
EKSPOSOM – KEMIJSKI ČIMBENICI

Jadranka Sertić

Katedra za medicinsku kemiju, biokemiju i kliničku kemiju
Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Zagreb
jadranka.sertic@kbc-zagreb.hr





EU, 2019.-2024.

Kemijski čimbenici - ekspozom

EU strategija - zaštita zdravlja građana od štetnih kemikalija od prenatalnog života do starije dobi

- Strateška suradnja EK, WHO i UN na području okoliša i zdravlja, te integracija kemijskih čimbenika za kardiometaboličko, respiratorno i mentalno zdravlje
- Razvoj biomarkera i metoda s istom preciznošću za izloženost kemijskim čimbenicima kao što imamo za genom, da se profiliraju neogenetski čimbenici radi smanjenja kroničnih bolesti

Eksposom i zdravlje: kemijska i biološka povezanost

- Kemijskih čimbenici mijenjaju biomolekule, stanice i fiziološke procese, nisu statični, mogu se izlučiti, metabolizirati ili akumulirati
 - Izloženost nije ograničena na štetne kemijske čimbenike koje ulaze u tijelo, već također uključuje one dobivene biološkim i drugim prirodnim procesima
 - Postoji pozitivno i negativno djelovanje kemijskih tvari na zdravlje
 - ✓ Konsolidiranje znanja GWAS i EWAS, sučelje gena i okoliša, kemije i biologije



Primjeri kemikalija i povezani ishodi

Tvar	Primjeri proizvoda u kojima tvar može biti prisutna	Primjeri povezanih ishoda
pesticidi (pri nezakonitoj uporabi)	biljke (žitarice, povrće, voće) hrana za životinje, životinje	mala porođajna težina i nedonoščad, razne urođene mane, brojne vrste zloćudnih tumora, ishemijska bolest srca, cerebrovaskularna bolest
neodobrena crvena boja	određene kobasice i meso za hamburgere	genotoksičnost, karcinogenost
metil-živa	riba (tuna, iglan, iglun, štuka)	učinci na kognitivni razvoj, duševna zaostalost, Parkinsonova bolest, poremećaj pažnje, bolest Minamata
olovo	onečišćenje hrane/vode/tla, biljke	razne urođene mane, anemija, methemoglobinemija, učinci na kognitivni razvoj, duševna zaostalost, Parkinsonova bolest, poremećaj pažnje, bolest Minamata, gubitak sluha, ishemijska bolest srca, cerebrovaskularna bolest, bubrežni kamenci, kronična bolest bubrega
kadmij	biljke (riža i druge žitarice, korjenasti usjevi, povrće)	ishemijska bolest srca, cerebrovaskularna bolest, bubrežni kamenci, kronična bolest bubrega, osteoporoza, giht
dioksini	hrana za životinje, proizvodi životinjskog podrijetla (mliječni proizvodi, meso, jaja)	brojni zloćudni tumori, uključujući tumor pluća, kože, jetara, mozga, bubrega, prostate, koštane srži i mjehura
aflatoksin	biljke (posljedica plijesni koja pogađa žitarice, uljarice, začine, orašaste plodove), mliječni proizvodi	brojni zloćudni tumori, uključujući tumor pluća, kože, jetara, mozga, bubrega, prostate, koštane srži i mjehura

Kemijske opasnosti u našoj hrani: politika EU-a o sigurnosti hrane štiti nas, no pred njom su izazovi. Poznati i nepoznati aspekti tereta bolesti izazvanih kemikalijama. Pruss Ustun A. et al. doi:10.1186/1476-069X-10-9, <https://op.europa.eu>, 2019.

Biomonitoring - pojedinačni ili kombinirani kemijski učinci, biološke promjene, specifičan fenotip i zdravlje

Chemical Stressors	Chemical Categories	HELIX	HEALS	EXPOsOMICS	HBM4EU
Persistent Organic Pollutants (POPs)	Polychlorinated Dibenzodioxins (PCDD) & Dibenzofurans (PCDF)		Dioxin-like Compounds, γ -Glutamyl Transferase (GGT), PCDD/PCDF		
	Polychlorinated Biphenyl (PCBs)	PCB 118, PCB138, PCB153, PCB180, PCB170	Dioxin-like PCB, Indicator PCBs, PCB28, PCB52, PCB101		
	Organochlorine Compounds and Pesticides (OCPs)	4,4'-Bichlorodiphenyl-trichloroethane (DDT), 4,4'-Dichlorodiphenyl-dichloroethylene (DDE), Hexachlorobenzene (HCB)	DDT, DDE, HCB, β -Hexachlorocyclohexane (β -HCH), Pentachlorophenol (PCP),		
	Brominated Flame Retardants (BFRs)	2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl Ether (PBDE47), 2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether (PBDE153)	2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl Ether (BDE-99), Hexabromocyclododecane (HBCDD), Polybromodiphenyl Ether (PBDE)		Tris(2,3-Dibromopropyl) Phosphate, Bis(Pentabrom Ophenyl) Ether (DecaBDE)
	Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS / PFC)	Perfluorooctanoate (PFOA), Perfluorononanoate (PFNA), Perfluoroundecanoate (PFUNDA), Perfluorohexane Sulfonate (PFHxS), Perfluorooctane Sulfonate (PFOS)	PFOA and PFOS		PFOA and PFOS, Ammonium Pentadecafluor Octanoate (APFO), PFNA, Nonadecafluor Odecanoic Acid (PFDA), Tricosafluorod Odecanoic Acid (PFDoA)
Other Organic Contaminants	Bisphenols	Bisphenol-A (BPA)	Bisphenol A (BPA), Glucuronidated Metabolite of BPA (BPA-glu)		18 Bisphenols
	UV-Filter	Oxybenzone (OXBE)			Oxybenzone (OXBE)
	Biocides & Disinfectants	Triclosan (TCS)	TCS		
	Organophosphate flame retardants	Urine Concentrations of Dialkylphosphates	Dialkylphosphates		
	Current-use Pesticides (including Organophosphate Pesticides (OPPs))		Cyfluthrin, Cypermethrin, Deltamethrin, Permethrin, Pyrethroid Metabolite 3-Phenoxybenzoic Acid (3PBA)		Chlorpyrifos, Dimethoate, Permethrin and other Pyrethroids, Glyphosate, Fipronil

