

2. Caracterització de l'exposoma

L'exposició de l'exposoma s'avalua habitualment mitjançant un ventall de dades de qüestionaris i mesures ecològiques, ambientals o biològiques.

2.1. L'EXPOSOMA QUÍMIC

LÉA MAITRE
CRISTINA BALCELLS NADAL

Un subconjunt important de l'exposoma és el que sovint anomenem *exposoma químic*. Aquest engloba totes les espècies químiques d'origen biològic o sintètic (i els seus productes de transformació) que poden entrar al cos humà per diferents vies com ara per ingestió, inhalació o absorció dèrmica. Aquestes molècules poden provenir de fonts com ara la dieta, els medicaments i els suplementes dietètics, els productes de cura personal i de consum (PCPC), així com de l'aigua o de substàncies que hi ha en l'aire.

Les tècniques més adients per a mesurar aquests compostos químics en teixits humans o biofluids són la cromatografia líquida (LC) i la cromatografia de gasos (GC), acoblades a l'espectrometria de masses en tàndem o d'alta resolució (MS/MS o HRMS, respectivament), i l'espectroscòpia de ressonància magnètica nuclear (RMN) (Balcells *et al.*, 2024). Amb els anys, aquestes tècniques analítiques han anat evolucionant des de mètodes que analitzen i quantifiquen simultàniament i amb precisió poques desenes de metabòlits o compostos químics, l'anàlisi dels quals s'ha optimitzat prèviament (mètodes dirigits), fins a mètodes d'ample abast que analitzen milers de compostos químics en un bioespècimen, sense necessitat de cap coneixement *a priori* sobre aquests compostos (mètodes no dirigits). A les seccions següents, es comen-

ten exemples i aplicacions actuals d'ambdós tipus de mètodes en exposòmica.

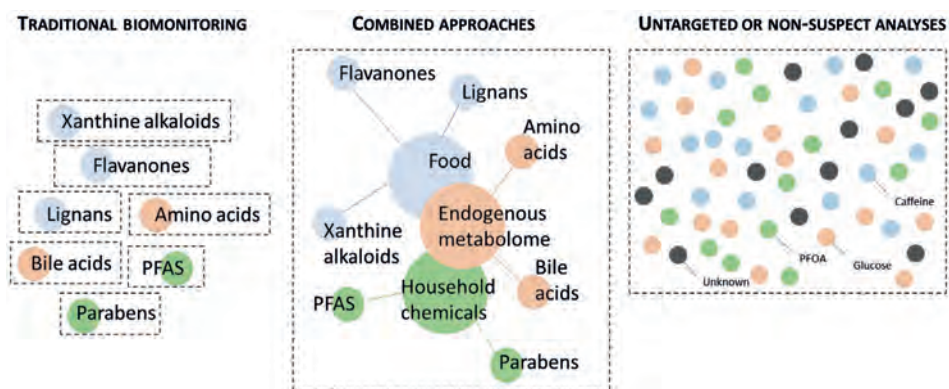


FIGURA 3. Evolució de la caracterització de l'exposoma químic.

FONT: Elaboració de Cristina Balcells Nadal.

Anàlisis dirigides o biomonitoratge tradicional

La mesura dels indicadors biològics d'exposició, que avalua les dosis interioritzades per l'ésser humà, és sovint més emprada que la mesura del corresponent compost d'exposició en l'ambient, degut a la relació directa de l'indicador biològic amb els efectes en la salut causats pel compost d'exposició corresponent. Les mesures analítiques convencionals, conegudes comunament com a *anàlisis dirigides*, avaluen la concentració de substàncies químiques, metabòlits o productes de reacció específics en medis biològics (biofluids) com l'orina o la sang. Aquests mètodes de biovigilància establerts s'han convertit en un element fonamental de l'avaluació de l'exposició en nombroses investigacions epidemiològiques amb l'objectiu d'establir connexions entre les exposicions i els seus efectes en la salut.

