

Ivo Frederico Barbedo da Costa Faria

Dieta Mediterrânica, estabilidade genómica e variação genética

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2016

Ivo Frederico Barbedo da Costa Faria

Dieta Mediterrânea, estabilidade genómica e variação genética

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2016

Ivo Frederico Barbedo da Costa Faria

Dieta Mediterrânea, estabilidade genômica e variação genética

(Ivo Frederico Barbedo da Costa Faria)

Trabalho Complementar apresentado à Universidade Fernando
Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de
licenciado em Ciências da Nutrição

Orientadora:

Maria Gil Roseira Ribeiro

Sumário

A dieta Mediterrânica é um dos padrões alimentares mais saudáveis do mundo. Pelo facto de ser uma dieta muito rica em nutrientes essenciais e substâncias com atividade antioxidante e anti-inflamatória, ela tem sido implicada na manutenção da estabilidade genómica, incluindo o DNA telomérico. A disfunção telomérica tem sido associada à senescência celular, apoptose e cancro. Por isso, a investigação da interação dieta-telómero é relevante para uma melhor compreensão do papel da nutrição na prevenção de doenças crónicas caracterizadas por envelhecimento precoce e instabilidade genómica/disfunção telomérica. Este trabalho de revisão bibliográfica descreve os principais avanços científicos e tecnológicos que estiveram na génese da genómica nutricional. Adicionalmente, ele analisa o papel da dieta Mediterrânica para a manutenção da estabilidade genómica e integridade telomérica, bem como o impacto de variações genéticas humanas específicas na relação nutriente-genoma, especialmente a nível do DNA telomérico. Tratando-se de uma área emergente da genómica nutricional, a continuidade da investigação será fundamental para possibilitar, no futuro, a integração do conhecimento técnico-científico na prática clínica e aconselhamento nutricional.

Palavras-chave: Dieta Mediterrânica, estabilidade genómica, telómero, SNP, genómica nutricional.

Abstract

The Mediterranean diet is one of the healthiest food standards of the world. Because of the abundance in essential nutrients and substances with antioxidant and anti-inflammatory activity, it has been implicated in the maintenance of genomic stability, including telomeric DNA. Telomeric dysfunction has been associated with cell senescence, apoptosis and cancer. Therefore, the research on diet-telomere interaction is relevant for a better understanding of the role of nutrition in the prevention of chronic diseases characterised by premature aging and genomic instability/telomeric dysfunction. In the present work, major technological and scientific advances that led to the development of the Nutritional Genomics field are reviewed. Additionally, the role of the Mediterranean diet on genomic stability/telomere integrity and the modulation of nutrient-genome (mainly telomeric DNA) by specific human genetic variations are analysed. As this is an emergent area of nutritional genomics, ongoing research is crucial to enable, in the future, the integration of technical and scientific knowledge into clinical practice and nutritional counselling.

Key-words: Mediterranean diet, genomic stability, telomere, SNP, nutritional genomics.

Abreviaturas

CT – Comprimento dos telómeros

DHA – Ácido docosahexaenóico

DM – Dieta mediterrânea

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EPA – Ácido eicosapentaenóico

GWA – Estudos de associação genómica ampla

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

LTL – Comprimento médio dos telómeros dos leucócitos

MUFA – Ácidos gordos monoinsaturados

RNA – Ácido ribonucleico

ROS – Espécies reativas de oxigénio

SCA – Síndrome coronária aguda

SNP – Polimorfismo de nucleótido único

Glossário

Biologia de sistemas – Estudo sistemático da globalidade das interações que ocorrem num sistema biológico através da aplicação de metodologias holísticas, e.g. estudo simultâneo do genoma, transcriptoma, proteoma e metaboloma, na saúde ou na doença.

Epigenômica – Estudo global das modificações epigenéticas presentes no genoma de uma célula (epigenoma), isto é, dos marcadores hereditários presentes na cromatina (modificação química das histonas e metilação do DNA).

Genoma – A totalidade do DNA de uma célula.

Genômica – Estudo da sequência dos genomas (genes e respetivos elementos reguladores) com vista a elucidar a sua estrutura, função, origem e evolução.

Metabolômica – Estudo (identificação e quantificação) do metaboloma, isto é, da totalidade de pequenas moléculas presentes nas células, tecidos e fluídos de um organismo.

Polimorfismo – Variações na sequência do DNA num local específico.

Proteômica – Estudo (identificação e quantificação) do proteoma, isto é da totalidade de proteínas que são produzidas num contexto biológico específico.

Transcriptômica – Estudo (identificação e quantificação) do transcriptoma, isto é da totalidade dos transcritos que são produzidos pelo genoma, incluindo o RNA não codificante e o microRNA, num determinado tipo celular e sob condições específicas.

Variação genética – Variantes alélicas originadas por mutação e/ou recombinação.

1 – Introdução

1.1 – Dieta Mediterrânica

A dieta mediterrânica (DM) é um dos padrões alimentares mais saudáveis do mundo. O conceito teve início há longas décadas pela mão de Ancel Keys, fisiologista americano, que aprofundou a relação entre a alimentação e a doença cardiovascular e, em particular, o impacto da alimentação praticada pelas populações do mediterrâneo nas décadas de 50 e 60 do século XX (à qual chamou Dieta Mediterrânica), comparativamente a consumos alimentares de populações de outras áreas geográficas. Desde aí, este padrão alimentar tem sido alvo de numerosos estudos por parte da comunidade científica, sendo consensual que ele é nutricionalmente adequado, minimizando o risco de uma ingestão deficiente de micronutrientes (Bach-Faig *et al.*, 2011; Pinho *et al.*, 2016). Em 2010, a UNESCO reconheceu a DM como Património Cultural Imaterial da Humanidade (UNESCO, 2010).

A DM é caracterizada pela elevada ingestão de vegetais, frutas, frutos secos, leguminosas e cereais (sobretudo integrais); uma elevada ingestão de azeite mas uma baixa ingestão de gordura saturada; uma ingestão moderadamente elevada de peixe; uma baixa ingestão de lacticínios, carne e aves; e uma ingestão regular e moderada de álcool (especificamente vinho às refeições). Estudos observacionais e de intervenção demonstraram consistentemente que a alta adesão à DM resulta em benefícios para a saúde, tais como a redução da taxa de mortalidade e a redução da incidência de doenças crónicas, especialmente doenças cardiovasculares, e o aumento da probabilidade de um envelhecimento saudável (Crous-Bou *et al.*, 2014).

A atual representação da DM expõe um exemplo de padrão alimentar sustentável, onde a nutrição, a produção local, a biodiversidade e a cultura estão fortemente interligadas, com um reduzido impacto no meio ambiente (Figura 1). Os diversos alimentos estão representados por grupos e podem ser simultaneamente avaliados quanto ao nível da sua qualidade nutricional e do impacto no meio ambiente (Bach-Faig *et al.*, 2011; Pinho *et al.*, 2016).

1.2 – Estabilidade Genômica

O genoma nuclear eucariótico corresponde a um longo filamento de DNA, i.e. duas cadeias polinucleotídicas complementares e antiparalelas que assumem a estrutura de dupla hélice, associado a proteínas específicas. A manutenção da integridade do genoma é fundamental para assegurar o bom funcionamento da célula. Por isso motivo, múltiplos mecanismos de supervisão e controlo de qualidade, tais como os pontos de supervisão da progressão do ciclo celular, mecanismos de separação de cromossomas homólogos durante a divisão celular e mecanismos endógenos de reparação de danos na molécula do DNA, contribuem coletivamente para a manutenção da estabilidade genômica. Por isso, uma deficiência numa qualquer etapa desses mecanismos pode conduzir a instabilidade genômica, propiciando a ocorrência de alterações no genoma, tais como alterações cromossômicas, (e.g. translocações, inserções, duplicações ou deleções), quebras na molécula do DNA (numa única cadeia ou em ambas), alterações na estrutura terciária do DNA, e/ou alterações a nível da expressão génica. Fatores físicos e químicos (endógenos ou exógenos) específicos também podem atuar como mutagénios, induzindo alterações na composição e/ou estrutura da molécula de DNA. Se esses danos não forem reparados, eles poderão afetar negativamente a replicação da molécula do DNA e/ou a expressão génica, i.e. passagem da informação do gene para a proteína e, desse modo, alterar o equilíbrio a nível do crescimento e proliferação celular resultando, eventualmente, em apoptose ou cancro (Shen, 2011). Uma forma particularmente deletéria de danificação do DNA é a quebra da ligação fosfodiéster (ligação covalente que é estabelecida entre os desoxirribonucleótidos adjacentes da cadeia polinucleotídica) que pode ocorrer em resultado da exposição a mutagénios, e.g. radiação ionizante ou agentes oxidantes, ou ainda de erros no metabolismo do DNA (Maher *et al.*, 2011).

1.3 – Variação genética: polimorfismo de nucleótido único

Variações na sequência polinucleotídica do DNA que ocorrem com uma frequência típica mínima de 1% entre indivíduos de uma população são conhecidas por polimorfismos. O tipo mais comum de polimorfismo envolve a variação num único par

de bases e é conhecido por polimorfismo de nucleótido único (SNP, *single nucleotide polymorphism*) (Camp e Trujillo, 2014). Com exceção dos gêmeos homozigóticos, quaisquer dois indivíduos apresentam diferenças de cerca de 1-3 % nos seus genomas. É estimado que cada pessoa contenha aproximadamente 250-300 genes com variantes de perda de função, 50-100 das quais estão implicadas em doenças hereditárias (The 1000 Genomes Project Consortium, 2010).

O primeiro rascunho do genoma humano foi publicado em 2001 através de um esforço internacional conhecido por “Projecto do Genoma Humano” que se iniciou em 1990 e custou 3 bilhões de dólares (Camp e Trujillo, 2014; The International Human Genome Sequencing Consortium, 2004). Com o rápido avanço das tecnologias de sequenciação, especialmente o advento das plataformas de sequenciação de elevado rendimento (NGS, *next-generation sequencing*) (Goodwin *et al.*, 2016), têm sido registados avanços significativos a nível do conhecimento sobre as variações genéticas humanas (The 1000 Genomes Project Consortium, 2015; Studmant *et al.*, 2015; Welter *et al.*, 2014), incluindo os SNPs (Figura 2), que têm conduzido a uma melhor compreensão sobre a sua epidemiologia, mecanismos moleculares, bases moleculares da variabilidade fenotípica e suscetibilidade à doença. Estudos de associação genómica ampla (GWA, *genome wide association study*) têm sido bem sucedidos quanto ao estabelecimento de associações genótipo-fenótipo. Para cada doença, as “variáveis de risco” são identificadas e as frequências alélicas em centenas de milhares de locais polimórficos (SNPs) comparadas entre as populações de indivíduos afetados e controlos. Esta abordagem tem permitido identificar no genoma humano milhares de variações comuns e correlacionar estatisticamente frequências alélicas com várias doenças e síndromes (McClellan e King, 2010; The Wellcome Trust Case Control Consortium, 2010; Welter *et al.*, 2014; Ye e Gu, 2011). Apesar da complexidade desses estudos e da inerente dificuldade em explicar o impacto das variações genéticas no fenótipo clínico, esse tipo de informação representa já um avanço significativo para a elucidação da arquitetura genética da saúde humana, bem como fornece informação útil para orientar o sentido da investigação biomédica no futuro (Ye e Gu, 2011).

Neste contexto, o presente trabalho foi elaborado com o objetivo de analisar a relação entre a DM e a estabilidade genômica, bem como o impacto de variações genéticas humanas específicas na relação nutriente-genoma, especialmente a nível do DNA telomérico. Nesse sentido, foi efetuada uma revisão bibliográfica utilizando a PubMed como base científica de referência, bem como sites institucionais, utilizando as seguintes palavras-chave: dieta Mediterrânea, estabilidade genômica, telómero, SNP e genômica nutricional. Foram consultadas publicações científicas reportadas essencialmente aos últimos 5 anos e que permitiram a identificação de trabalhos científicos publicados em anos anteriores. A bibliografia foi selecionada com base na relevância da informação para o desenvolvimento do tema do trabalho.

2 – Interação Nutriente-Gene

2.1 – Perspetiva histórica

Considerando que o genoma humano foi moldado por milhões de anos de seleção com vista à adaptação ao padrão de dieta da era Paleolítica, é possível que ele se encontre evolutivamente desajustado em relação aos hábitos dietéticos modernos justificando, desse modo, as denominadas “doenças da civilização” que constituem presentemente um importante problema de Saúde Pública (Ye e Gu, 2011).

