

# 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](mailto:jadranka.sertic@kbc-zagreb.hr)





# Kemijski čimbenici - ekspozom

- 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 negenetski 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 tijeko, 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, štika)                                                                          | 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, $\gamma$ -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, $\beta$ -Hexachlorocyclohexane ( $\beta$ -HCH), Pentachlorophenol (PCP),                       |            |                                                                                                                                           |
|                                      | Brominated Flame Retardants (BFRs)                                   | 2,2',4,4'-Tetrabromo-diphenyl Ether (PBDE47), 2,2',4,4',5,5'-Hexabromo-diphenyl 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.

|                                             |                                               |                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                      |                                                         |                                                                                                                                                                                                            |
|---------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                             | <b>Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAHs)</b> |                                                                                                                                                                                                                           | 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) |
|                                             | <b>Parabens</b>                               | Urine Concentrations of Methyl Paraben (MEPA), Ethyl Paraben (ETPA), Propyl Paraben (PRPA), N-Butyl Paraben (BUPA)                                                                                                        | Butyl Parabens, Ethyl Parabens, Methyl Parabens, Propyl Parabens                                                                     |                                                         |                                                                                                                                                                                                            |
|                                             | <b>Phthalates and Related Compounds</b>       | Urine Concentrations of Monoalkyl Phthalates                                                                                                                                                                              | Phthalates and their Urinary Metabolites                                                                                             |                                                         | Phthalates and their Urinary Metabolites, Diisononyl Cyclohexane Dicarboxylate (DINCH)                                                                                                                     |
| <b>Toxic and Potentially Toxic Elements</b> | <b>Elements and Metals</b>                    | 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                                                       |
| <b>Volatile Organic Compounds (VOCs)</b>    | <b>Solvents</b>                               |                                                                                                                                                                                                                           | Benzene, Ethylbenzene, Toluene, Styrene, m,p-Xylene (all as Urinary Metabolites)                                                     |                                                         | N,N-Dimethylformamide (DMF), 1-Methyl-2-Pyrrolidone                                                                                                                                                        |
|                                             | <b>Industrial Products</b>                    |                                                                                                                                                                                                                           | Perchloroethylene (PER)                                                                                                              |                                                         | 4,4'-Methylenebis[2-Chloroaniline] (MOCA), 4,4'-Methylenedianiline (MDA)                                                                                                                                   |
| <b>Pharmaceuticals</b>                      | <b>Antibiotics</b>                            |                                                                                                                                                                                                                           | Various Metabolites                                                                                                                  |                                                         |                                                                                                                                                                                                            |
|                                             | <b>Chemotherapy</b>                           |                                                                                                                                                                                                                           | Various Metabolites                                                                                                                  |                                                         |                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Smoking</b>                              | <b>Tobacco Smoke</b>                          | Urine Concentration of Cotinine                                                                                                                                                                                           | Nicotine                                                                                                                             |                                                         |                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Air Pollution</b>                        | <b>Bioaerosols</b>                            |                                                                                                                                                                                                                           | Mold, Microbial Volatile Organic Compounds (MVOC), Mycotoxins                                                                        | Air Pollution: Other Pollutants (not further specified) |                                                                                                                                                                                                            |
|                                             | <b>Diesel Exhaust</b>                         |                                                                                                                                                                                                                           | 1-Hydroxypyrene (1-HP)                                                                                                               |                                                         |                                                                                                                                                                                                            |
|                                             | <b>Nitrogen Oxides (NOx)</b>                  | 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 hidoksibenzojeve 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 compresive.**  
*Environmental Sciences Europe* 2021;33:17.

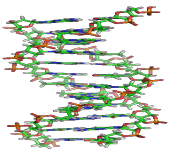
# Eksposom - Klinički entiteti



| 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 ekspozoma, identificirati promjenjive čimbenike rizika za prevenciju dvije bolesti dišnog sustava i donjeti nove smjernice
  - Čini se da je KOPB povezan s ekspozomom, 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

