

MICHAŁ NABRZYSKI

## NOWE SPOJRZENIE NA PROBLEM OCENY I TOLERANCJI ZWIĄZKÓW RAKOTWÓRCZYCH W ŻYWNÓŚCI W ŚWIETLE PIŚMIENNICTWA

NEW LOOK AT THE PROBLEMS OF ASSESSMENT AND TOLERANCE  
OF CERTAIN CARCINOGENS IN FOOD - LITERATURE REVIEW

Z Katedry i Zakładu Bromatologii Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Gdańsku  
Kierownik: prof. dr hab. Z. Ganowiak

*W oparciu o aktualne piśmiennictwo dokonano przeglądu na temat prób nowego podejścia do oceny związków rakotwórczych w żywności i określenia warunków koniecznej tolerancji niektórych z nich, zwłaszcza tych których praktycznie trudno uniknąć lub zastąpić bardziej bezpiecznymi i równie skutecznymi w praktycznym użyciu, bądź to w charakterze substancji dodatkowych, bądź to nieuniknionych pozostałości pestycydów, czy też zanieczyszczeń środowiskowych w żywności.*

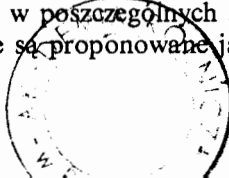
We wcześniejszej pracy opisano wiele przykładów występowania związków mutagennych i kancerogennych pochodzenia naturalnego [22].

W niniejszym artykule będą przedstawione przykłady nowego podejścia przy ocenie niektórych, wykazujących działanie mutagenne lub kancerogenne, związków chemicznych w żywności. Chodzi głównie nie o związki używane jako substancje dodatkowe, względnie znajdujące się w żywności jako pozostałości pestycydów lub ich metabolitów, a także występujące w niej jako zanieczyszczenia środowiskowe, oraz te które tworzą się w niej podczas przechowywania i przetwarzania. Są to niezwykle ważne zagadnienia wskazujące na to, że obecnie nie można całkowicie sprostać klauzuli *Delaney'a*, według której związki wykazujące działanie kancerogenne, lub podejrzane o takie działanie nie mogą się znajdować w żywności. Aktualny rozwój nauki w tej dziedzinie a także w zakresie metod analitycznych, wykazał że wynikający z tej klauzuli postulat, mimo jego oczywistości, nie może być praktycznie w pełni zrealizowany.

Każdy związek chemiczny występujący w żywności jako substancja dodatkowa, albo znajdujący się w niej jako zanieczyszczenie techniczne lub środowiskowe, podlega wielostopniowym i długotrwałym badaniom toksykologicznym, zanim zostanie określona jego dopuszczalna dawka, całkowicie bezpieczna dla zdrowia człowieka i jego potomstwa, przy założeniu że organizm będzie narażony na związek codziennie przez całe życie. Dawka ta oprócz innych danych stanowi podstawę do określenia poziomów tolerowanych w poszczególnych środkach spożywczych [23]. Przy ocenie nowych związków, które są proponowane jako substancje dodatkowe do żywności,

Nr inw 8196

1993k 197



F<sub>1</sub>C-248

lub mogą się w niej znaleźć jako nieuniknione pozostałości pestycydów, przestrzeganie klauzuli *Delaney'a* jest łatwiejsze i praktycznie realizowane. Pewne trudności występują wtedy, kiedy związek jest stosowany od dawna na przykład jako substancja dodatkowa lub pestycyd i ówczesnymi metodami badań na zwierzętach nie stwierdzono jego działania mutagennego czy rakotwórczego. Jeśli do tego związek był bardzo skuteczny i powszechnie stosowany a wyniki nowowykonanych badań wykazały, że związek ten wykazuje działanie rakotwórcze, ale tylko w stosunku do 1 gatunku zwierząt i to przy wysokich dawkach a przy niskich nie działa, wówczas zakazanie jego używania jest często powodem wielu kontrowersyjnych dyskusji [3, 6, 8, 11, 15, 20]. Jako przykład można tu przytoczyć rozważania związane z zakazem i ponownym przywróceniem (z ograniczeniami) sacharyny i cyklamianów, niektórych barwników, pozostałości rozpuszczalników używanych w procesach technologicznych, dwutlenku siarki i siarczynów, przeciwutleniaczy itd. [20]. Sacharyna została wycofana z użytku przez FDA już w 1912 r., ale na czas I Wojny Światowej zawieszono zakaz jej używania w USA.