O estudo da interação nutriente-gene é uma área das ciências da nutrição relativamente recente e em expansão. No entanto, o conceito de que interações adversas entre a dieta e o genoma podem ser um fator causal de doenças já não é recente. De facto, numerosos estudos em modelos humanos e animais, bem como em células cultivadas, demonstraram que os macronutrientes (e.g. ácidos gordos e proteínas), micronutrientes (e.g. vitaminas) e químicos bioreativos que ocorrem naturalmente (e.g. fitoquímicos, tais como flavonóides, carotenóides, cumarinas, e fitoesteróis; e zooquímicos, tais como ácido eicosapentaenóico e ácido docosahexaenóico) regulam a expressão genética de múltiplas formas. Muitos dos micronutrientes e químicos bioreativos dos alimentos estão diretamente envolvidos em reações metabólicas e determinam uma ampla gama de respostas fisiológicas, desde balanços hormonais e competência imunitária, até processos de destoxificação e à utilização de macronutrientes como fontes de energia e

crescimento. Alguns dos compostos bioquímicos presentes em comidas (e.g. genisteína e resveratrol) são ligantes de fatores de transcrição alterando diretamente a expressão genética. Outros compostos, como por exemplo a colina, alteram vias de transdução de sinal e a estrutura da cromatina, afetando indiretamente a expressão genética (Mead, 2007). As doenças metabólicas são outro exemplo da influência de variações genéticas na dieta: fenilcetonúria (MIM 261600), defeitos associados à oxidação de ácidos gordos de cadeia muito longa (MIM 300100) e absorção de ferro (hemocromatose, MIM 235200); estas doenças podem ser razoavelmente bem controladas através de restrições na dieta (Farhud *et al.*, 2010). Outro exemplo é a intolerância à lactose (MIM 223100). A nível mundial, uma proporção significativa dos adultos são intolerantes à lactose, isto é, não conseguem digerir produtos lácteos porque o gene que codifica a lactase, a enzima responsável pela hidrólise da lactose, é normalmente desativado durante a infância. Contudo, há cerca de 5 000 – 12 000 anos atrás, um polimorfismo de nucleótido único foi introduzido no DNA da população do Norte da Europa (Enattah *et al.*, 2002; Enattah *et al.*, 2007). Esse polimorfismo resulta na ativação da transcrição do gene da lactase cuja expressão persiste na idade adulta (Lewinsky *et al.*, 2005; Olds e Sibley, 2003). Estes acontecimentos foram evolutivamente vantajosos porque possibilitaram a utilização de produtos lácteos, nutricionalmente ricos, nomeadamente em regiões com épocas curtas de cultivo, por parte das pessoas que herdaram esses polimorfismos (Neeha e Kinth, 2013).

2.2 – Nutrigenómica e Nutrigenética

A conclusão do Projecto do Genoma Humano, em 2003, no âmbito do qual foi conhecida a sequência da molécula de DNA que constitui o genoma humano (The International Human Genome Sequencing Consortium, 2004), marcou o início da era pós-genómica ou genómica funcional. Neste âmbito, há que salientar a importância da bioinformática na recolha, seleção, análise e armazenamento de dados obtidos em larga escala sobre moléculas previamente isoladas e do mesmo tipo (DNA, RNA, proteínas ou metabolitos) e que, desse modo, são globalmente caracterizadas. Assim, na era pós-genómica, outras ciências “ómicas” apareceram como ferramentas revolucionárias do

conhecimento, e.g. transcriptômica, proteômica e metabolômica (Figura 3). A genômica funcional combina a utilização de várias técnicas “ômicas” para caracterizar funcionalmente a totalidade dos genes de um organismo e compreender a relação entre genótipo e fenótipo numa escala global. De facto, a tecnologia “ômica” tem vindo a ser aplicada na compreensão dos processos fisiológicos e tem desempenhado um importante papel a nível do rastreio, diagnóstico e prognóstico de doenças ou na compreensão da sua etiologia. Dada a sua potencialidade para investigar simultaneamente vários tipos de moléculas, esta tecnologia tem também contribuído para a identificação de biomarcadores (Horgan e Kenny, 2011). Neste contexto, a designação “genômica nutricional” tende a substituir a anterior expressão “interação nutriente-gene”, aglutinando as numerosas inter-relações entre genes, nutrição e doença que vêm sendo descritas desde 2007 (Neeha e Kinth, 2013).

A Genômica Nutricional inclui duas secções: a Nutrigenómica e a Nutrigenética (Figura 4). A Nutrigenómica é o estudo da interação entre os componentes da dieta e o genoma visando a compreensão da alteração do padrão de transcritos, proteínas ou metabolitos produzida na sequência dessa interação (Farhud *et al.*, 2010), e inclui também o estudo da ação protetora dos fatores nutricionais sobre a integridade do genoma (Sales *et al.*, 2014). A Nutrigenética visa identificar e compreender a resposta dos diferentes padrões genotípicos aos componentes da dieta (Farhud *et al.*, 2010). Estudos em larga escala recorrendo à tecnologia da “ômica” têm promovido avanços significativos na compreensão das diferenças individuais em resposta à nutrição (Dauncey, 2012). De facto, os avanços registados a nível da genética e da genômica sugerem, atualmente, que uma dieta desadequada para o genótipo de um indivíduo pode ser um fator de risco para doenças monogénicas, doenças poligénicas e doenças multifatoriais. Efetivamente, polimorfismos genéticos podem influenciar a resposta à exposição a fatores ambientais. Essas variações genéticas, ao desencadear alterações estruturais e funcionais em proteínas, nomeadamente enzimas, podem traduzir-se numa alteração em etapas específicas do metabolismo. Em resultado disso, pode ocorrer uma variação da concentração de metabolitos celulares específicos que origine alterações na fisiologia celular (Farhud *et al.*, 2010). Um exemplo de como a Nutrigenómica tem sido usada para clarificar o papel de fatores específicos da dieta reside no estudo da relação entre a

ingestão de café e as doenças cardíacas. Vários estudos examinaram esta associação e concluíram que o café tanto aumenta o risco, como não tem qualquer efeito ou ainda diminui o risco de contrair doença cardíaca. Embora o café seja uma bebida bastante complexa contendo um largo número de compostos bioativos, é uma fonte principal de cafeína em várias populações. Por isso, foi colocada a hipótese de que a cafeína poderia ser particularmente nociva para o sistema cardiovascular. Estudos entretanto desenvolvidos sugerem que o café cafeinado aumenta o risco de ataque cardíaco entre os indivíduos que possuem uma versão de um gene que os torna metabolizadores lentos da cafeína, mas não apresenta esse efeito entre os indivíduos que são metabolizadores rápidos da cafeína (Fenech *et al.*, 2011). No contexto dos estudos de investigação, os estudos epidemiológicos têm-se revelado de particular interesse no estudo dos efeitos da exposição a determinados alimentos em função da variabilidade genética humana. No entanto, é de sublinhar a existência de algumas limitações inerentes a estes estudos epidemiológicos nutricionais, nomeadamente quanto às imprecisões associadas à estimativa da ingestão de nutrientes. De qualquer forma, mesmo que quantidades precisas fossem conhecidas, a “dose” biológica deverá variar bastante entre indivíduos em virtude da variabilidade genética poder afetar a absorção, a biotransformação, o metabolismo, a distribuição ou a eliminação de um nutriente ou composto bioativo (El-Sohemy, 2007). A incorporação de polimorfismos genéticos nos estudos epidemiológicos tem ajudado a ultrapassar diversas limitações inerentes a esses estudos, nomeadamente viés de memória entre os estudos de caso-controlo e confusão residual entre os estudos observacionais em geral (Fenech *et al.*, 2011).

Além da Nutrigenética e da Nutrigenômica, também a Epigenômica Nutricional tem relevância no estudo da relação nutriente-gene.

A Epigenômica contempla todos os mecanismos que não estão codificados na sequência da molécula do DNA mas que exercem um papel importante no controlo da expressão genética, isto é, regulando como e quando os genes são silenciados ou ativados. Um mecanismo epigenético é a metilação do DNA, isto é, a modificação da posição 5 da base azotada citosina com o grupo metilo (5-metilcitosina, 5-mC) que tipicamente ocorre no contexto do dinucleótido CpG presente no DNA. Geralmente, a hipometilação

em segmentos de DNA próximas de genes permite que estes sejam transcritos, enquanto que a hipermetilação reprime a transcrição, provocando o silenciamento da expressão do gene respectivo. Também no caso das histonas (proteínas associada ao DNA nuclear para formar a cromatina) algumas modificações, incluindo acetilação e fosforilação, são reversíveis e dinâmicas e estão muitas vezes associadas à expressão induzida de genes individuais. Outras modificações, como a metilação, são mais estáveis e estão envolvidas na manutenção a longo prazo, do estado de expressão de regiões do genoma (Cheung e Lau, 2005). Tanto a hipometilação como a hipermetilação descrevem um cenário aberrante; a influência fenotípica destas alterações epigenéticas irá depender do gene modificado e do contexto espaço-temporal em que essa modificação ocorreu (Kauwell, 2008).

A Epigenômica Nutricional refere-se à influência da dieta nas mudanças da expressão gênica que ocorrem na ausência de alterações na sequência de DNA, isto é, a dieta pode causar modificações epigenéticas que podem “ligar” ou “desligar” genes e, em último caso, provocar alterações que impossibilitem a manutenção da homeostasia celular (Fenech *et al.*, 2011). Os nutrientes folato, metionina, colina, vitamina B12 e vitamina B6 estão envolvidos no metabolismo de transferência de unidade de carbono e desempenham, por isso, um papel crítico na manutenção do padrão de metilação do DNA e das histonas. A ingestão em excesso ou em defeito de qualquer um desses nutrientes poderá afetar o metabolismo de transferência de unidade de carbono e, eventualmente, influenciar o padrão de metilação do DNA e/ou histônico (Ho *et al.*, 2011). Em estudos com modelos animais, foi observado que as dietas deficientes em metionina, colina, vitamina B12, ou folato induzem hipometilação e hipermetilação em locais específicos do genoma e os animais submetidos a esse padrão dietético apresentavam tendência para o desenvolvimento de células cancerígenas (Camp e Trujillo, 2014).

A Figura 5 ilustra a inter-relação entre as ciências “ômicas”. A contribuição dessas ciências será fundamental para o desenvolvimento, no futuro, da denominada nutrição personalizada (Figura 6).

3 – Estabilidade genômica: papel do complexo telómero / telomerase

As extremidades naturais dos cromossomas lineares são designadas por telómeros (Figura 7). Os telómeros assemelham-se a quebras do DNA mas não são sinalizados dessa forma uma vez que a sua reparação poderia originar fusões cromossômicas deletérias (O'Sullivan e Karlseder, 2010).

Os telómeros consistem em longas repetições do hexanucleotídeo 5'-TTAGGG-3' (Moysis *et al.*, 1988) associadas a um complexo proteico denominado *shelterin* (De Lange, 2005). Esse complexo proteico protege as extremidades dos cromossomas contra eventos de fusões com outros cromossomas e degradação prematura, promovendo a formação de estruturas do DNA em forma de laço (*T-Loop*) (De Lange, 2004) que, assim, mascaram as extremidades lineares do cromossoma de serem reconhecidas como quebras de DNA simples e/ou de cadeia dupla (O'Sullivan e Karlseder, 2010; Shay, 2003). As interações entre o DNA telomérico, o complexo *shelterin* e a telomerase são altamente reguladas e essenciais para a proteção das extremidades dos cromossomas. Defeitos nos componentes do complexo *shelterin* e/ou na telomerase afetam diretamente e de forma adversa a estrutura e o comprimento dos telómeros, originando alterações no comprimento e/ou estrutura do telómero que são comumente invocadas como o gatilho primário da disfunção telomérica (O'Sullivan e Karlseder, 2010).

As repetições teloméricas 5'-TTAGGG-3' encurtam em cada divisão celular, nomeadamente devido ao problema da replicação das extremidades dos cromossomas. O problema da replicação das extremidades dos cromossomas resulta da impossibilidade da enzima DNA polimerase proceder à replicação do DNA nos segmentos terminais da molécula de cadeia dupla linear. Esse problema é ultrapassado com a atividade da enzima telomerase. A telomerase é um complexo ribonucleoproteico composto por RNA e por uma proteína específica que exibe atividade de transcriptase reversa. Uma vez que a telomerase assegura a replicação do DNA telomérico durante a divisão celular, ela é essencial para a manutenção do comprimento adequado dos telómeros (Shay e Wright, 2011). Com exceção das células germinais, células embrionárias e células cancerígenas, a expressão da telomerase humana é desativada

após o nascimento tornando inexorável o processo de encurtamento dos telômeros (Blasco, 2005; Cong *et al.*, 2002; Lewis *et al.*, 2016).

