. Nutrigenomics: Epigenetics and cancer prevention. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. **60**(8), 1375-1387 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1080/10408398.2019.1571480. ISSN 1040-8398.
2. TABY, Rodolphe a Jean-Pierre J. ISSA, 2010. Cancer Epigenetics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* [online]. **60**(6), 376-392 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.3322/caac.20085. ISSN 00079235.
3. LIAO, Jing, Rahul KARNIK, Hongcang GU, et al., 2015. Targeted disruption of DNMT1, DNMT3A and DNMT3B in human embryonic stem cells. *Nature Genetics* [online]. **47**(5), 469-478 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1038/ng.3258. ISSN 1061-4036.
4. RAJABI, H, A TAGDE, M ALAM, A BOUILLEZ, S PITRODA, Y SUZUKI a D KUFÉ, 2016. DNA methylation by DNMT1 and DNMT3b methyltransferases is driven by the MUC1-C oncoprotein in human carcinoma cells. *Oncogene* [online]. **35**(50), 6439-6445 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1038/onc.2016.180. ISSN 0950-9232.
5. ZHANG, Y. Transcription regulation by histone methylation: interplay between different covalent modifications of the core histone tails. *Genes & Development* [online]. **15**(18), 2343-2360 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1101/gad.927301. ISSN 08909369.
6. FERGUSON-SMITH, Anne C., 2011. Genomic imprinting: the emergence of an epigenetic paradigm. *Nature Reviews Genetics*[online]. **12**(8), 565-575 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1038/nrg3032. ISSN 1471-0056.
7. SOSA, Venus, Teresa MOLINÉ, Rosa SOMOZA, Rosanna PACIUCCI, Hiroshi KONDOH a Matilde E. LLEONART, 2013. Oxidative stress and cancer: An overview. *Ageing Research Reviews* [online]. **12**(1), 376-390 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1016/j.arr.2012.10.004. ISSN 15681637.
8. JEREMIAS, Guilherme, Fernando J. M. GONÇALVES, Joana L. PEREIRA a Jana ASSELMAN. 2020. Prospects for incorporation of epigenetic biomarkers in human health and environmental risk assessment of chemicals. *Biological Reviews* [online]. **95**(3): 822-846 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1111/brv.12589. ISSN 1464-7931.

9. ANDERSEN, Allan, Meeshanthini DOGAN, Steven BEACH a Robert PHILIBERT. 2015. Current and Future Prospects for Epigenetic Biomarkers of Substance Use Disorders. *Genes* [online]. **6**(4): 991-1022 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.3390/genes6040991. ISSN 2073-4425.
10. NASIR, Ayesha, Mir. M. Hassan BULLO, Zaheer AHMED, et al. 2020. Nutrigenomics: Epigenetics and cancer prevention. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. **60**(8): 1375-1387 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1080/10408398.2019.1571480. ISSN 1040-8398.
11. CUI, Hengmi, 2007. Loss of imprinting of IGF2 as an epigenetic marker for the risk of human cancer. *Division of Molecular Medicine, Department of Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine* [online]. **2007** [cit. 2020-06-29]
12. CUI, Hengmi, Patrick ONYANGO, Sheri BRANDENBURG, Yiqian WU, Chih-Lin HSIEH a Andrew P FEINBERG, 2002. Loss of Imprinting in Colorectal Cancer Linked to Hypomethylation of H19 and IGF21. *Cancer Research* [online]. **2002** [cit. 2020-06-29].
13. FEINBERG, Andrew P, Hengmi CUI a Rolf OHLSSON, 2002. DNA methylation and genomic imprinting: insights from cancer into epigenetic mechanisms. *Seminars in Cancer Biology* [online]. **12**(5), 389-398 [cit. 2020-06-29]. DOI: 10.1016/S1044-579X(02)00059-7. ISSN 1044579X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1044579X02000597>
14. JELINIC, P a P SHAW. 2007. Loss of imprinting and cancer. *The Journal of Pathology* [online]. **211**(3): 261-268 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1002/path.2116. ISSN 00223417.
15. JEREMIAS, Guilherme, Fernando J. M. GONÇALVES, Joana L. PEREIRA a Jana ASSELMAN. 2020. Prospects for incorporation of epigenetic biomarkers in human health and environmental risk assessment of chemicals. *Biological Reviews* [online]. **95**(3): 822-846 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1111/brv.12589. ISSN 1464-7931.
16. NICOGLU, Antonine. 2018. Waddington's epigenetics or the pictorial meetings of development and genetics. *History and Philosophy of the Life Sciences* [online]. **40**(4) [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1007/s40656-018-0228-8. ISSN 0391-9714.