(HELIX – kemikalije povezane s funkcijom pluća u djece - ekspozicijom trudnoće, ranog života i urbani ekspozicijom
EXPOsOMICs – onečišćenje zraka i pojava asme i KVB kod odraslih)

ORGANOKLOROVI SPOJEVI - Dioksini - PCB, poliklorbifenili, OPC, organoklorovi pesticidi, PCDD, poliklorirani dibenzo-p-dioksin, PCDF, poliklorirani dibenzofurani. - Spalionice gradskog i bolničkog otpada, Stanični proteini i geni / otporni na metaboličku razgradnju, akumuliraju se u hranidbenom lancu.

	Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAHs)		Fluoranthene, Fluorene, Naphtalene, Phenanthrene, Pyrene (s-PYR); Urinary Metabolite: 1-Hydroxypyrene; PAH		Benzo[a]pyrene (BaP), Benzo[e]pyrene (BeP), Benzo[a]anthracene (BaA), Chrysen (CHR), Benzo[b]fluoranthene (BbFA), Benzo[j]fluoranthene (BjFA), Benzo[k]fluoranthene (BkFA), Dibenzo[a,h]anthracene (DBAhA)
	Parabens	Urine Concentrations of Methyl Paraben (MEPA), Ethyl Paraben (ETPA), Propyl Paraben (PRPA), N-Butyl Paraben (BUPA)	Butyl Parabens, Ethyl Parabens, Methyl Parabens, Propyl Parabens		
	Phthalates and Related Compounds	Urine Concentrations of Monoalkyl Phthalates	Phthalates and their Urinary Metabolites		Phthalates and their Urinary Metabolites, Diisononyl Cyclohexane Dicarboxylate (DINCH)
Toxic and Potentially Toxic Elements	Elements and Metals	Blood Concentrations of Arsenic (As), Cadmium (Cd), Cobalt (Co), Cesium (Cs), Copper (Cu), Mercury (Hg), Potassium (K), Magnesium (Mg), Manganese (Mn), Molybdenum (Mo), Sodium (Na), Lead (Pb), Thallium (Tl), Zinc (Zn)	Arsenic (As), Cadmium (Cd), Chromium (Cr), Copper (Cu), Iron (Fe), Mercury (Hg), Manganese (Mn), Lead (Pb), Selenium (Se), Zinc (Zn)		Lead (Pb), Mercury (Hg), Methylmercury, Arsenic (As), Inorganic arsenic compounds, including diarsenic trioxide, Cadmium (Cd), Chromium VI compounds
Volatile Organic Compounds (VOCs)	Solvents		Benzene, Ethylbenzene, Toluene, Styrene, m,p-Xylene (all as Urinary Metabolites)		N,N-Dimethylformamide (DMF), 1-Methyl-2-Pyrrolidone
	Industrial Products		Perchloroethylene (PER)		4,4'- Methylenebis[2 - Chloroaniline] (MOCA), 4,4'- Methylenedianiline (MDA)
Pharmaceuticals	Antibiotics		Various Metabolites		
	Chemotherapy		Various Metabolites		
Smoking	Tobacco Smoke	Urine Concentration of Cotinine	Nicotine		
Air Pollution	Bioaerosols		Mold, Microbial Volatile Organic Compounds (MVOC), Mycotoxins	Air Pollution: Other Pollutants (not further specified)	
	Diesel Exhaust		1-Hydroxypyrene (1-HP)		
	Nitrogen Oxides (NOx)	Nitrogen Dioxide (NO2)	Nitrogen Oxides (NOx)		

ENDOKRINI DISRUPTORI - Teški metali olovo, krom, antimon, kadmij i arsen: biološki materijal – krv, mokraća, uzorci kosti u kojima se akumuliraju. **Ftalati** – esteri ftalne kiseline i alifatskih alkohola koji se dodaju plastici – remete prirodnu ravnotežu hormona. EU - zabranila u igračkama. **Parabeni** su alkil esteri hidroksibenzojeve kiseline – kozmetika – ne metaboliziraju se.