O *stress* oxidativo, desencadeado por fatores endógenos ou exógenos, também pode originar o encurtamento do DNA telomérico. A nível dos fatores endógenos destacam-se o oxigênio molecular e as espécies reativas de oxigênio (ROS) que estão relacionadas com a realização do metabolismo celular aeróbio (Ames *et al.*, 1993). Os telômeros são ricos em guaninas que, frequentemente, são oxidadas formando, nomeadamente, 8-oxo-2'-desoxiguanosina e 2,6-diamino-4-oxo-5-formamidopirimidina. Erros no processo de reparação das modificações oxidativas das bases nitrogenadas dos desoxiribonucleótidos podem produzir quebras na molécula do DNA. A produção de ROS pode também originar quebras na molécula de DNA, incluindo o DNA telomérico. Em contraste com outros segmentos de DNA genómico, o DNA telomérico parece ser mais sensível às quebras nas cadeias do DNA (Freitas-Simoes *et al.*, 2016).

Os telômeros podem perder a sua função protetora quando encurtam até um tamanho crítico e/ou quando não escapam ao reconhecimento por parte da maquinaria celular de reparação de danos no DNA, mesmo na presença de longas extensões de repetições de 5'-TTAGGG-3' (O'Sullivan e Karlseder, 2010). Quando o tamanho crítico do telómero é atingido, as células ativam mecanismos de proteção promotores de senescência e/ou apoptose, de forma a evitar a proliferação de células geneticamente instáveis. Se esses mecanismos falham, as células podem continuar a dividir-se mas num contexto de instabilidade genómica. Nesse ponto, a existência de uma quantidade adequada de telomerase funcionalmente ativa poderia compensar o encurtamento telomérico e, desse modo, repor a estabilidade genómica e a homeostasia celular (Fernández-Marcelo *et al.*, 2016). No entanto, a expressão da telomerase humana é desativada após o nascimento (Blasco, 2005; Cong *et al.*, 2002). Por outro lado, telômeros criticamente curtos podem ser reconhecidos pela célula como DNA danificado. Nesse caso, telômeros de diferentes cromossomas são fundidos por proteínas de reparação do DNA, causando um aumento da instabilidade cromossómica que poderá resultar, eventualmente, no aparecimento de células tumorais (Artandi e DePinho, 2010; Jafri *et al.*, 2016; Panero *et al.*, 2015). A

persistência dessas células tumorais pode eventualmente originar o aparecimento e o desenvolvimento de tumores (Jafri *et al.*, 2016), como é ilustrado na Figura 8.

O papel do comprimento dos telómeros (CT), ou mais rigorosamente da taxa de encurtamento dos telómeros, na senescência celular e no desenvolvimento de doenças crónicas tem sido amplamente investigado nos últimos anos. Embora de forma não absolutamente consensual, tem sido sugerida uma associação direta entre a taxa de encurtamento dos telómeros e o envelhecimento celular (Aviv, 2009; Boccardi *et al.*, 2013; Jiang *et al.*, 2007). A suportar esta hipótese, foi descrito que, em humanos, o comprimento médio dos telómeros dos leucócitos (LTL) está positivamente correlacionado com a longevidade e, por isso, LTL foi proposto como um potencial biomarcador do envelhecimento biológico (Buxton *et al.*, 2014). Esta hipótese é, ainda, corroborada pela observação de que LTL é geralmente mais curto em homens adultos do que em mulheres, independentemente da idade, o que, por sua vez, é consistente com o facto da esperança média de vida dos homens ser mais curta do que a das mulheres na maior parte das populações (Austad, 2006). Contudo, há que salientar que células com telómeros encurtados mantêm-se, à partida, geneticamente estáveis se o sistema de manutenção dos telómeros, o qual inclui maioritariamente a telomerase, mas também o complexo proteico *shelterin*, estiver plenamente funcional (Blackburn, 2005).

4 – Impacto da dieta Mediterrânica sobre o comprimento dos telómeros

A DM é suficientemente calórica e rica em vitaminas e minerais, derivados dos vegetais e frutas, cereais integrais, frutos secos, azeite virgem extra e peixe, o que diminui muito o risco de deficiência de ingestão de micronutrientes. Isto explica o motivo pelo qual a inadequada ingestão de vitaminas do complexo B é rara na bacia Mediterrânica, e a ingestão de vitaminas antioxidantes (vitaminas C e E) e carotenos também é elevada (Castro-Quezada *et al.*, 2014). Adicionalmente, a DM apresenta um perfil benéfico de ácidos gordos, com um alto conteúdo de ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) e uma elevada proporção MUFA/ácidos gordos saturados comparativamente à maior

parte das dietas não-mediterrânicas. O alto consumo de fibra dietética, baixo índice glicémico e carga glicémica, efeitos anti-inflamatórios e compostos antioxidantes, podem atuar em conjunto de forma a produzir resultados favoráveis no estado de saúde (Castro-Quezada *et al.*, 2014). De facto, o elevado consumo dos componentes principais da DM, i.e. vegetais, frutas, frutos secos, azeite, cereais e leguminosas, e consumo moderado de vinho tinto, são preditores de baixa mortalidade (Trichopoulou *et al.*, 2009). Componentes não-nutrientes deste tipo de dieta também contribuem para os efeitos benéficos para a saúde, como por exemplo o resveratrol presente no vinho tinto (López-Miranda *et al.*, 2012). A DM também implica um alto consumo de ervas e especiarias típicas das zonas mediterrânicas. Neste âmbito, estudos a nível do conteúdo em flavonóides da dieta tradicional Grega também sugerem que as ervas e especiarias (orégãos, manjeriço, louro, tomilho, salsa, etc.) são significativamente responsáveis pelo elevado conteúdo de antioxidantes consumidos nesta população (Bower *et al.*, 2015). Vários estudos têm demonstrado que uma maior adesão à DM, ou ao consumo dos seus componentes principais, tais como azeite, frutas, e vegetais, está associada a níveis elevados da capacidade global antioxidante (Pitsavos *et al.*, 2005) ou ao aumento do nível de carotenóides antioxidantes no plasma (Blum *et al.*, 2006). Vários estudos observacionais e de intervenção também associaram altos níveis de adesão à DM com baixos níveis de marcadores de inflamação, tais como a proteína C-reativa ou a interleucina-6 (Gu *et al.*, 2015). Nesse sentido, é de salientar a importância da plataforma NutriChip que, através da utilização de tecnologias inovadoras de monitorização da expressão de biomarcadores celulares imunológicos, permite avaliar as propriedades anti-inflamatórias de alimentos e, desse modo, estudar o seu impacto na saúde (Ramadan *et al.*, 2013; Vergères *et al.*, 2012).

Os dois mecanismos principais implicados na associação dieta-LTL são o *stress* oxidativo e a inflamação (Aviv, 2009; Houben *et al.*, 2008). De facto, uma dieta com elevada ingestão de antioxidantes específicos e compostos anti-inflamatórios (vitamina C ou E, polifenóis, curcumina, ou ácidos gordos ómega 3) tem sido associada com telómeros mais compridos (Farzaneh-Far *et al.*, 2010; Kiecolt-Glaser *et al.*, 2013; O'Callaghan *et al.*, 2014; Thomas *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2009). Um estudo *in vitro* demonstrou que o consumo da DM protege contra a senescência das células endoteliais

através da redução do nível de *stress* oxidativo intracelular, encurtamento dos telómeros e apoptose (Marin *et al.*, 2012). No entanto, até à data, poucos estudos investigaram a relação entre a adesão à DM e LTL em populações humanas. Num estudo de 2013 que incluiu uma amostra de 217 pessoas idosas (média de idades de 77 anos) do sul de Itália, uma elevada adesão à DM foi associada com LTL mais longos e uma maior atividade da enzima telomerase (Boccardi *et al.*, 2013). Num outro estudo, de 2014, que incluiu uma amostra de 4676 mulheres saudáveis americanas (média de idades de 59 anos), uma maior adesão à DM foi significativamente associada com um maior LTL (Crous-Bou *et al.*, 2014). Nesses dois estudos foram incluídos apenas indivíduos com ascendência europeia. Outro estudo, de 2015, efetuado numa amostra de 1743 pessoas residentes em Nova Iorque mas de várias ascendências étnicas (caucasianos, latino-americanos e afro-americanos), com idade ≥ 65 anos, foi encontrada uma associação entre a alta adesão à DM e maior LTL nos indivíduos caucasianos, mas não nos indivíduos de ascendência hispânica ou afro-americana (Gu *et al.*, 2015). Finalmente, num outro estudo, também de 2015, numa amostra de 520 indivíduos espanhóis (idade média de 67 anos), com elevado risco de doença cardiovascular face ao respetivo quadro clínico (diabetes, hipertensão ou dislipidemia), também foi encontrada uma associação positiva entre a adesão à DM e LTL (García-Calzón *et al.*, 2015a).

Fatores exógenos, tais como o estilo de vida e outros fatores ambientais, também podem influenciar a manutenção da integridade do DNA telomérico. De facto, fatores metabólicos, tais como adiposidade abdominal e níveis aumentados de glicose em circulação têm sido relacionados com a existência de telómeros mais curtos e uma menor atividade enzimática da telomerase (Boccardi *et al.*, 2013).

5 – Variação genética, dieta e telómeros

A elucidação do genoma humano conjuntamente com o conhecimento de que os nutrientes são capazes de modificar a expressão génica e de que a variabilidade genética pode regular a forma como os indivíduos respondem à dieta, resultou no conceito de nutrição personalizada (Figura 6) que tem por objetivo último a prevenção da doença (Doo e Kim, 2015; Juma *et al.*, 2014).

Atualmente, é consensual a noção de que a otimização da ingestão de nutrientes desempenha um papel significativo na estabilização do genoma. De facto, nos últimos anos, um número crescente de biomarcadores da integridade do genoma, incluindo o comprimento dos telómeros e as deleções no DNA mitocondrial, têm sido investigados de forma a estabelecer a dose recomendada de ingestão diária de nutrientes. Adicionalmente, esses estudos sublinharam a necessidade de otimização da dieta em função do padrão genético do indivíduo, i.e. tendo em conta a forma como os genótipos ou padrões de expressão específicos se correlacionam com a absorção, digestão, transporte, metabolismo, etc. (Ferguson *et al.*, 2015).

Como já referido anteriormente, a DM implica uma elevada ingestão de nutrientes e compostos com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias que, globalmente, são favoráveis para a manutenção da estabilidade genómica, incluindo a integridade telomérica. A influência de polimorfismos em genes modulados por nutrientes ou compostos bioativos da DM com propriedades antioxidantes ou anti-inflamatórias é, a seguir, analisada considerando o seu potencial impacto a nível da estabilidade genómica e integridade dos telómeros.

Folato

O folato (vitamina B9) é considerado uma das 13 vitaminas essenciais dado que não pode ser sintetizada pelo organismo humano, tendo de ser obtida através da dieta ou suplementação. O folato proveniente da dieta está presente nos vegetais de folha verde, leguminosas, gema do ovo, fígado, e citrinos. É essencial para a replicação do DNA e atua como substrato em várias reações enzimáticas envolvidas na síntese de aminoácidos. O termo folato é tipicamente usado como nome genérico para o grupo de compostos quimicamente relacionados com a estrutura do ácido fólico. O ácido fólico é um suplemento dietético sintético que está presente em produtos alimentares artificialmente fortificados e em vitaminas farmacêuticas. Tanto o folato como o ácido fólico não são metabolicamente activos. Ambos devem ser reduzidos de forma a participar no metabolismo celular. L-5-metiltetrahydrofolato (l-metilfolato) é a forma

predominante do folato que circula no plasma sanguíneo e que está envolvida em processos biológicos (Greenberg *et al.*, 2011).

Polimorfismos nos genes envolvidos na via do folato podem estar associados a alterações epigenéticas no DNA. A enzima metileno tetrahydrofolato redutase (MTHFR; EC 1.5.1.20; MIM 607093) converte o metileno-THF a metil-THF. O polimorfismo C677T no gene humano *MTHFR* (1p36.3), que origina a substituição de uma valina por alanina, resulta na diminuição da atividade enzimática e, subsequentemente, reduz a disponibilidade do metil-THF para a síntese da metionina. Em condições de baixa ingestão de folato, este polimorfismo está associado com a hipometilação do DNA. Em indivíduos homocigóticos para o alelo mutado (alelo T), há uma tendência para se formarem telômeros mais compridos sob baixas ingestões de folato quando comparados com indivíduos heterocigóticos CT ou homocigóticos CC, sugerindo perda de regulação epigenética devido a hipometilação do DNA. A formação de telômeros anormalmente compridos torna-os susceptíveis a recombinações. De facto, rearranjos cromossômicos foram observados em células cultivadas, *in vitro*, na presença de baixas concentrações de folato. A instabilidade genômica associada à disfunção telomérica pode ser, assim, um dos mecanismos através dos quais o folato afeta o risco para doenças (Paul, 2011).

