

WPD

WISSENSCHAFTLICHER
PRESSEDIENST

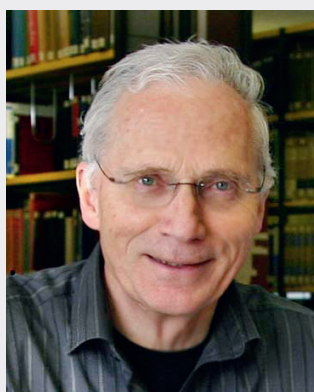
MODERNE ERNÄHRUNG HEUTE

Nr. 1 / Februar 2019

Herausgeber: Prof. Dr. Reinhard Matissek – Lebensmittelchemisches Institut (LCI)
des Bundesverbandes der Deutschen Süßwarenindustrie e.V., Köln

Neues zur Prozesskontaminante Acrylamid

*Aktuelle Forschung zeigt keine Evidenz für die
Genotoxizität bei verbraucherrelevanter Aufnahme
und belegt eine endogene Acrylamidexposition*



Prof. Dr. Gerhard Eisenbrand, Seniorforschungsprofessor i. R.,
Lebensmittelchemie und Toxikologie, und Prof. Dr. Elke Richling,
Leiterin der Fachrichtung Lebensmittelchemie und Toxikologie,
Fachbereich Chemie der Technischen Universität Kaiserslautern

Neues zur Prozesskontaminante Acrylamid

Aktuelle Forschung zeigt keine Evidenz für die Genotoxizität bei verbraucherrelevanter Aufnahme und belegt eine endogene Acrylamidexposition

Prof. Dr. Gerhard Eisenbrand, Seniorforschungsprofessor i. R., Lebensmittelchemie und Toxikologie, und Prof. Dr. Elke Richling, Leiterin der Fachrichtung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Fachbereich Chemie der Technischen Universität Kaiserslautern

ZUSAMMENFASSUNG

Acrylamid (AA) entsteht als sogenannte Prozesskontaminante aus Asparagin und reduzierenden Kohlenhydraten während der Bräunungsreaktion beim Braten, Backen oder Frittieren von stärkehaltigen Lebensmitteln. Es findet sich besonders in erhitzten Kartoffel- und Getreideprodukten sowie in Röstkaffee. Weil Asparagin und reduzierende Zucker in fast jedem Lebensmittel vorhanden sind, ist eine vollständige Unterdrückung der hitzeinduzierten AA-Bildung kaum erreichbar. Prozessveränderungen unter kontrollierten industriellen Herstellungsbedingungen haben in den vergangenen Jahren eine Absenkung der AA-Kontamination bewirkt. Ob dies auch unter normalen Haushaltsbedingungen zu erreichen ist, ist noch nicht ausreichend geklärt.

AA gilt als wahrscheinlich krebserregend beim Menschen. Es wird angenommen, dass die krebserzeugende Wirkung von AA primär auf seiner metabolischen Oxidation zum genotoxischen Metaboliten Glycidamid (GA) beruht. Sowohl AA als auch GA sind hochreaktiv und gehen im Organismus mit zahlreichen Biomolekülen – insbesondere mit Glutathion (GSH) – Bindungen ein. Solche Reaktionen dienen der Entgiftung und tragen dazu bei, dass ein erheblicher Anteil des aufgenommenen AA der metabolischen Aktivierung zum genotoxischen GA entzogen wird. Die GSH-Kopplung sorgt ferner dafür, dass im verbraucherrelevanten Expositionsbereich das in der Leber gebildete GA effektiv entgiftet wird.

Epidemiologische Studien zeigen keine überzeugende Evidenz für eine mögliche Assoziation von erhöhtem Krebsrisiko mit ernährungsbezogener AA-Exposition des Menschen. Die in diesem Beitrag vorgestellten Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass, zumindest im niederen und verbraucherrelevanten Expositionsbereich, die Evidenz gegen einen genotoxischen Mechanismus von AA über die metabolische Bildung von GA spricht. Ob die Genotoxizität von GA für die Tumorbildung im Bereich höherer krebserzeugender Dosen wirklich eine Rolle spielt, ist ungewiss.

Ergebnisse aus Tierversuchen gaben darüber hinaus Grund zu der Annahme, dass AA nicht nur aufgenommen, sondern auch beständig endogen („im Körper selbst“) gebildet wird. Kontrollierte Interventionsstudien bestätigen diese Hypothese auch beim Menschen, bei dem die endogene Exposition in einem Bereich liegt, der der durchschnittlichen Verbraucherexposition über Lebensmittel durchaus nahekommen kann. Auch für weitere Prozesskontaminanten ist bekannt, dass sie im Stoffwechsel gebildet werden können.

EINLEITUNG

Acrylamid (2-Propenamid, AA, CAS-Nr. 79-06-1) ist ein weißes, geruchloses, kristallines Pulver mit einem Schmelzpunkt zwischen 84 und 86°C, löslich in Wasser und Ethanol. Der Stoff war vor allem als monomeres Grundbaustein für Kunststoffmaterialien aus Polyacrylamid in unterschiedlichsten technischen Anwendungen bzw. Verbraucherprodukten bekannt, bis eine schwedische Arbeitsgruppe entdeckte, dass AA während der Bräunungsreaktion beim Braten, Backen oder Frittieren von stärkehaltigen Lebensmitteln als sogenannte Prozesskontaminante entsteht [1].

Als Folge seiner leichten Bildung beim Erhitzen von Lebensmitteln findet sich AA besonders in erhitzten Kartoffelprodukten wie Bratkartoffeln, Pommes Frites, Kartoffelchips, aber auch in Cerealien und Brot (vor allem Knäckebrot) und in Röstkaffee [2,3].

AA entsteht dabei aus Asparagin und reduzierenden Kohlenhydraten über eine Sequenz gut untersuchter thermisch induzierter Reaktionen im Rahmen der Maillard Reaktion (siehe Abbildung 1). Reduzierende Zucker sind Mono-, Di- oder Oligosaccharide, die in Lösung eine freie Aldehydgruppe besitzen. Zu den reduzierenden Zuckern gehören beispielsweise Glucose und Galactose, Fructose, Maltose und Lactose.