---

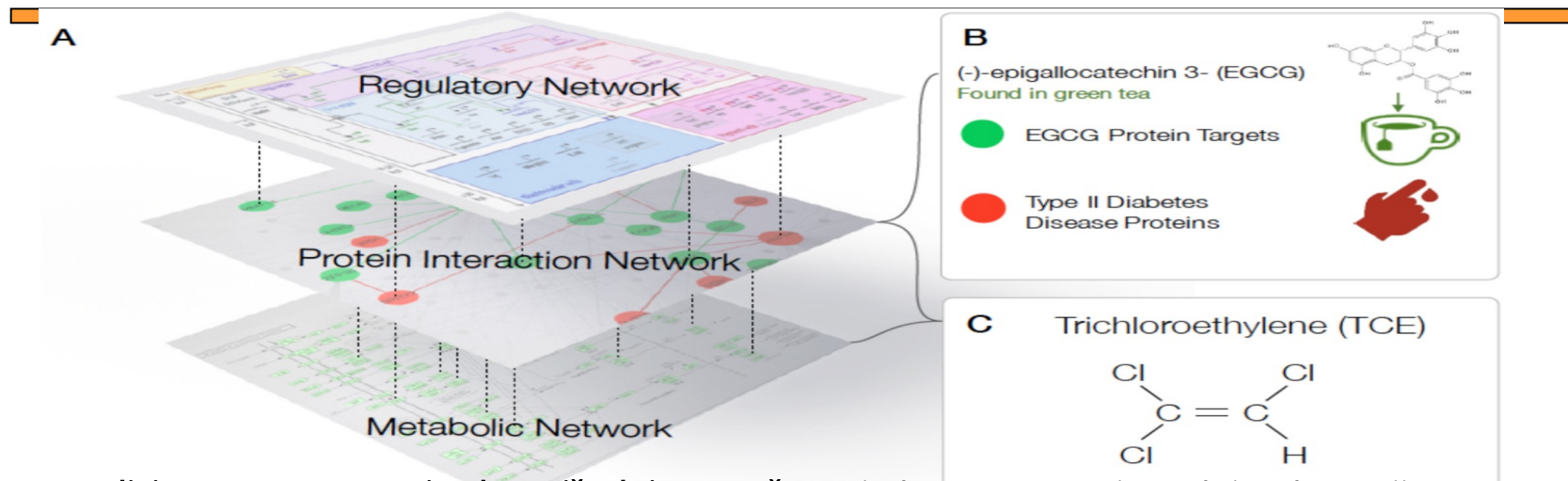


- PRS - analiza visokorizičnih genetičkih varijanti i procjena poligenske ocjene rizika

➤ ESR (*Exposome risk score*) – bi mogao pružiti podatke na izloženost kemijskim čimbenicima na temelju bioloških procesa ili organskih sustava.

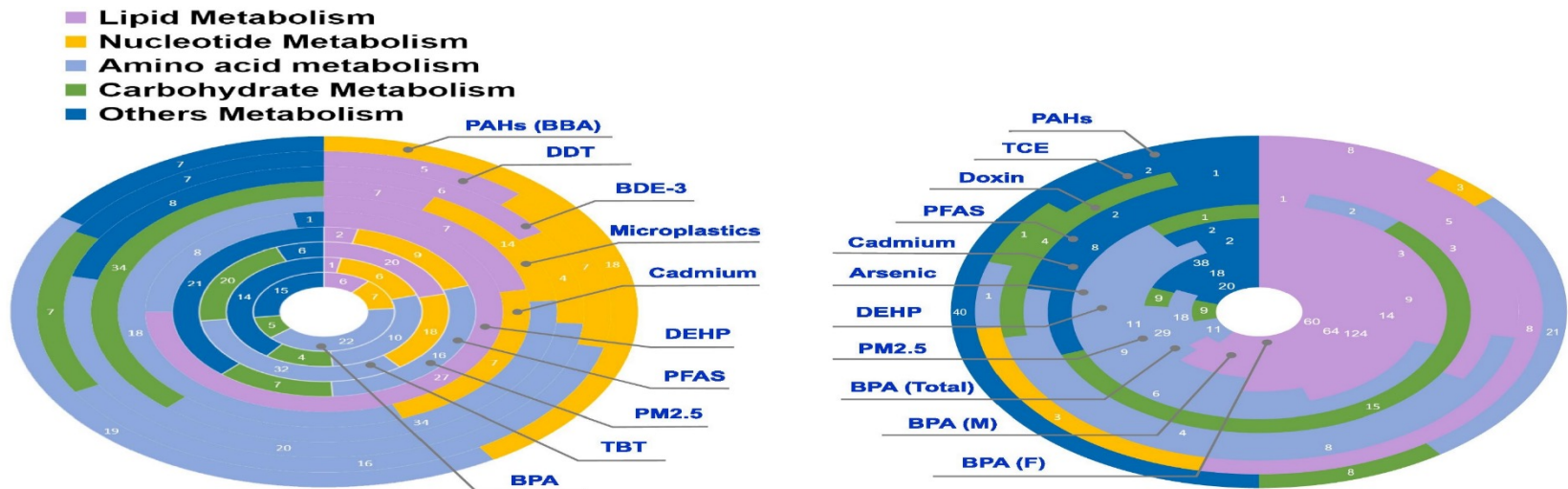
Takvi ERS rezultati, za razliku od PRS-a, bili bi vremenski promjenjivi i dinamični putem izloženosti i osjetljivosti povezanih s dobi