Carotenóides

Os carotenóides são compostos precursores da vitamina A, a qual é muito importante na resposta imunitária, visão e diferenciação celular, possuindo também propriedades antioxidantes. As plantas possuem a capacidade de sintetizar vários tipos de pigmentos carotenóides, mas os animais necessitam de adquirir estes compostos essenciais através da dieta. Os seis carotenóides mais abundantes no plasma sanguíneo são o β -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina, licopeno, luteína, e zeaxantina (Ferrucci *et al.*, 2009). São pigmentos amarelos, laranjas, ou vermelhos e encontram-se presentes em muitas frutas e vegetais. Estudos epidemiológicos têm sugerido que a ingestão de carotenóides na dieta, ou os níveis séricos circulantes de carotenóides, estão positivamente associados com a saúde, ajudando a prevenir doenças relacionadas com o envelhecimento causadas pelo *stress* oxidativo (Min e Min, 2016).

Um estudo recente analisou a associação entre níveis plasmáticos de micronutrientes antioxidantes e LTL em 786 adultos idosos, que participaram no “Austrian Stroke Prevention Study” e reportou um efeito de proteção significativa da ação combinada luteína/zeaxantina sobre LTL. Globalmente, os resultados obtidos nesse estudo sugerem que os carotenóides podem prevenir o encurtamento telomérico através da proteção contra o dano induzido pelo *stress* oxidativo no DNA (Sen *et al.*, 2014).

Após a sua absorção, a provitamina A dos carotenóides é convertida em vitamina A pelo gene humano *BCMO1* (16q23.2) expresso nos enterócitos da mucosa intestinal e que codifica a enzima β -caroteno 15, 15'-monooxigenase 1, *BCMO1* (EC 1.13.11.63; MIM 605748). O β -caroteno é a provitamina A carotenóide mais abundante na dieta e ~95% dos retinóides derivados do β -caroteno são produzidos por esta via *in vivo*. Contudo, a eficiência de conversão do β -caroteno durante a absorção varia muito de pessoa para pessoa, mesmo em grupos homogêneos de indivíduos saudáveis (Borel *et al.*, 1998; Edwards *et al.*, 2001; Hickenbottom *et al.*, 2002; Lin *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2004). Numa tentativa de identificar os fatores genéticos que afetam a concentração, em jejum, de carotenóides, um estudo do tipo GWA identificou quatro novas variantes comuns associadas com a concentração de carotenóides. Os quatro SNPs identificados no cromossoma humano 16 (rs6420424, rs8044334, rs11645428, e rs6564851) estão localizados 7.7 Kb a montante do gene *BCMO1* (Ferrucci *et al.*, 2009). Embora o SNP rs6564851 tenha sido aquele em que foi observada uma associação mais forte com o β -caroteno plasmático, os autores não investigaram o efeito destes quatro SNP na eficiência da conversão da provitamina A. Num estudo de 2011, numa amostra de 28 mulheres voluntárias, com média de idades de 20 anos, foi verificado que três dos quatro SNPs intrônicos encontrados no estudo do tipo GWA supracitado, reduziam a atividade catalítica da enzima *BCMO1*. As mulheres portadoras dos alelos rs6420424/AA (n=8), rs11645428/GG (n=18) e rs6564851/GG (n=8), correspondentes a SNPs intrônicos, demonstraram uma redução na eficiência de conversão de até 59% quando combinado com concentrações mais elevadas, em jejum, de β -caroteno. Assim, este estudo demonstra que o metabolismo da provitamina A é influenciado por múltiplos SNPs e que a variabilidade genética deve ser tomada em conta em futuras recomendações de suplementação com provitamina A. A observação de diferenças

claras nas frequências de SNPs em diferentes grupos étnicos sublinha a importância da realização deste tipo de estudos genéticos em diferentes populações por forma a facultar conhecimento que possa fundamentar recomendações e políticas de saúde locais (Feigl *et al.*, 2014; Lietz *et al.*, 2012).

Vitaminas C e E

A vitamina C é considerada um antioxidante e está presente em altas concentrações em certos tecidos (e.g. olho). Foi demonstrado que vários marcadores de estabilidade genômica estão dependentes da quantidade de vitamina C proveniente da dieta (Ferguson *et al.*, 2015). Face às suas propriedades antioxidantes, a vitamina C pode proteger LTL através da melhoria do estado redox intracelular (Sen *et al.*, 2014).

A absorção da vitamina C pelas células do trato gastrointestinal e a sua reabsorção pelo sistema renal é efetuada por transporte ativo envolvendo duas proteínas transportadoras membranares dependentes de sódio. Essas proteínas são codificadas pelos genes *SLC23A1* (5q31.2; MIM 603790) e *SLC23A2* (20p13; MIM 603791). O gene *SLC23A1* codifica a proteína SVCT1 que é o transportador de ascorbato e que, aparentemente, está primariamente envolvido na homeostase corporal e nos níveis circulantes de vitamina C, enquanto que a proteína SVCT2, codificada pelo gene *SLC23A2*, tem sido envolvida na regulação da vitamina C em células específicas. Num estudo de 2013, numa amostra de 311 indivíduos europeus, quatro SNPs, dois em cada um dos genes, foram relacionados com os níveis plasmáticos de vitamina C (*SLC23A1*: rs11950646 e rs33972313; *SLC23A2*: rs6053005 e rs6133175). No gene *SLC23A1*, relativamente a rs11950646, os genótipos GG ou AG (comparados com o AA) foram associados a uma redução de 13% da concentração plasmática de vitamina C, enquanto que para rs33972313 os indivíduos heterozigóticos GA (comparados com GG) apresentaram uma redução de 24%. No gene *SLC23A2*, os indivíduos homozigóticos TT no SNP rs6053005 (comparados com CC) e os indivíduos homozigóticos GG no SNP rs6133175 (comparados com AA) foram associados a um aumento de 24% na concentração plasmática de vitamina C (Duell *et al.*, 2013).

Outra vitamina com características antioxidantes e consumida em altas quantidades na DM, é a vitamina E (principais fontes são o azeite e os frutos secos). A vitamina E é responsável pela quebra da reação em cadeia dos radicais livres e/ou eliminação de ROS, prevenindo a propagação do *stress* oxidativo, especialmente nas membranas biológicas. Adicionalmente, ela tem sido implicada na modulação de vias específicas de transdução de sinal com impacto na expressão genética (Makpol *et al.*, 2010). O consumo de uma dieta rica em vitamina E foi também associado a telômeros mais compridos (Makpol *et al.*, 2010; Shen *et al.*, 2009).

Num estudo de tipo GWA de variantes genéticas associadas com a concentração em circulação de alfa e gama-tocoferol, em dois grupos de homens, perfazendo no total 5006 indivíduos, foram encontrados três SNPs associados com os níveis de alfa-tocoferol: rs2108622 (19pter-p13.11), rs11057830 (12q24.31) e, o já anteriormente reportado na literatura rs964184 (11q23.3). Estes três SNPs foram associados ao metabolismo e/ou regulação lipídica (Major *et al.*, 2011).

Resveratrol

O vinho tinto, fonte rica em resveratrol, é consumido em quantidades moderadas na DM. O resveratrol, ou trans-3,5,4'-trihidroxistilbeno, é um polifenol natural encontrado nas videiras (*Vitis vinifera*) e várias outras plantas. Foi demonstrado que o resveratrol apresenta potentes propriedades antioxidantes e anticancerígenas, tendo também sido investigado pelas suas capacidades imunomoduladoras e anti-inflamatórias (Fuggetta *et al.*, 2016). Curiosamente, em estudos *in vitro*, foi observado que o resveratrol aumenta a atividade do promotor do gene da telomerase e aumenta a atividade enzimática da telomerase (Uchiumi *et al.*, 2011), sublinhando a importância do resveratrol na manutenção da integridade dos telômeros.

A enzima citossólica quinona redutase 2 (QR2) ou NHR-quinona oxidoreductase 2 (NQO2; EC 1.10.99.2; MIM 160998) é uma das proteínas alvo do resveratrol (Buryanovskyy *et al.*, 2004). Ela é codificada pelo gene *NQO2* (6p25.2) e cataliza a redução de quinonas, e.g. vitamina K3 (menadiona) e co-enzimas Q (Reybier *et al.*, 2011). Na população humana, existem duas formas alélicas comuns de *NQO2* que estão

associadas ao SNP rs1143684: o alelo TTT que codifica para o aminoácido fenilalanina na posição 47 (NQO2-F47) e o alelo CTT que codifica, na mesma posição, para o aminoácido leucina (NQO2-L47). A forma NQO2-F47 é a mais comum. Estudos *in vitro* mostraram que NQO2-L47 é menos ativa do que NQO2-F47 (Jamieson *et al.*, 2007). As estimativas para a frequência alélica do alelo CTT (forma NQO2-L47) variam desde 2%, em populações africanas, até 33%, nas populações do leste asiático; nos europeus, foi estimada a frequência de 20% (Flicek *et al.*, 2013). Também foi encontrado um melhor prognóstico no cancro da mama em indivíduos que possuem o alelo CTT (NQO2-L47) em relação aos que possuem o alelo TTT (NQO2-F47). Como uma reduzida atividade enzimática de NQO2 está associada a um menor risco de cancro, torna-se provável que a inibição de NQO2 mediada pelo resveratrol seja, pelo menos em parte, responsável pelos benefícios para a saúde que tipicamente são associados a este composto (Hubackova *et al.*, 2012).

Ómega 3

Uma família de nutrientes de especial interesse são os ácidos gordos polinsaturados essenciais de cadeia longa, ómega 3, mais especificamente o ácido eicosapentaenóico (EPA, C20:5n-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA, C22:6n-3). Como o organismo humano só consegue sintetizar quantidades limitadas de EPA e DHA a partir do ácido alfa linolénico (C18:3n-3) que se encontra presente nos frutos secos e sementes oleaginosas, esses ácidos gordos devem também ser obtidos através da dieta ou de suplementação. As maiores fontes na dieta de EPA e DHA são os alimentos provenientes do mar, especialmente o peixe gordo (Logan *et al.*, 2015) que está presente em quantidade moderada na DM. Os ácidos gordos ómega 3 estão envolvidos na redução da inflamação e do *stress* oxidativo (Calder, 2005) e, desse modo, poderão diminuir a ação desses efeitos nocivos sobre os telómeros. Num estudo de 2013, com uma amostra de 106 indivíduos, com idades compreendidas entre 40-85 anos, verificou-se uma relação inversa entre a proporção n6:n3 de ácidos gordos polinsaturados na dieta e LTL (Kiecolt-Glaser *et al.*, 2013).

Num estudo de 2014, numa amostra de 705 doentes caucasianos, descendentes de europeus, com idades compreendidas entre os 18 e os 55 anos e que foram

hospitalizados com síndrome coronária aguda (SCA), foi investigada a interação entre o índice de ômega 3 (um biomarcador validado da ingestão de ácidos gordos ômega 3) e 30 SNPs robustamente associados a SCA. Entre portadores da variante rs4977574 (9p21), o alelo de risco G (homozigóticos GG e heterozigóticos AG) foi associado a um baixo índice de ômega 3, possivelmente predispondo para um risco aumentado de SCA. Este resultado sugere que a ingestão de ácidos gordos ômega 3 pode modificar o risco genético conferido por essa variante genética quanto ao aparecimento precoce e desenvolvimento do SCA (Leung Yinko *et al.*, 2014).

Azeite

Vários estudos têm demonstrado que a adesão a uma dieta tipicamente mediterrânea, com o azeite como fonte predominante de gordura, está associada a menor mortalidade e maior longevidade, risco reduzido de doenças cardiovasculares, cancro, e reduzida incidência de problemas cognitivos ligados ao envelhecimento tais como doenças de Parkinson e de Alzheimer. Esses benefícios são atribuídos não só ao seu elevado teor de ácidos gordos monoinsaturados (MUFA), mas também às propriedades saudáveis de compostos minoritários com alta atividade biológica e que estão presentes sobretudo no azeite virgem e no azeite virgem extra (Fernández del Río *et al.*, 2016).

Num estudo clínico randomizado cruzado realizado em indivíduos idosos foi analisado o efeito de três tipos de dietas (dieta rica em ácidos gordos saturados, dieta baixa em gordura e hidratos de carbono e dieta de base mediterrânea enriquecida com MUFA - azeite virgem extra), cada uma delas consumida durante quatro semanas, sobre o comprimento dos telômeros, a produção intracelular de ROS e a apoptose celular. A análise de células endoteliais umbilicais humanas após incubação com o plasma dos indivíduos mostrou menor percentagem de células com encurtamento telomérico, produção intracelular de ROS e apoptose celular após a exposição ao plasma dos indivíduos que seguiram a dieta enriquecida com azeite virgem extra quando comparado com as células não incubadas com plasma ou expostas ao plasma dos indivíduos submetidos às outras duas dietas (Marin *et al.*, 2012).