Weil beide Ausgangsstoffe, Asparagin und reduzierender Zucker, in fast jedem Lebensmittel vorhanden sind, ist eine vollständige Unterdrückung der hitzeinduzierten AA-Bildung kaum erreichbar. Prozessveränderungen unter kontrollierten industriellen Herstellungsbedingungen haben in den vergangenen Jahren eine Absenkung der AA-Kontamination bewirkt. Noch nicht ausreichend geklärt ist, ob dies auch unter normalen Haushaltsbedingungen zu erreichen ist.

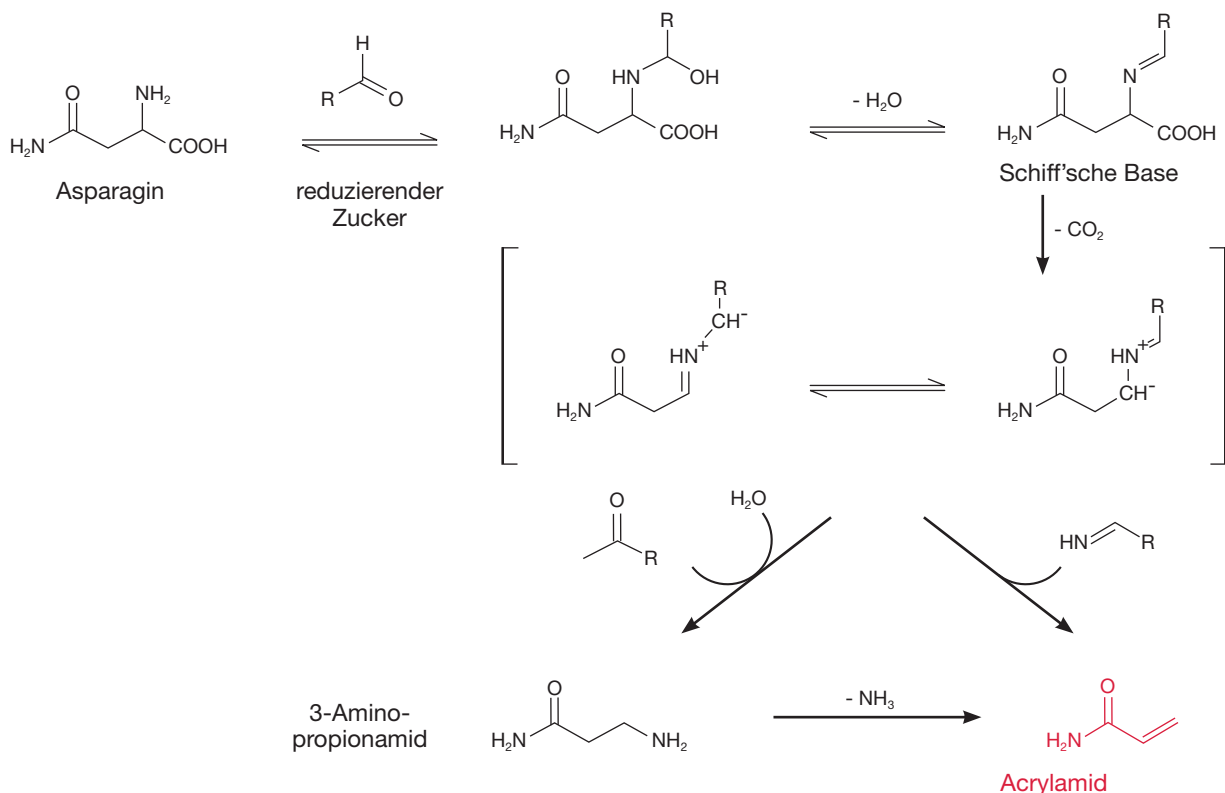


Abbildung 1: Hitzeinduzierte Bildung von Acrylamid (AA) in Lebensmitteln

Der Begriff Prozesskontaminanten wurde geprägt für Schadstoffe, die bei Prozessen der Lebensmittelbehandlung entstehen. Er umfasst neben Acrylamid (AA) z. B. N-Nitrosoverbindungen (NOC), polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK), heterocyclische aromatische Amine (HAA), Acrolein, Furan, Chlorpropanole/-ester (Beispiel MCPD/-ester) und Glycidol/-ester. Während für den Großteil dieser Kontaminanten die durchschnittliche Verbraucherexposition heute als wenig besorgniserregend angesehen wird, ist dies bei AA nicht der Fall.

Außer über die Nahrung können Verbraucher auch über passive oder aktive inhalative Exposition mit Tabakrauch exponiert sein, der viele dieser Stoffe in zum Teil beträchtlicher Menge enthält.

DIE BEDEUTUNG DES METABOLISMUS FÜR DAS GEFÄHRDUNGSPOTENTIAL VON ACRYLAMID

AA gilt als wahrscheinlich krebserregend beim Menschen. Es wird angenommen, dass die krebs-erzeugende Wirkung von AA primär auf seiner metabolischen Oxidation zum genotoxischen Metaboliten 2,3-Epoxy-propanamid oder Glycidamid (GA) beruht. Dies geschieht nach Aufnahme und Resorption von AA primär in der Leber, wo vor allem Cytochrom P 450 2 E1 (CYP450 2E1) für die Epoxidierung zum GA verantwortlich ist. Sowohl AA als auch GA sind hochreaktiv und können im Organismus mit zahlreichen Biomolekülen, wie Aminosäuren, Peptiden (Hauptvertreter Glutathion, GSH), mit Plasma-proteinen wie Albumin sowie mit dem Blutfarbstoff Hämoglobin (Hb) in den roten Blutkörperchen kovalente Bindungen eingehen.