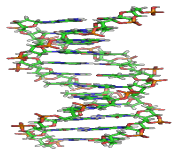
	Ozone (O3)		2,3-Dihydroxybenzoic Acid as Biomarker for O3		
	Particulate Matter	PM2.5, PM10		PM2.5	
	Ultrafine Particles (UFPs)			Ultrafine Particles (UFP)	
Food Contamination	Biological Agents		Mycotoxins (GIT, Deoxynivalenol (DON), Ochratoxin (OTA))		Mycotoxins (Aflatoxin B1, Deoxynivalenol (DON), Fumonisin B1)
	Chemical Agents		Various Metabolites		Acrylamide
Water Contamination	Disinfection By-Products (DBPs)	Trihalomethanes (THM)	Trichloroacetic Acid (TCAA), THMs: Bromodichloromethane (BDCM), Bromoform, Chloroform, Dibromochloromethane (DBCM)	THMs, Haloacetic Acids, Haloacetonitriles, Chloramines, 3-Chloro-4(Dichloromethyl)-5-Hydroxy-2(5H) Furanone (MX)	

Huhn S, Escher BI, Krauss M, Scholz S, Hackermuller J. **Unraveling the chemical exposome in cohort studies: routes explored and steps to become comprehensive.** *Environmental Sciences Europe* 2021;33:17.

Eksposom - Klinički entiteti

Health outcome	HELIX	HEALS	EXPOsOMICS	HBM4EU
Allergies/asthma	Yes	Yes		
Neurodevelopment	Yes	Yes		Ongoing
Weight development	Yes	Yes		
Obesity	Yes	Yes		
Type 2 diabetes	Yes			
Neurodegenerative diseases	Yes			

Projekt REMEDIA: KOPB i CF



- Cilj: razumijeti doprinos eksposoma, identificirati promjenjive čimbenike rizika za prevenciju dvije bolesti dišnog sustava i donjeti nove smjernice
 - Čini se da je KOPB povezan s eksposomon, a CF ne

✓ *Molekularna dijagnostika u HR, KBC Zagreb 1990.-*

Zergollern Lj, Stavljenić-Rukavina A, Barišić I, Sertić J. **F508 deletion in Croatian cystic fibrosis patients.** *Acta Med Croat* 1992;46:181-184.

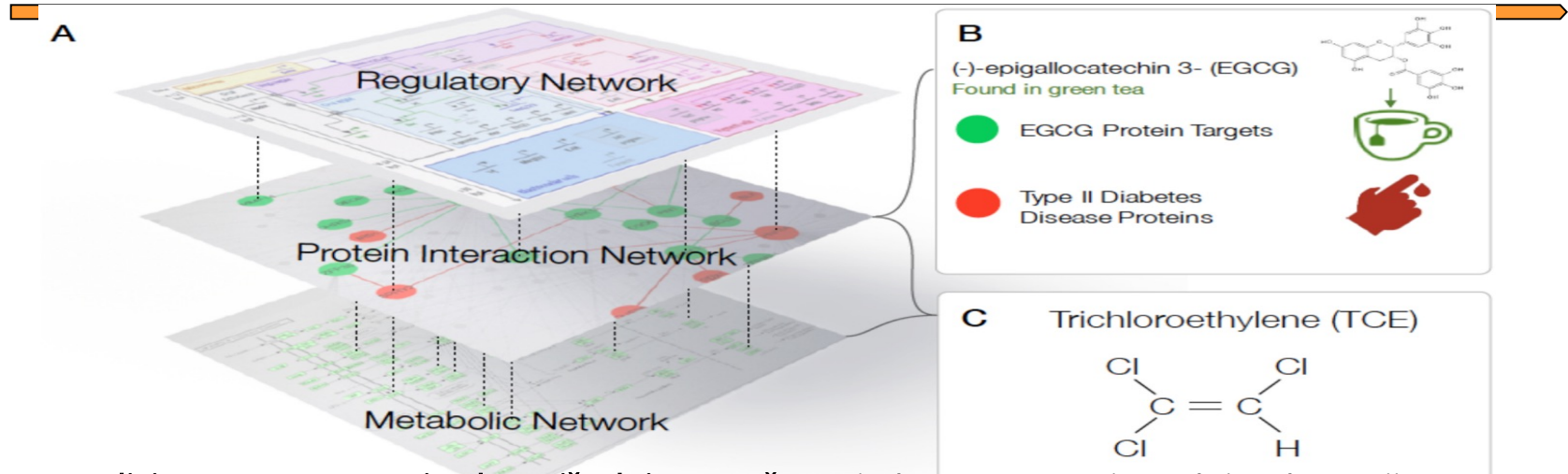
Genomika – Epigenomika – Metabolomika



- PRS - analiza visokorizičnih genetičkih varijanti i procjena poligenske ocjene rizika
 - ESR (*Exposome risk score*) – bi mogao pružiti podatke na izloženost kemijskim čimbenicima na temelju bioloških procesa ili organskih sustava.