Em 2010, foi investigado se genótipos relacionados com *APOA1* e *APOA4* interagem com a dieta de forma a determinar mudanças no tamanho das moléculas de LDL e a sua

susceptibilidade a modificações oxidativas. Um total de 97 voluntários saudáveis consumiram 3 dietas por 4 semanas: uma dieta SFA (38% de gordura, dos quais 20% gordura saturada), seguida de uma dieta baixa em gordura e alta em hidratos de carbono (dieta CHO) ou uma dieta com ácidos gordos monoinsaturadas em maior proporção (38% gordura, 22% ácidos gordos monoinsaturados, dieta MUFA). De forma a investigar os efeitos combinados dos SNPs para *APOA1/G-76A* e *APOA4/Thr347Ser*, foram definidos 4 grupos de genótipos combinados: GG/ThrThr, GG/ThrSer, GA/ThrThr, e GA/ThrSer. Os resultados obtidos sugerem que os SNPs *APOA1/G-76A* e *APOA4/Thr347Ser* influenciam o tamanho das partículas de LDL e a sua susceptibilidade a modificações oxidativas em resposta à dieta, sendo os indivíduos portadores do genótipo GA/ThrSer aqueles que beneficiarão mais com dietas ricas em MUFA do que com dietas ricas em hidratos de carbono (Gomez *et al.*, 2010).

Dieta Mediterrânea

Para além dos estudos focados em nutrientes ou compostos específicos da DM, o efeito global da DM na modulação da consequência de variações genéticas específicas quanto à estabilidade do genoma/integridade telomérica também começa a ser explorado.

O alelo Ala no gene *PPAR γ 2* (3p25.2; MIM 601487) diminui a transcrição desse gene e, subsequentemente, o nível de atividade da proteína por ele codificada. A variação genética respetiva tem sido associada a um menor IMC (índice de massa corporal), a uma sensibilidade aumentada à insulina em humanos, a uma maior esperança de vida e ao aumento da resistência ao *stress* oxidativo (Doney *et al.*, 2004; Luo *et al.*, 2008). Além disso, alguns estudos também sugerem que os portadores do alelo Ala estão consideravelmente melhor protegidos contra doenças cardiovasculares (Regieli *et al.*, 2009) e essa proteção aumenta em resposta a modificações no estilo de vida, incluindo à DM (Rittig *et al.*, 2007; Razquin *et al.*, 2009). Num estudo publicado em 2015, uma amostra de 521 indivíduos sem doença cardiovascular mas em alto risco cardiovascular, com idades compreendidas entre os 55 e 80 anos, foi dividida em função do seu genótipo relativamente ao SNP rs1801282 no gene *PPAR γ 2*, Pro/Pro (451 indivíduos) ou Pro/Ala (70 indivíduos), e submetida à intervenção de uma alta adesão à DM durante

5 anos. A análise de LTL no início e no fim do período de intervenção com a DM mostrou um aumento do comprimento dos telômeros nos portadores do alelo Ala. Os resultados obtidos sugerem que a DM tem um efeito benéfico na modulação do efeito deste polimorfismo sobre o comprimento dos telômeros. Nesse sentido, uma melhor compreensão dos mecanismos subjacentes a esta interação molecular poderá ajudar a melhorar recomendações dietéticas personalizadas de forma a prevenir fatores de risco cardiovasculares (García-Calzón *et al.*, 2015b).

6 – Conclusão e perspectivas futuras

A DM é a dieta que melhor combina a sustentabilidade ambiental, econômica e em saúde. Esta noção, para além de ser suportada por conhecimento ancestral, é consentânea com os numerosos resultados de estudos de investigação científica que têm sido publicados ao longo do tempo (Fara, 2015). No âmbito do presente trabalho foram referenciados vários estudos que suportam a hipótese de associação entre a alta adesão a um padrão de DM e o atraso do envelhecimento celular, sendo a estabilidade genômica e a integridade do DNA telomérico um determinante importante dessa associação. No entanto, é relevante referir que serão necessários mais estudos de forma a esclarecer vários aspetos, designadamente o porquê das diferenças obtidas nos valores de LTL em indivíduos de diferentes ascendências étnicas, não obstante a sua adesão à DM, os mecanismos moleculares subjacentes à relação entre DM e a integridade do DNA telomérico, e se essa relação se traduz numa melhoria efetiva da qualidade e da esperança de vida. Nesse sentido, é com grande expectativa que se esperam novidades neste domínio, as quais, certamente, ajudarão a compreender melhor as consequências da adesão à DM a nível celular e fisiológico, bem como a forma como a dieta pode ser modulada em situações patológicas específicas e com benefício claro e efetivo para os doentes. Neste âmbito, o desenvolvimento e aplicação de estratégias analíticas de última geração que permitam efetuar o rastreio funcional dos alimentos, tal como estabelecido no projeto interdisciplinar NutriChip (Ramadan *et al.*, 2013; Vergères *et al.*, 2012), reveste-se de grande importância uma vez que contribuirá para a transferência de conhecimento transdisciplinar para o aconselhamento nutricional.

Uma vez que os indivíduos são geneticamente únicos e o fenótipo humano é o resultado da interação dinâmica entre o genoma humano e o ambiente (Choy e Kim, 2007), no futuro o desafio consistirá na formulação de dietas personalizadas. No entanto, até lá haverá ainda um longo caminho a percorrer já que muitos dos avanços científicos obtidos a nível da Nutrigenómica e da Nutrigenética ainda não têm tradução para a prática clínica e, face aos recentes desenvolvimentos científicos e tecnológicos, será essencial integrar conhecimentos provenientes de várias áreas científicas, incluindo a Genómica e a Genética, de forma cada vez mais holística, os quais, por sua vez, serão

obtidos utilizando metodologias cada vez mais complexas e tecnologicamente mais sofisticadas. Neste contexto, na última tomada de posição da “Academy of Nutrition and Dietetics” dos Estados Unidos da América (maior organização mundial sobre alimentação e profissionais de nutrição) relativamente à Genómica Nutricional foi sublinhada a importância dos nutricionistas apresentarem competências básicas em genética como uma base para a compreensão da genómica nutricional que exige conhecimentos e aptidões avançadas (Camp e Trujillo, 2014).

Também é de realçar que não é, presentemente, claro se a comunicação de informação baseada em dados genotípicos tem uma maior influência nas mudanças de comportamento face à abordagem tradicional, i.e. análise dos parâmetros dietéticos, fisiológicos (e.g. nível de colesterol, peso, gordura, etc.) e estilos de vida (e.g. prática regular do exercício físico). Nesse sentido, é sugerida a realização de mais estudos randomizados controlados e com um maior número de participantes (Celis-Morales *et al.*, 2016; Marteau *et al.*, 2010). Uma possível explicação para a aparente resistência à mudança de comportamentos tendo por base o aconselhamento dietético personalizado baseado em dados genotípicos poderá ter a ver com o facto dos destinatários ainda serem pouco sensíveis a este tipo de informação (Celis-Morales *et al.*, 2016). Esta possibilidade salienta também a importância do investimento na literacia científica, designadamente na área da genética, para que a transferência deste conhecimento, no futuro, para a prática do aconselhamento nutricional, seja compreendida pelos doentes que, desse modo, passarão a ser mais sensíveis a esse tipo de informação e a dar-lhe importância para justificar as eventuais alterações do padrão alimentar/comportamento.

7 – Bibliografia

Bach-Faig A, Berry EM , Lairon D , Reguant J , Trichopoulou A , Dernini S, Medina FX, Battino M , Belahsen R , Miranda G, Serra-Majem L, on behalf of the Mediterranean Diet Foundation Expert Group (2011). Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutrition* 14(12A), 2274–2284. doi:10.1017/S1368980011002515.

Ames BN, Shigenaga MK, Gold LS (1993). DNA lesions, inducible DNA repair, and cell division: three key factors in mutagenesis and carcinogenesis. *Environ Health Perspect* 101 Suppl 5, pp. 35-44.

Artandi SE, DePinho RA (2010). Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis* 31(1): 9–18. doi: 10.1093/carcin/bgp268.

Austad SN (2006). Why women live longer than men: sex differences in longevity. *Gender Med* 3, 79–92.

Aviv A (2009). Leukocyte telomere length: the telomere tale continues. *Am J Clin Nutr* 89:1721–2.

Blackburn EH (2005). Telomeres and telomerase: their mechanisms of action and the effects of altering their functions. *FEBS Lett* 579(4):859-62. doi: 10.1016/j.febslet.2004.11.036.

Blasco MA (2005). Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nat Rev Genet* 6:611–622.

Blum S, Aviram M, Ben-Amotz A, Levy Y (2006). Effect of a Mediterranean meal on postprandial carotenoids, paraoxonase activity and C-reactive protein levels. *Ann Nutr Metab* 50:20 –24.

Boccardi V, Esposito A, Rizzo MR, Marfella R, Barbieri M, Paolisso G (2013). Mediterranean diet, telomere maintenance and health status among elderly. *PLoS One* 8(4):e62781. doi: 10.1371/journal.pone.0062781.

Borel P, Grolier P, Mekki N, Boirie Y, Rochette Y, LeRoy B, Alexandre Gouabau MC, Lairon D, Azais-Braesco V (1998). Low and high responders to pharmacological doses of beta-carotene: proportion in the population, mechanisms involved and consequences on beta-carotene metabolism. *J Lipid Res* 39:2250–60.

Bower A, Marquez S, De Mejia EG (2016). The Health Benefits of Selected Culinary Herbs and Spices Found in the Traditional Mediterranean. *Crit Rev Food Sci Nutr* 56(16):2728-46. doi: 10.1080/10408398.2013.805713.

Buryanovskyy L, Fu Y, Boyd M, Ma Y, Hsieh TC, Wu JM, Zhang Z (2004). Crystal structure of quinone reductase 2 in complex with resveratrol. *Biochemistry* 43(36):11417-26.

Buxton JL, Suderman M, Pappas JJ, Borghol N, McArdle W, Blakemore AI, Hertzman C, Power C, Szyf M, Pembrey M (2014). Human leukocyte telomere length is associated with DNA methylation levels in multiple subtelomeric and imprinted loci. *Sci Rep* 4:4954. doi: 10.1038/srep04954.

Calder PC. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Biochem Soc Trans.* 2005; 33:423–427.

Camp KM, Trujillo E (2014). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Nutritional Genomics. *J Acad Nutr Diet* 114:299-312. doi:10.1016/j.jand.2013.12.001.

Castro-Quezada I, Román-Viñas B, Serra-Majem L (2014). The Mediterranean diet and nutritional adequacy: a review. *Nutrients* 3;6(1):231-48. doi: 10.3390/nu6010231.

Celis-Morales C, Livingstone KM, Marsaux CF, Macready AL, Fallaize R, O'Donovan CB, Woolhead C, Forster H, Walsh MC, Navas-Carretero S, San-Cristobal R, Tsirigoti L, Lambrinou CP, Mavrogianni C, Moschonis G, Kolossa S, Hallmann J, Godlewska

M, Surwillo A, Traczyk I, Drevon CA, Bouwman J, van Ommen B, Grimaldi K, Parnell LD, Matthews JN, Manios Y, Daniel H, Martinez JA, Lovegrove JA, Gibney ER, Brennan L, Saris WH, Gibney M, Mathers JC; Food4Me Study (2016). Effect of personalized nutrition on health-related behaviour change: evidence from the Food4me European randomized controlled trial. *Int J Epidemiol* [Epub ahead of print].

Cheung P, Lau P (2005). Epigenetic regulation by histone methylation and histone variants. *Mol Endocrinol* 19(3):563-73.

Choi JK, Kim SC (2007). Environmental Effects on Gene Expression Phenotype Have Regional Biases in the Human Genome. *Genetics* 175(4):1607-1613. doi:10.1534/genetics.106.069047.

Cong YS, Wright WE, Shay JW (2002). Human Telomerase and Its Regulation. *Microbiol Mol Biol Rev* 66(3): 407–425. doi: 10.1128/MMBR.66.3.407-425.2002.

Crous-Bou M, Fung TT, Prescott J, Julin B, Du M, Sun Q, Rexrode KM, Hu FB, De Vivo I (2014). Mediterranean diet and telomere length in Nurses' Health Study: population based cohort study. *BMJ* 349:g6674. doi: 10.1136/bmj.g6674.

Dauncey MJ (2012). Recent advances in nutrition, genes and brain health. *Proc Nutr Soc* 71(4):581-91. doi: 10.1017/S0029665112000237.

De Lange T (2004). T-loop and the origin of telomeres. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5(4):323–9.

De Lange T (2005). Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev* 19:2100–10.