AA → GA: Maus > Ratte > Mensch; GS-Addukt → Mercaptursäurebildung: Mensch > Nagetiere

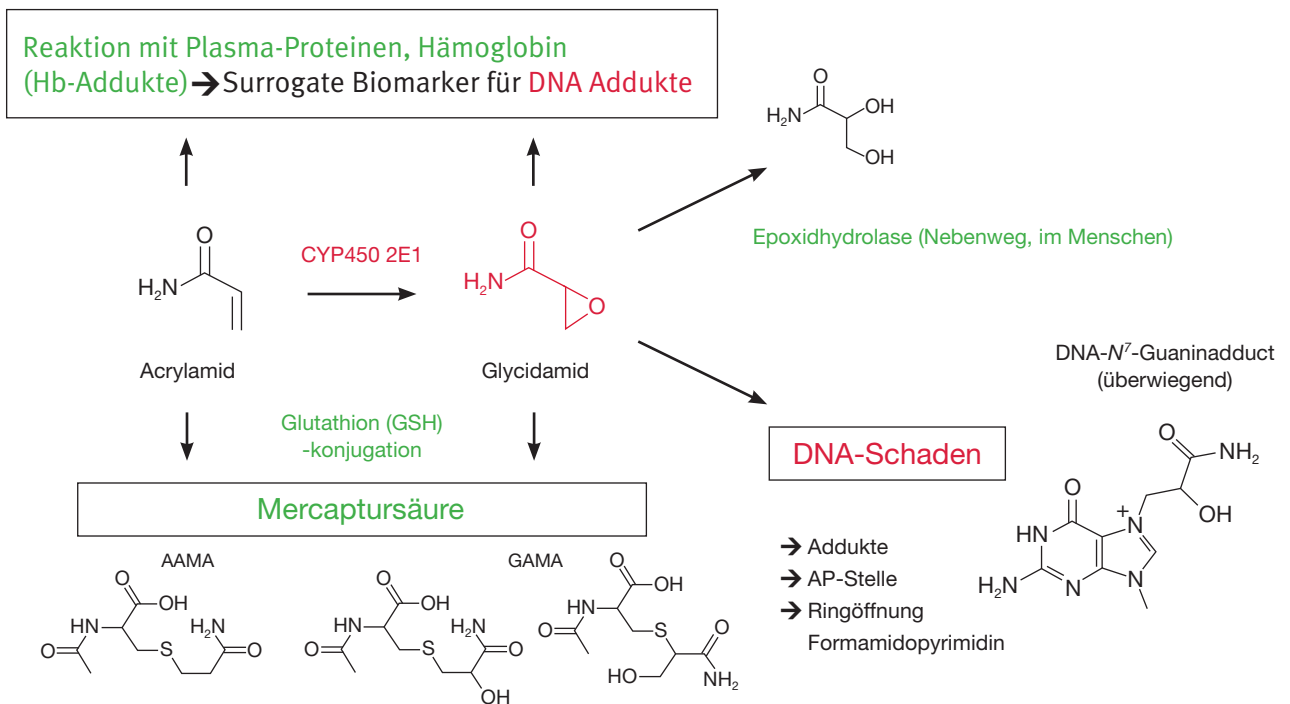


Abbildung 2: Metabolismus von Acrylamid: Giftung / Entgiftung

Solche Reaktionen mit körpereigenen Stoffen, bei denen vor allem die Reaktion mit Glutathion (GSH) im Vordergrund steht, gelten als Entgiftungsreaktionen. Sie tragen dazu bei, dass ein erheblicher Anteil des aufgenommenen AA der metabolischen Aktivierung zum genotoxischen GA entzogen wird (siehe Abbildung 2, Seite 4).

GSH-Addukte von AA bzw. GA werden metabolisch zu den entsprechenden Mercaptursäuren (MA) umgewandelt und im Urin ausgeschieden. Aus AA entsteht als MA das N-acetyl-S-(2-carbamoylethyl)-L-cystein (AAMA) und aus GA das N-acetyl-S-(2-hydroxy-2-carbamoylethyl)-L-cystein (GAMA). GA wird beim Menschen in kleinen Anteilen zusätzlich durch Epoxidhydrolasen zum sogenannten Glyceramid entgiftet und ebenfalls im Urin ausgeschieden.

AAMA und GAMA im Urin werden in großem Maße als AA-Expositionsbiomarker genutzt. Im Gegensatz zu Hb-Addukten, deren Erfassung an die Lebenszeit der roten Blutkörperchen (beim Menschen etwa 4 Monate) gebunden ist, unterliegen MA einer raschen Biokinetik und werden nach AA-Exposition innerhalb von 3–4 Tagen vollständig wieder ausgeschieden.

DIE BEDEUTUNG DER EXPOSITIONSHÖHE (DOSIS) FÜR DEN WIRKMECHANISMUS

Die Bedeutung der Dosis für den Wirkmechanismus lässt sich durch tierexperimentelle Befunde bei oralen AA-Gaben unterhalb krebsauslösender Dosierungen, aber erheblich oberhalb des Bereiches ernährungsbezogener Humanexposition verdeutlichen. Beispielsweise erhielten Ratten AA in einer Dosierung von 100 µg AA/kg Körpergewicht (KG) im Trinkwasser bzw. im Lebensmittel (Pommes Frites) über 5–9 Tage [4]. Während eine signifikante, zeit- bzw. dosisabhängige Zunahme an AA-Hb-Addukten in den Erythrocyten zu beobachten war, ergab sich keine Erhöhung des vorhandenen Hintergrundniveaus an GA-Hb-Addukten. Auch bei einmaliger Dosierung der äquivalenten Gesamtdosen (0,45 bzw.

0,9 mg AA/kg KG) über das Trinkwasser wurde trotz entsprechender Zunahme an AA-Hb-Addukten keine erhöhte GA-Hb-Adduktbildung gesehen. Andererseits konnte durch Messung der MA-Ausscheidung im Urin gesichert werden, dass ein substantieller Anteil des mit Wasser oder Lebensmittel aufgenommenen AA in der Leber zum GA gegiftet worden sein musste, weil beide Biomarker, AAMA und GAMA, im Urin dosisabhängig nachzuweisen waren.