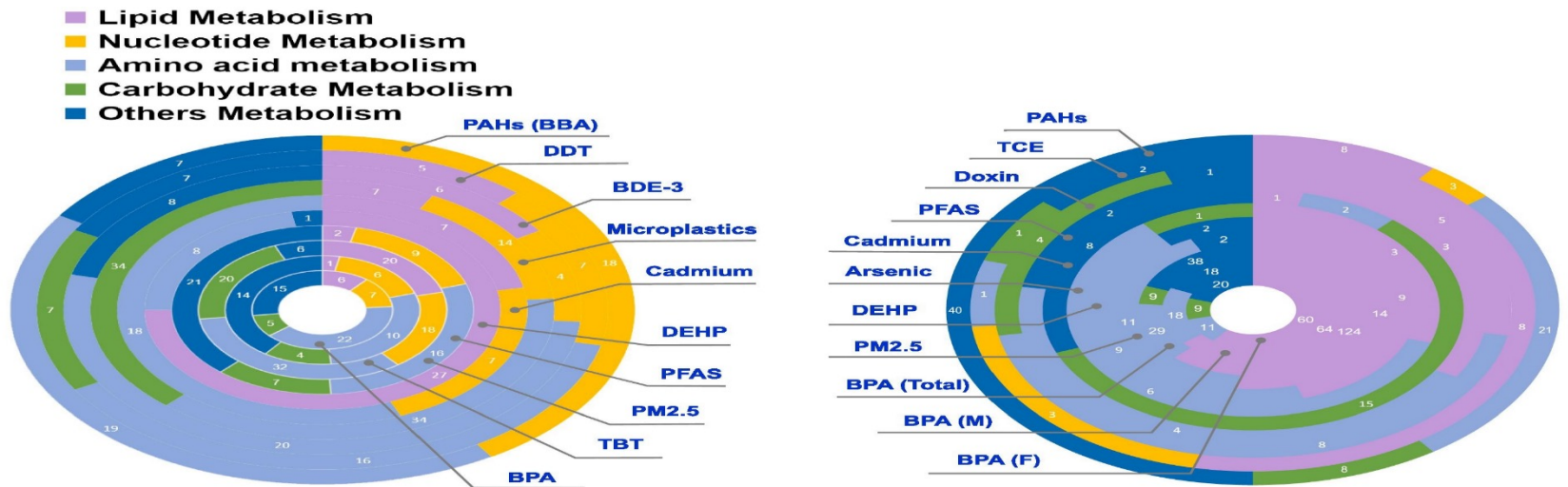
Takvi ERS rezultati, za razliku od PRS-a, bili bi vremenski promjenjivi i dinamični putem izloženosti i osjetljivosti povezanih s dobi

Utjecaj kemijskih čimbenika na stanične strukture



- **Medicina promatra stanicu kao višeslojnu mrežu** s tri glavna međuovisna sloja, ekspresija RNA, formiranje proteinskih kompleksa, signalizacija i metaboličke reakcije. Kemijski čimbenici mogu utjecati na svaki sloj ove substanične mreže.
- **Polifenol epigalokatehin galat (EGCG)** – potencijalni terapijski učinak na T2D, veže >52 proteina, sugerira višestruke puteve koji bi mogli objasniti konzumiranje zelenog čaja i smanjenje rizika od T2D.
- **Trikloretilen (TCE)**, zagađivač okoliša, veže se na proteine, mijenja funkciju, utječe na stanični metabolizam, < ATP. Studije podupiru vezu između izloženosti TCE-a i raka bubrega i vjerojatno limfoma.