Els mètodes quantitius dirigits encara s'utilitzen àmpliament a l'hora de mesurar l'exposoma químic, a causa de la necessitat d'obtenir dades de biovigilància fiables i el desig de proporcionar dades quantitatives de les associacions entre l'exposició química i els seus efectes adversos sobre la salut a les autoritats reguladores i els responsables polítics. Nombroses agències governamentals o laboratoris nacionals d'arreu del món publiquen periòdicament dades de biovigilància de l'exposició química en les seves poblacions (PARC a la UE o NHANES als EUA). La majoria dels mètodes analítics dirigits utilitzats per a caracteritzar l'exposoma estan enfocats a la determinació de diferents grups o famílies de com-

postos d'exposició establerts. Normalment, aquests mètodes mesuren un únic compost o fins a unes quantes desenes de compostos. A més a més, solen estar validats per a un biofluid o matriu específics, i poden tenir com a objectiu la caracterització de molècules de diferents orígens, des de metabòlits endògens o metabòlits dietètics fins a productes químics sintètics.

Alguns exemples de les famílies més comunes de compostos d'exposició química monitorades per les principals iniciatives de biovigilància actualment són:

- *Plastificants*: ftalats.
- *Productes de combustió*: hidrocarburs aromàtics policíclics (HAP).
- *Compostos del fum del tabac*: nitrosamines específiques del tabac (TSNA), cotinina, amines aromàtiques heterocícliques (HAA).
- *Plaguicides, insecticides i repellents d'insectes*: piretroides, pesticides organoclorats, plaguicides de dialquil fosfat i altres pesticides organofosforats, insecticides carbamats, repellents d'insectes i metabòlits (DEET).
- *Herbicides*: atrazina i metabòlits, 2,4-D, 2,4,5-T i metabòlits, sulfonilurea i els seus metabòlits.
- *Fungicides*.
- *Compostos d'origen industrial i PCCP*: substàncies perfluorades i polifluorades (PFAS), parabens, ftalats, bisfenols.
- *Compostos farmacèutics*.
- *Productes naturals*: micotoxines, fitoestrògens.
- *Compostos provinents de múltiples fonts*: compostos orgànics volàtils (COV) i els seus metabòlits, bifenils policlorats (PCB), dibenzodioxines policlorades (PCDD) i dibenzofurans.

Una altra font important d'exposició química és la dieta. Alguns dels biomarcadors (metabòlits) més reproduïbles de la ingesta d'aliments són:

- *Ingesta de cafè, te o cacau*: cafeïna, teobromina, teofil·lina.
- *Ingesta de carn*: àcids grassos específics i compostos derivats d'aminoàcids.
- *Ingesta de peix*: àcids grassos específics i compostos derivats d'aminoàcids.
- *Fruita i verdures*: flavones, flavanones, cumarines.

Anàlisis dirigides d'enfocament combinat

L'establiment i l'expansió d'aquestes tècniques analítiques com a tècniques idònies per a la mesura de la majoria de molècules petites (< 2 kDa), independentment del seu origen, ha obert el camí per a iniciatives enfocades a desenvolupar mètodes que cobreixin ventalls molt més amplis de l'espai químic en un únic assaig analític. D'aquesta manera, i amb l'aparició d'una instrumentació més sensible i amb més velocitat d'escaneig, els assajos dirigits, que normalment tenien com a objectiu una única família química, esmentats en la secció anterior, estan

donant pas a estratègies dirigides més completes, que pretenen capturar simultàniament diverses famílies de molècules del metaboloma endogen, el metaboloma alimentari, el metaboloma derivat de la microbiota, els productes farmacèutics, els contaminants ambientals o els productes químics domèstics.