Nowe próby całkowitego wycofania sacharyny z użytku w 1973 r. spotkały się z licznymi protestami zarówno ze strony producentów, którzy dowodzili, że jest to związek nieszkodliwy, jak i ze strony licznych konsumentów, którzy stosowali tę substancję przez wiele lat w celach dietetycznych. W związku z tym wyrażono tymczasową zgodę na dalsze krótkoterminowe (18 miesięczne okresy) używania sacharyny, po czym zgodę tę kilkakrotnie przedłużano aż do chwili obecnej. Równoległe prowadzono intensywne badania na zwierzętach, realizując w ramach międzynarodowych badań około 200 programów badawczych, których wyniki publikowano od początku lat osiemdziesiątych [20]. W rezultacie tych badań wykazano, że sacharyna łącznie z cyklaminianami stosowana w dużych dawkach w diecie wywołuje raka pęcherza u szczurów płci męskiej. Zależność pomiędzy dawką sacharyny a odpowiedzią organizmu zwierząt, stwierdzono przy diecie zawierającej aż 3% sacharyny. Natomiast przy zawartości 1% sacharyny nie stwierdzono żadnego ujemnego działania (No effect level = NOEL) u badanych gryzoni [20, 27]. Opublikowano też liczne wyniki epidemiologicznych obserwacji na ludziach, którzy od lat używali sacharyny i nie stwierdzono aby wywoływała ona nowotwory u tych osób [20, 29]. Opierając się na tych danych, Połączony Komitet Ekspertów FAO/WHO dla Substancji Dodatkowych w Żywności (JECFA – 1984 r.) i Komisja Europejskiej Wspólnoty Gospodarczej (EEC) zaakceptowały tymczasową dopuszczalną dawkę (ADI = Acceptable Daily Intake) dla sacharyny na poziomie 2,5 mg/kg masy ciała człowieka dorosłego dziennie [20]\*. W wielu krajach sacharyna jest dopuszczona do użytku jako sztuczna substancja słodząca. W Polsce sacharyna jest niedozwolona w żywności, a dla celów dietetycznych stosowana jest ze wskazań leczniczych pod nadzorem lekarskim. Podobnie były badane i oceniane cyklaminiany, które w 1951 r. w USA były nawet wpisane na listę związków uznawanych za całkowicie bezpieczne (General Recognized as Safe – GRAS list). Po latach badano je ponownie i stwierdzono, że duże dawki mogą powodować raka pęcherza u szczurów. Przyczyną tego jest metabolit cykloheksyloamina [26]. W związku z tym zakazano ich stosowania w USA

\* Przyp. red. Aktualnie obowiązuje stałe ADI- 0-5 mg/kg dla sacharyny i jej soli; WHO Technical Report Series 837, 1993.

mimo iż obserwacje epidemiologiczne i badania na ludziach (ochotnikach) nie wykazały ich rakotwórczego działania. Stwierdzono, że jedynie 10% populacji ludzkiej może metabolizować cyklaminiany do szkodliwej cykloheksyloaminy w ilości wyższej niż 1% pobranej dawki. Wykazano przy tym, że organizm szczurów doświadczalnych u których cyklaminiany w dużych dawkach (200 mg/kg m.c.), wywoływały atrofie jąder, inaczej metabolizuje te związki niż organizm myszy i człowieka. Dlatego po licznych dyskusjach wśród ekspertów (JEFTA – 1982 r. i EEC – 1985 r.), określono tymczasowo dzienną dopuszczalną dawkę (ADI) na poziomie 0–11 mg/kg m. ciała dziennie, przy uwzględnieniu współczynnika bezpieczeństwa 100 [30]. Cyklaminiany są dopuszczone do żywności jako sztuczne substancje słodzące w 34 krajach. W Polsce są całkowicie zakazane, w USA również, choć od kilku lat trwają tam dyskusje na temat ich ewentualnego przywrócenia [20].

Jednym z nowszych sztucznych środków słodzących mających zastąpić sacharynę i cyklaminiany jest Aspartam, dwupeptyd zsyntetyzowany z dwu naturalnych aminokwasów: z kwasu asparaginowego i fenyloalaniny. Tylko izomery L-L posiadają słodki smak, około 150–200 razy słodszy od sacharozы. Dopuszczenie tego związku w Polsce jednak budzi liczne i słuszne zastrzeżenia. Aspartam dość łatwo rozkłada się na aminokwasy i trudno przewidzieć ujemne skutki ich nadmiaru w organizmie.

Dokonano również ponownej oceny dwutlenku siarki i siarczynów, które były umieszczone w USA na liście GRAS [20]. W 1986 r. skreślono je z listy z uwagi na dość częste reakcje uczuleniowe i ograniczono stosowanie do warzyw i owoców. Nakazano przy tym podawanie informacji na opakowaniach o obecności tych związków przy poziomach większych od 10 mg/kg [12, 20].

Oceniono ponownie znane przeciwutleniacze BHT i BHA, z uwagi na nowe wyniki badań, które wykazały, że duże dawki tych związków wywołują nowotwory przedzwoładka u szczurów [16]. Dokładne przeanalizowanie wyników tych badań doprowadziło ekspertów FAO/WHO do stwierdzenia, że nie można na razie zabronić stosowania tych skutecznych przeciwutleniaczy a zwłaszcza BHA [20]. Podobnie rozpatrywano niektóre rozpuszczalniki, których pozostałości występują w żywności w wyniku ich stosowania w procesach technologicznych, oraz akrylonitryl i chlorek winylu – monomery z syntetycznych opakowań kontaktujących się z żywnością [29] a także kilka innych substancji [20].

Z podanych przykładów widać, że zarówno dopuszczenie jak i wycofanie związku z użycia do żywności wiąże się zawsze z koniecznością dokładnego oszacowania stosunku ryzyka zagrożenia zdrowotnego do korzyści wynikających z jego zastosowania w określonym celu.

Rezultaty badań na zwierzętach nie zawsze są jednoznaczne i dość często są przyczyną kontrowersyjnych ocen. Najczęściej ponownie badany związek, od dawna stosowany do żywności, wykazuje przy zastosowaniu wyższych niż poprzednio dawek, działanie kancerogenne i to tylko w stosunku do jednego gatunku zwierząt doświadczalnych a do drugiego nie wykazuje tego działania. Oprócz tego związek ten nie działa rakotwórczo przy niskich dawkach. Dlatego niektórzy autorzy sugerowali znalezienie dawki progowej poniżej której związek można by uznać na bezpieczny. Z punktu widzenia ochrony zdrowia i niedostatecznej znajomości mechanizmów procesu nowotworowego koncepcja dawki progowej w przypadku związków po-dejrzanych o działanie rakotwórcze jest obecnie nie do przyjęcia.