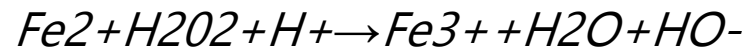
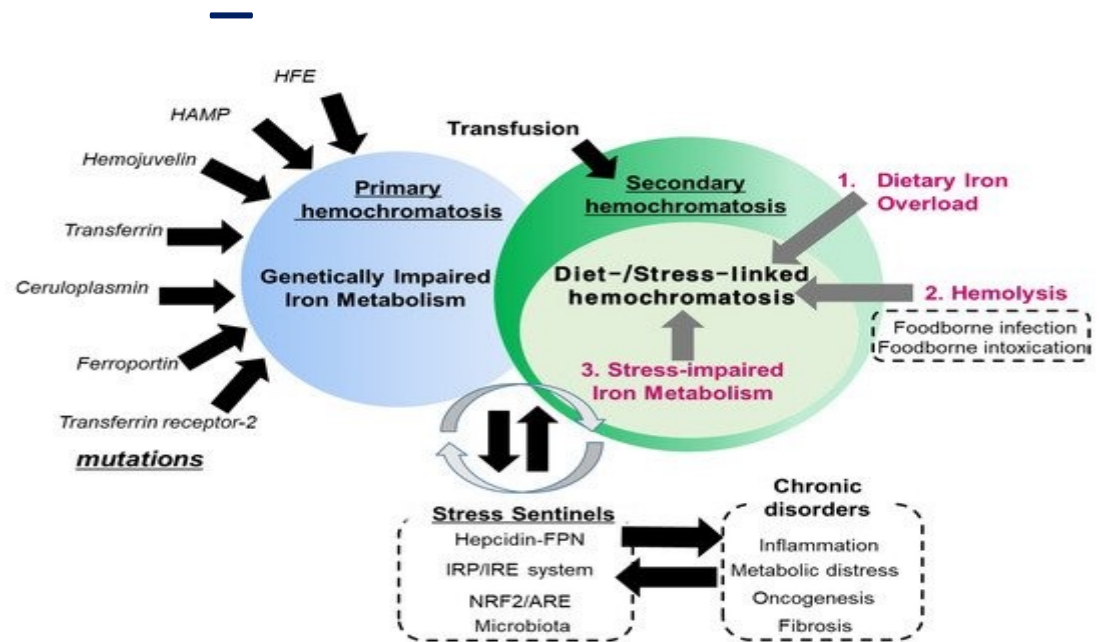
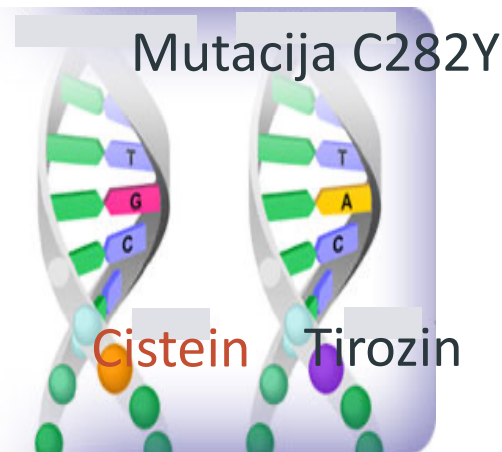
Kemijski čimbenici i metabolomika



- Metabolički putevi i biomarkeri koji reagiraju na kemikalije koje ometaju metabolizam u studijama na životinjama (lijevo) i ljudima (desno).
- Teški metali, organohalogeni spojevi, perfluoralkilni spojevi i mikroplastika ometaju metabolizam nukleinskih kiselina, AK, lipida, glukoze i hormona (metaboličke bolesti, upala, neurotoksičnosti, oksidativni stres). *BPA-free products*

Suna J, Fangb R, Wang H, Xub DX, Yangd J, Huang X, Cozzolinof D, Fangg M, Huang Y. A review of environmental metabolism disrupting chemicals and effect biomarkers associating disease risks: Where exposomics meets metabolomics. *Environment International* 2022;158:106941.

