MOLECULAR PREVENTION OF CHRONIC NON-COMMUNICABLE DISEASES: HOW CLOSE ARE WE?

MOLEKULARNA PREVENCIJA HRONIČNIH NEZARAZNIH BOLESTI: KOLIKO SMO BLIZU?

Tatjana Pekmezović

Summary

Chronic non-communicable diseases (CNDs) are a leading cause of death worldwide; preterm mortality in people younger than 70 years accounts for 40% of the total of 38 million deaths due to CNDs. Heterogeneity and complexity of CNDs cause shifting the prevention focus towards the molecular level in order to contribute to the global decrease of disease burden. Given that fact, the aims of molecular prevention are determination of crucial genetic, epigenetic and environmental factors that influence different responses to agents, as well as those that modify responses to agent exposure and tendency of development of chronic diseases. Also, it is important to mention the recognition of new pathways of pharmacologic modulation.

Although basic postulates of molecular preventions are still at their beginning, the fact that significant results in the field of clarifying CNDs etiology and early pathogenesis, risk assessment and modeling, as well as targeting of agents with high preventable efficacy have already been achieved, it is clear that there is a possibility to decrease CNDs burden in the earliest phases of its natural course. Accordingly, it is important to change the belief that a person without clinical symptoms and signs of disease is necessarily healthy. On the other hand, there is a need to balance the risks and health; molecular prevention has its own place in that interspace. Studies investigating the effects of potential preventive measures at molecular level have clearly determined high-risk cohorts, outcomes and other design elements, similarly to clinical studies. There is an intensive development of new research fields, like nutrigenomics which investigates the impact of diet on metabolic pathways and homeostasis, that is, their regulation in early stages of diseases associated with nutrition, as well as the level of susceptibility of person with certain genotype to those diseases.

The investigations in the fields of molecular prevention may contribute to new biomarkers development or help the setting of strategies for CNDs molecular prevention and nanotherapy. In other words, they represent the marker of genomics applying in population sciences.

Keywords: chronic non-communicable diseases, molecular prevention, gen-environment interaction, nutrigenomics, nutrigenetics

Sažetak

Hronične nezarazne bolesti (HNB) su vodeći uzrok umiranja na globalnom nivou; od 38 miliona smrtnih ishoda u svetu zbog HNB, više od 40% čini prevremeni mortalitet koji se odnosi na osobe mlađe od 70 godina. Heterogenost i kompleksnost HNB sve više uslovljavaju pomeranje fokusa prevencije ka molekularnom nivou, doprinoseći na taj način globalnom smanjenju opterećenja populacije bolestima. Stoga su ciljevi istraživanja u okviru molekularne prevencije utvrđivanje ključnih genetskih, epigenetskih i sredinskih faktora koji utiču na različite odgovore na agense, odnosno onih koji modifikuju odgovore na izloženost agensima i sklonost ka razvoju hroničnih bolesti, a prepoznaju se i novi putevi za farmakološku modulaciju.

Iako su bazične postavke molekularne prevencije još uvek u početku, činjenica da su postignuti značajni rezultati na polju rasvetljavanja etiologije i rane patogeneze HNB, u proceni rizika i njegovom modelovanju, targetovanju agenasa sa širokom preventivnom efektivnošću, jasno ukazuju na mogućnost smanjenja bremena HNB u najranijim fazama njihovog prirodnog toka. U skladu s tim, značajna je i promena uverenja da osoba bez vidljivih simptoma i znakova bolesti ne mora nužno biti zdrava, odnosno da postoji potreba za balansiranjem između rizika i zdravlja i da u tom međuprostoru molekularna prevencija ima svoje mesto. Studije u kojima se testira efekat potencijalnih preventivnih sredstava na molekularnom nivou, slično kliničkim studijama, kao ključne determinante imaju jasno definisane visokorizične kohorte, ishode i druge elemente dizajna. Intenzivno se razvijaju nove oblasti, kao što je npr. nutrigenomika, koja proučava uticaj ishrane na metaboličke puteve i homeostazu, odnosno njihovu regulaciju u ranim stadijima bolesti povezanih sa ishranom, kao i stepen do koga je osoba sa odgovarajućim genotipom podložna ovim bolestima.