17. HOLLIDAY, Robin, 1997. DNA methylation and epigenetic inheritance. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences* [online]. **326**(1235), 329-338 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1098/rstb.1990.0015. ISSN 0080-4622.
18. ZHANG, X., 2008. The Epigenetic Landscape of Plants. *Science* [online]. **320**(5875), 489-492 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1126/science.1153996. ISSN 0036-8075.
19. SKINNER, Michael K., Mohan MANIKKAM a Carlos GUERRERO-BOSAGNA, 2010. Epigenetic transgenerational actions of environmental factors in disease etiology. *Trends in Endocrinology & Metabolism* [online]. **21**(4), 214-222 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1016/j.tem.2009.12.007. ISSN 10432760
20. LADD-ACOSTA, Christine a M Daniele FALLIN, 2016. The role of epigenetics in genetic and environmental epidemiology. *Epigenomics* [online]. **8**(2), 271-283 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.2217/epi.15.102. ISSN 1750-1911.
21. ZAKHARI, Samir. Alcohol Metabolism and Epigenetics Changes. *ALCOHOL RESEARCH* [online]. **2013** [cit. 2020-06-29].
22. VON, Känel a AR HUBER. DNA methylation analysis. *Swiss Medical Weekly* [online]. [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.4414/smw.2013.13799. ISSN 1424-7860. Dostupné z: <http://doi.emh.ch/smw.2013.13799>
23. Jeltsch A. Beyond Watson and Crick: DNA methylation and molecular enzymology of DNA methyltransferases. *Chembiochem*. 2002;3(4):274–93.
24. BIRD, A., 2002. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & Development* [online]. **16**(1), 6-21 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1101/gad.947102. ISSN 08909369.
25. ZHANG, Y., 2001. Transcription regulation by histone methylation: interplay between different covalent modifications of the core histone tails. *Genes & Development* [online]. **15**(18), 2343-2360 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1101/gad.927301. ISSN 08909369.
26. LEYGO, Catherine, Marissa WILLIAMS, Hong Chuan JIN, Michael W. Y. CHAN, Wai Kit CHU, Michael GRUSCH a Yuen Yee CHENG, 2017. DNA Methylation as a Noninvasive Epigenetic Biomarker for the Detection of Cancer. *Disease Markers* [online]. **2017**, 1-13 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1155/2017/3726595. ISSN 0278-0240
27. JEREMIAS, Guilherme, Fernando J. M. GONÇALVES, Joana L. PEREIRA a Jana ASSELMAN, 2020. Prospects for incorporation of epigenetic biomarkers in human health and environmental risk assessment of chemicals. *Biological*

- Reviews* [online]. **95**(3), 822-846 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1111/brv.12589. ISSN 1464-7931. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/brv.12589>
28. ŠTÍPEK, Stanislav, 2000. *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci*. Praha: Grada Publishing. ISBN 80-7169-704-4.
29. MANASA, P. Epigenetics role as biomarker in cancer diagnosis. *Adv. Oncol. Res* [online]. **2016** [cit. 2020-06-29].
30. HU, Xiaotong a Shuiping LIU, 2017. Epigenetic Biomarkers. *Handbook of Epigenetics* [online]. Elsevier, 2017, s. 277-292 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1016/B978-0-12-805388-1.00018-3. ISBN 9780128053881.
31. KHAN, Fazlullah, Saeideh MOMTAZ a Mohammad ABDOLLAHI, 2019. The relationship between mercury exposure and epigenetic alterations regarding human health, risk assessment and diagnostic strategies. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* [online]. **52**, 37-47 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1016/j.jtemb.2018.11.006. ISSN 0946672X.
32. SAHA, Subbroto Kumar, Soo Bin LEE, Jihye WON, Hye Yeon CHOI, Kyeongseok KIM, Gwang-Mo YANG, Ahmed Abdal DAYEM a Ssang-goo CHO, 2017. Correlation between Oxidative Stress, Nutrition, and Cancer Initiation. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **18**(7) [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.3390/ijms18071544. ISSN 1422-0067.
33. WICHANSAWAKUN, Sanit a Harpal S. BUTTAR, 2019. Antioxidant Diets and Functional Foods Promote Healthy Aging and Longevity Through Diverse Mechanisms of Action. *The Role of Functional Food Security in Global Health*[online]. Elsevier, 2019, s. 541-563 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1016/B978-0-12-813148-0.00032-3. ISBN 9780128131480.
34. LIPPMANN, Morton a George D. LEIKAUF, 2020. *Environmental toxicants: human exposures and their health effects*
35. SHARMA, S., T. K. KELLY a P. A. JONES, 2010. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis* [online]. **31**(1), 27-36 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1093/carcin/bgp220. ISSN 0143-3334. Dostupné z: <https://academic.oup.com/carcin/article-lookup/doi/10.1093/carcin/bgp220>
36. ESTELLER, Manel, 2008. Epigenetics in Cancer. *New England Journal of Medicine* [online]. **358**(11), 1148-1159 [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.1056/NEJMra072067. ISSN 0028-4793.

