

Szanowni Czytelnicy, Autorzy, Członkowie Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego

Uprzejmie informuję, że Zarząd Główny PTZ na posiedzeniu w dniu 27 lutego 2012 roku, realizując wnioski Komisji Rewizyjnej dotyczące podjęcia zdecydowanych działań w sprawie dostosowania wydatków Towarzystwa do skali dostępnych środków finansowych, podjął w tym zakresie kilka uchwał, m.in. o zmianie częstotliwości wydawania „Przeglądu Hodowlanego”, tzn. jako dwumiesięcznika. Główną przyczyną tego faktu jest zaprzestanie w roku 2011 dofinansowania wydawania „Przeglądu Hodowlanego” przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Ponieważ w ciągu roku ma się ukazywać sześć numerów czasopisma, a wydano już numer 1. (styczeń) i 2. (luty), w tym roku oprócz bieżącego numeru 3-4 wydane będą jeszcze trzy: 5-6 – na początku czerwca, 7-9 – na początku września i 10-12 – na początku listopada. W kolejnym roku „Przegląd Hodowlany” będzie się ukazywał systematycznie: numer 1. – w styczniu, 2. – w marcu, 3. – w maju itd. Ponieważ cena czasopisma nie ulega zmianie (7 zł/egz.), nadpłacone kwoty zostaną zwrócone prenumeratom w możliwie najszybszym terminie. Przepraszamy za zaistniałe niedogodności.

Prezes PTZ

Prof. dr hab. Zygmunt Litwińczuk

Wpływ metylacji DNA na kancerogenezę

Magdalena Gryzińska¹, Katarzyna Andraszek²,
Aneta Strachecka¹, Grzegorz Jocek¹

¹Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,

²Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach

Powstawanie nowotworu jest procesem długotrwałym i bardzo złożonym. Choroba nowotworowa jest wynikiem wielu mutacji oraz nieprawidłowości zachodzących w genomie i epigenomie (systemie regulującym ekspresję genu, znajdującym się poza DNA), będących w ścisłej współzależności między sobą. Sprzyja jej zarówno podłoże genetyczne organizmu, jak i czynniki środowiskowe. Mutacje, kumulując się, mogą doprowadzić do powstania komórek dzielących się w sposób niekontrolowany. Takie komórki mogą zapoczątkować rozwój nowotworu. Epigenetyczne mechanizmy sterują rozwojem organizmu od momentu zapłodnienia aż do śmierci, a głównym procesem kontrolującym ekspresję genów w organizmie jest metylacja DNA (proces przyłączania grup metylowych –CH₃ do zasad azotowych nu-

kleotydów, w szczególności do cytozyny, rzadziej do adeniny). Onkogeneza związana jest z błędami we wzorze metylacji DNA, aktywacją niektórych onkogenów oraz inaktywacją ich genów supresorowych [9]. Występuje wiele genów odpowiedzialnych za proliferację komórek, naprawę DNA, regulację cyklu komórkowego, apoptozę, angiogenezę i aktywację czynników wzrostu wyciszanych przez metylację w nowotworach. Nieprawidłowości te mogą rozpocząć proces kancerogenezy (nowotworzenia) [7].

Stabilność genomu oraz ekspresja genów w prawidłowej komórce zależy od wzoru metylacji DNA, który w komórkach nowotworowych jest zaburzony. Obecność oraz ilość m⁵C (C⁵-metylocytozyna) można wiązać z nowotworzeniem [4]. Podczas powstawania nowotworu możliwe są następujące zmiany w metylacji DNA [10]:

- hipermetylacja wysp CpG (wyspy CpG to miejsca, w których guanina występuje bezpośrednio po cytozynie; skrót CpG oznacza sekwencję: cytozyna – wiązanie fosfodiesterowe – guanina, nukleotydy C i G nie stanowią pary komplementarnej, lecz dinukleotydu);
- hipometylacja genów normalnie zmetylowanych;
- tranzycja 5-metylocytozyny do tyminy;
- metylacja „non-CpG” (przyłączenie grupy metylowej CH₃ do zasady azotowej nukleotydu (cytozyny) w dinukleotydach CpA, CpC i CpT, ale nie do CpG);
- indukcja niestabilności chromosomów.