Istraživanja u oblasti molekularne prevencije mogu da doprinesu otkrivanju novih biomarkera, pomažu u formulisanju strategija za molekularnu prevenciju HNB i nanoterapiju, odnosno predstavljaju putokaz za aplikaciju genomike u populacionim naukama.

Ključne reči: hronične nezarazne bolesti, molekularna prevencija, interakcije gen-sredina, nutrigenomika, nutrigenetika

Uvod

Heterogenost i kompleksnost mnogih hroničnih nezaraznih bolesti (HNB) uslovljavaju pomeranje fokusa njihove prevencije prema molekularnom nivou, doprinoseći na taj način globalnom smanjenju opterećenja populacije bolestima. S druge strane, molekularna prevencija je fokusirana na otkrivanje ključnih genetskih, epigenetskih, stohastičkih i sredinskih činilaca, koji modifikuju odgovore na izloženost agensima i sklonost ka razvoju hroničnih bolesti.

HRONIČNE NEZARAZNE BOLESTI U SVETU I SRBIJI

Hronične nezarazne bolesti (HNB) su vodeći uzrok umiranja na globalnom nivou, kako u nerazvijenim, tako i u zemljama u razvoju (1). Od 38 miliona smrtnih ishoda zbog HNB u svetu, na godišnjem nivou, više od 40% (16 miliona) čini prevremeni mortalitet koji se odnosi na osobe mlađe od 70 godina (1). Prevalencija HNB je takođe u porastu. Preko 70% svih smrtnih ishoda širom sveta posledica su različitih kardiovaskularnih oboljenja (17,5 miliona smrtnih slučajeva godi-

šnje), malignih bolesti (8,2 miliona smrtnih slučajeva godišnje), moždanog udara (6 miliona smrtnih slučajeva godišnje), dijabetesa (1,5 miliona smrtnih slučajeva godišnje) i hronične opstuktivne bolesti pluća (HOBP) (4 miliona smrtnih slučajeva godišnje) (1). U Republici Srbiji, najčešćih pet uzroka prevremene smrtnosti su ishemijska bolest srca, moždani udar, kardiomiopatije, karcinom pluća i samopovređivanje (2). S druge strane, ako se posmatra period od 1990. godine do 2010. godine u našoj zemlji, može se uočiti opadanje smrtnosti od zaraznih bolesti i porast u rangu prevremene smrtnosti, pre svega zbog malignih bolesti, dijabetesa, HOBP-a (3). Različite HNB se međusobno razlikuju u odnosu na broj godina korigovanih u odnosu na onesposobljenost, odnosno broj godina izgubljenog života zbog prevremene smrtnosti i onesposobljenosti. Većinu HNB karakteriše povećanje opterećenja u periodu između 1990. i 2010. godine. Za neke bolesti, broj godina izgubljenog života povećao se za 100% (na primer, Alchajmerova demencija) (3). Suočeni sa ovakvim trendovima, na globalnom nivou donete su različite strategije za borbu protiv HNB. Tako je Svetska zdravstvena organizacija (SZO) postavila 9 meta kada su u pitanju HNB do 2025. godine. Jedna od njih je smanjenje prevremene smrtnosti za 25%, šest se odnosi na redukciju faktora rizika, a dve na dostupnost lekova i medicinskih tehnologija i odgovarajuću pokrivenost populacije (4).

POMERANJE FOKUSA PREVENCIJE OD TRADICIONALNE KA MOLEKULARNOJ

U tradicionalnoj epidemiologiji izloženost i bolest se posmatraju kao dve zavisne varijable. Molekularno-epidemiološki pristup širi vidik i omogućava precizniju kvantifikaciju izloženosti koja se dogodila u prošlosti, kao i rekonstrukciju stepena ekspozicije preko bioloških merenja, odnosno markera izloženosti. S druge strane, postoje klinički ishodi koji se statističkom metodologijom dovode u vezu sa markerima izloženosti. Međutim, ovakvim pristupom je moguće obuhvatiti i prekliničke događaje i sledstveno tome, njihovu prevenciju.