37. SHEN, Y., Y. MATSUNO, S. D. FOUSE, et al., 2008. X-inactivation in female human embryonic stem cells is in a nonrandom pattern and prone to epigenetic alterations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. **105**(12), 4709-4714 [cit. 2020-06-26]. DOI: 10.1073/pnas.0712018105. ISSN 0027-8424.
38. FEINBERG, Andrew P, Hengmi CUI a Rolf OHLSSON, 2002. DNA methylation and genomic imprinting: insights from cancer into epigenetic mechanisms. *Seminars in Cancer Biology* [online]. 12(5), 389-398 [cit. 2020-06-26]. DOI: 10.1016/S1044-579X(02)00059-7. ISSN 1044579X.
39. COOK, Colleen Jackson, 2007. X Inactivation and Genetic Factors in Sex Determination I & II. *Thompson and Thompson Genetics in Medicine* [online]. 2007 [cit. 2020-06-28].
40. PANNING, Barbara a Rudolf JAENISCH, 1998. RNA and the Epigenetic Regulation of X Chromosome Inactivation. *Cell* [online]. 93(3), 305-308 [cit. 2020-06-26]. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81155-1. ISSN 00928674.
41. SHAHBAZIAN, Mona D. a Michael GRUNSTEIN, 2007. Functions of Site-Specific Histone Acetylation and Deacetylation. *Annual Review of Biochemistry* [online]. 76(1), 75-100 [cit. 2020-07-06]. DOI: 10.1146/annurev.biochem.76.052705.162114. ISSN 0066-4154.
42. WALDMANN, Tanja a Robert SCHNEIDER, 2013. Targeting histone modifications—epigenetics in cancer. *Current Opinion in Cell Biology* [online]. 25(2), 184-189 [cit. 2020-07-06]. DOI: 10.1016/j.ceb.2013.01.001. ISSN 09550674.
43. XIANG, Li-Ping, Ao WANG, Jian-Hui YE, Xin-Qiang ZHENG, Curt POLITO, Jian-Liang LU, Qing-Sheng LI a Yue-Rong LIANG, 2016. Suppressive Effects of Tea Catechins on Breast Cancer. *Nutrients* [online]. **8**(8) [cit. 2020-07-06]. DOI: 10.3390/nu8080458. ISSN 2072-6643.
44. HANNON, Gregory J., 2002. RNA interference. *Nature* [online]. **418**(6894), 244-251 [cit. 2020-07-06]. DOI: 10.1038/418244a. ISSN 0028-0836.
45. FERGUSON-SMITH, Anne C., 2011. Genomic imprinting: the emergence of an epigenetic paradigm. *Nature Reviews Genetics* [online]. **12**(8), 565-575 [cit. 2020-07-06]. DOI: 10.1038/nrg3032. ISSN 1471-0056.
46. BHUTANI, Nidhi, David M. BURNS a Helen M. BLAU, 2011. DNA Demethylation Dynamics. *Cell* [online]. **146**(6), 866-872 [cit. 2020-07-06]. DOI: 10.1016/j.cell.2011.08.042. ISSN 00928674.
47. INBAR-FEIGENBERG, Michal, Sanaa CHOUFANI, Darci T. BUTCHER, Maian ROIFMAN a Rosanna WEKSBERG, 2013. Basic concepts of epigenetics. *Fertility and Sterility* [online]. **99**(3), 607-615 [cit. 2020-07-06]. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.01.117. ISSN 00150282.