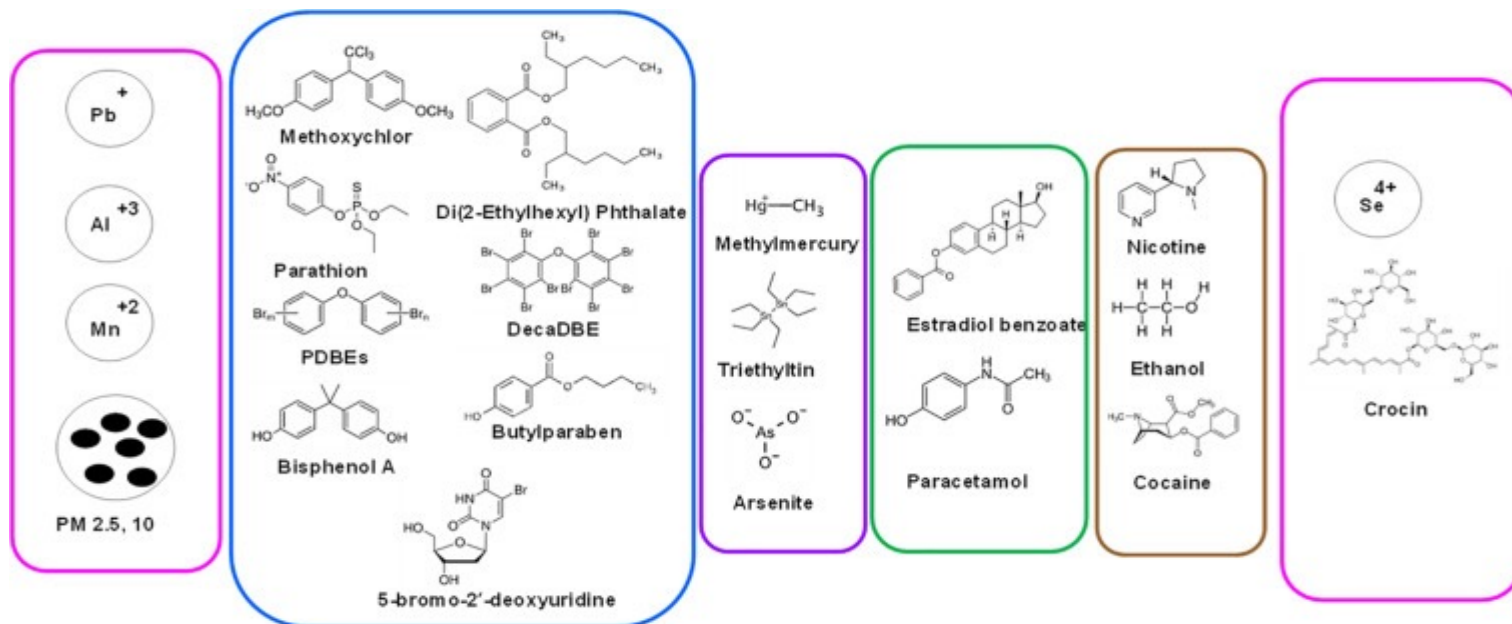
Kemijski čimbenik - željezo



Preopterećenje Fe – hiperprodukcija superoksida – upala. Pb- oksidativni stres – hemoliza – hemokromatoza (poremećaj enzima superoksid dismutaza, katalaza, glutation peroksidaza)

Oh CK, Moon Y. **Dietary and sensinel factors leading to hemochromatosis.** *Nutrients* 2019; 11: 1047. Šimić I, Merkler A, Jurčević I, Sertić J. *Nasljedna hemokromatoza// Klinička kemija i molekularna dijagnostika u kliničkoj praksi/Medicinska naklada* 2015.

Kemijski čimbenici povezani sa starenjem



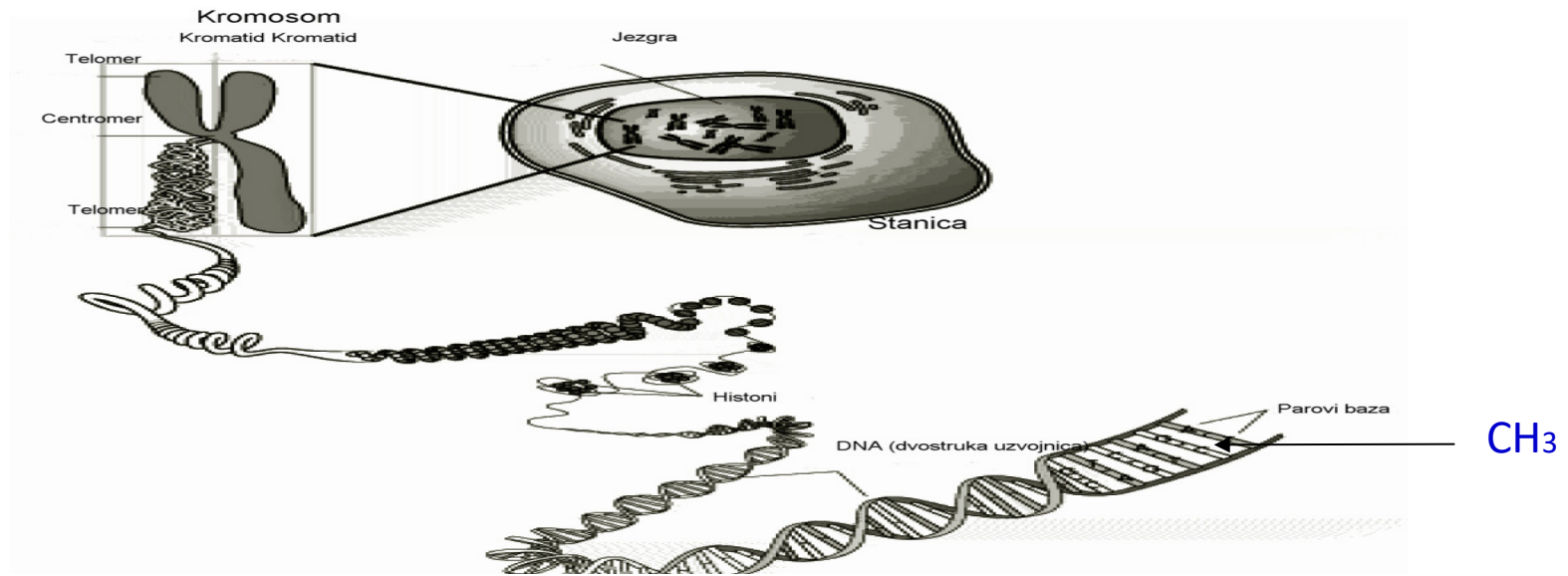
- Od teških metala/iona, do čestica različitih veličina (PM2,5, PM10), čađe (BC), pesticida, PDBE, ftalata, BPA, lijekova (metamfetamin, paracetamol) do metaloida (metilživa, arsenat) Selen i krocin (šafra) – zaštitni učinak na starenje

Kemijski čimbenik – Apoprotein E

- *APOE- ε4*

- Dugotrajna izloženost onečišćenju zraka smanjuje kognitivne sposobnosti starijim osobama