Poseban zamah molekularna epidemiologija dobija mapiranjem humanog genoma, čime se uspostavlja sporna između genetske epidemiologije, kliničke medicine i javnog zdravlja. Projekat humanog genoma imao je kao primarni cilj određivanje tačne sekvence molekula DNK, kao i identifikaciju i mapiranje oko 20.000-25.000 gena ljudskog genoma. Suštinski cilj Projekta bio je uspostavljanje moderne biotehnologije, koja bi doprinela preciznijem postavljanju dijagnoze, lečenju i prevenciji bolesti (5).

Osim otkrivanja najvažnijih genetskih, epigenetskih, stohastičkih i sredinskih činilaca, koji modifikuju odgovore na izloženost agensima i sklonost ka razvoju hroničnih bolesti, istraživanja u oblasti molekularne

prevencije doprinose prepoznavanju novih puteva za farmakološku modulaciju (6). Iako su bazične postavke molekularne prevencije još uvek u začetku, činjenice da su postignuti značajni rezultati na polju rasvetljavanja etiologije i rane patogeneze HNB u proceni rizika i njegovom modelovanju, targetovanju agenasa sa širokom preventivnom efektivnošću, jasno ukazuju na mogućnost smanjenja bremena HNB u najranijim fazama njihovog prirodnog toka. U skladu s tim, značajna je i promena uverenja da osoba bez kliničkih simptoma i znakova bolesti ne mora nužno biti zdrava, odnosno da postoji potreba za balansiranjem između rizika i zdravlja i da u tom međuprostoru molekularna prevencija ima svoje mesto.

Studije u kojima se testira efekat potencijalnih preventivnih sredstava na molekularnom nivou, slično epidemiološkim i kliničkim studijama, kao ključne determinante imaju jasno definisane visokorizične kohorte, ishode i druge elemente dizajna. Sprovođenje molekularno-genetičkih studija regulisano je jasnim smernicama sprovođenja prediktivne dijagnostike, odnosno genetskog skrininga kod zdravih osoba (7). Istraživačke linije idu u smeru populacionog preventivnog sekvenciranja koje ima za cilj da identifikuje faktore podložnosti kod odraslih osoba bez prisutnih poznatih faktora rizika. Drugim rečima, preventivno genetsko sekvenciranje sprovodi se s ciljem da doprinese otkrivanju onih osoba koje nose mutacije za koje ne znaju, a koje predstavljaju predispoziciju za neko potencijalno preventabilno oboljenje (8).

Najranije molekularno-epidemiološke studije potiču iz oblasti malignih tumora (9). Osnovna ideja je da se identifikacijom genetskih polimorfizama pokuša modifikacija asocijacije između izloženosti i bolesti, i na taj način identifikuju segmenti populacije koji su posebno osetljivi na određenu ekspoziciju. Ukoliko se posmatra put između izloženosti sredinskom faktorom rizika i nastanka bolesti, jasno se uočava da uobičajene genetske varijacije, odnosno polimorfizmi, mogu uticati na enzimsku aktivnost u različitim tačkama tog puta. Kao rezultat tih uticaja, može doći do formiranja DNK adukata, ali i njihovog izmicanja enzimima reparacije, što rezultuje mutacijama u kritičnim genima uključenim u kontrolu rasta (10).