Problem wycofania związku z użycia nabiera znaczenia zwłaszcza wtedy, gdy trudno go zastąpić nowym związkiem bezpieczniejszym dla zdrowia o równorzędnej lub lepszej skuteczności działania. Jeszcze większe trudności z praktycznym wprowadzeniem zakazu jego użycia występują wtedy, kiedy chodzi o związki rakotwórcze tworzące się podczas tradycyjnych procesów technologicznych (wędrzenie, fermentacja), czy kulinarnych (smażenie, pieczenie), lub rakotwórcze związki naturalne produkowane przez rośliny jadalne i zioła lecznicze [4, 8, 10, 18, 20, 22].

Badaniami rakotwórczego działania i oceną substancji dodatkowych, zanieczyszczeń technicznych, w tym pozostałości pestycydów i ich metabolitów, które mogą występować w żywności lub są używane jako leki, zajmuje się Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC). Agencja ta dokonała oceny ponad 660 związków i na bieżąco publikuje wyniki swoich badań [20].

*Ames* i współautorzy w swoich pierwszych pracach wykazali, że ponad 85% badanych przez nich związków kancerogennych oraz ich metabolitów wykazywało działanie mutagenne, w stosunku do odpowiednio genetycznie przygotowanych szczepów bakterii z rodzaju *Salmonella* [1, 2, 21]. Ich metoda, obecnie bardzo ulepszona jest dość często wykorzystywana (testy *Ames*) w badaniach skringingowych różnych związków chemicznych oraz tych które znajdują się w żywności lub których obecność w żywności jest przewidywana. Dotyczy to zwłaszcza substancji dodatkowych i zanieczyszczeń środowiskowych. Wyniki tych testów są wykorzystywane jako wyniki wstępnych przy ocenie przypuszczalnego działania rakotwórczego związku. Przyjęto założenie, że jeśli związek wykazuje działanie mutagenne to jest duże prawdopodobieństwo, że może wykazywać również działanie rakotwórcze.

Trzeba dla pełności obrazu dodać, że do tej pory poznano wiele przykładów związków wykazujących działanie mutagenne i nie działających rakotwórczo i odwrotnie: związków działających rakotwórczo i nie działających mutagenie.

Zespół pracowników naukowych z Uniwersytetu w Berkeley współpracujący z *Amesem* [5, 13, 14, 25] opublikował listę obejmującą 392 związki, które zostały zbadane na genetycznie przygotowanych szczepach myszy i szczurów w kierunku działania rakotwórczego w oparciu o maksymalnie tolerowaną dawkę (MTD) – jako dawkę wyjściową. MTD jest tą dawką, która odpowiada najwyższej tolerowanej przez zwierzęta doświadczalne dawce, znalezionej w badaniach toksyczności podostrej (90 dniowej). Dawka ta nie powoduje śmierci zwierząt lub śmierć zdarza się rzadko. Objawy toksyczne przy tej dawce zaznaczają się bardzo słabo, a masa ciała badanych zwierząt nie różni się, lub może być mniejsza najwyżej o 10% od masy ciała zwierząt grupy kontrolnej [4, 5, 6, 10]. Autorzy ci stwierdzili, że 60% przebadanych związków syntetycznych i 45% związków pochodzenia naturalnego, wykazywało działanie rakotwórcze, przynajmniej w stosunku do jednego gatunku gryzoni użytych w tych doświadczeniach [4, 5, 13, 14].

W celu określenia siły działania rakotwórczego badanych związków autorzy Ci znaleźli dawkę, która indukuje nowotwory u 50% badanych zwierząt doświadczalnych w czasie odpowiadającym ich standardowemu okresowi życia [4, 25]. Dawkę tę określili symbolem  $TD_{50}$  analogicznie do  $LD_{50}$ . W praktyce zdarza się, że dawka MTD może wykazywać działanie toksyczne. Dlatego wówczas przy poszukiwaniu  $TD_{50}$  stosuje się dawki mniejsze odpowiadające 0,5, 0,3 lub 0,1 części MTD [15]. Do tej pory zbadano wartość  $TD_{50}$  dla 975 związków.

W tabeli I podano ilościowy rozkład 511 związków według ich siły działania rakotwórczego wyrażonej wielkością dawki  $TD_{50}$  [15]. Z tabeli tej widać, że spośród przebadanej liczby związków najliczebniej reprezentowane są kancerogeny, których wartości  $TD_{50}$  znajdują się w przedziale od 1 mg do 1 g/kg masy ciała badanego zwierzęcia (łącznie 422 spośród 511 związków).

Tabela I. Rozkład siły działania rakotwórczego 511 związków klasyfikowanych według wartości dawki  $TD_{50}$  według *Hazelwooda* [15]  
Distribution of the cancerogenic power of 511 compounds classified according to  $TD_{50}$  value according to *Hazelwood*

Zakres dawki $TD_{50}$ (mg/kg masy ciała)	Liczba związków
100 ng – 1 $\mu$ g	2
1 $\mu$ g – 10 $\mu$ g	4
10 $\mu$ g – 100 $\mu$ g	11
100 $\mu$ g – 1 mg	42
1 mg – 10 mg	138
10 mg – 100 mg	157
100 mg – 1 g	127
1 g – 10 g	30

Wśród specjalistów trwają dyskusje na temat słuszności przenoszenia wyników uzyskanych w badaniach na zwierzętach na ludzi. Nie wszyscy podzielają pogląd, że badany związek będzie działał w organizmie człowieka podobnie jak działa w organizmie zwierząt doświadczalnych. Jako przykład podaje się to, że związek podawany w dużych dawkach odpowiadających MTD może już z tego powodu stymulować komórki do mitozy i wzmożonej proliferacji. Okazało się również, że przy niskich dawkach, na które przeciętnie organizm człowieka bywa narażony, związek nie wykazuje działania mutagennego i rakotwórczego [3, 6]. Zdarza się bardzo często, że związek wykazuje działanie rakotwórcze lub mutagenne tylko w stosunku do jednego gatunku zwierząt doświadczalnych a do innych nie wykazuje takiego działania [4, 15].