48. BETTERIDGE, D. John, 2000. What is oxidative stress? *Metabolism* [online]. **49**(2), 3-8 [cit. 2020-07-12]. DOI: 10.1016/S0026-0495(00)80077-3. ISSN 00260495.
49. REUTER, Simone, Subash C. GUPTA, Madan M. CHATURVEDI a Bharat B. AGGARWAL, 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine* [online]. **49**(11), 1603-1616 [cit. 2020-07-12]. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006. ISSN 08915849.
50. MATÉS, José M., Juan A. SEGURA, Francisco J. ALONSO a Javier MÁRQUEZ, 2012. Oxidative stress in apoptosis and cancer: an update. *Archives of Toxicology* [online]. **86**(11), 1649-1665 [cit. 2020-07-12]. DOI: 10.1007/s00204-012-0906-3. ISSN 0340-5761.
51. LADD-ACOSTA, Christine a M Daniele FALLIN, 2016. The role of epigenetics in genetic and environmental epidemiology. *Epigenomics* [online]. **8**(2), 271-283 [cit. 2020-07-12]. DOI: 10.2217/epi.15.102. ISSN 1750-1911
52. DYKXHOORN, Derek M., Dipanjan CHOWDHURY a Judy LIEBERMAN, 2008. RNA Interference and Cancer: Endogenous Pathways and Therapeutic Approaches. KHOSRAVI-FAR, Roya a Eileen WHITE. Programmed Cell Death in Cancer Progression and Therapy [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2008, s. 299-329 [cit. 2020-07-12]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. DOI: 10.1007/978-1-4020-6554-5\_14. ISBN 978-1-4020-6553-8.

## 7 SEZNAM OBRÁZKŮ

OBRÁZEK 1. REAKČNÍ SCHÉMA METYLACE DNA (ZAKHARI, 2013).....	14
OBRÁZEK 2. VLIV METYLACE DNA NA GENOVOU EXPRESI V ORGANISMU EMBRYA (BIRD, 2002)	14
OBRÁZEK 3. PASIVNÍ A AKTIVNÍ DNA DEMETYLACE (L. MAY 2013).....	17
OBRÁZEK 4. PASIVNÍ A AKTIVNÍ DNA DEMETYLACE (L. MAY 2013).....	18
OBRÁZEK 5. INAKTIVACE CHROMOZOMU X V ŽENSKÝCH SOMATICKÝCH BUŇKÁCH (COOK, 2007)	22
OBRÁZEK 6. KATEGORIE BIOMARKERŮ (MANASA ,2017).....	26
OBRÁZEK 7 . TYPY EPIGENETICKÝCH BIOMARKERŮ POUŽÍVANÝCH K DIAGNOSTICE RAKOVINY (MANASA ,2017) .....	27
OBRÁZEK 8. EPIGENETICKÝ PROCESY JAKO MECHANISMUS CHOROBY (LADD-ACOSTA,2016).....	33

## 8 SEZNAM TABULEK

TABULKA 1. REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU A DUSÍKU (ŠTÍPEK,2000).....	23
TABULKA 2. TYPY BIOMARKERŮ METYLACE DNA UŽÍVANÉ K DIAGNOSTICE RAKOVINY. (HU, 2017).....	28
TABULKA 3. TYPY BIOMARKERŮ MI RNA POUŽÍVANÝCH K DIAGNOSTICE RAKOVINY (HU, 2017).	29
TABULKA 4. TYPY BIOMARKERŮ LNC RNA POUŽÍVANÝCH K DIAGNOSTICE RAKOVINY. (HU, 2017) .....	30
TABULKA 5. VLIV TOXICKÝCH LÁTEK NA VZNIK NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ (LIPPMANN,2020).	34
TABULKA 6. EPIGENETICKÉ FUNKCE BIOAKTIVNÍCH PRVKU ROSTLIN. (NASIR, 2020).....	36
TABULKA 7. ROLE SLOŽEK POTRAVY V OXIDAČNÍM STRESU A KARCINOGENEZE. (SAHA, 2017)....	39