Doney AS, Fischer B, Cecil JE, Boylan K, McGuigan FE, Ralston SH, et al (2004). Association of the Pro12Ala and C1431T variants of PPAR γ and their haplotypes with susceptibility to Type 2 diabetes. *Diabetologia* 47:555–558. doi: 10.1007/s00125-003-1323-1.

Doo M, Kim Y (2015). Obesity: Interactions of genome and nutrients intake. *Prev Nutr Food Sci* 20(1):1-7. doi.org/10.3746/pnf.2015.20.1.1

Duell EJ, Lujan-Barroso L, Llivina C, Muñoz X, Jenab M, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Racine A, Boeing H, Buijsse B, Canzian F, Johnson T, Dalgård C, Overvad K, Tjønneland A, Olsen A, Sánchez SC, Sánchez-Cantalejo E, Huerta JM, Ardanaz E, Dorronsoro M, Khaw KT, Travis RC, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Rafnsson S, Palli D, Sacerdote C, Tumino R, Panico S, Grioni S, Bueno-de-Mesquita HB, Ros MM, Numans ME, Peeters PH, Johansen D, Lindkvist B, Johansson M, Johansson I, Skeie G, Weiderpass E, Duarte-Salles T, Stenling R, Riboli E, Sala N, González CA (2013). Vitamin C transporter gene (SLC23A1 and SLC23A2) polymorphisms, plasma vitamin C levels, and gastric cancer risk in the EPIC cohort. *Genes Nutr* 8(6):549-60. doi: 10.1007/s12263-013-0346-6.

Edwards AJ, You CS, Swanson JE, Parker RS (2001). A novel extrinsic reference method for assessing the vitamin A value of plant foods. *Am J Clin Nutr* 74:348–55.

El-Soheily A (2007). Nutrigenetics. *Forum Nutr* 60: 25–30.

Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Terwilliger JD, Peltonen L, Jarvela I (2001). Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nature Genet* 30:233-37.

Enattah NS, Trudeau A, Pimenoff V, Maiuri L, Auricchio S, Greco L, Rossi M, Lentze M, Seo JK, Rahgozar S, Khalil I, Alifrangis M, et al. (2007). Evidence of still-ongoing convergence evolution of the lactase persistence T(-13910) alleles in humans. *Am J Hum Genet* 81:615-625.

Fara GM (2015). Nutrition between sustainability and quality. *Ann Ig* 27(5):693-704. doi: 10.7416/ai.2015.2061.

Farhud D, Zarif Yeganeh M, Zarif Yeganeh M (2010). Nutrigenomics and Nutrigenetics. *Iranian Journal of Public Health* 39(4):1-14.

Farzaneh-Far R, Lin J, Epel ES, Harris WS, Blackburn EH, Whooley MA (2010). Association of marine omega-3 fatty acid levels with telomeric aging in patients with coronary heart disease. *JAMA* 303:250–7.

Feigl B, Morris CP, Voisey J, Kwan A, Zele AJ (2014). The relationship between BCMO1 gene variants and macular pigment optical density in persons with and without age-related macular degeneration. *PLoS One* 9(2):e89069. doi: 10.1371/journal.pone.0089069.

Fenech M, El-Soheby A, Cahill L, Ferguson LR, French TA, Tai ES, Milner J, Koh WP, Xie L, Zucker M, Buckley M, Cosgrove L, Lockett T, Fung KY, Head R (2011). Nutrigenetics and Nutrigenomics: Viewpoints on the Current Status and Applications in Nutrition Research and Practice. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 4(2): 69–89. doi: 10.1159/000327772.

Ferguson LR, Chen H, Collins AR, Connell M, Damia G, Dasgupta S, Malhotra M, Meeker AK, Amedei A, Amin A, Ashraf SS, Aquilano K, Azmi AS, Bhakta D, Bilsland A, Boosani CS, Chen S, Ciriolo MR, Fujii H, Guha G, Halicka D, Helferich WG, Keith WN, Mohammed SI, Niccolai E, Yang X, Honoki K, Parslow VR, Prakash S, Rezazadeh S, Shackelford RE, Sidransky D, Tran PT, Yang ES, Maxwell CA (2015). Genomic instability in human cancer: Molecular insights and opportunities for therapeutic attack and prevention through diet and nutrition. *Semin Cancer Biol* 35 Suppl:S5-24. doi: 10.1016/j.semcancer.2015.03.005.

Fernández del Río L, Gutiérrez-Casado E, Varela-López A, Villalba JM (2016). Olive Oil and the Hallmarks of Aging. *Molecules* 21(2):163. doi: 10.3390/molecules21020163.

Fernández-Marcelo T, Sánchez-Pernaute A, Pascua I, De Juan C, Head J, Torres-García AJ, Iniesta P (2016). Clinical Relevance of Telomere Status and Telomerase Activity in Colorectal Cancer. *PLoS One* 11(2):e0149626. doi: 10.1371/journal.pone.0149626.

Ferrucci L, Perry JRB, Matteini A, et al (2009). Common Variation in the β -Carotene 15,15'-Monooxygenase 1 Gene Affects Circulating Levels of Carotenoids: A Genome-wide Association Study. *Am J Hum Genet* 84(2):123-133. doi:10.1016/j.ajhg.2008.12.019.

Flicek P, Ahmed I, Amode MR, Barrell D, Beal K, Brent S, Carvalho-Silva D, Clapham P, Coates G, Fairley S, Fitzgerald S, Gil L, Garcia-Giron C, Gordon L, Hourlier T, Hunt S, Juettemann T, Kahari AK, Keenan S, Komorowska M, Kulesha E, Longden I, Maurel T, McLaren WM, Muffato M, Nag R, Overduin B, Pignatelli M, Pritchard B, Pritchard E, Riat HS, Ritchie GR, Ruffier M, Schuster M, Sheppard D, Sobral D, Taylor K, Thormann A, Trevanion S, White S, Wilder SP, Aken BL, Birney E, Cunningham F, Dunham I, Harrow J, Herrero J, Hubbard TJ, Johnson N, Kinsella R, Parker A, Spudich G, Yates A, Zadissa A, Searle SM (2013). Ensembl *Nucleic Acids Res* 41, D48-D55.

Freitas-Simoes TM, Ros E, Sala-Vila A (2016). Nutrients, foods, dietary patterns and telomere length: Update of epidemiological studies and randomized trials. *Metabolism* 65(4):406-15. doi: 10.1016/j.metabol.2015.11.004.

Fuggetta MP, Bordignon V, Cottarelli A, Macchi B, Frezza C, Cordiali-Fei P, Ensoli F, Ciafrè S, Marino-Merlo F, Mastino A, Ravagnan G (2016). Downregulation of proinflammatory cytokines in HTLV-1-infected T cells by Resveratrol. *J Exp Clin Cancer Res* 35(1):118. doi: 10.1186/s13046-016-0398-8.

García-Calzón S, Zalba G, Ruiz-Canela M, Shivappa N, Hébert JR, Martínez JA, Fitó M, Gómez-Gracia E, Martínez-González MA, Martí A (2015). Dietary inflammatory index and telomere length in subjects with a high cardiovascular disease risk from the PREDIMED-NAVARRA study: cross-sectional and longitudinal analyses over 5 y. *Am J Clin Nutr* 102(4):897-904. doi: 10.3945/ajcn.115.116863.

García-Calzón S, Martínez-González MA, Razquin C, Corella D, Salas-Salvadó J, Martínez JA, Zalba G, Martí A (2015b). Pro12Ala polymorphism of the PPAR γ 2 gene interacts with a mediterranean diet to prevent telomere shortening in the PREDIMED-

NAVARRA randomized trial. *Circ Cardiovasc Genet* 8(1):91-9. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.114.000635.

Gomez P, Perez-Martinez P, Marin C, Camargo A, Yubero-Serrano EM, Garcia-Rios A, Rodriguez F, Delgado-Lista J, Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J (2010). APOA1 and APOA4 gene polymorphisms influence the effects of dietary fat on LDL particle size and oxidation in healthy young adults. *J Nutr* 140(4):773-8. doi: 10.3945/jn.109.115964.

Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR (2016). Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet* 17(6):333-51. doi: 10.1038/nrg.2016.49.

Greenberg JA, Bell SJ, Guan Y, Yu Y (2011). Folic Acid Supplementation and Pregnancy: More Than Just Neural Tube Defect Prevention. *Reviews in Obstetrics and Gynecology* 4(2):52-59.

Gu Y, Honig LS, Schupf N, Lee JH, Luchsinger JA, Stern Y, Scarmeas N (2015). Mediterranean diet and leukocyte telomere length in a multi-ethnic elderly population. *Age* 37(2):24. doi: 10.1007/s11357-015-9758-0.

Hickenbottom SJ, Follett JR, Lin Y, Dueker SR, Burri BJ, Neidlinger TR, Clifford AJ (2002). Variability in conversion of beta-carotene to vitamin A in men as measured by using a double-tracer study design. *Am J Clin Nutr* 75:900-7.

Ho E, Beaver LM, Williams DE, Dashwood RH (2011). Dietary factors and epigenetic regulation for prostate cancer prevention. *Adv Nutr* 2(6):497-510. doi: 10.3945/an.111.001032.

Horgan RP, Kenny LC (2011). "Omic" technologies: genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics. *The Obstetrician & Gynaecologist* 13:189-195. 10.1576/toag.13.3.189.27672.

Houben JM, Moonen HJ, van Schooten FJ, Hageman GJ (2008). Telomere length assessment: biomarker of chronic oxidative stress? *Free Radic Biol Med* 44(3):235-46.

Hubackova M, Vaclavikova R, Ehrlichova M, Mrhalova M, Kodet R, Kubackova K, Vrana D, Gut I, Soucek P (2012). Association of superoxide dismutases and NAD(P)H quinone oxidoreductases with prognosis of patients with breast carcinomas. *Int J Cancer* 130:338–348.

Jafri MA, Ansari SA, Alqahtani MH, Shay JW (2016). Roles of telomeres and telomerase in cancer, and advances in telomerase-targeted therapies. *Genome Med* 8(1):69. doi: 10.1186/s13073-016-0324-x.

Jamieson D, Wilson K, Pridgeon S, Margetts JP, Edmondson RJ, Leung HY, Knox R, Boddy AV. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 and NRH:quinone oxidoreductase 2 activity and expression in bladder and ovarian cancer and lower NRH:quinone oxidoreductase 2 activity associated with an NQO2 exon 3 single-nucleotide polymorphism. *Clin Cancer Res* 13(5):1584-90.

Jiang H, Ju Z, Rudolph KL (2007). Telomere shortening and ageing. *Z Gerontol Geriatr* 40(5):314-24.

Juma S, Imrhan V, Vijayagopal P, Prasad C (2014). Prescribing personalized nutrition for cardiovascular health: are we ready? *J Nutrigenet Nutrigenomics* 7(3):153-60. doi: 10.1159/000370213.

Kauwell GP (2008). Epigenetics: what it is and how it can affect dietetics practice. *J Am Diet Assoc* 108(6):1056-9. doi: 10.1016/j.jada.2008.03.003.

Kiecolt-Glaser JK, Epel ES, Belury MA, Andridge R, Lin J, Glaser R, Malarkey WB, Hwang BS, Blackburn E (2013). Omega-3 fatty acids, oxidative stress, and leukocyte telomere length: a randomized controlled trial. *Brain Behav Immun* 28:16–24.

Leung Yinko SS, Thanassoulis G, Stark KD, Avgil Tsadok M, Engert JC, Pilote L (2014). GENESIS-PRAXY Investigators. Omega-3 fatty acids and the genetic risk of

early onset acute coronary syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 24(11):1234-9. doi: 10.1016/j.numecd.2014.06.001.

Lewinsky RH, Jensen TGK, Moller J, Stensballe A, Olsen J, Troelsen JT (2005). T-13910 DNA variant associated with lactase persistence interacts with Oct-1 and stimulates lactase promoter activity in vitro. *Hum Molec Genet* 14: 3945-3953. doi:10.1093/hmg/ddi418.

Lewis KA, Tollefsbol TO (2016). Regulation of the Telomerase Reverse Transcriptase Subunit through Epigenetic Mechanisms. *Front Genet* 7:83. doi: 10.3389/fgene.2016.00083.

Lietz G, Oxley A, Leung W, Hesketh J (2012). Single nucleotide polymorphisms upstream from the β -carotene 15,15'-monooxygenase gene influence provitamin A conversion efficiency in female volunteers. *J Nutr* 142(1):161S-5S. doi: 10.3945/jn.111.140756.

Lin Y, Dueker SR, Burri BJ, Neidlinger TR, Clifford AJ (2000). Variability of the conversion of beta-carotene to vitamin A in women measured by using a double-tracer study design. *Am J Clin Nutr* 71:1545-54.

Logan SL, Spriet LL (2015). Omega-3 Fatty Acid Supplementation for 12 Weeks Increases Resting and Exercise Metabolic Rate in Healthy Community-Dwelling Older Females. *PLoS One* 10(12):e0144828. doi: 10.1371/journal.pone.0144828.