Das bedeutete, dass bei Aufnahme mit Wasser bzw. Lebensmitteln in der verwendeten Dosierung zwar ein Teil des AA die erste Passage (First Pass) durch die Leber überlebt, dass aber praktisch alles gebildete GA in der Rattenleber effektiv an GSH gebunden wird und damit nicht systemisch für eine zusätzlich erhöhte GA-Hb-Adduktbildung zur Verfügung steht. Erst bei wesentlich höheren AA-Expositionen (5 bzw. 10 mg/kg KG) wurde auch eine erhöhte GA-Hb-Adduktbildung beobachtet [4].

Die Erfassung von GA-Hb-Addukten ist als Surrogatbiomarker für die Induktion von DNA-Schäden vorgeschlagen worden [5]. Dies beruht darauf, dass im Bereich höherer, auch krebserzeugender Dosen, im Tierversuch ein paralleler Verlauf der Bildung von Hb-GA-Addukten und von DNA-Schäden, gemessen als N7-GA-Guanin-Addukte, beobachtet wurde. Dies ist jedoch nicht ohne weiteres auf den verbraucherrelevanten niederen Dosisbereich übertragbar.

Zusammengenommen lässt sich schließen, dass die GSH-Kopplung den in der Leber gebildeten genotoxischen Metaboliten GA im verbraucherrelevanten Expositionsbereich effektiv entgiftet. Bei der Ratte gilt dies auch noch für AA-Expositionen bis etwa zum hundertfachen einer angenommenen durchschnittlichen Verbraucherexposition von etwa 1 µg/kg KG/Tag. Bei entsprechend höherer Exposition werden diese physiologischen Abfangreaktionen gesättigt bzw. überlaufen, sodass dann ein DNA schädigender Effekt von AA durch GA Bildung erwartet werden kann (siehe Abbildung 2, Seite 4).

Hier sei angemerkt, dass ein Vergleich der Stoffwechselkinetik bei Versuchstier (Nager) und Mensch darauf hinweist, dass bei der Maus (weniger ausgeprägt bei der Ratte) die GA-Bildung deutlich rascher als beim Menschen verläuft. Umgekehrt verläuft beim Menschen die entgiftende GSH-Kopplung deutlich rascher (siehe Abbildung 2, Seite 4).

DIE BEDEUTUNG DER GLUTATHION-KOPPLUNG

Die zentrale Rolle der durch Glutathiontransferasen katalysierten Kopplung mit GSH als Schlüsselreaktion der Entgiftung von AA und GA in der Leber wird durch Ergebnisse aus mechanistischen in-vitro Untersuchungen an primären Rattenhepatozyten untermauert. Primäre Hepatozyten sind in ihren metabolischen Eigenschaften den Hepatozyten im intakten Organ Leber außerordentlich ähnlich. Ergebnisse aus Versuchen an primären Hepatozyten sind deshalb prädiktiv und auf die in-vivo-Situation übertragbar.

Inkubation im Bereich von 2–200 μM AA ergab im biologisch relevanten Konzentrationsbereich bis etwa 20 μM eine bis zu dreifach schnellere Glutathionkopplung im Vergleich zur oxidativen GA-Bildung. Erst im höheren Konzentrationsbereich ließ sich als Folge der Erschöpfung des GSH-Systems eine erhöhte Bildung von GA im Medium, mit beginnender Bildung von DNA-N7-GA-Guanin-Addukten, nachweisen [6].

MUTAGENITÄT, GENOXIZITÄT, KANZEROGENITÄT

GA als genotoxischer AA-Metabolit kann Mutationen und DNA-Schäden in Säugerzellkulturen auslösen. Jedoch zeigt GA im Vergleich zu potenten Mutagenen, z. B. aktivierten Formen von PAK und NOC, ein um Größenordnungen (Faktor etwa 300) geringeres mutagenes und genotoxisches Potenzial [7–11].

Eine kanzerogene Wirkung von AA wurde in Langzeitversuchen (bis zu 2 Jahre) an Nagern bei fortgesetzter Gabe von steigenden AA-Konzentrationen

im Trinkwasser beobachtet [12–14]. Die höchste Acrylamid-Dosierung (2 mg AA/kg KG/Tag) erhöhte bei weiblichen Tieren die Inzidenz von Tumoren in Brustdrüse, Nervensystem, Schilddrüse sowie in der Gebärmutter, bei männlichen Tieren in der Schilddrüse. Zusätzlich traten Mesotheliome des Skrotums bei 0,5 und 2 mg AA/kg KG und Tag auf. Ein ähnliches Langzeitexperiment (0–2 mg AA/kg KG und Tag bei männlichen; 0,1 und 3 mg/kg KG und Tag bei weiblichen F344-Ratten) ergab bei weiblichen Tieren vermehrtes Auftreten von Adenokarzinomen und Fibroadenomen der Brustdrüse sowie von Tumoren der Schilddrüse in beiden Dosisgruppen. Bei männlichen Tieren wurden bei 2 mg AA/kg KG und Tag vermehrt Mesotheliome der testikulären Tunika sowie Schilddrüsentumoren beobachtet [13].

In einer 2-jährigen Studie des National Toxicology Program (NTP) wurden männliche F344-Ratten mit AA in Dosierungen von 0,33–2,71 mg/kg KG/Tag, weibliche mit 0,44–4,02 mg/kg KG/Tag, sowie männliche B6C3F1 Mäuse mit 1,04–8,93 mg AA/kg KG/Tag und weibliche mit 1,10–9,96 mg AA/kg KG/Tag behandelt. Bei männlichen Ratten wurde eine erhöhte Inzidenz maligner Mesotheliome von Epididymis und Testis, maligner Tumoren der Schwann-Zellen des Herzens sowie von Adenomen der pankreatischen Inseln und der Schilddrüsen beobachtet, bei weiblichen Ratten traten vermehrt u. a. Karzinome der Klitoris sowie Fibroadenome in der Brustdrüse auf. Bei der Maus wurde insbesondere eine erhöhte Inzidenz von Adenomen der Harderschen Drüse sowie der Lunge und Tumoren des Vormagens beobachtet. Die Schlussfolgerung ergab „Klare Evidenz für krebserzeugende Wirkung von AA“ [14].