Anàlisis no dirigides o no sospitoses

Uns quants centenars de substàncies químiques mesurables de manera rutinària mitjançant mètodes analítics dirigits, els enfocaments no dirigits, o d'exposoma, són suficients per a entendre els milers de substàncies químiques a les quals s'exposen les persones diàriament a través d'exposició directa o a conseqüència d'aquesta (per exemple, marcadors d'estrès oxidatiu). A més, tota la informació que es pot obtenir a partir de mètodes dirigits, fins i tot els d'abast més ampli, és per definició sobre molècules prèviament caracteritzades, fet que limita el potencial de descobriment de compostos d'exposició desconeguts o noves biotransformacions d'aquests compostos. Mitjançant enfocaments de biovigilància no dirigits com la metabolòmica d'alta resolució, es poden analitzar milers d'espècies químiques utilitzant una quantitat relativament petita de biofluid ($\leq 100 \mu\text{L}$) i pel cost d'una única anàlisi de biovigilància tradicional dirigida a la determinació de 8-10 productes químics objectiu.

En principi, la metabolòmica d'alta resolució proporciona la descripció més completa possible de la composició molecular d'una mostra que inclou biomarcadors d'exposició exògena i metabòlits endògens que, en conjunt, constitueixen un component important de l'exposoma intern. Aquest camp es troba actualment en una fase de ràpid desenvolupament, capaç de mesurar i anotar (assignar una identitat química) entre centenars i milers de molècules petites en cada assaig analític. Això permet revelar factors de risc químics «desconeguts» de la malaltia (és a dir, encara no identificats com a factors de risc sospitosos i sense eines de mesura d'alta precisió disponibles). Un dels principals reptes a l'hora de mesurar l'exposoma químic és cobrir l'ampli rang d'abundància de compostos al cos humà. La concentració de metabòlits endògens, biomarcadors alimentaris i fàrmacs presents a la sang pot abastar uns vuit ordres de magnitud; tanmateix, quan es combina amb contaminants ambientals, el rang necessari per a detectar tots els compostos de l'exposoma humà presents al cos creix a més de deu ordres de magnitud des de femtomols fins a mil·limols (Rappaport *et al.*, 2014). Això supera entre deu mil i cent mil vegades el rang dinàmic lineal dels espectròmetres de masses moderns. Tanmateix, els avenços recents en la ciència de la separació, que han augmentat la resolució dels mètodes de separació existents (cromatografia líquida d'alt rendiment, UPLC) i la complexitat de les dades per a detectar més compostos (espectrometria de mobilitat iònica, IMS), estan abordant aquest pro-

blema. Una altra estratègia ha estat l'ús de l'espectrometria de masses d'(ultra) alta resolució (U)HRMS, que permet augmentar radicalment el nombre de senyals químics detectats i la resolució de masses, amb instruments com orbitraps i la ressonància d'ió ciclotró de transformada de Fourier (FT). Altres opcions per a augmentar el nombre de característiques obtingudes és combinar fases estacionàries complementàries (p. ex., cromatografia de fase inversa i HILIC, o GC i UPLC) o eliminar anàlits abundants i concentrar compostos d'exposoma poc abundants com els que s'utilitzen en anàlisis dirigides o «semidirigides», que inclouen en l'anàlisi la mesura d'estàndards analítics que permeten la quantificació d'una part de les molècules mesurades en una anàlisi no dirigida (Gil-Solsona *et al.*, 2021).

Finalment, el desenvolupament de bases de dades d'espectres de masses (també anomenades *biblioteques espectrals*) ha comportat una millora en l'anotació de nous senyals químics —cada pic cromatogràfic d'una massa determinada, o ràtio massa/càrrega (m/z), amb un espectre de fragmentació concret— que poden correspondre a nous compostos. Sovint anomenada *matèria fosca*, la majoria dels senyals mesurats per espectrometria de masses no dirigida no es poden anotar a un compost concret. De fet, s'ha establert un criteri unificat per a definir el nivell de confiança en l'anotació de qualsevol molècula. Aquest nivell de confiança pot variar des de desconegut (si es coneix únicament la massa de la molècula, nivell 5); fórmula molecular coneguda (si la podem deduir del seu patró isotòpic experimental, nivell 4); compost amb grups funcionals coneguts o amb classe química assignada (si certs fragments diagnòstics es poden assignar inequívocament, nivell 3); estructura probable assignada (si el patró de fragmentació experimental s'assembla objectivament al del corresponent compost en una biblioteca espectral, nivell 2), o, finalment, anotació validada, si s'ha comparat amb el senyal que produeix un estàndard analític analitzat amb el mateix mètode (nivell 1) (Schymanski *et al.*, 2014).