# 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.

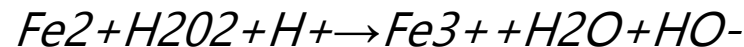
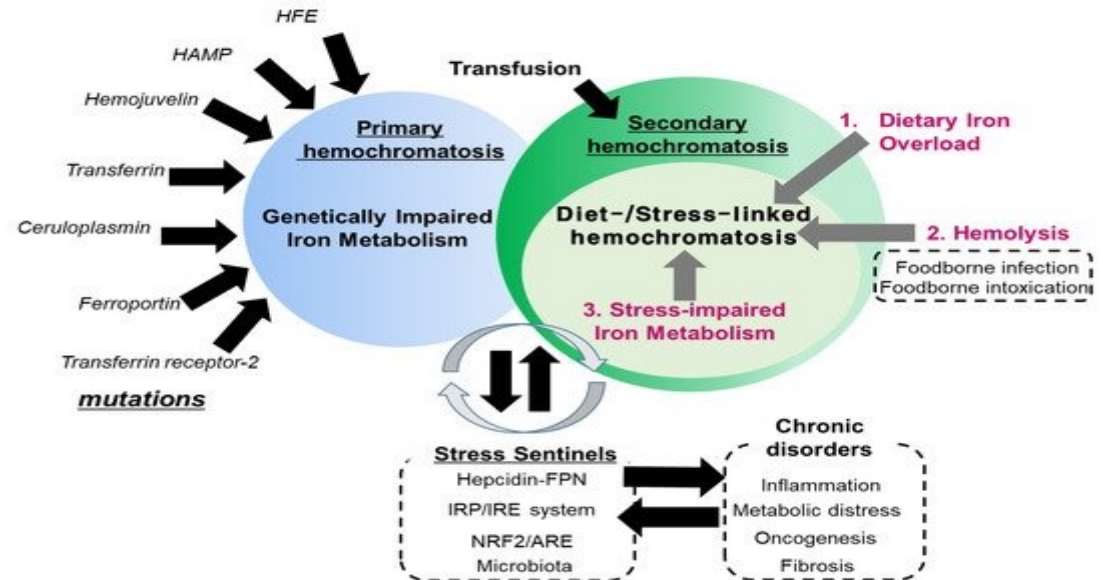
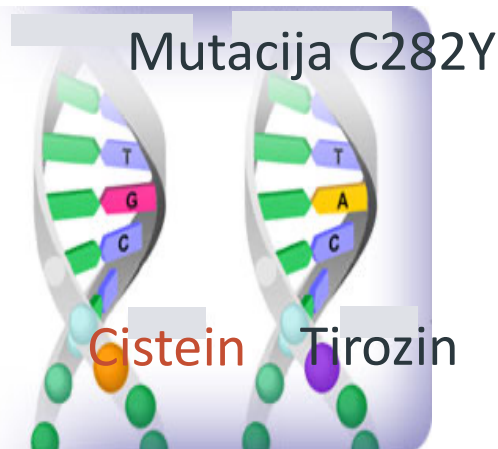
# Kemijski čimbenici i metabolomika



- 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.