GEFÄHRDUNGSPOTENZIAL

Zur Abschätzung des Gefährdungspotenzials wird aus Dosis-Wirkungsstudien ausreichender Qualität die Benchmark-Dosis (BMD) berechnet. Die BMD ist die Dosis, die mit einem definierten Effekt (Benchmark Response, BMR) in Organen,

Gewebe oder Zellen des Versuchstieres verknüpft ist. Mit unterschiedlichen mathematischen Modellen werden BMD-Werte abgeleitet, zum Beispiel für einen Effekt in 10 % der behandelten Tiere (BMD₁₀). Unter Berücksichtigung der unteren Grenze des 95 % Konfidenzintervalls ergibt sich als Referenzdosis die Benchmark Dose Lower Confidence Limit 10 % (BMDL₁₀). Die BMDL₁₀ dividiert durch die durchschnittliche Exposition des Verbrauchers ergibt den Expositionsabstand, Margin of Exposure (MOE). Als Maßstab für das Risiko-Management gelten MOE-Werte von 10 000 und mehr als gesundheitlich nicht oder kaum besorgniserregend (geringe Priorität zur Risikominimierung).

Im Falle von AA wurde von der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (European Food Safety Authority, EFSA) eine BMDL₁₀ von 0,17 mg/kg KG abgeleitet, wobei der empfindlichste beobachtete Effekt, nämlich das Auftreten von Tumoren der Harderschen Drüse bei der Maus, zugrunde gelegt wurde [3]. Bezogen auf diese BMDL₁₀ ergab sich je nach durchschnittlicher Verbrauchereexposition ein MOE-Bereich von 500 bis <100, also weit unterhalb von 10 000. Aus diesem Grund gilt die Exposition mit AA über Lebensmittel als besorgniserregend und Maßnahmen zur weiteren Reduktion werden für erforderlich gehalten. In ihrer Stellungnahme hat die EFSA aber auch angemerkt, dass epidemiologische Studien keine überzeugende Evidenz für eine mögliche Assoziation von erhöhtem Krebsrisiko mit ernährungsbezogener AA-Exposition des Verbrauchers zeigen. Diese Beurteilung galt selbst für Ergebnisse von Studien am Arbeitsplatz mit zeitweise deutlich höherer AA-Exposition [3].

BIOMARKER-BASIERTE EXPERIMENTELLE STUDIEN

Weiterer Aufschluss zur Bedeutung der Dosishöhe für den Wirkmechanismus von AA im Warmblüterorganismus lässt sich aus Tierversuchen gewinnen, bei denen die Erfassung biomolekularer Schlüssel-effekte im Vordergrund steht. In einer oralen

Dosis-Wirkungsstudie an Ratten wurde in einem weitgespannten Dosisbereich die Entgiftung über die Kopplung an GSH verglichen mit der genotoxischen Wirkung von AA durch metabolisch gebildetes GA [15].

Im niedrigen Dosisbereich bis 100 µg/ kg KG wurden dabei jeweils 8 Tiere einmalig mit AA in Trinkwasser behandelt, wobei als niedrigste Dosierung 0,1 µg/ kg KG gewählt wurde. Die folgenden Dosisstufen wurden jeweils um den Faktor 10 erhöht (0,1; 1,0; 10; 100 µg/kg KG). Die niedrigste Dosis lag damit deutlich unterhalb der durchschnittlichen Verbrauchereexposition in Europa (0,5–1 µg/kg KG). Die weiteren Dosen (500; 1000; 3000; 6000; 10 000 µg/kg KG) wurden an jeweils drei Tiere verabreicht. Zur Sicherstellung einer exakten Dosierung im niedrigen Dosisbereich war dabei das Problem der Hintergrundbelastung mit AA aus Tierfutter zu lösen (auch solchem, das als „AA-frei“ gekennzeichnet war). Diese Hintergrundbelastung mit AA aus Tierfutter machte eine exakte Dosierung im untersten Dosisbereich zunächst unmöglich. Es gelang jedoch, durch kontrollierte Herstellung aus AA-freien Grundstoffen ohne Wärmeanwendung ein Tierfutter im Labormaßstab herzustellen, in welchem eine AA-Kontamination nicht nachweisbar war (Nachweisgrenze <0,5 µg/kg). Damit konnte die Hintergrundbelastung der Tiere aus Futter bei <8 ng/kg KG gehalten werden. Die Tiere wurden 16 h nach AA-Gabe getötet und die MA im Sammelurin sowie die DNA-Schäden durch Erfassung von N7-GA-Guanin-Addukten in verschiedenen Organen gemessen. Der Zeitpunkt von 16 h wurde gewählt, nachdem Vorversuche ergeben hatten, dass hier das höchste Ausmaß an DNA-Schäden zu erwarten war. Zu diesem Zeitpunkt war allerdings die MA-Ausscheidung noch nicht völlig abgeschlossen. Die Ergebnisse veranschaulicht Abbildung 3a, 3b (Seite 8).

Abbildung 3a, 3b: Dosis-Wirkungsstudie mit einmaliger oraler Gabe von Acrylamid im Dosisbereich von 0,1–10 000 µg/kg KG an Ratten

→ Biomarker für Entgiftung

Mercaptursäure

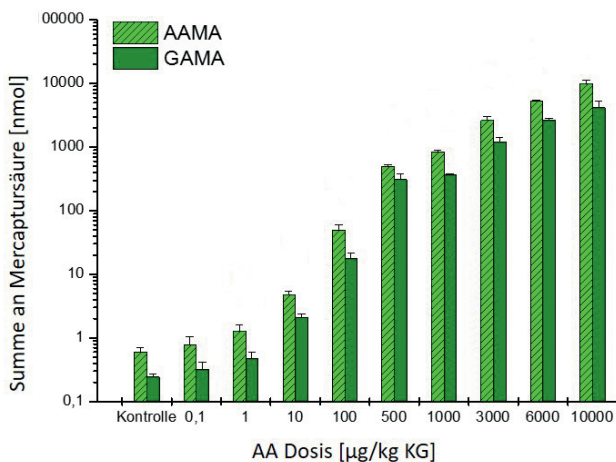


Abbildung 3a: Mercaptursäure (MA) im Urin (in nmol)

Abbildung 3a zeigt die dosisabhängige Ausscheidung von MA im Sammelurin, Abbildung 3b die Bildung von DNA-Addukten in Leber, Niere und Lunge. Zunächst fällt auf, dass die Tiere nach 2 Wochen auf praktisch AA freiem Futter (maximale Aufnahme 8 ng AA/kg KG) einen Hintergrundlevel an MA ausscheiden, der sich nicht signifikant unterscheidet von der MA-Ausscheidung nach Gabe der niedrigsten Dosis (0,1 µg/kg KG).