Kemijski čimbenici, starenje i epigenomika



DNA / Histoni – Kromatin -Telomera

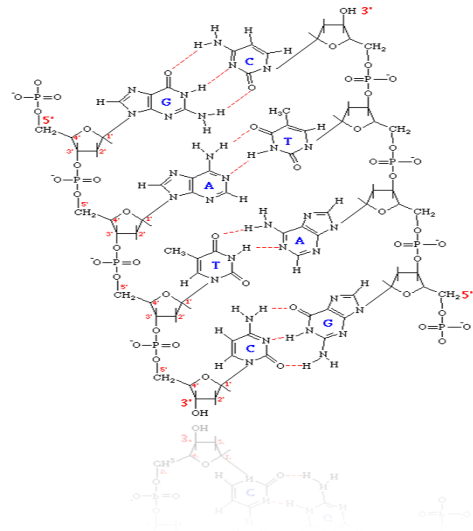
Eukromatin - DNA dostupna transkripciji i heterokromatin – geni aktivni/utišani

Epigenetske modifikacije – generacijski prijenos / epigenetska terapija

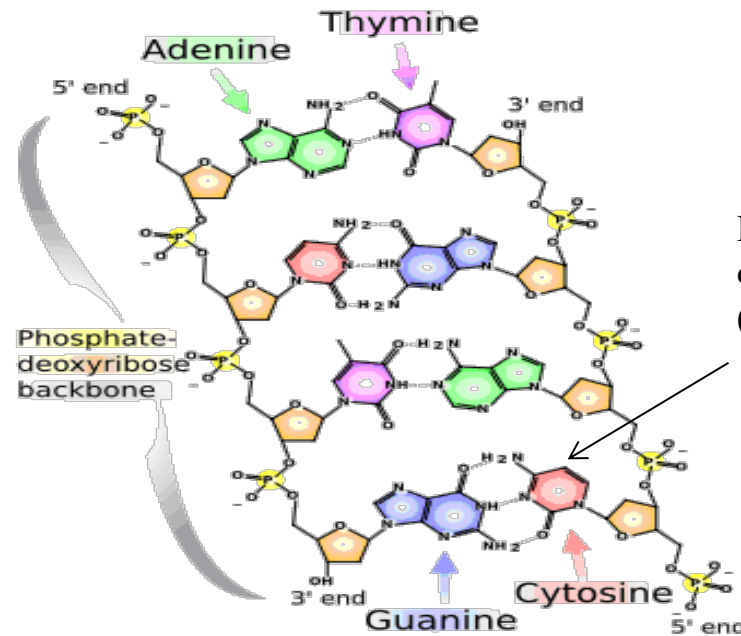
Epigenom

- Epigenom je skup kemijskih modifikacija DNA i proteina povezanih s DNA u stanici koji mijenjaju ekspresiju gena.

➤ Promjene u genetskoj funkciji bez promjena u slijedu nukleotidne sekvence



Metilacija DNA



- CpG sekvence općenito se nalaze u području promotora gena /genomu
- Metilaciju DNA katalizira DNA metiltransferaza

Genetske i epigenetske korelacije

- IL-6 - 174 G/C

- DNA hipometilacija CpG

Indumathi B. et al. 2018.

➤ Dosadašnje analize utvrdile su genetsku i epigenetsku korelaciju, transgeneracijsko epigenetsko nasljeđivanje „**epigenetski potpis**“ kao i važnost epigenetike tijekom intrauterinog razvoja.

Epigenetske modifikacija - starenje

- Metilacija DNA
- Modifikacija histona: metilacija, acetilacija
- **Ne-kodirajuće RNA:**
miR-34 (target gen *P53*, *SIRT1*, *PARKIN*), miR29 (*VDAC1*, *P53* i *BACE1*) i miR126 (inzulin/IGF-1/P13K/AKT)
(Singh &Yadav, 2020.)
- Kemijski čimbenici koji sudjeluju u epigenetskom procesu mogu biti pesticidi, teški metali, policiklički aromatski ugljikovodici, ispušni plinovi, duhanski dim, hormoni, radioaktivnost, virusi, bakterije i stres.

miRNA – epigenetika intrauterino

- miR-155, miR-221 ↓
- miR-146a ↑
- PPAR- γ , IL-6, IL-1 β , TNF α

➤ Profili miRNA u novorođenčadi povezani su s pretilošću majke, što ukazuje na epigenetiku tijekom intrauterinog razvoja. Neonatalni miRNA profil povezan je s BMI majke i neovisan o majčinom miRNA profilu.

Gaytan-Pacheco N. et al. **Changes in PPAR- γ Expression are Associated with mikroRNA Profiles during Fetal Programming due to Maternal Overweight and Obesity.** Gynecol Obstet Invest 2021.