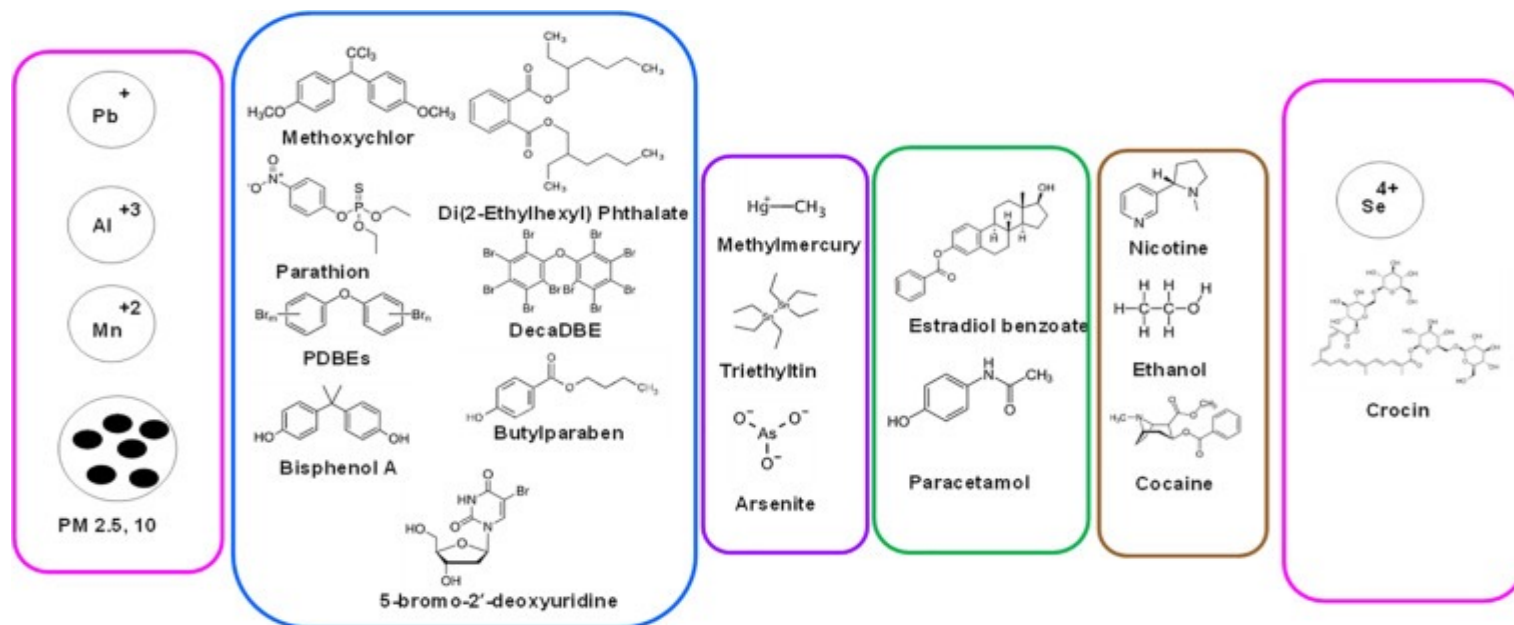
# Kemijski čimbenik - željezo



Preopterećenje Fe – hiperprodukcija superoksida – upala. Pb- oksidativni stres – hemoliza – hemokromatoza (poremećaj enzima superoskid 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

