

ADRIANA NOWAK, ZDZISŁAWA LIBUDZISZ

KARCINOGENY W PRZEWODZIE POKARMOWYM CZŁOWIEKA

Streszczenie

Dieta bogata w białko zwierzęce może sprzyjać rozwojowi nowotworów jelita grubego. Nitrozoaminy, heterocykliczne aminy aromatyczne (HCA) oraz wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) to związki o udokumentowanym działaniu mutagennym i karcynogennym. Są powszechne zarówno w środowisku człowieka, jak i w produktach spożywczych grillowanych, peklowanych, wędzonych oraz konserwowanych solami azotowymi. Karcynogeny te mogą być również tworzone z ich prekursorów lub przekształcane przez mikroorganizmy jelitowe do pochodnych o wysokim stopniu szkodliwości.

Słowa kluczowe: dieta, nitrozoaminy, heterocykliczne aminy aromatyczne (HCA), wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), nowotwory jelita grubego

Wprowadzenie

Nowotwory jelita grubego są jedną z głównych przyczyn zgonów w krajach rozwiniętych. Stwierdzono, że za 80 % przypadków tej choroby odpowiada niewłaściwa dieta [8]. Istnieje wiele dowodów świadczących o tym, że dieta mięsna, a więc bogata w białka i tłuszcze zwierzęce, a uboga w owoce i warzywa, sprzyja rozwojowi guzów jelita grubego.

Do karcynogenów egzogennych (przedostających się do organizmu człowieka na przykład wraz z dietą) zalicza się [9]: nitrozoaminy, heterocykliczne aminy aromatyczne (HCA) i wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA). Związki te mogą być także przekształcane przez mikroorganizmy jelitowe do równie niebezpiecznych pochodnych.

Nitrozoaminy

Mogą znajdować się w żywności, a także w kosmetykach, produktach farmaceutycznych, dymie tytoniowym, wodzie pitnej, powietrzu, wyrobach gumowych. Po-

wszechnie występują w produktach mięsnych (zwłaszcza peklowanych i wędzonych), do których dodano azotany(III) i azotany(V), stosowane jako dodatki podczas produkcji lub jako konserwanty do gotowych produktów. Jony azotanowe(V) oraz ich prekursorzy – jony azotanowe(III) występują także w roślinach jadalnych, które pobierają je z gleby wraz z wodą w postaci rozpuszczalnych soli. Zwiększonemu ich poborowi sprzyja nawożenie oraz stosowanie środków ochrony, takich jak insektycydy, herbicydy i fungicydy. Dieta bogata w jony azotanowe sprzyja endogennej reakcji nitrozowania, tj. tworzenia nitrozozwiązków, w tym nitrozoamin. Większość nitrozozwiązków pochodzi z syntezy endogennej [9, 18, 35].

Jony azotanowe(V) same w sobie nie są szkodliwe, ale po przedostaniu się do organizmu mogą być przekształcane przez enzym bakteryjny – reduktazę azotanową (EC 1.7.1) do jonów azotanowych(III), a te z kolei, przy udziale nitroreduktazy (EC 1.7.1.1) mogą reagować z aminami pierwszo-, drugo- i trzeciorzędowymi, a także aminokwasami, amidami, indolami lub fenolami, tworząc nitrozoaminy, według poniższego schematu [9]:



Endogenne tworzenie nitrozozwiązków odbywa się głównie w żołądku, czemu sprzyja niskie pH. Polega ono na reakcji amin i amidów z azotanami(III) powstałymi z azotanów(V), poprzez redukcję bakteryjną w jamie ustnej [12]. Za inny mechanizm nitrozowania odpowiedzialne są bakterie denitryfikacyjne, a substratami mogą być produkty przemian białek, aminy drugorzędowe oraz pochodne mocznika [36]. Z żołądka związki nitrozowe mogą wraz z krwią przenikać do innych organów. Również w jelicie grubym nitrozowaniu mogą ulegać aminokwasy, amidy, indole, fenole oraz kwas glikocholowy [5, 8, 12, 16].

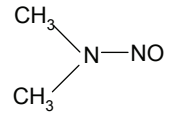
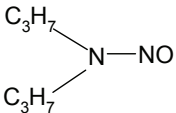
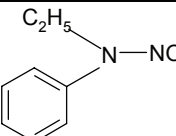
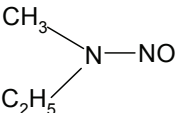
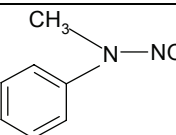
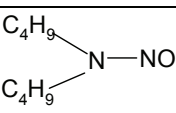
Bakterie jelitowe zdolne do nitrozowania, co wykazano w badaniach *in vitro*, należą do rodzajów: *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Klebsiella* i *Neisseria* [9]. Wykryto, że w jelicie grubym człowieka względne beztlenowce, takie jak *Enterococcus faecalis* oraz bezwzględne beztlenowce z rodzajów *Clostridium* i *Bacteroides* mogą prowadzić nitrozowanie difenyloaminy, natomiast szczep *Escherichia coli* A10 może brać udział w syntezie N-nitrozodimetyloaminy (NDMA). W badaniach *in vivo* udowodniono, że nitrozoaminy w żołądku oraz w jelicie grubym szczurów powstawały w wyniku aktywności reduktazy azotanowej. Czynnikiem sprzyjającym endogennemu nitrozowaniu w jelicie grubym jest dieta bogata w mięso, zwłaszcza czerwone, co w efekcie może prowadzić do powstania nowotworu jelita grubego [10, 18]. Zwiększona konsumpcja czerwonego mięsa (od 60 do 600 g dziennie), powoduje 3-krotnie