Činjenica je da je za mnoge bolesti interakcija gen-sredina ključni događaj u patogenezi. To otvara mogućnost modifikovanja ove interakcije, što bi moglo da predstavlja ključ primarne prevencije (11-15). Na primer, karcinom cerviksa predstavlja, još uvek važan javnozdravstveni problem, uprkos činjenici da se radi o jednoj od najpreventabilnijih i najkurabilnijih malignih bolesti, s obzirom na postojanje vakcine protiv humanog papiloma virusa (HPV) u primarnoj, i efektivnog skrininga u sekundarnoj prevenciji (16). Međutim, treba imati u vidu činjenicu da se kod većine HPV pozitivnih žena ni-

kada ne razvije karcinom cerviksa, dok se kod određenog, mada neuporedivo manjeg broja žena koje nikada nisu bile inficirane HPV, ipak razvija cervikalni kancer (17). To nameće zaključak da i drugi prisutni faktori rizika imaju mogućnost indukovanja bolesti. Jedan od njih je pušenje, nezavisni faktor rizika za nastanak karcinoma cerviksa, bez obzira na seksualno ponašanje i socijalnoekonomski status. Dejstvo pušenja dodatno pojačava interakciju sa HPV (17).

Dobro je poznato da ekspresija virusnih proteina blokira tumor-supresorne gene, čime se kompromituje njihova funkcija u regulaciji ćelijske proliferacije i inicira apoptoza. Ispitivanja u tri populacije sa različitim etničkom strukturom pokazala su da je rizik za pojavu cervikalnog kancera kod žena inficiranih HPV veoma visok, ali i veoma različit, uprkos sličnoj stopi infekcije. Slična je situacija i sa rizikom žena koje puše da dobiju cervikalni kancer. To jasno govori da postoje i neki drugi, etnički, odnosno genetski specifični faktori i da njihov uticaj jasno modifikuje delovanje klasičnih sredinskih faktora rizika (18).

NUTRIGENETIKA I NUTRIGENOMIKA

Hrana, ishrana i nutritivni status se smatraju važnim determinantama i jednim od najodgovornijih faktora rizika za nastanak HNB. Prema podacima SZO, oko 16 miliona (1,0%) godina korigovanih u odnosu na onesposobljenost (engl. DALYs-disability adjusted life years, broj godina zdravog života izgubljenih zbog onesposobljenosti ili pre vremena smrtnosti) i 1,7 miliona (2,8%) smrtnih ishoda na globalnom nivou posledica su nedovoljnog konzumiranja voća i povrća (19). Takođe, procenjuje se da bi smanjenje korišćenja soli u hrani sa 9-12 g/dan, koliko sada iznosi svetski prosek na preporučenih 5 g/dan, moglo da ima ogroman uticaj na krvni pritisak i kardiovaskularne bolesti (19).

U vezi sa navedenim činjenicama, intenzivno se radi na razvijanju novih oblasti, kao što su nutrigenomika i nutrigenetika. Nutrigenomika se bavi proučavanjem uticaja ishrane na metaboličke puteve i homeostazu, odnosno njihovu regulaciju u ranim stadijumima bolesti povezanih sa ishranom, kao i stepen do koga je osoba sa odgovarajućim genotipom podložna ovim bolestima (20). Drugim rečima, nutrigenomika je nauka o delovanju hranljivih materija (nutrijenata) na ekspresiju gena, ili preciznije, otvara se mogućnost za identifikaciju gena koji utiču na rizik od bolesti povezanih sa ishranom (21).

Nutrigenetika pokušava da pruži odgovor zašto hrana i načini ishrane imaju različiti efekat na svakog pojedinca (22). Izučavanje uloge genetskih varijacija u objašnjenju individualne različitosti u odgovoru na ishranu, predstavlja osnovu za proučavanje podložnosti za bolesti koje su povezane sa ishranom. Istorijski gledano,

ishrana je uticala na ekspresiju gena, što je omogućilo formiranje fenotipskih karakteristika koje su uspešno mogle da odgovore na sredinske stimuluse i dozvole efikasniju eksploataciju resursa hrane. Ovakva adaptacija bila je ključna za humani rast i razvoj.

Danas se intenzivno razvijaju tzv. "omics" nauke (transkriptomika, proteomika, metabolomika), koje omogućavaju determinisanje interakcija između nutrijenata i drugih bioaktivnih komponenti hrane i gena, a takve relacije imaju značaja za uspešnije lečenje i personalizovanu ishranu (23). U tom smislu razmišlja se o epigenetskim mehanizmima koji leže u osnovi modifikacije fenotipa, a čija je modulacija moguća preko nutrijenata. Poslednjih godina raste interesovanje za epigenetske mehanizme čija disregulacija može imati značaja za razvoj bolesti u humanoju populaciji (24).