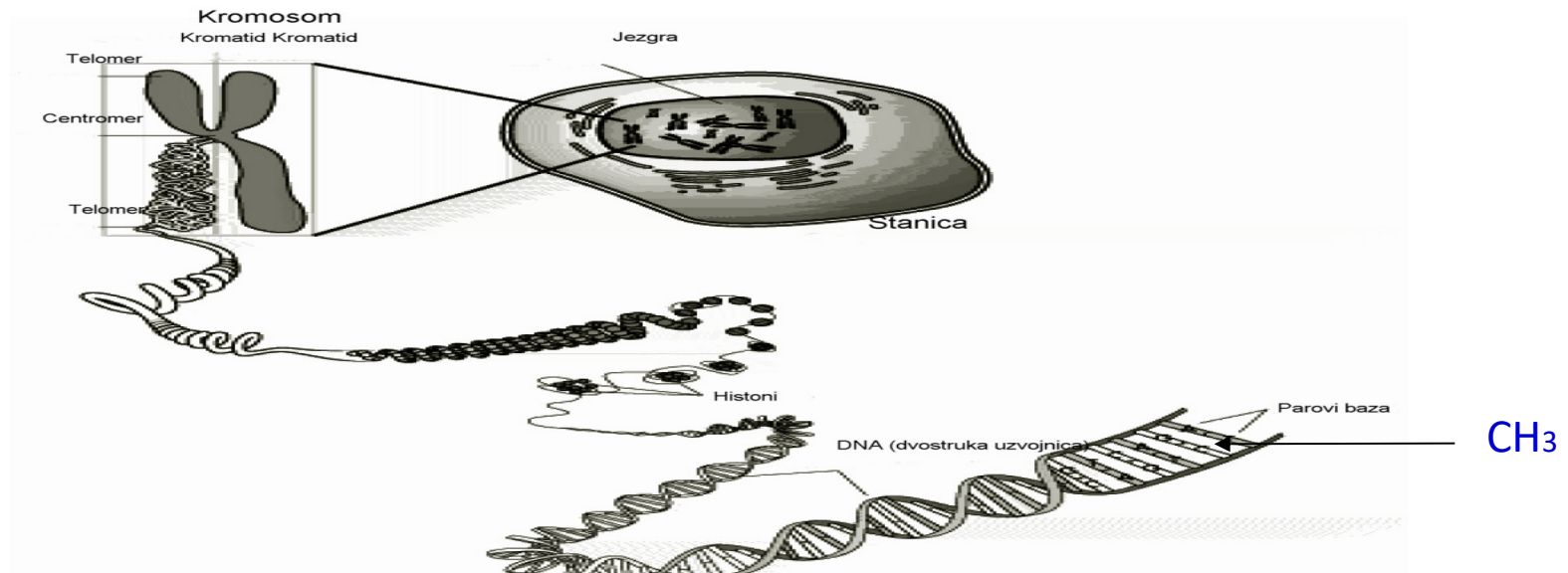
---

- *APOE- ε4*

- Dugotrajna izloženost onečišćenju zraka smanjuje kognitivne sposobnosti starijim osobama

Kulick ER, et al. Long-term Exposure to Ambient Air Pollution, APOE *ε4* status and Cognitive Decline in a Cohort of Older Adults in Northern Manhattan. *Environ Int* 2020.

# Kemijski čimbenici, starenje i epigenomika



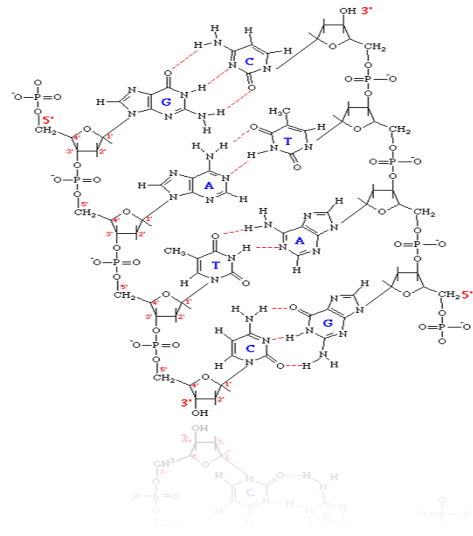
## DNA / Histoni – Kromatin -Telomera

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

Epigenetske modifikacije – generacijski prijenos / epigenetska terapija

# Epigenom

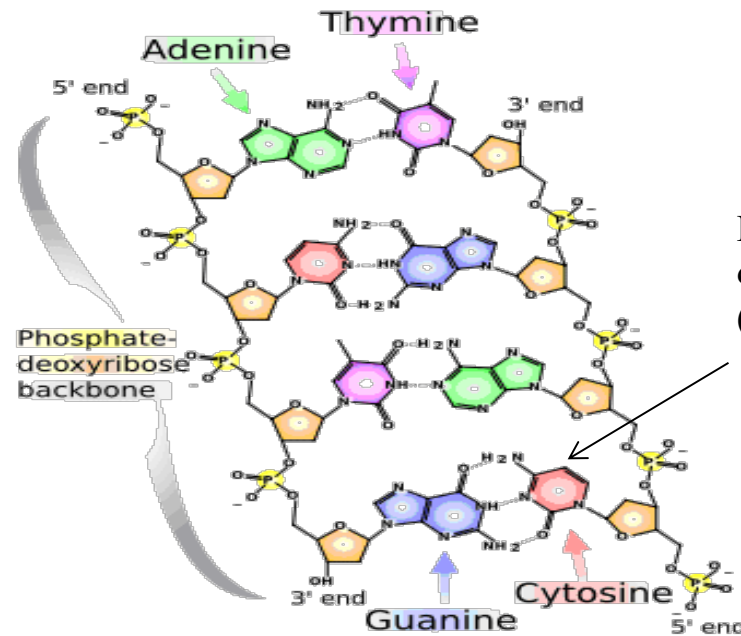
---



- 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- $\gamma$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$

➤ 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- $\gamma$  Expression are Associated with mikroRNA Profiles during Fetal Programming due to Maternal Overweight and Obesity.** Gynecol Obstet Invest 2021.