Najbardziej miarodajne wyniki można by uzyskać z obserwacji na ludziach. Jednakże normalnie badania na ludziach z oczywistych względów nie są wykonywane. Nie oznacza to jednak, że w sporadycznych przypadkach i przy niskim ryzyku znajdują się dobrowolnie ochotnicy wyrażający chęć świadomego uczestnictwa w odpowiednio zorganizowanych doświadczeniach. W ocenie związku są też wykorzystywane obserwacje na ludziach, którzy na przykład używali związek od dawna (sacharyna) lub też przypadkowo i nieświadomie byli narażeni na jego działanie (rtęć w Zatoce Minamata).

Jednak najważniejszym sposobem badania związków na działanie szkodliwe w tym także działanie rakotwórcze są nadal doświadczenia na zwierzętach. W chwili obecnej nie ma innych i lepszych możliwości niż przewidywanie działania związku w organizmie człowieka, na podstawie wyników uzyskanych w badaniach na zwierzętach doświadczalnych [10, 15]. W przewidywaniu działania rakotwórczego związku usiłuje się również

wykorzystać – jako badania wstępne – podobieństwo strukturalne związku do innego o rakotwórczym działaniu i obliczanie ilościowych zależności pomiędzy fizykochemicznymi parametrami związku – wiążącymi się z jego strukturą a działaniem biologicznym (Quantitative Structure Activity Relationship) [8, 17].

*Ames* i współautorzy [3] oraz *Ashby* [6] rozróżniają związki kancerogenne działające genotoksycznie (np. benzo-a-pyren, benzydyna, dimetylonitrozoamina), które już przy niskich dawkach oddziałują na DNA i usposabiają komórkę do dziedziczenia skłonności do kancerogenezy, oraz związki działające niegenotoksycznie. Związki niegenotoksyczne po prostu stymulują komórki do proliferacji na skutek toksycznego oddziaływania podwyższonej dawki.

Do najsilniej działających kancerogenów należy dioksyna (2, 3, 7, 8 tetrachloro-p-dioksyna), której  $TD_{50}$  wynosi 1–10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  masy ciała a do najslabiej działających sacharyna, której dawka  $TD_{50}$  wynosi 2143  $\text{mg}/\text{kg}$  masy ciała [4, 15]. Sacharyna wykazuje to działanie tylko w stosunku do szczurów.

Proces kancerogenezy jest niezwykle złożony i do tej pory mało zbadany. Dlatego związki kiedyś już badane i dopuszczone do użytku są nadal obserwowane i badane nowymi metodami wynikającymi z postępu badań w tej dziedzinie. Zbierane są również tam gdzie jest to możliwe, wyniki obserwacji epidemiologicznych na ludziach, a oceny związków w miarę potrzeby są weryfikowane. Gdy wyniki nowych badań wskazują, że dalsze używanie związku może stanowić zwiększone ryzyko dla zdrowia, wówczas związek jest skreślany z listy substancji dopuszczonych do użytku [15, 19, 28].

Na częstość powstawania nowotworów mają też wpływ zwyczaje żywieniowe. Zauważono na przykład występowanie geograficznych różnic zachorowania na raka piersi i jelita grubego pomiędzy Japończykami a Amerykanami i Europejczykami. Wśród obywateli zamieszkujących USA i Europę nowotwory te występują znacznie częściej niż w Japonii. Wyniki te uzyskały poparcie rezultatami pochodzącymi z obserwacji Japończyków, którzy przenieśli się do USA i zmienili swoje zwyczaje żywieniowe na amerykańskie. Stwierdzono u nich wzrost zachorowań na raka jelita grubego i raka piersi do poziomu obserwowanego w USA [24].

Jak na razie nie ma metod które pozwoliłyby na łączne uwzględnienie wszystkich czynników składających się na pełną ocenę zagrożenia ludzi nowotworami.

Czynione są jednak różne próby oszacowania zagrożenia nowotworami, wynikającego z obecności substancji chemicznych w otoczeniu człowieka. Jedną z nich jest zaproponowane przez *Amesa* i współautorów [4] uszeregowanie stopnia zagrożenia w oparciu o siłę kancerogennego działania związku, wyrażoną wielkością dawki  $TD_{50}$  oraz ilością związku na którą człowiek dorosły jest codziennie narażony, bądź to w wyniku pobierania go z pożywieniem, z napojami do picia, lub też narażenia zawodowego, a także pobierania związku w postaci leku. Autorzy Ci zaproponowali procentowy wskaźnik wyrażający odsetek związku, na który człowiek dorosły o masie 70 kg jest codziennie narażony, obliczony w stosunku wartości dawki  $TD_{50}$  [4]. Wskaźnik ten określono symbolem HERP jako skrót nazwy stosunku dawek: Human Exposure Dose/Rodent Potency Dose.