Ako se razmatra tzv. fetalna hipoteza o poreklu bolesti, onda su jasne relacije između ishrane majke, fetalnog epigenetskog programiranja i pojave bolesti u adultnom dobu, odnosno naglašava se da ishrana u najranijim periodima života "programira" neželjene ishode u adultnom periodu. Takvi efekti rane nutritivne izloženosti na rizik za adultnu gojaznost, hipertenziju i insulinsku rezistenciju, pokazani su na različitim animalnim modelima (24).

U oblasti nutrigenomike, aktivno se traga za tzv. "genomic-based" fenotipskim biomarkerima, koji bi bili validni i omogućili ranu detekciju, ili tačnije, otkrivanje bolesti u prekliničkoj fazi i efektivnu primenu strategija ishrane u prevenciji. Kao primer, može poslužiti metabolički sindrom, kompleksna, multifaktorska, poligenska bolest. Naglašava se komplementarnost dva pristupa, ishrane, koja je važna za najranije faze bolesti i očuvanje homeostaze, i lekova, neophodnih za tretman kasnijih faza oboljenja (20).

U istraživanjima u oblasti nutrigenomike primenjuju uglavnom dve strategije. Prva obezbeđuje detaljne podatke na molekularnom nivou o interakcijama između nutrijenata i genoma, dok se u drugoj težište stavlja na humanu ishranu (21). Primenom prvog pristupa identifikuju se transkripcioni faktori koji funkcionišu kao nutritivni senzori i geni koji su njihove mete, otkrivaju se signalni putevi i karakterišu glavni nutritivni signali, meri se genska ekspresija i metaboličke konsekvence specifičnih mikronutrijenata i makronutrijenata, otkrivaju se genotipovi koji su faktori rizika za nastanak bolesti povezanih sa ishranom, kao što su dijabetes, hipertenzija ili ateroskleroza i kvantifikuje njihov uticaj. Drugi pristup uključuje aplikaciju nutritivne biologije u otkrivanju biomarkera rane metaboličke disregulacije i podložnosti koje su pod uticajem ishrane (21, 25).

Inkorporiranje genomike u nutritivnu praksu nudi potencijal za personalizovanu ishranu i pomoć u pre-

venciji, targetovanjem molekularnih mehanizama koji prethode bolesti, a koji odgovaraju na nutriende (21). Najbolji primer za to je fenilketonurija, gde se odgovarajućom ishranom minimiziraju posledice bolesti (26). Kod ovih osoba sprovođenje lečenja ishranom se započinje u prvim danima života, a suština je u doživotnoj primeni specijalnih preparata koji ne sadrže fenilalanin.

Istraživanja u oblasti molekularne prevencije mogu da doprinesu otkrivanju novih biomarkera, preciznijem merenju podložnosti za bolest, odnosno personalizovanoj proceni rizika, novim saznanjima o efektima inter-

akcija gen-sredina i posebno gen-hrana (27). Pored toga, primena genomike u populacionim naukama doprinosi formulisanju novih strategija za prevenciju i kontrolu HNB, koje bi trebalo da pomognu optimizovanju zdravlja, prevencije i lečenja bolesti.

NAPOMENA

Mini simpozijum „Molekularna prevencija hroničnih nezaraznih bolesti: koliko smo blizu?“ održan je na 45. simpozijumu Stremljenja i novine u medicini, Medicinski fakultet u Beogradu, 06.12.2016. godine.