Serdeczne życzenia zdrowych, spokojnych i radosnych Świąt Wielkanocnych składam swoim Czytelnikom

Redakcja

Hipermetylacja wysp CpG

Zwiększona metylacja – hipermetylacja – promotora genu związana jest z utratą jego funkcji (podobnie jak w przypadku mutacji) i może występować w procesach starzenia, a nabyty wzór zmienionej metylacji może powodować indywidualne predyspozycje do występowania kancerogenezy [1, 10]. Nadmierna metylacja genów supresorowych nowotworów prowadzi do nieprawidłowego wzrostu komórkowego. Za utrzymanie prawidłowych funkcji komórki odpowiadają dwie grupy antyonkogenów. Produktami pierwszej grupy antyonkogenów są białka „naprawcze” (caretaker proteins), a drugiej białka „ochronne” (gatekeeper proteins). Białka „naprawcze”, które działają wewnątrz komórki czuwają nad utrzymaniem prawidłowej funkcji i przeżycia komórki. Białka „ochronne” bronią tkankę i organizm poprzez zatrzymanie podziału komórek rakowych i „skazanie” ich na śmierć [5]. Zmniejszenie poziomu ekspresji antyonkogenów poprzez nadmierną metylację genów odpowiedzialnych za ich powstawanie predysponuje komórkę do wystąpienia mutacji nowotworowej.

Zaobserwowano także zwiększoną ekspresję enzymów przeprowadzających metylację – metylotransferaz DNA – we wczesnym i późnym stadium nowotworu, co sugeruje udział w tworzeniu nieprawidłowego wzoru metylacji. Zwiększona metylacja wysp CpG, obserwowana w komórkach nowotworowych i komórkach unieśmiertelnionych, sugeruje zaangażowanie hipermetylacji w zwiększaniu złośliwości nowotworów, poprzez inaktywację genów supresorowych lub stałe wyciszenie ekspresji genów związanych z rozwojem i różnicowaniem. Może również przyczynić się do przechodzenia nowotworów w postać złośliwą poprzez dostarczanie komórek cechujących się zdolnością do nieograniczonych podziałów [11]. Przykładem może być hipermetylacja promotora genów:

- supresorowych: p14, p15, p16, p73, APC, BRCA1;
- odpowiedzialnych za naprawę DNA: hMLH1, GSTP1, MGMT;
- odpowiedzialnych za inwazyjność i przerzuty: CDH1, TIMP3, DAPK.

P16 jest inhibitorem kinazy cyklozależnej, który negatywnie reguluje przejście komórki z fazy G1 do S. Nieprawidłowa ekspresja prowadzi do zaburzeń cyklu komórkowego i utratę kontroli nad nim, co stymuluje proliferację i wpływa na rozwój nowotworu. Utrata ekspresji CDH1 (czyli E-kadheryny) powoduje naciekanie okolicznych tkanek przez nowotwór [8, 9]. Współzależność pomiędzy epigenetycznym i genetycznym generowaniem fenotypu onkogenu jest bardzo częsta. Przykładem jest hipermetylacja genu MLH1 kodującego białko uczestniczące w naprawie niedopasowanych par zasad. Prowadzi to do powstania fenotypu MIN+ w raku płuc, endometrium i żołądka (70-80%) oraz epigenetycznej inaktywacji genu glutationu S-transferazy w raku prostaty, piersi oraz innych nowotworów. Predysponuje także DNA do mutacji adeniny poprzez wolne rodniki podczas rozwoju raka. Należy jednak pamiętać, że nie zawsze zmiany epigenetyczne występują wcześniej. Zmiany w genach kodujących czynniki transkrypcyjne i aktywatory transkrypcyjne mogą przekształcić chromatynę w taki sposób, że wzór normalnej metylacji komórki jest uszkodzony i nie ma możliwości epigenetycznego wyciszenia genu [10].