Autorzy pracy zastrzegają się przy tym, że wskaźnik ten nie zastępuje i nie jest równoznaczny z oceną faktycznego ryzyka zachorowania na nowotwory. Pozwala ona jedynie na uszeregowanie zagrożenia wynikającego z ilości pobieranego związku i jego siły działania rakotwórczego wyrażonej wielkością dawki  $TD_{50}$ .

Dane na temat codziennego narażenia ludzi na te związki autorzy wzięli z prac opublikowanych w ostatnich latach w USA, natomiast wielkość dawek  $TD_{50}$  dla 975 związków określili sami w badaniach na gryzoniach [4, 13, 14, 25].

Dla pełnego obrazu, należy dodać że proponowana ocena oparta na wykorzystaniu wskaźnika HERP, jest krytykowana przez niektórych specjalistów zajmujących się problematyką regulacji bezpiecznych poziomów związków chemicznych w żywności [11]. Uważają oni że współczynnik ten zawyża ryzyko wynikające z pobierania niektórych związków np. alkoholu zawartego w szklance wina i zaniża innych związków, które mają niską wartość  $TD_{50}$ , a więc są znacznie bardziej szkodliwe od alkoholu.

*Ames* i współautorzy [5] odpierając te zarzuty powołują się między innymi na publikacje *Doll'a* i *Peto* [9], którzy obliczyli, że alkohol jest przyczyną od 2 do 4% wszystkich zgonów na nowotwory, a więc nawet trochę więcej niż zanieczyszczenia środowiskowe.

Praca tych autorów stanowi niewątpliwie interesującą próbę uszeregowania zagrożenia, wynikającego z codziennego pobierania związków wykazujących mniejszą lub większą siłę działania rakotwórczego.

W tabeli II podano przykładowo, wartości współczynników HERP dla wybranych związków chemicznych występujących w żywności i w otoczeniu człowieka, oraz używanych jako leki według *Amesa* i współpracowników [4].

Patrząc na dane zawarte w tej tabeli należy zauważyć, że im mniejsza wartość dawki  $TD_{50}$  tym silniejsze działanie kancerogenne wykazuje dany związek. Widać tu również, że procentowe wskaźniki HERP są wyższe tam, gdzie pobranie związku (narażenie) jest wyższe, a wartość  $TD_{50}$  niższa, np. przy narażeniu zawodowym na bromek metylu, na formaldehyd oraz przy pobieraniu niektórych leków (klofibratu, luminalu i izoniazydu). Przy środkach spożywczych najwyższe wartości wskaźnika – obliczone dla 1 porcji gotowej do spożycia – stwierdzono przy winie i piwie z uwagi na obecność alkoholu etylowego. Inne związki chemiczne występujące w pozostałych środkach spożywczych, ziołach i przyprawach stanowią wielokrotnie niższe wartości wskaźników HERP, z uwagi na pobieranie niskich poziomów tych związków w porcji pożywienia przeznaczonej do spożycia.

Zawarte w tabeli II wskaźniki HERP pozwalają na zorientowanie się, który rodzaj związku, z uwagi na wielkość dawki  $TD_{50}$  i wielkość narażenia, może stanowić większe zagrożenie dla zdrowia człowieka i przez to wymaga baczniejszej uwagi. Należy przy tym dodać, że autorzy tego wskaźnika uważają, że aby dokonywać prawidłowej oceny szkodliwego działania związku na podstawie wartości HERP należy porównywać ze sobą tylko takie grupy związków, które charakteryzują się podobnym mechanizmem działania. Na przykład wskaźniki związków o działaniu genotoksycznym nie powinny być porównywane ze wskaźnikami związków niegenotoksycznych.

W USA zastosowano nowe podejście przy ocenie ryzyka zachorowania na nowotwory wynikającego z obecności związków rakotwórczych w żywności, a także w wodzie pitnej i wdychanym powietrzu [20]. Polega ono na racjonalnym poszerzeniu możliwości klauzuli *Delaney'a* do aktualnej sytuacji, wynikającej z postępu w zakresie badań toksykologicznych, a zwłaszcza z rozwoju coraz czulszych metod analitycznych. Rozwój metod analitycznych umożliwi oznaczenie coraz to niższych poziomów różnych związków w tym również mikro i nanogramowych ilości związków rakotwórczych, których nie można było oznaczyć poprzednimi sposobami. Okazało się, że bardzo niskie poziomy

Tabela II. Wskazniki HERP dla różnych związków kancerogennych występujących w otoczeniu człowieka, w wybranych środowiskach spożywczych i w lekach [4]  
 HERP values of various carcinogens present in human environment in selected food products and drugs.