Diese Hintergrundausscheidung ist beachtlich: Sie entspricht einer AA-Aufnahme von 0,6–0,9 µg AA/kg KG und ist damit um Größenordnungen höher als die AA-Aufnahme über das Futter. Das macht auch verständlich, dass sich die niedrigste Dosis von 0,1 µg/kg KG von der unbehandelten Kontrolle nicht unterscheiden lässt, weil das Dosisinkrement zu gering ist. Bei den nächst höheren Dosisstufen bis zum hohen Dosisbereich ist jedoch eine klare Dosisabhängigkeit der MA Ausscheidung zu sehen.

→ Biomarker für DNA-Schäden

N⁷-GA-Gua-Addukte

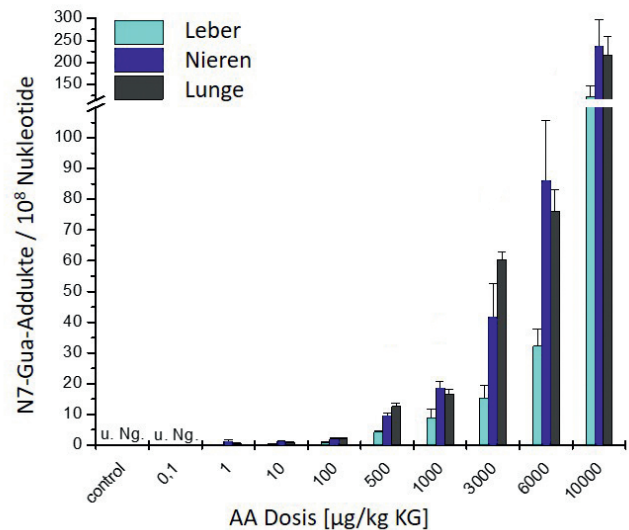


Abbildung 3b: Anzahl N⁷-GA-Gua-Addukte pro 10⁸ Nucleotide in Leber, Niere und Lunge

Im Gegensatz zu den MA zeigen die DNA-N⁷-GA-Guanin-Addukte im niederen Dosisbereich bis etwa 100 µg/kg KG keine erkennbare Dosisabhängigkeit. Zunächst ist bei einer Bestimmungsgrenze von < 2 Addukten pro Milliarde (2/10⁹) Nucleotiden (Nukl) die Dosis von 0,1 µg/kg KG nicht unterscheidbar von der Kontrolle. Weiterhin werden im anschließenden höheren Dosisbereich bis zu 100 µg/kg KG DNA-Schäden nur im Bereich bis zu etwa 2 Addukten pro 100 Millionen Nukl (< 2 Addukte/ 10⁸ Nukl) gemessen.

Eine Dosisabhängigkeit der DNA-Adduktbildung wird erkennbar im wesentlich höheren Dosisbereich (0,5–10 mg/kg KG). Hier ist anzunehmen, dass die im niedrigen Dosisbereich effektiven Entgiftungsmechanismen, vor allem die GSH-Kopplung, gesättigt sind und überlaufen werden.

Die im Dosisbereich bis etwa 100 µg/kg KG detektierten DNA-Addukte (was etwa dem Hundertfachen der durchschnittlichen menschlichen Exposition

aus Lebensmitteln entspricht) liegen an der unteren Grenze des Hintergrundniveaus nahe verwandter N7-Guanin-Addukte beim Menschen. Um nur zwei Beispiele herauszugreifen: In Lebergewebe wurden etwa 8 N7-2-carboxyethyl-Guanin-Addukte sowie etwa 60 N7-2-hydroxyethyl-Guanin-Addukte auf 100 Millionen Nukleotide gemessen [16, 17], also weit mehr als durch eine Einmalgabe von 100 µg AA/kg KG experimentell induziert werden konnte.

ZWISCHENFAZIT

Zusammengenommen lassen die hier vorgestellten Ergebnisse den Schluss zu, dass – zumindest im niederen und verbraucherrelevanten Expositions-bereich – alle hier vorgestellte Evidenz gegen einen gentoxischen Mechanismus von AA über die metabolische Bildung von GA spricht. Vielmehr liegt nahe, dass die Genotoxizität (von GA) als Hochdosiseffekt einzustufen ist. Ob die Genotoxizität von GA für die Tumorbildung im Bereich höherer, krebserzeugender Dosen wirklich eine Rolle spielt, ist ungewiss.

Diese Interpretation wird zusätzlich gestützt durch neuere Ergebnisse mechanistischer und genomweiter in-vivo Expressionsstudien, die selbst bei höheren AA-Dosierungen keine Hinweise auf Genotoxizität, auch nicht in Zielorganen der AA-induzierten Krebsentstehung, gefunden haben. Stattdessen wurde über Hinweise auf Störung Calcium-abhängiger zellulärer Signalwege berichtet [18, 19].

BIOMARKER BASIERTE HUMANE INTERVENTIONSSTUDIEN

Die im Folgenden vorgestellten Studien zeichnen sich dadurch aus, dass die AA-Aufnahme über Lebensmittel exakt dosiert und gemessen wurde. Dies geschah durch geeignete Ernährungsauswahl und durch Messung der alimentären AA-Aufnahme in Duplikaten aller verzehrten Mahlzeiten. Gleichzeitig wurde die Ausscheidung von MA im Urin als Expositionsbiomarker zeitabhängig verfolgt. Die Probanden unterlagen einer strikten Kontrolle ihrer

Lebensbedingungen über den gesamten Verlauf der Studien hinweg.