Hipometylacja genów normalnie zmetylowanych

Hipometylacja jest procesem odwrotnym do hipermetylacji. Wpływa ona na onkogenezę poprzez demetylację regionów

promotorowych onkogenów. Skutkiem tego jest nadekspresja onkogenów, prowadząca do nadmiernej stymulacji proliferacji komórkowej. Wykazano, że w niektórych typach raka u ludzi metylacja może się znacznie zmniejszyć, np. w raku jelita grubego od 10% do 30%, a w nowotworach klatki piersiowej hipometylacja może sięgać 50% [8]. Jednym z czynników powodujących obniżenie metylacji, prowadzących do zmian nowotworowych, jest niedobór źródeł S-adenozylometioniny (SAM). Zmniejszenie poziomu SAM powoduje hipometylację genomu i aktywację niektórych proonkogenów. Dzieje się tak dlatego, że metylotransferazy wiążą się z uszkodzonym DNA, a przez to brak jest enzymu do metylacji zachowawczej na nici potomnej podczas replikacji. Dodatkowo deficyt kwasu foliowego powoduje akumulację uracylu, wstawianego zamiast tyminy do DNA. Wzrost uszkodzeń DNA może powodować brak witaminy B12, która ogranicza udział kwasu foliowego w syntezie tyminy z uracylu i metioniny z homocysteiny. Proces kancerogenezy może być bardziej nasilony, kiedy metylowane są dodatkowo promotory antyonkogenów.

Metylacja „non-CpG”

Metylacja „non-CpG” jest procesem jeszcze słabo poznany. Rola i funkcjonowanie cytozyny zmetylowanej poza rejonami CpG nie jest wyjaśniona. Wykryto ją w embrionalnych komórkach macierzystych myszy i w tym przypadku metylacja *de novo* występowała w dinukleotydach CpA, CpC i CpT. Metylacja „non-CpG” może zachodzić w ludzkim genie p53. Jej występowanie stwierdzono w tkankach przylegających do nowotworu płuca. Zjawisko to może służyć jako wskaźnik dla wczesnego rozpoznania procesu nowotworowego we wczesnym stadium kancerogenezy raka płuc [8]. W badaniach nad komórkami mięśniowymi zarodków mysich wykazano różnicę pomiędzy zmianami metylacji w CpG i „non-CpG” w czasie dyferencjacji komórek. Metylacja cytozyny w obydwu formach gwałtownie spadła podczas różnicowania. W komórkach metylacja „non-CpG” wystąpiła znacznie szybciej niż w CpG. Wyniki wskazują także na dynamiczną równowagę i kontrolę między CpG i „non-CpG” specyficznych genów [6].

Tranzycja 5-metylocytozyny do tyminy

Istnieje możliwość mutacji w metylowanej cytozynie. W wyniku spontanicznej deaminacji metylocytozyna ulega przemianie do tyminy. Również niemetylowana cytozyna ulega deaminacji, gdzie produktem jest uracyl. Deaminacja metylocytozyny jest o wiele bardziej mutagenna. Uracyl jest szybko rozpoznawany i naprawiany przez glikozydazę uracylową. Tymina zaś naturalnie występuje w DNA, czego skutkiem jest tranzycja z CG do TA w miejscach metylacji. Najbardziej narażone na uszkodzenia spowodowane deaminacją cytozyny i 5-metylocytozyny są niesparowane nici DNA podczas transkrypcji i replikacji. Może ona zachodzić prawie 100-krotnie szybciej niż normalnie. Wiele bakterii, archeowców i eukariontów posiada enzymy glikozydazy uracyl-DNA, eliminujących uracyl z genomu. Ukierunkowanie enzymatycznej deaminacji w DNA na dezaktywację obcego DNA oraz odporność adaptacyjną wskazuje na ważną rolę w ontogenezie i ewolucji organizmów. Przykładem jest działalność genu SMUG1, który rozwinął się jako osobny antymutator działający na premutagenne produkty deaminacji cytozyny. Prawdopodobnie jego główną funkcją, poza usuwaniem produktów metylacji tyminy, jest *in vivo* wycinanie promutagennych deaminowanych pozostałości cytozyny. Dodatkowo może on wpły-

wać na wzór metylacji u wyższych eukariontów poprzez zapobieganie utlenianiu i deaminacji w 5-metylocytozynie, a tym samym zaprzestanie demetylacji i tranzycji do tyminy [2].