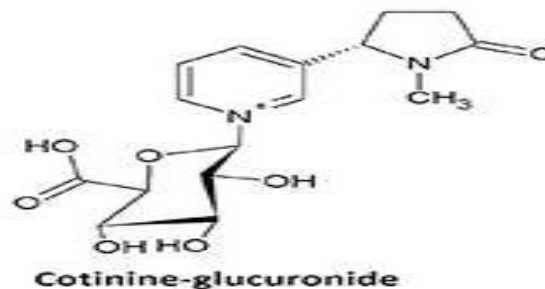
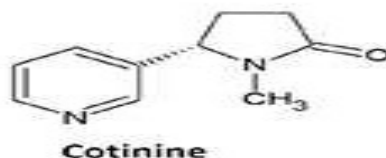
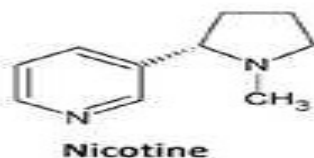
# MTHFR - CVI

- 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.

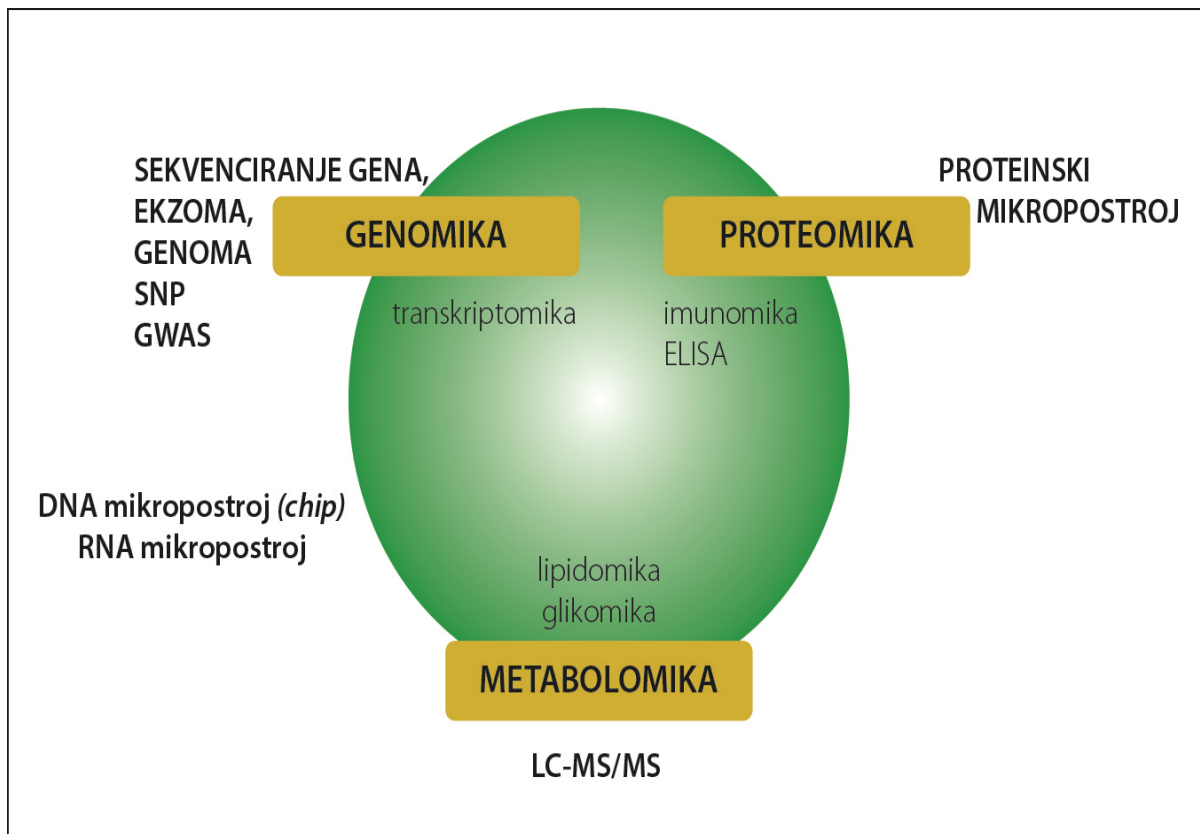
# Epigenetski mehanizmi i liječenje

---

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

# Omics tehnologije – GWAS /EWAS

---



# Živjeti zdravo u svijetu kemijskih čimbenika

---

- BIOMONITORING

- EKSPOSOM

---

Hvala na pozornosti!