In einer ersten Studie verzehrten Probanden nach einer dreitägigen Phase mit sehr niedriger AA-Exposition (20–40 ng AA/kg KG = Wash-out) Lebensmittel mit bekanntem AA-Gehalt, was in einer ersten definierten AA-Aufnahme resultierte (0,6–0,9 µg/kg KG). Es folgte eine zweitägige erneute Wash-out-Phase und danach eine weitere, auf das Doppelte erhöhte AA-Aufnahme über Lebensmittel (1,3–1,8 µg/kg KG). Eine anschließende Wash-out-Phase (2 Tage) schloss die Studie ab [20].

Zu Studienbeginn lag der AA-Expositionsbiomarker AAMA im Mittel bei etwas über 200 nmol/Tag. Nach 3 Tagen Wash-out ergab sich ein Rückgang auf etwas weniger als die Hälfte des Ausgangsniveaus (90 nmol AAMA/Tag). Nach alimentärer AA-Aufnahme am Tag 4 stieg der Biomarker wieder an auf etwa den Ausgangswert. Nach erneutem Wash-out führte die verdoppelte alimentäre AA-Aufnahme zum erneuten Anstieg des Biomarkers, diesmal auf etwa das Doppelte, mit anschließendem Wiederabklingen über die finalen beiden Wash-out-Tage.

Zusammengefasst zeigte sich somit die erwartete Biomarker-Kinetik. Allerdings ließ das Biomarker-Baseline-Niveau von etwa 90 nmol/Tag nach 3 Tagen Wash-out auf einen endogenen AA-Hintergrund schließen. Dieser entsprach einer AA-Exposition von 0,2–0,3 µg/kg KG und war damit um Größenordnungen höher als die AA-Einnahme während dieser Wash-out-Tage. Diese Humanergebnisse bestätigten die in den vorherigen Tierversuchen gemachten Beobachtungen [20].

Um sicherzustellen, dass dieser Biomarker-Hintergrund nicht auf verzögerte Freisetzung von AA oder AAMA aus tiefen Speichern im Organismus zurückzuführen ist, wurde eine weitere Humaninterventionsstudie durchgeführt [21]. Probanden wurden diesmal über insgesamt 13 Tage auf niedrige alimentäre AA-Aufnahme gesetzt (50–60 ng AA/kg KG/

Tag). Am Tag 5 erhielten sie mit stabilen Isotopen markiertes AA (1 µg/kg bw $^{13}\text{C}_3\text{D}_3$ -AA, p. o.). Dieser Tracer-AA-Puls spiegelte sich in einer entsprechenden Kinetik des isotopenmarkierten Biomarkers $^{13}\text{C}_3\text{D}_3$ -AAMA. Auf einen schnellen Anstieg erfolgte vollständige 3-A Ausscheidung bis Tag 4 nach Aufnahme [21]. Ein messbares Hintergrundniveau des Tracers war nicht zu erkennen, sodass eine verzögerte Freisetzung aus tiefen Kompartimenten oder eine Speicherung ausgeschlossen werden konnte. Das gleichzeitig während der Studie gemessene unmarkierte AAMA entsprach einem Basisniveau an Hintergrundausscheidung im Urin von 0,05–0,08 µmol/g Kreatinin, äquivalent einer endogenen AA-Exposition von 0,2–0,4 µg AA/kg KG/Tag [21].

FAZIT DER INTERVENTIONSSTUDIEN: DAS „ENDOGENE EXPOSOM“

Die Ergebnisse dieser kontrollierten Interventionsstudien bestätigen die Hypothese einer beständigen endogenen AA-Exposition des Menschen. Auch wenn die Probandenzahlen in diesen Studien noch gering sind, ergibt sich doch für diese endogene humane Exposition ein Bereich, der der durchschnittlichen Verbraucherexposition über Lebensmittel durchaus nahekommen kann. Es ist deshalb wünschenswert, die Datenlage zur endogenen Exposition zu erweitern und zu vertiefen.

Dies gilt nicht nur für AA, sondern für eine Reihe weiterer Stoffe, die gemeinhin als Prozesskontaminanten charakterisiert sind, von denen aber bekannt ist, dass sie auch endogen im Stoffwechsel gebildet werden können. Beispiele sind Formaldehyd und Acetaldehyd sowie die entsprechenden Alkohole (Methanol und Ethanol), Acrolein, bestimmte alfa-, beta-ungesättigte Carbonylverbindungen, Ethylenoxid und vermutlich noch weitere Verbindungen, die gemeinsam unter dem Begriff „endogenes Exposom“ zusammengefasst werden können.

Die Autoren sind der Meinung, dass eine systematische Erfassung des endogenen Exposoms ein

Schwerpunkt künftiger toxikologischer Forschung sein sollte. Diese ist dringlich, weil damit wertvolle zusätzliche Informationen gewonnen werden können, die die Toxikologie bisher nur ansatzweise zur Kenntnis genommen hat.

Auf der Basis einer aktuellen, umfassenden und zuverlässigen Datenlage zum endogenen Exposom und den zugehörigen Einflussgrößen könnten in Zukunft auch Referenzwerte (Benchmarks) entwickelt werden, die die Risikobeurteilung des entsprechenden exogenen Exposoms wesentlich unterstützen könnten.

KORRESPONDENZANSCHRIFT



Prof. Dr. Gerhard Eisenbrand

Kühler Grund 48/1
69126 Heidelberg
E-mail: geisenbra@gmail.com

Prof. Dr. Elke Richling

Fachbereich Chemie
Technische Universität Kaiserslautern
Erwin-Schrödinger-Straße 52
67663 Kaiserslautern
E-Mail: richling@chemie.uni-kl.de