Natomiast metylacja adeniny jest jeszcze procesem mało poznany. Deaminacja adeniny i metyloadeniny daje ten sam produkt – hipoksantynę. Metylacja adeniny nie należy do potencjalnych czynników mutagennych [8].

Indukcja niestabilności chromosomów

Nieprawidłowości we wzorze metylacji mogą prowadzić do niestabilności genomu, poprzedzając rozwój i progresję raka, oraz niestabilności w sekwencjach mikrosatelitarnych (ze zmianą liczby krótkich powtórzeń tandemowych). Zjawisko utraty heterozygotyczności (LOH) na chromosomie 11 w mysich liniach komórkowych wykryto w 77% komórek hipometylowanych i 45% w komórkach normalnie metylowanych. Dodatkowo do utraty heterozygotyczności (ang. loss of heterozygoty – LOH, inaktywacja jednego allelu z pary genów, w której drugi allel był już nieaktywny) częściej dochodzi w pobliżu centromeru (45% przypadków). Powodem może być wpływ hipometylacji na stabilność centromeru i pericentrycznej chromatyny [10].

Zmiany epigenetyczne w komórkach nowotworowych nie zawsze są poprzedzone zmianami genetycznymi. Kolejność zaburzeń może być dowolna. Zmiany genetyczne w genach kodujących czynniki transkrypcyjne mogą zmienić chromatynę w taki sposób, że nawet w wyniku normalnej metylacji DNA nie zachodzi epigenetyczne wyciszenie genów [3].

Istnieje wiele doniesień na temat cofania się nowotworu nawet w zaawansowanej formie. Duży wpływ ma środowisko. Niektóre substancje pomagają regulować ekspresję genów poprzez stymulację metylomu (układ metylacji DNA w genomie organizmu lub w określonej komórce), jak np. witamina B12. Według Narodowego Instytutu Raka Stanów Zjednoczonych 80% śmiertelno-

ści z powodu raka powoduje zła dieta i można mu zapobiegać przez właściwe stosowanie czynników dietetycznych [5].

Istnieją peptydy i pochodne aminokwasów – antyneoplasty, działające nieszkodliwie na komórki, a wybiórczo hamujące rozrost komórek nowotworowych. Zmniejszają one metylację promotorów i uaktywniają geny chroniące przed rakiem. Leczenie nimi zaowocowało remisją 70% nieuleczalnych guzów mózgu u dzieci [5]. Związki spokrewnione z antyneoplastami, takie jak: A10 (3-fenylloacetyloamino-2,6-piperidynodion), PG (fenylloacetylglutamin), PN (fenyllooctan sodu) i PB (fenylomaślan sodu) normalizują ogólną metylację genomu, zmniejszają ekspresję onkogenów i wyciszenie antyonkogenów. Myszy karmione dodatkami z A10 były chronione przed rozwojem raka sutka, płuc i wątroby pomimo obecności kancerogenów. Stosując preparaty zawierające A10 u ludzi zaobserwowano poprawę gojenia i odporności komórkowej, obniżenie poziomu cholesterolu, zwiększoną energię, zmniejszenie guzków sutka oraz efekt przeciwdepresyjny [5].