Wskaźnik HERP%	Źródło narażenia i nazwa związku	Pobierana średnia dawka związku, dziennie przez człowieka o masie 70 kg		Siła działania kancerogennego wyrażona dawką =TD <sub>50</sub> w mg/kg masy ciała	
		szczyry		myszy	
	<b>Zanieczyszczenie środowiskowe</b>				
0,001*	Woda z kranu 1 l: chloroform	0,083 mg	(119)	90	
0,004*	Woda studzienna 1 l: trójchloroetylen	2,8 mg	-	941	
0,6	Powietrze domowe wdychane 14 godz. na dobę: formaldehyd	0,598 mg	1,5	(44)	
2,1	Powietrze w domu ruchomym: formaldehyd	2,2 mg	1,5	(44)	
5,8	Narażenie zawodowe: formaldehyd	6,1 mg	1,5	(44)	
140,0	Narażenie zawodowe: dibromek etylenu	150,0 mg	1,5	(5,1)	
	<b>Pozostałości pestycydów w produktach spożywczych</b>				
0,0002*	PCB średnio w diecie	0,0002 mg	1,7	(9,6)	
0,0003*	DDE/DDT średnio w diecie	0,0022 mg	-	13	
0,004	Dibromek etylenu (z prod. zbożowych) średnio w diecie	0,00042 mg	1,5	(5,1)	
	<b>Naturalne kancerogeny w żywności</b>				
0,003	Gotowany bekon (100 g): dimetylonitrozoamina	0,0003 mg	(0,2)	0,2	
0,006	Gotowany bekon: dietylonitrozoamina	0,0001 mg	0,02	(+)	
0,003	Masło z orzeszków ziemnych 32 g na kanapkę: aflatoksyna	0,000064 mg	0,003	(+)	
0,07	Musztarda brunatna (5 g): Izotiocyjanian allilu	4,6 mg	96	(-)	
0,008	Piwo: (354 ml) dimetylonitrozoamina	0,001 mg	(0,2)	0,2	
2,8*	Piwo: alkohol etylowy	18,0 ml	9110,0	?	
4,7*	Wino (250 ml): alkohol etylowy	30,0 ml	9110,0	?	
0,1	Pieczarka ( <i>Agaricus bisporus</i> ) 1 szt. (15 g) mieszanina związków hydrazynowych itp.	6,6 mg	?	20300	
0,2	Napój naturalny „root beer” 354 ml: Safrol		(436)	56	
0,03	1 filiżanka odwaru z korzenia żywokostu: alkaloidy pirolizydynowe (Symfitylina)	0,038 mg	1,9	?	
0,1	Bazylija (1 g suszonego ziela): Estragol	3,8 mg	?	52	



c.d. tab. II

Wskaźnik HERP%	Źródło narażenia i nazwa związku	Pobierana średnia dawka związku, dziennie przez człowieka o masie 70 kg	Siła działania kancerogennego wyrażona dawką $\approx$ TD <sub>50</sub> w mg/kg masy ciała	
			szczury	mysz
0,06*	<b>Substancje dodatkowe</b> Dieta Cola (napój 354 ml): sacharyna	95,0 mg	2143	(-)
0,3*	<b>Leki</b> Fenacetyna (1 tabletki)	300,0 mg	1246	(2137)
5,6*	Meironidazol (dawka terapeutyczna)	2000,0 mg	(542)	506
14*	Hydrazyl kwasu nikotynowego (dawka profilaktyczna izoniazydu)	300,0 mg	(150)	30
16*	Luminal (1 tabletki)	60,0 mg	(+)	5,5
17*	Klofibrat (średnia dawka dzienna)	2000,0 mg	169	?

a leki pobierane przez krótki czas

- związek nie wywołuje nowotworu

+ związek wywołuje nowotwór ale trudno określić TD<sub>50</sub>( ) wartości TD<sub>50</sub> podane w nawiasach nie byłybrane pod uwagę przy obliczaniu wskaźnika HERP, ponieważ pochodzą z badań na zwierzętach które okazały się mniej wrażliwe

\* substancje uważane za niegenotoksyczne

związków rakotwórczych występowały zawsze w żywności, tylko że wcześniej nie byliśmy w stanie ich wykryć. Rozwój badań toksykologicznych pozwolił na stwierdzenie, że wiele związków syntetycznych oraz zanieczyszczeń technicznych żywności wcześniej uznanych za nierakotwórcze obecnie przy ponownych badaniach inaczej ustawionych (stosowanie wysokich dawek), wykazało działanie rakotwórcze. Należy przy tym wziąć pod uwagę również to, że praktycznie nie ma związków całkowicie bezpiecznych dla zdrowia człowieka i najczęściej stopień zagrożenia zależy od dawki substancji, na którą człowiek bywa narażony [10, 22].

Gdyby więc w tej nowej sytuacji ściśle przestrzegać wymóg płynący z klauzuli *Delaney'a*, wówczas zbyt dużo środków spożywczych, oraz tradycyjnie stosowanych metod ich przetwarzania i przyrządzania do spożycia, musiałoby być całkowicie zaniechane. Doprowadziłoby to do drastycznego ograniczenia ilości żywności, potrzebnej do wyżywienia ludzi, bez jakiegokolwiek innej lepszej alternatywy. Dlatego tak dużego znaczenia nabiera problem dokładnego obliczania i oceny ryzyka zagrożenia zdrowia w stosunku do korzyści płynących z tolerowania „bezpiecznych poziomów” związków w żywności [19].

Specjaliści z zakresu toksykologii żywności opracowując to nowe podejście uznali, że można go zastosować wówczas, gdy w świetle aktualnego stanu wiedzy istnieje „rozsądna pewność”, że użycie związku do żywności zgodnie z przeznaczeniem nie spowoduje żadnych ujemnych następstw dla zdrowia. Podejście to odpowiada w pełni kryterium „standardu bezpieczeństwa zdrowotnego żywności”. Oznacza to m.in., że spożywanie środków spożywczych zawierających nieuniknione ilości tych związków, zgodnie z zasadami żywienia i przyjętymi zwyczajami żywieniowymi, nie wpłynie ujemnie na zdrowie, na długość życia i rozrodczość człowieka oraz zapewni mu i jego potomstwu prawidłowy rozwój fizyczny i umysłowy.

Jeżeli ryzyko ewentualnego zachorowania na nowotwór, w warunkach codziennego pobierania substancji i przy maksymalnie dozwolonej dawce jest nie większe niż 1 przypadek na milion osób narażonych na pobieranie tej substancji z pożywieniem (lub z innych źródeł) to wówczas uważa się że jest to praktycznie ryzyko zerowe. Podejście to nosi nazwę „doctrine de minimis” [20].