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Tareke E., Rydberg P., Karlsson P., Eriksson S., Tornqvist M. (2002): Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J Agric Food Chem* 50: 4998–5006
- [2] EFSA (2011): Scientific report of EFSA: Results on acrylamide levels in food from monitoring years 2007–2009 and exposure assessment. *EFSA Journal* 9 (4): 2133
- [3] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) (2015): Scientific Opinion on acrylamide in food. *EFSA Journal* 13 (6): 4104
- [4] Berger F. I., Feld J., Bertow D., Eisenbrand G., Fricker G., Gerhardt N., Merz K. H., Richling E., Baum M. (2011): Biological effects of acrylamide after daily ingestion of various foods in comparison to water: a study in rats. *Mol Nutr Food Res* 55: 387–399
- [5] Tareke E., Twaddle N. C., McDaniel L. P., Churchwell M. I., Young J. F., Doerge D. R. (2006): Relationships between biomarkers of exposure and toxicokinetics in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice administered single doses of acrylamide and glycidamide and multiple doses of acrylamide. *Toxicol Appl Pharmacol* 217: 63–75
- [6] Watzek N., Scherbl D., Schug M., Hengstler J. G., Baum M., Habermeyer M., Eisenbrand G., Richling E. (2013): Toxicokinetics of acrylamide in primary rat hepatocytes: coupling to glutathione is faster than conversion to glycidamide. *Arch Toxicol* 87: 1545–1556
- [7] Baum M., Fauth E., Fritzen S., Herrmann A., Mertes P., Merz K., Rudolphi M., Zankl H., Eisenbrand G. (2005): Acrylamide and glycidamide: genotoxic effects in V79-cells and human blood. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutag* 580: 61–69
- [8] Baum M., Loeppky R. N., Thielen S., Eisenbrand G. (2008): Genotoxicity of glycidamide in comparison to 3-N-nitroso-oxazolidin-2-one. *J Agric Food Chem* 56: 5989–5993
- [9] Bundesinstitut für Risikobewertung BfR (2008): Besteht ein gesundheitliches Risiko durch Glycidamid in Lebensmitteln? Stellungnahme Nr. 005/2009 des BfR vom 23. Oktober 2008 URL: https://www.bfr.bund.de/cm/343/besteht_ein_gesundheitliches_risiko_durch_glycidamid_in_lebensmitteln.pdf (letzter Zugriff: 18.01.2019)
- [10] Bundesinstitut für Risikobewertung BfR (2011) (ergänzt am 21. Januar 2013): Acrylamid in Lebensmitteln. Stellungnahme Nr. 043/2011 des BfR vom 29. Juni 2011 URL: <https://www.bfr.bund.de/cm/343/acrylamid-in-lebensmitteln.pdf> (letzter Zugriff: 18.01.2019)
- [11] Thielen S., Baum M., Hoffmann M., Loeppky R. L., Eisenbrand G. (2006): Genotoxicity of glycidamide in comparison to (±)-anti-benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide and α -acetoxy-N-nitroso-dietanolamine in human blood and in mammalian V79-cells. *Mol Nutr Food Res* 50 (4–5): 430–436
- [12] Johnson K. A., Gorzinski S. J., Bodner K. M., Campbell R. A., Wolf C. H., Friedman M. A., Mast R. W. (1986): Chronic Toxicity and Oncogenicity Study on Acrylamide Incorporated in the Drinking-Water of Fischer 344 Rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 85: 154–168
- [13] Friedman M. A., Dulak L. H., Stedham M. A. (1995): A Lifetime Oncogenicity Study in Rats with Acrylamide. *Fundam Appl Toxicol* 27: 95–105
- [14] National Toxicology Program NTP (2011): NTP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of Acrylamide (CAS No. 79-06-1) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Drinking Water Study). *Natl Toxicol Programm Tech Rep Ser* 2012 (575): 1–234

- [15] Watzek N., Scherbl D., Feld J., Berger F., Doroshenko O., Fuhr U., Tomalik-Scharte D., Baum M., Eisenbrand G., Richling E. (2012): Profiling of mercapturic acids of acrolein and acrylamide in human urine after consumption of potato crisps. *Mol Nutr Food Res* 56: 1825–1837
- [16] Wu K. Y., Ranasinghe A., Upton P. B., Walker V. E., Swenberg J. A. (1999): Molecular dosimetry of endogenous and ethylene oxide-induced N7-(2-hydroxyethyl) guanine formation in tissues of rodents. *Carcinogenesis* 20 (9): 1787–1792
- [17] Cheng G., Wang M., Villalta P. W., Hecht S. S. (2010): Detection of 7-(2'-carboxyethyl)guanine but not 7-carboxymethylguanine in human liver DNA. *Chem Res Toxicol* 23 (6): 1089–1096
- [18] Hobbs C. A., Davis J., Shephard K., Chepelev N., Friedman M., Marroni D., Recio L. (2016): Differential genotoxicity of acrylamide in the micronucleus and Pig-a gene mutation assays in F344 rats and B6C3F1 mice. *Mutagenesis* 31 (6): 617–626
- [19] Chepelev N. L., Gagne R., Maynor T., Kuo B., Hobbs C., Recio L. L., Yauk C. L. (2017): Transcriptional profiling of male F344 rats suggests the involvement of calcium signaling in the mode of action of acrylamide-induced thyroid cancer. *Food Chem Toxicol* 107: 186–200
- [20] Ruenz M., Bakuradze T., Eisenbrand G., Richling E. (2016): Monitoring urinary mercapturic acids as biomarkers of human dietary exposure to acrylamide in combination with acrylamide uptake assessment based on duplicate diets. *Arch Toxicol* 90 (4): 873–881
- [21] Goempel K., Tedsen L., Ruenz M., Bakuradze T., Schipp D., Galan J., Eisenbrand G., Richling E. (2017): Biomarker monitoring of controlled dietary acrylamide exposure indicates consistent human endogenous background. *Arch Toxicol* 91 (11): 3551–3560

Impressum / Herausgeber, Redaktion und Rückfragen:
Lebensmittelchemisches Institut (LCI) des
Bundesverbandes der Deutschen Süßwarenindustrie e. V.
Prof. Dr. Reinhard Matissek (V.i.S.d.P.)
Adamsstraße 52-54, 51063 Köln
Tel. (0221) 623 061, E-Mail: lci-koeln@lci-koeln.de

oder Rückfragen an:
:relations Gesellschaft für Kommunikation mbH
Mörfelder Landstraße 72, 60598 Frankfurt
Tel. (069) 963 652-11, E-Mail: wpd@relations.de

Gedruckt mit mineralölfreien Farben.