De fet, més de quaranta milions de compostos figuren a bases de dades com PubChem i ChemSpider, però només per un de cada cent hi ha espectres disponibles. Les bases de dades que capturen tot el metaboloma estan ampliant les biblioteques de compostos endògens amb tòxics ambientals, contaminants i suplements alimentaris, fàrmacs i els seus productes de biotransformació (METLIN; The Human Metabolome Database (HMDB); Warth *et al.*, 2017) i també hi ha bases de dades metabòliques dedicades a biomarcadors d'exposició a factors de risc ambiental (per exemple, <http://exposome-explorer.iarc.fr>). A més, hi ha altres eines que es basen o inclouen dades de característiques químiques addicionals dels compostos, com ara patrons de fragmentació (espectrometria de masses en tàndem, MS/MS) experimentals o predits computacionalment, massa exacta (HRMS), modelització del temps de retenció o mobilitat iònica (secció transversal de col·lisió, CSS). Recentment, a aquestes eines també s'hi ha afegit l'ajuda de

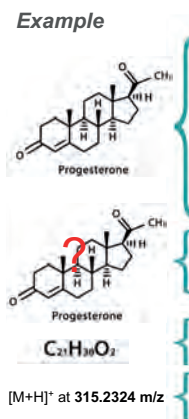
Example	Identification confidence	Minimum data requirements
	Level 1: Confirmed structure by reference standard	MS, MS ² , RT, Reference Std.
	Level 2: Probable structure a) by library spectrum match b) by diagnostic evidence	MS, MS ² , Library MS ² MS, MS ² , Exp.data
	Level 3: Tentative candidate structure, substituent, class	MS, MS ² , Exp. data
	Level 4: Unequivocal molecular formula C ₂₁ H ₃₀ O ₂	MS isotope/adduct
	Level 5: Exact mass of interest [M+H] ⁺ at 315.2324 m/z	MS

FIGURA 4. Nivells de confiança en la identificació de compostos en espectrometria de masses d'alta resolució.

FONT: Elaboració de Cristina Balcells Nadal.

la computació avançada i l'aprenentatge automàtic, per a ajudar a identificar els compostos descoberts en anàlisis no dirigits (Dührkop *et al.*, 2015).

2.2. L'EXPOSOMA URBÀ

L'any 2030, més del 80 % de la població europea viurà en un entorn urbà. A mesura que la urbanització s'accelera a tot el món, cada cop esdevé més crucial entendre la complexa xarxa d'exposicions dins de l'entorn urbà. L'exposoma urbà encapsula la infinitat de factors que configuren la salut dels habitants de les ciutats, més enllà de les avaluacions de risc ambientals tradicionals. En l'enrenou de la vida urbana, els individus estan sotmesos a una gran varietat d'exposicions, des de la contaminació de l'aire i el soroll, fins al desert alimentari (zona on l'accés a aliments assequibles i saludables és limitat) i les disparitats socioeconòmiques. Tradicionalment, la investigació sanitària en entorns urbans ha destacat exposicions com l'entorn social, la contaminació de l'aire interior i exterior, el soroll, la calor, la manca d'espais verds i blaus o la contaminació de l'aigua i els aliments. L'aplicació del concepte *exposoma* al domini de l'entorn urbà ofereix l'oportunitat d'establir les interrelacions entre aquestes característiques i les seves causes i investigar com aquestes contribueixen conjuntament a la salut individual.

L'avaluació de les exposicions exògenes en la població pot proporcionar estimacions d'exposició a escala local en àrees geogràfiques àmplies, la qual cosa permet grans investigacions epidemiològiques que vinculen les exposicions amb els resultats de salut. En general, l'avaluació de l'exposició en la població es basa en la