López-Miranda V, Soto-Montenegro ML, Vera G, Herradón E, Desco M, Abalo R (2012). Resveratrol: a neuroprotective polyphenol in the Mediterranean diet. *Rev Neurol* 54(6):349-56.

Luo W, Cao J, Li J, He W (2008). Adipose tissue-specific PPARgamma deficiency increases resistance to oxidative stress. *Exp Gerontol* 43(3):154-63.

Maher RL, Branagan AM, Morrical SW (2011). Coordination of DNA replication and recombination activities in the maintenance of genome stability. *J Cell Biochem* 112(10):2672-82. doi: 10.1002/jcb.23211.

Major JM, Yu K, Wheeler W et al. (2011). Genome-wide association study identifies common variants associated with circulating vitamin E levels. *Hum Molec Genet* 20(19):3876-3883. doi:10.1093/hmg/ddr296.

Makpol S, Abidin AZ, Sairin K, Mazlan M, Top G, Ngah WZW (2010). γ -Tocotrienol prevents oxidative stress-induced telomere shortening in human fibroblasts derived from different aged individuals. *Oxid Med Cell Longev* 3(1): 35–43. doi: 10.4161/oxim.3.1.9940.

Marin C, Delgado-Lista J, Ramirez R, Carracedo J, Caballero J, Perez-Martinez P, Gutierrez-Mariscal FM, Garcia-Rios A, Delgado-Casado N, Cruz-Teno C, Yubero-Serrano EM, Tinahones F, Malagon Mdel M, Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J (2012). Mediterranean diet reduces senescence-associated stress in endothelial cells. *Age* 34(6):1309-16. doi: 10.1007/s11357-011-9305-6.

Marteau TM, French DP, Griffin SJ et al. (2010). Effects of communicating DNA-based disease risk estimates on risk-reducing behaviours. *Cochrane Database Syst Rev* 10:CD007275.

McClellan J, King M-C (2010). Genetic Heterogeneity in Human Disease. *Cell* 141(2): 210–17.

Mead MN (2007). Nutrigenomics: The Genome–Food Interface. *Environmental Health Perspectives* 115(12):A582-A589.

Min KB, Min JY (2016). Association between leukocyte telomere length and serum carotenoid in US adults. *Eur J Nutr* [Epub ahead of print].

Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, Dani M, Deaven LL, Jones MD, et al. (1988). A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:6622–6.

Neeha VS, Kinth P (2013). Nutrigenomics research: a review. *J Food Sci Technol* 50(3):415-28. doi: 10.1007/s13197-012-0775-z.

O’Callaghan N, Parletta N, Milte CM, Benassi-Evans B, Fenech M, Howe PR (2014). Telomere shortening in elderly individuals with mild cognitive impairment may be attenuated with omega-3 fatty acid supplementation: a randomized controlled pilot study. *Nutrition* 30:489–91.

Olds LC, Sibley E (2003). Lactase persistence DNA variant enhances lactase promoter activity in vitro: functional role as a cis regulatory element. *Hum Molec Genet* 12:2333-2340. doi:10.1093/hmg/ddg244.

OMIM, Online Mendelian Inheritance in Man. An online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders, <http://www.omim.org> (consultado em Setembro 2016).

O’Sullivan RJ and Karlseder J (2010). Telomeres: protecting chromosomes against genome instability. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11(3): 171–181. doi: 10.1038/nrm2848.

Panero J, Stella F, Schutz N, Fantl DB, Slavutsky I (2015). Differential Expression of Non-Shelterin Genes Associated with High Telomerase Levels and Telomere Shortening in Plasma Cell Disorders. *PLoS One* 10(9):e0137972. doi: 10.1371/journal.pone.0137972.

Paul L (2011). Diet, nutrition and telomere length. *J Nutr Biochem* 22(10):895-901. doi: 10.1016/j.jnutbio.2010.12.001.

Studmant PH, Rausch T, Gardner EJ, Handsaker RE, Abyzov A et al. (2015) An integrated map of structural variation in 2,504 human genomes. *Nature* 526:75-81. doi:10.1038/nature15394.

Pinho I, Rodrigues S, Franchini B, Graça P (2016). Padrão alimentar mediterrânico: promotor de saúde. Direção Geral de Saúde.

Pitsavos C, Panagiotakos DB, Tzima N, Chrysohoou C, Economou M, Zampelas A, Stefanadis C (2005). Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr* 82:694 – 699.

Ramadan Q, Jafarpoorchehab H, Huang C, Silacci P, Carrara S, Koklü G, Ghaye J, Ramsden J, Ruffert C, Vergeres G, Gijs MA (2013). NutriChip: nutrition analysis meets microfluidics. *Lab Chip* 13(2):196-203. doi: 10.1039/c2lc40845g.

Razquin C, Alfredo Martinez J, Martinez-Gonzalez MA, Corella D, Santos JM, Marti A (2009). The Mediterranean diet protects against waist circumference enlargement in 12A1a carriers for the PPARgamma gene: 2 years' follow-up of 774 subjects at high cardiovascular risk. *Br J Nutr* 102:672–679. doi: 10.1017/S0007114509289008.

Regieli JJ, Jukema JW, Doevendans PA, Zwinderman AH, van der Graaf Y, Kastelein JJ, et al. (2009). PPAR gamma variant influences angiographic outcome and 10-year cardiovascular risk in male symptomatic coronary artery disease patients. *Diabetes Care* 32:839–844. doi: 10.2337/dc08-1819.

Reybier K, Perio P, Ferry G, Bouajila J, Delagrance P, Boutin JA, Nepveu F (2011). Insights into the redox cycle of human quinone reductase 2. *Free Radic Res* 45(10):1184-95. doi: 10.3109/10715762.2011.605788.

Rittig K, Thamer C, Machicao F, Rietig R, Stefan N, Fritsche A, et al. (2007). The Pro12A1a polymorphism in PPARG2 increases the effectiveness of primary prevention of cardiovascular disease by a lifestyle intervention. *Diabetologia* 50:1345–47. doi: 10.1007/s00125-007-0664-6.

Sales N, Pelegrini P, Goersch M (2014). Nutrigenomics: Definitions and Advances of This New Science. *Journal of nutrition and metabolism* 202759. doi: 10.1155/2014/202759.

Sen A, Marsche G, Freudenberger P, Schallert M, Toeglhofer AM, Nagl C, Schmidt R, Launer LJ, Schmidt H (2014). Association between higher plasma lutein, zeaxanthin, and vitamin C concentrations and longer telomere length: results of the Austrian Stroke Prevention Study. *J Am Geriatr Soc* 62(2):222-9. doi: 10.1111/jgs.12644.

Shay JW (2003). Telomerase therapeutics: telomeres recognized as a DNA damage signal. *Clin Cancer Res* 9:3521–5.

Shay JW, Wright WE (2011). Role of telomeres and telomerase in cancer. *Semin Cancer Biol* 21(6): 349–353. doi: 10.1016/j.semcancer.2011.10.001.

Shen J, Gammon MD, Terry MB, Wang Q, Bradshaw P, Teitelbaum SL, Neugut AI, Santella RM (2009). Telomere length, oxidative damage, antioxidants and breast cancer risk. *Int J Cancer* 124(7):1637-43. doi: 10.1002/ijc.24105.

Shen Z (2011). Genomic instability and cancer: an introduction. *J Mol Cell Biol* 3:1-3. doi:10.1093/jmcb/mjq057.

The 1000 Genomes Project Consortium (2010). A map of human genome variation from population scale sequencing. *Nature* 467:1061-1073. doi:10.138/nature09534.

The 1000 Genomes Project Consortium (2015). A global reference for human genetic variation. *Nature* 526:68-74. doi:10.1038/nature15393.

The International Human Genome Sequencing Consortium (2004). Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 431:931–45 (2004).

The Wellcome Trust Case Control Consortium (2010). Genome-wide association study of CNVs in 16,000 cases of eight common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 464:713–20. doi:10.1038/nature08979.

Thomas P, Wang YJ, Zhong JH, Kosaraju S, O’Callaghan NJ, Zhou XF, Fenech M (2009). Grape seed polyphenols and curcumin reduce genomic instability events in a transgenic mouse model for Alzheimer’s disease. *Mutat Res* 661:25–34.

Trichopoulou A, Bamia C, Trichopoulos D (2009). Anatomy of health effects of Mediterranean diet: Greek EPIC prospective cohort study. *BMJ* 338: b2337-b2337.

Uchiumi F, Watanabe T, Hasegawa S, Hoshi T, Higami Y, Tanuma S (2011). The effect of resveratrol on the Werner syndrome RecQ helicase gene and telomerase activity. *Curr Aging Sci* 4(1):1-7.

UNESCO (2010). Intangible Cultural Heritage of Humanity Decision of the Intergovernmental Committee: 5.COM 6.41. <http://www.unesco.org/culture/ich/en/decisions/5.COM/6.41> (consultado em Setembro 2016).

Vergères G, Bogicevic B, Buri C, Carrara S, Chollet M, Corbino-Giunta L, Egger L, Gille D, Kopf-Bolanck K, Laederach K, Portmann R, Ramadan Q, Ramsden J, Schwander F, Silacci P, Walther B, Gijs M (2012). The NutriChip project--translating technology into nutritional knowledge. *Br J Nutr* 108(5):762-8. doi: 10.1017/S0007114512002693.

Wang Z, Yin S, Zhao X, Russell RM, Tang G (2004). Beta-Carotene-vitamin A equivalence in Chinese adults assessed by an isotope dilution technique. *Br J Nutr* 91:121-31.

Welter D, MacArthur J, Morales J, Burdett T, Hall P, Junkins H, Klemm A, Flicek P, Manolio T, Hindorff L, and Parkinson H. The NHGRI GWAS Catalog, a curated resource of SNP-trait associations. *Nucleic Acids Research*, 2014, Vol. 42 (Database issue): D1001-D1006.

Xu Q, Parks CG, DeRoo LA, Cawthon RM, Sandler DP, Chen H (2009). Multivitamin use and telomere length in women. *Am J Clin Nutr* 89:1857-63.

Ye K, Gu Z (2011). Recent Advances in Understanding the Role of Nutrition in Human Genome Evolution. *Adv Nutr* 2: 486-496. doi:10.3945/an.111.001024.

Legendas das Figuras:

Figura 1 – Pirâmide da Dieta Mediterrânea (Figura extraída de Pinho *et al.*, 2016).

Figura 2 – Representação esquemática do polimorfismo de nucleótido único (SNP).

Os polimorfismos de nucleótido único (SNPs) representam as variações genéticas mais frequentes no genoma humano. O SNP altera a composição do nucleótido a nível da base azotada – A (adenina), T (timina), C (citosina) ou G (guanina) – originando diferenças na sequência da molécula do DNA. Na figura é exemplificada a sequência de um fragmento de DNA de diferentes indivíduos que difere numa única posição (polimorfismo C/T). No caso dessa alteração ocorrer em exões de genes codificantes, o codão alterado poderá codificar para uma aminoácido diferente do codão original e, desse modo, originar alterações na sequência primária da proteína que resultem em perda de função biológica (Figura adaptada de Doo e Kim, 2015).

Figura 3 – Ciências “ômicas” utilizadas no estudo da biologia de sistemas. Os números representam a quantidade total aproximada de moléculas presentes na célula humana em cada nível funcional (Figura adaptada de Horgan e Kenny, 2011).

Figura 4 – Importância da genômica funcional nas ciências da nutrição. A nutrigenômica refere-se ao estudo do efeito dos nutrientes e compostos bioativos dos alimentos na expressão dos genes, i.e. na produção de proteínas funcionais, enquanto que a nutrigenética compreende o estudo do impacto de variações genéticas, tais como os SNPs, na interação nutriente-genoma, nomeadamente na doença (Figura adaptada de Doo e Kim, 2015).

Figura 5 – Inter-relação entre as ciências “ômicas”. A genômica nutricional está direcionada para o estudo do efeito dos nutrientes e compostos bioativos dos alimentos sobre o genoma, o proteoma, e metaboloma na saúde e na doença (Figura adaptada de Sales *et al.*, 2014).

Figura 6 – Impacto das ciências “ômicas” na nutrição personalizada. A nutrição personalizada visa atuar na prevenção da doença para a qual o indivíduo apresente suscetibilidade genética e tendo em conta a influência das variações genéticas de risco na relação nutriente-gene (Figura adaptada de Doo e Kim, 2015).

Figura 7 – Localização e estrutura do telômero. A sequência repetitiva telomérica, 5'-TTAGGG-3', localizada na extremidade dos cromossomas eucarióticos, é uma sequência genômica particularmente rica em guaninas. Kbp, kilo pares de bases; nt, nucleótido. (Figura adaptada de Houben *et al.*, 2008).