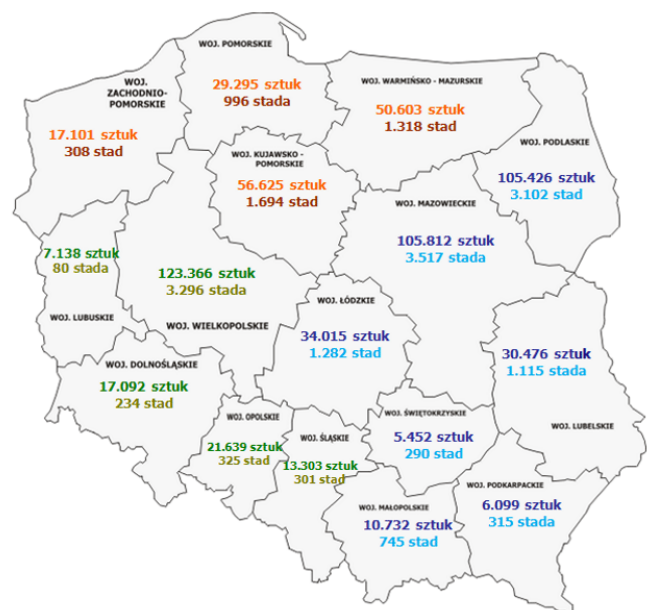
Literatura: 1. Ahuja N., Issa J.P., 2000 – Histology and histopathology 15, 835-842. 2. An Q., Robins P., Lindahl T., Barnes D.E., 2005 – EMBO Journal 24(12), 2205-2213. 3. Baylin S.B., Herman J.G., 2000 – Trends Genet. 16, 168-174. 4. Barciszewska A.M., 2010 – Analiza składników DNA guzów nowotworowych mózgu u człowieka. Praca doktorska, Poznań. 5. Burzyński S.R., 2008 – Geny życia. Wyd. Farmapress, Warszawa. 6. Fuso A., Ferraguti G., Grandoni F., Rugerri R., Scarpa S., Storm R., Lucarelli M., 2010 – Cell Cycle 9, 19, 3965-3976. 7. Jabłońska J., Jesionek-Kupnicka D., 2004 – Onkologia Polska 7, 4, 181-185. 8. Łukasik M., Krochmalska J., Szutkowski M. M., Łukaszewicz J., 2009 – Biul. Wydz. Farm. WUM 2, 13-18. 9. Piachetka A., Wiczowski A., Zalewska-Ziob M., Wilczek G., Muc-Wierzoń M., Kokot T., Nowakowska-Zajdel E., 2010 – Rola epigenetycznych zmian DNA w powstawaniu nowotworów. SUM, Katowice. 10. Sulewska A., Niklińska W., Kozłowski M., Minarowski L., Naumnik W., Nikliński J., Dąbrowska K., Chyczewski L., 2007 – Folia Histochemica et Cytobiologica 45(3), 149-159. 11. Zwierzchowski L., Światoński M., 2009 – Epigenetyczne modyfikacje genomu. W: Genomika bydła i świń. Wyd. UP Poznań.

Wyniki oceny krów w roku 2011

Danuta Radzio

Polska Federacja Hodowców Bydła i Producentów Mleka

Po ponad pięciu latach prowadzenia oceny krów przez Polską Federację Hodowców Bydła i Producentów Mleka, ponownie prezentujemy wyniki podsumowujące kolejny rok pracy. Liczby mówią same za siebie: średnia wydajność krów ocenianych wynosi 7135 kg mleka (wzrost o 155 kg), 295 kg tłuszczu (przy zawartości 4,13%) i 236 kg białka (przy zawartości 3,30%) od przeciętnie 625 015,1 krów pochodzących z 19 065 obór. Również liczba krów ocenianych, czego dowodem jest stan na 31 grudnia 2011 r. wynoszący 634 174 szt., co w odniesieniu do liczby krów mlecznych ogółem w Polsce (2 445 901 szt.) daje prawie 26% objęcia oceną. Dla przypomnienia, w momencie przejścia zadań dotyczących oceny wartości użytkowej, tj. 30 czerwca 2006 r., liczba krów pod oceną była mniejsza o 106 918 szt. i stanowiła zaledwie 19% pogłowia ogółem. W 2011 roku



Rys. 1. Przeciętna liczba krów mlecznych ocenianych w 2011 r. i stad w poszczególnych województwach