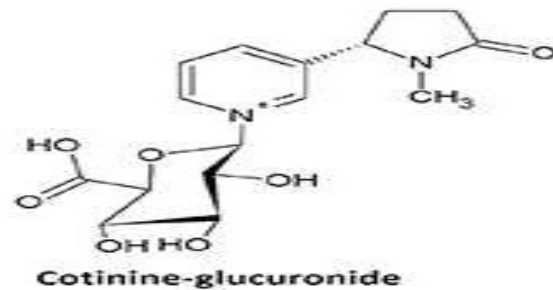
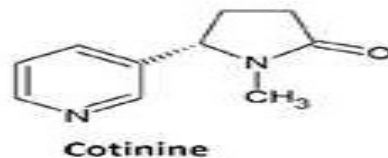
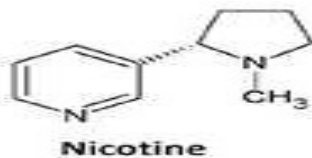
MTHFR - CVI

- MTHFR C677T

- DIM CIGARETE

Bazina Martinović A et al. A Possible Corelation Between MTHFR C677T Variant and Smoking in Patients with Ischemic stroke.

13. Hrvatski kongres o aterosklerozi s međunarodnim sudjelovanjem, 15.-16.10.2021.



Epigenetska terapija - inhibitori

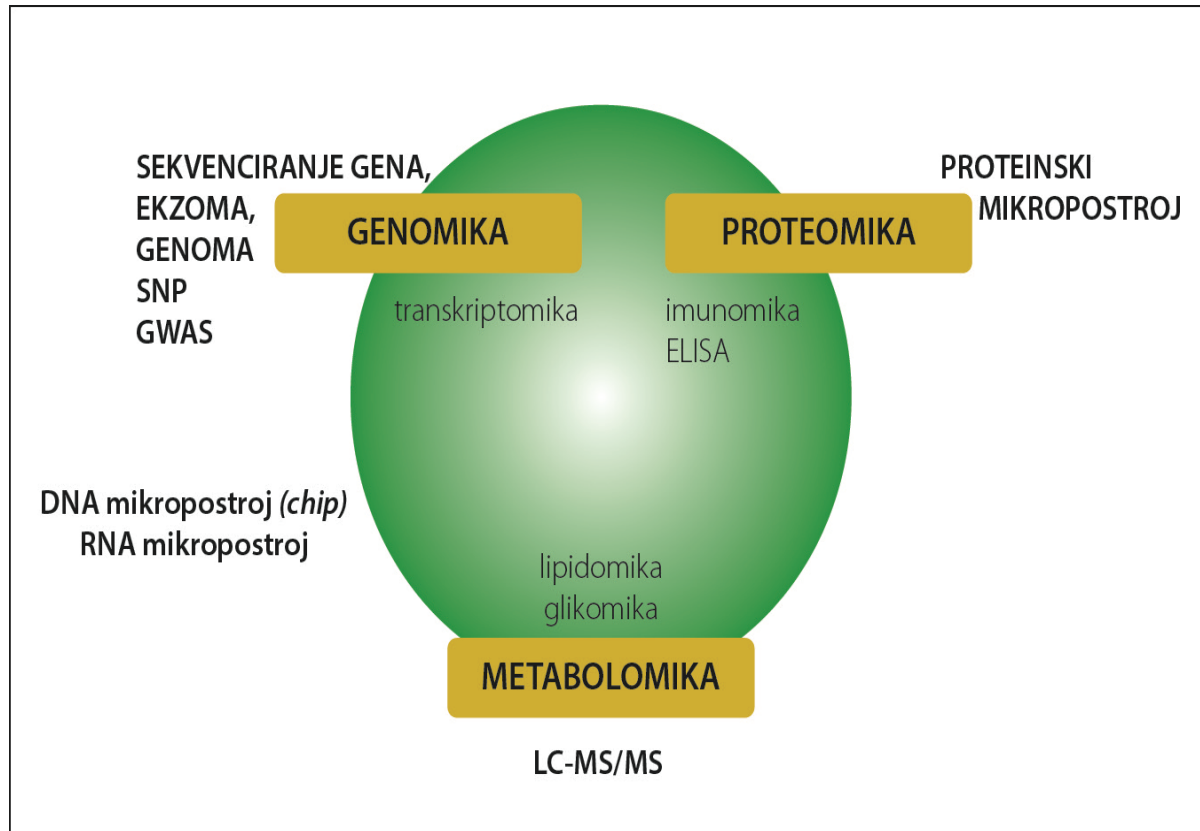
□ DNA metiltransferaza, histon deacetilaza, miRNA

- Reverzibilnost epigenetske regulacije pruža mogućnost za nove terapijske pristupe usmjerene metaboličkim poremećajima
- Epigenom obuhvaća egzogene čimbenike okoliša, kao što je nezdrava prehrana, pušenje, tjelesna neaktivnost i **stres**
- Epigenetska terapija temelji se na inhibiciji DNA metil transferaze, histon deacetilaze i miRNA.

Epigenetski mehanizmi i liječenje

- **Metformin** – utječe na acetilaciju histona i transkripciju gena za očuvanje signalizacije inzulina
- *Kurkumin* – inhibitor histonacetil transferaze, smanjuje ekspresiju proaterogenih citokina MCP-1, IL-1 β , TNF- α
 - Istražuje se također sulforafan i epigalokatehin-3-galat

Omics tehnologije – GWAS /EWAS



Živjeti zdravo u svijetu kemijskih čimbenika

- BIOMONITORING

- EKSPOSOM

Hvala na pozornosti!