W praktyce zastosowano ten sposób przy ocenie pozostałości chlorku metylenu (tylko w związku z użyciem go) do ekstrakcji kofeiny z kawy), a także rozważa się zastosowanie tego podejścia przy ocenie niektórych barwników żywnościowych i pozostałości pestycydów. Chlorek metylenu wykazuje działanie rakotwórcze na zwierzętach doświadczalnych, a obliczone ryzyko zachorowania na nowotwory u ludzi wynosiło od 0,1 do 1 przypadku na milion osób narażonych na pobieranie śladów tego rozpuszczalnika [20]. Ryzyko zachorowania oblicza się w oparciu o odpowiednie modele matematyczne, w których najważniejszą rolę odgrywają wyniki badań toksykologicznych oraz wielkość spodziewanego narażenia ludzi na pobieranie związku z pożywieniem oraz inne dane [19].

Rozwinięto również inny sposób oceny nazwany „constituent policy”, wykorzystany w odniesieniu do środków spożywczych i obecnych w nich niekancerogennych barwników, które jednak mogą zawierać śladowe ilości zanieczyszczeń związkami rakotwórczymi. W takich sytuacjach ryzyko zachorowania na nowotwór rozpatruje się całościowo biorąc pod uwagę łączny efekt działania substancji dodatkowej razem z występującym w niej zanieczyszczeniem. Jeżeli obliczone ryzyko jest bardzo małe,

wówczas nie dyskwalifikuje się produktu spożywczego zawierającego substancję dodatkową z takim zanieczyszczeniem. W ten sposób FDA oceniła ryzyko wynikające z obecności śladowych ilości zanieczyszczeń w barwnikach, oraz monomerów (akralonitrylu i chlorku winylu) w syntetycznych materiałach opakowaniowych do żywności i podjęła stosowne decyzje na swoim szczeblu działania, bez potrzeby kierowania sprawy do regulacji na szczeblu rządowym [20].

Na zakończenie trzeba podkreślić, że w tych nowych podejściach bezpieczeństwo zdrowotne ludzi jest najważniejszym kryterium oceny związku. Jednakże nowością jest tu bardzo dokładne rozważanie korzyści w stosunku do ryzyka dla zdrowia wynikającego z obecności związku w żywności [19]. Oceny takie są szczególnie ważne wtedy gdy ewentualna szkodliwość związku jest wątpliwa a jego celowe użycie przynosi duże korzyści. Jest to szczególnie istotne wówczas, gdy brak jest bardziej bezpiecznego i równie skutecznego związku, albo nowej skuteczniejszej metody, dzięki której można by dotychczas używaną substancję lub stosowany proces technologiczny zastąpić.

Jak widać z dokonanego przeglądu największy postęp badań w zakresie oceny ryzyka wynikającego z obecności śladowych ilości związków rakotwórczych w żywności ma miejsce w USA [2, 4, 9, 15, 20]. Należy przy tym podkreślić, że mimo dużego postępu w zakresie wyżej przedstawionej problematyki, istota dyrektywy wynikająca z klauzuli Delaney'a nie utraciła swego znaczenia. Przestrzeganie tej klauzuli w obecnej sytuacji polega na wykorzystywaniu znacznie większej liczby informacji przy obliczaniu ryzyka zachorowania na chorobę nowotworową. Ta duża liczba danych umożliwia obecnie precyzyjną ocenę ryzyka i w związku z tym bardziej rozważne podejmowanie decyzji w sprawie dopuszczania i tolerancji substancji obcych i zanieczyszczeń w żywności.

Jak widać ostatecznym celem tych wielostronnych badań jest to, aby zapewnić właściwy poziom bezpieczeństwa zdrowotnego i równolegle odpowiednią obfitość produktów spożywczych niezbędnych do wyżywienia ludzi.

W praktyce nie zawsze jest to łatwe do pogodzenia, a dla władz zajmujących się kontrolą jakości zdrowotnej żywności stanowi to przedmiot bardzo odpowiedzialnej służby.

M. Nabrzyski

#### NEW LOOK AT THE PROBLEMS OF ASSESSMENT AND TOLERANCE OF CERTAIN CARCINOGENS IN FOOD – LITERATURE REVIEW

##### Summary

The present approach to the assessment of carcinogens in food is described in the light of a literature review. In accordance with *Delaney* clause, these compounds should not be found in food. The advances in analytical methods have shown, however, that it is not possible to avoid the presence of trace amounts of carcinogens, natural as well as synthetic. On the basis of the maximal tolerated dose (MTD) established in animal studies the power of cancerogenic activity of many compounds was determined as expressed by the dose producing cancer development in 50% of the experimental animals. This dose has the symbol  $TD_{50}$ , analogously to the  $LD_{50}$  symbol used in toxicology. On the basis of these doses a trial is presented of ranking cancerogenicity using a new index HERP which expressed the per cent of the amount of a compound taken with food in relation to  $TD_{50}$ . Trials are mentioned also of estimating health risk on the basis of evaluation of the risk of malignancy development due to intake of a compound with food, according to the "de minimis" doctrine.