Literatura

1. World Health Organization. Noncommunicable Diseases Progress Monitor 2015. WHO Press; Geneva, Switzerland: 2015.
2. GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2015; 385:117-71.
3. Global burden of diseases, injuries, and risk factors study 2010. GBD profile: Serbia. www.healthmetricsandevaluation.org [Pristupljeno 20.10.2016]
4. About 9 voluntary global targets. WHO Global monitoring framework on NCDs. <http://www.who.int/nmh/ncd-tools/definition-targets/en/> [Pristupljeno 20.10.2016]
5. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 2004; 431:931-45.
6. Karle CA, Duong G, Helms TM. Concept of molecular prevention. *EPMA J* 2014; 5: A48.
7. Cho MK. Preventive genomic sequencing in the general population: Do PGS Fly? *Am J Bioeth* 2015; 15:1-2.
8. Lázaro-Munoz G, Conley JM, Davis AM, Van Riper M, Walker RL, Juengst ET. Looking for Trouble: Preventive Genomic Sequencing in the General Population and the Role of Patient Choice. *Am J Bioeth* 2015; 5:3-14.
9. Furberg AH, Ambrosone CB. Molecular epidemiology, biomarkers and cancer prevention. *Trends Mol Med* 2001; 7:517-21.
10. Maresso KC, Tsai KY, Brown PH, Szabo E, Lippman S, Hawk ET. Molecular cancer prevention: Current status and future directions. *CA Cancer J Clin* 2015; 65:345-383.
11. Sun Z, Mukherjee B, Estes JP, Vokonas PS, Park SK. Exposure enriched outcome dependent designs for longitudinal studies of gene-environment interaction. *Stat Med* 2017. doi: 10.1002/sim.7332.
12. Hunter DJ. Gene-environment interactions in human diseases. *Nat Rev Genet* 2005; 6:287-98.
13. Dai JY, Logsdon BA, Huang Y, Hsu L, Reiner AP, Prentice RL, Kooperberg C. Simultaneously testing for marginal genetic association and gene-environment interaction. *Am J Epidemiol* 2012; 176:164-73.
14. Thomas D. Gene-environment-wide association studies: emerging approaches. *Nat Rev Genet* 2010; 11:259-72.
15. Clayton D, McKeigue PM. Epidemiological methods for studying genes and environmental factors in complex diseases. *Lancet* 2001; 358:1356-60.
16. Vineis P, Wild CP. Global cancer patterns: causes and prevention. *Lancet* 2014; 383:549-57.
17. Au WW, Abdou-Salama S, Sierra-Torres CH, Al-Hendy A. Environmental risk factors for prevention and molecular intervention of cervical cancer. *Int J Hyg Environ Health* 2007; 210:671-8.
18. Huang FY, Kwok YK, Lau ET, Tang MH, Ng TY, Ngan HY. Genetic abnormalities and HPV status in cervical and vulvar squamous cell carcinomas. *Cancer Genet Cytogenet* 2005; 157:42-8.
19. Unhealthy diet. http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/unhealthy_diet_text/en/ [Pristupljeno 20.10.2016]
20. Afman L, Müller M. Nutrigenomics: from molecular nutrition to prevention of disease. *J Am Diet Assoc* 2006; 106:569-76.
21. Muller M, Kersten S. Nutrigenomics: goals and strategies. *Nat Rev Gene* 2003; 4:315-22.
22. Gil A. Molecular Biology and Clinical Nutrition; where do we stand and where do we go? *Nutr Hosp* 2013; 28:241-249.
23. Ferguson LR. The Value of Nutrigenomics Science. *OMICS: J Integrat Biol* 2016; 20:122.
24. Stover P, Caudill MA. Genetic and epigenetic contributions to human nutrition and health: managing genome-diet interactions. *J Am Diet Assoc* 2008; 108:1480-7.
25. Fenech M, El-Sohehy A, Cahill L, Ferguson LR, French TAC, Tai ES, Milner J, Koh WP, Xie L, Zucker M, Buckley M, Cosgrove L, Lockett T, Fung KYC, Head R. Nutrigenetics and Nutrigenomics: viewpoints on the current status and applications in nutrition research and practice. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 2011; 4:69-89.
26. Mitchell JJ, Trakadis YJ, Scriver CR. Phenylalanine hydroxylase deficiency. *Genet Med* 2011; 13:697-707.
27. Kang JX. Future directions in nutrition research. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 2013;6: 1-3.