Figura 8 – Telômeros, senescência e cancro. Os telômeros protegem as extremidades dos cromossomas de fusões e recombinações, mascarando o DNA terminal sob a capa protetora das proteínas *shelterin* e evitando, desse modo, que as extremidades sejam reconhecidas pelos mecanismos de vigilância de danos no DNA. O encurtamento telomérico é uma consequência natural da divisão celular devido ao “problema” da replicação das extremidades do DNA de cadeia dupla linear, i.e. a síntese do DNA não pode ser completada até ao final da cadeia. Em consequência disso, os processos de divisão celular originam a formação de telômeros sucessivamente mais curtos que, ao atingirem o comprimento crítico, despoletam os mecanismos de reparação de danos do DNA. Se o dano não for eficientemente reparado, a célula é conduzida à senescência celular e vias de sinalização dependentes de proteínas supressoras de tumores, p53 e p16-Rb, são frequentemente ativadas levando à uma paragem irreversível do ciclo celular. As células que adquirem mudanças oncogénicas (perda do p53) podem escapar à senescência e continuarem a dividir-se até que múltiplos telômeros criticamente encurtados iniciem a resposta celular após um período de aumento de fusões de extremidades dos cromossomas e de uma extensa morte celular. Somente uma célula humana em 10^5 - 10^7 células consegue encontrar um mecanismo que lhe permite escapar a essa situação de desequilíbrio e instabilidade celular e tornar-se imortal, o que quase sempre acontece através da sobreexpressão ou reactivação da telomerase. Uma via ainda mais rara de imortalização, que não envolve a telomerase, designa-se por ALT (sigla em inglês para alongamento alternativo dos telômeros) e envolve recombinação

do DNA para a manutenção do comprimento telomérico (Figura extraída de Jafri *et al.*, 2016).

.Figura 1

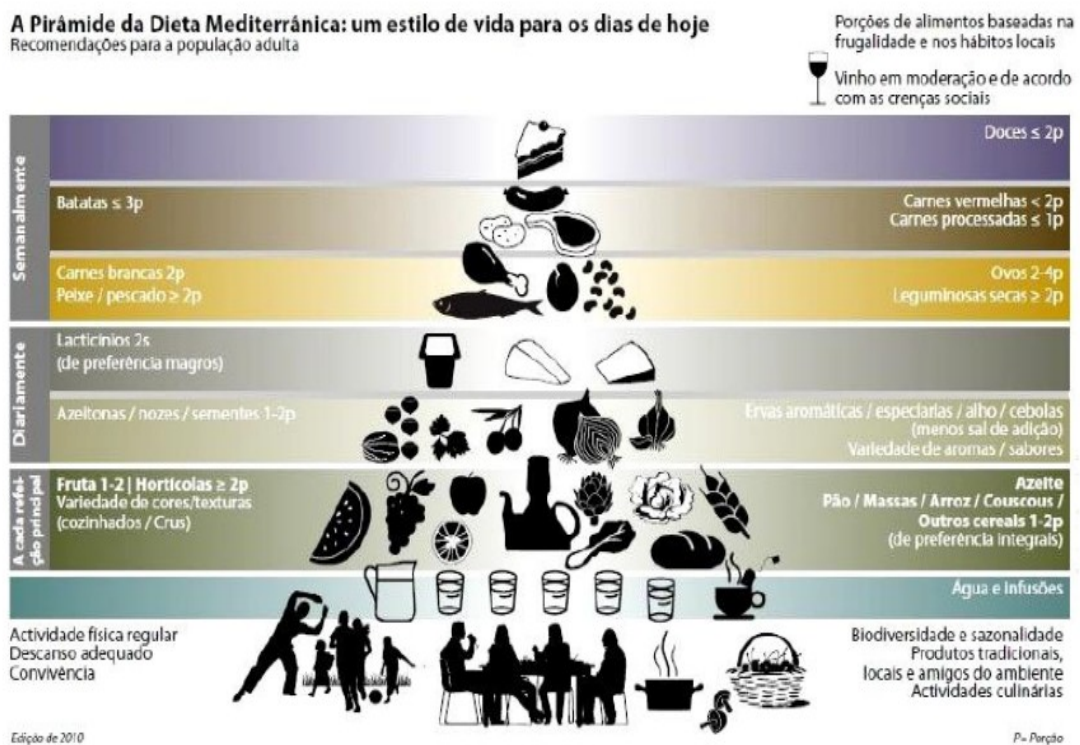


Figura 2

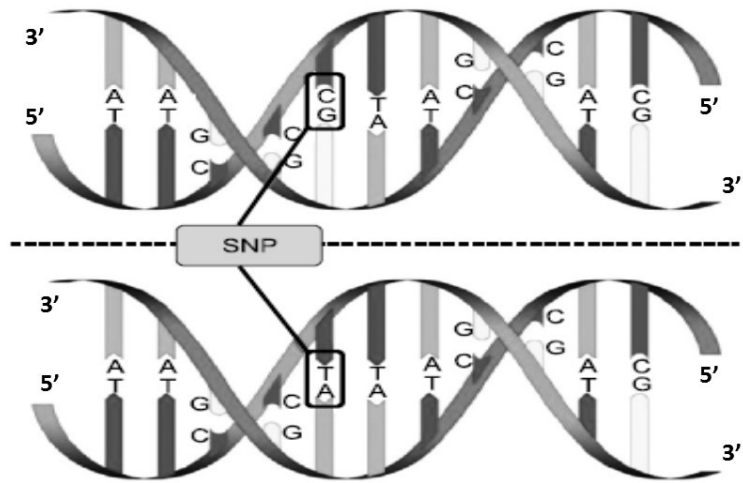


Figura 3

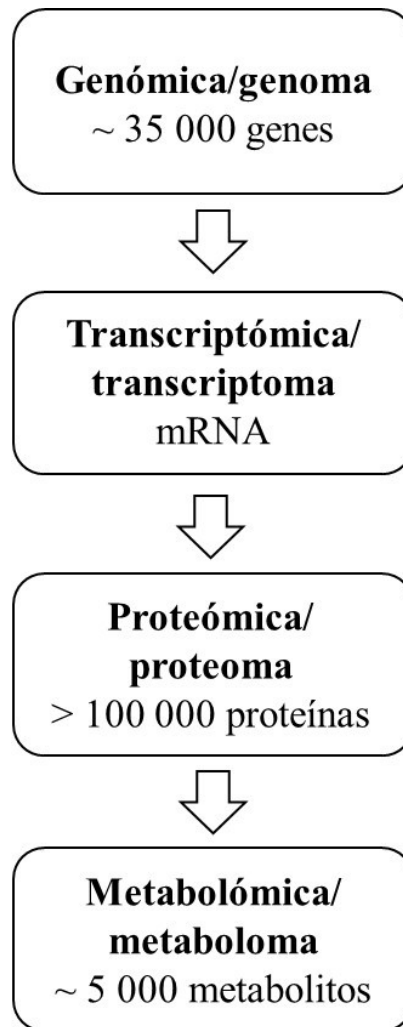


Figura 4

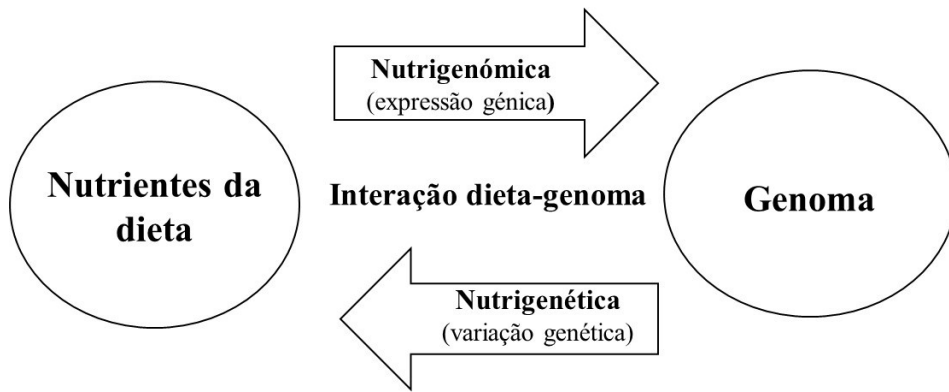


Figura 5

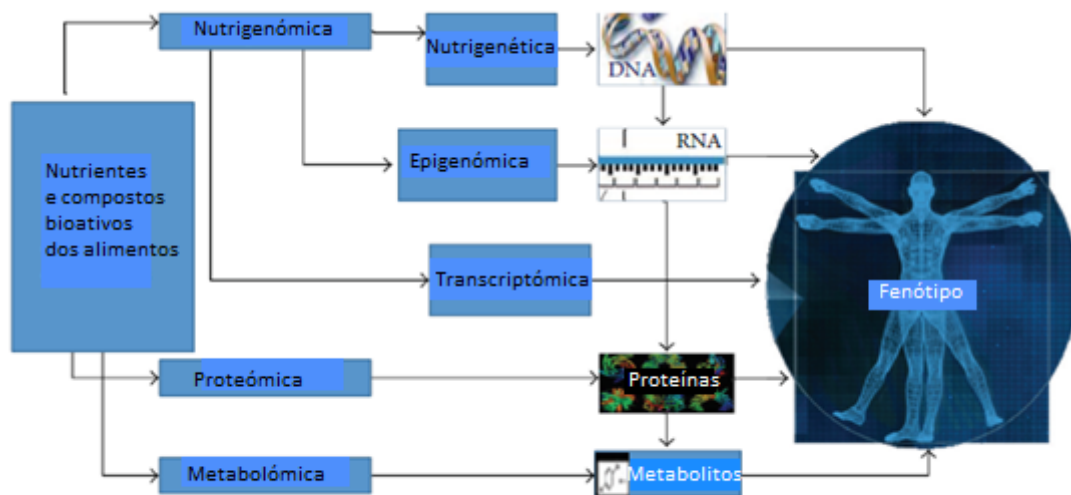


Figura 6

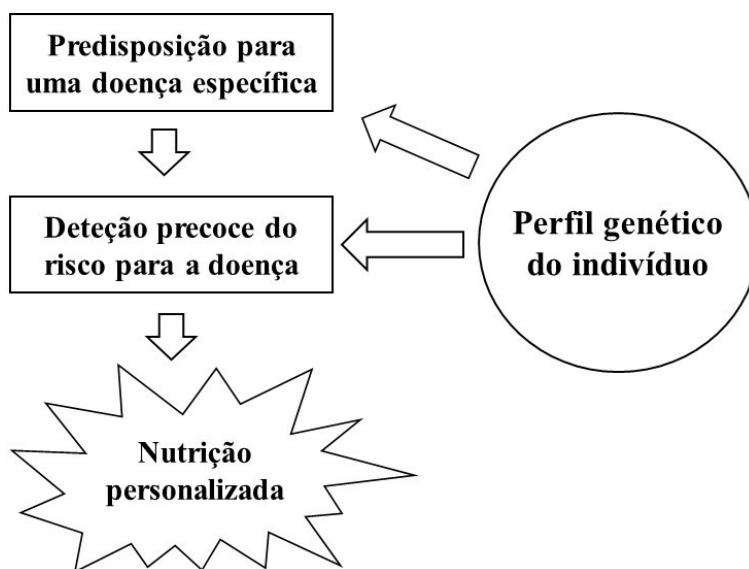


Figura 7

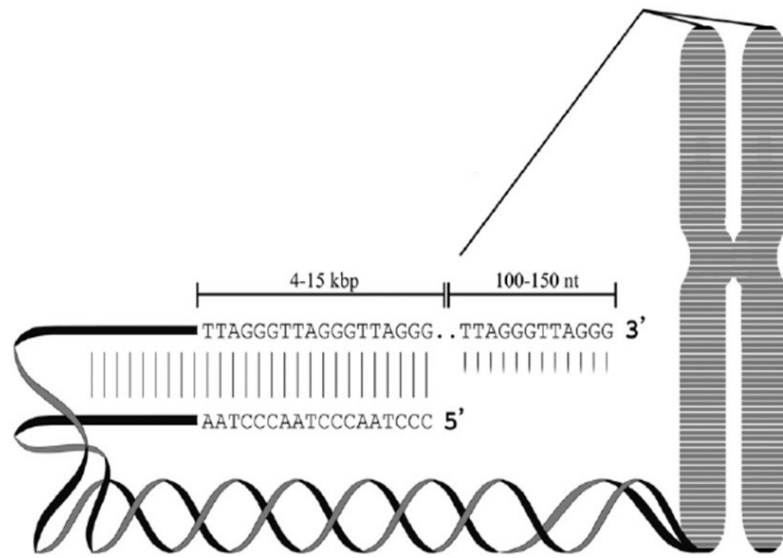


Figura 8