## PIŚMIENICTWO

1. *Ames B.N., Mc Cann J., Jamasaki E.*: Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella (mammalian – microsome mutagenicity test). *Mutation Research* 1975, 31, 347.
- 2. *Ames B.N.*: The detection of environmental mutagens and potential carcinogens. *Cancer* 1984, 53, 2034.
- 3. *Ames B.N., Gold L.S.*: Response to article Devra Lee Davis. *Science (Letters)* 1987, 238, 1634.
- 4. *Ames B.N., Magaw R., Swirsky-Gold L.*: Ranking possible Carcinogenic Hazards. *Science* 1987, 236, 271.
- 5. *Ames B.N., Gold L.S.*: Response to Epstein et al. article. *Science (Technical Comments)* 1988, 240, 1045.
- 6. *Ashby J., Morrod R.S.*: Detection of human carcinogens. *Nature* 1990, 352, 185.
- 7. Commission of the European Communities. Report of the Scientific Committee for Food (Sixteenth series) (EUR 10210 EN), 1985.
- 8. *Conning D.M.*: Atrategies for Toxicity testing of food chemicals and components. *Fd. Chem. Toxic.* 1990, 28, 735.
- 9. *Dall R., Peto R.*: The causes of cancer, Quantitative estimates of avoidable risk of cancer in the United States today. *J. Natl. Cancer Inst.* 1981, 66, 1191.
- 10. *Edelman P.A.*: Prevention of injury by pesticides. *Handbook of Pesticide Toxicology.* 1991 vol. 1, 405.
11. *Epstein S.S., Swartz J.B.*: Carcinogenic risk estimation. *Science (Technical Comments)*, 1988, 240, 1043.
- 12. FAO/WHO. IPCS. Toxicological Evaluation of Certain Food Additives and Food Contaminants. WHO Food Additives Series No 18. Geneva April 1983.
- 13. *Gold L.S., Sawyer C.B., Magaw R., Backman G.M., de Veciana M., Levinson R., Hooper N.K., Havender W.R., Barnstein L., Peto R., Pike M.C., Ames N.B.*: A carcinogenic potency date Base of the standardized results of animal bioassays. *Environ. Health Respect.* 1984, 58, 9.
- 14. *Gold L.S., de Veciana M., Backman G.M., Magaw R., Lopipero P., Smith M., Blumental M., Levinson R., Bernstein L., Ames B.N.*: Chronological supplement to the carcinogenic potency data base: Standarized results of animal bioassays published through December 1982. *Environ. Health Perspect.* 1986, 67, 161.
- 15. *Hazelwood R.N.*: Carcinogen risk assesment. *Advances in Food Research.* Academic Press Inc. San Diego. New York, Berkeley, Boston. 1987, 31, 1.
- 16. *Ito N., Hagiwara A., Shibata N., Ogiso T., Fukushima S.*: Induction of squamous cell carcinoma in the forestomach of F 344 rats treated with butylated hydroxyanisole. *Gann.* 1982, 73, 332.
- 17. *Kland M.I.*: Treatment of multivariate environmental and health problems associated with oil shale technology. Lawrence Berkeley Laboratory. University of California. Symposium EPA/DOE Gattinburg TN June 24 1980.
- 18. *Larsen J.C., Poulsen E.*: Mutagens and Carcinogens in Heat-Processed Food. In *Toxicological Aspects of Food* Ed. Klara Miller. Elsevier Applied Science. London a. New York 1987. p. 205.
- 19. *Lave L.B.*: Health and safety risk analyses: Information for better decisions. *Science* 1987, 236, 291.
- 20. *Malaspina A.*: Regulatory Aspects of Food Additives in *Toxicological Aspects of Food.* Ed. Klara Miller. Elsevier Applied Science, Publishers LTD, London a. New York, 1987 p. 17.
21. *McCann J., Ames B.B.*: Detection of carcinogenes as mutagens in the salmonella, microsome test: Assay of 300 chemicals: Discussion. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1976, 73, 950.
- 22. *Nabrzyski M., Ganowiak Z.*: Przegląd wybranych związków rakotwórczych pochodzenia naturalnego i tworzących się w żywności w czasie procesów technologicznych. *Roczniki PZH* 1992, 43, 223.
- 23. *Nikonorow M., Urbanek-Karlowska B.*: Toksykologia Żywności. PZWL Warszawa 1987.
- 24. *Oace S.M.*: Diet and Cancer. *J. Nutrit. Education* 1978, 10, 106.
- 25. *Peto R., Pike M.C., Bernstein L., Gold L.S., Ames B.N.*: The TD<sub>50</sub>: A proposed chronic – exposure animal experiment. *Environ. Health Perspect.* 1984, 58, 1.
- 26. *Price J.M., Biava C.G., Oser B.L., Vogin E.E., Steinfeld J., Ley H.L.*: Bladder tumors in rats fed cyclohexylamine or high doses of a mixture of cyclamate and saccharin. *Science* 1970, 167, 1131.
- 27. *Schoenig G.P., Goldenthal E.I., Geil R.G., Frith C.H., Richter W.R., Carlborg F.W.*: Evaluation of the dose response and in utero exposure to saccharin in the rat. *Food Chem. Toxicol.* 1985, 23, 475.
- 28. *Toxicological Principles for the Safety Assessment of Direct Food Additives and Color Additives Used in Food.* US Food a. Drug Administration Bureau of Foods 1982.
- 29. WHO/FAO. Toxicological evaluation of certain food additives and food contaminants. Twenty eight report WHO Techn. Rep. Ser., No 710, Geneva 1984.
- 30. WHO/FAO. Toxicological evaluation of certain Food Additives. Twenty six report. WHO Techn. Rep. Ser. No 683, 1982.

Dn. 1992.11.30

80-416 Gdańsk, ul. Hallera 107