większe stężenie związków nitrozowych wydalanych w kale. Tworzeniu nitrozoamin sprzyja konserwowanie żywności solami kwasu azotowego oraz jego pochodnymi. Normalna przemiana azotanów(V) przez bakterie beztlenowe odbywa się w dwóch etapach. Pierwszy krok to redukcja azotanu(V) do azotanu(III) przy udziale reduktazy azotanowej, a następnie jego redukcja do jonu amonowego NH_4^+ . Jednakże przy nadmiarze jonów azotanowych(V), a tym samym azotanowych(III), w jelicie grubym następuje ich reakcja z aminami i amidami przy udziale mikroorganizmów jelitowych, z wytworzeniem karcynogennych nitrozoamin [18, 25].

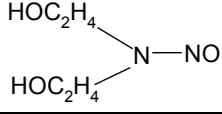
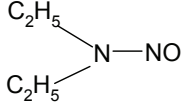
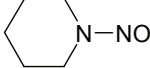
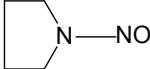
Najważniejsze nitrozoaminy, na które narażony jest organizm człowieka zestawiono w tab. 1.

Tabela 1

Nitrozoaminy występujące w otoczeniu człowieka.
Nitrosamines present in the human environment.

Nazwa Name	Skrót Short name	Wzór chemiczny (strukturalny) Chemical (structural) formula
N-nitrozodimetyloamina N-nitrosodimethylamine	NDMA	
N-nitrozodipropyloamina N-nitrosodipropylamine	NDPA	
N-nitrozoetylofenyloamina N-nitrosoethylphenylamine	NEFA	
N-nitrozometyloetyloamina N-nitrosomethylethylamine	NMEA	
N-nitrozometylofenyloamina N-nitrosomethylphenylamine	NMFA	
N-nitrozodibutyloamina N-nitrosodibuthylamine	NDBA	

c.d. Tab. 1

N-nitrozodietanoloamina N-nitrosodiethanolamine	NDEIA	
N-nitrozodietyloamina N-nitrosodiethylamine	NDEA	
N-nitrozopiperidyna N-nitrosopiperidine	NPIP	
N-nitrozopirolidyna N-nitrosopirrolidine	NPYR	

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie [3 i 7] / the authors' own study on the basis of [3, 7].

Głównym źródłem egzogennym jonów azotanowych jest: sałata, marchew, szpinak, seler i buraki (ponad 1000 mg/kg); ziemniaki, kapusta (100-1000 mg/kg) oraz pomidory (do 100 mg/kg) [7].

Naturalne aminy zawarte w żywności i ulegające nitrozowaniu to, m.in. metyloguanidyna, glicyna, walina oraz prolina. W mięsie ryb, w wyniku przemian enzymatycznych lub bakteryjnych, powstają prekursorzy nitrozoamin tj. monometyloamina, dimetyloamina i trimetyloamina. Natomiast putrescyna, kadaweryna, piperidyna i pirolidyna powstają z białek w wyniku procesów gnilnych oraz obróbki kulinarnej. Niektóre aminy i ich pochodne występujące w produktach spożywczych przedstawiono w tab. 2.

Nitrozoaminy występują w produktach żywnościowych w bardzo różnych stężeniach, zależnie od sposobu przygotowania (tab. 3).

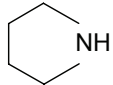
Szacuje się, że w krajach europejskich średnie dzienne spożycie azotanów (III) i (V) wraz z wodą pitną oraz pożywieniem wynosi od 31 do 185 mg [7].

NDMA jest nitrozoaminą najpowszechniej występującą w pożywieniu, a także powstającą w wyniku endogennego nitrozowania. Jest również najlepiej poznana ze względu na odnotowane przypadki ostrego zatrucia. W badaniach na zwierzętach wykazano, że NDMA powoduje bardzo ciężkie uszkodzenia wątroby, owrzodzenie, krwawienie z jelit oraz działa drażniąco na błony śluzowe i skórę. Dzielne narażenie na NDMA w diecie kształtuje się różnie w poszczególnych krajach (tab. 4). Przeciętne spożycie NDMA wynosi od 0,1 do 1,1 µg/dzień [30]. W Kanadzie po przebadaniu 121 prób mięsa, NDMA wykryto we wszystkich próbach, w ilości od 0,1 do 17,2 µg/kg [24]. We Francji (w latach 1987-1992) po przebadaniu 556 próbek pożywienia i 75 napojów stwierdzono, że dzienne spożycie NDMA, którą wykryto w 68 % prób, wyno-


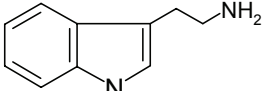
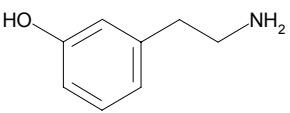
siło 0,19 µg. Inne dane wykazują, że spożycie NDMA wraz z pokarmem wynosi 0,03 µg/kg masy ciała dziennie, a wraz z wodą pitną 0,24 pg/L dziennie, palacz dodatkowo narażony jest na dawkę 5,6 µg NDMA dziennie [38].

Tabela 2

Aminy i ich pochodne ulegające nitrozowaniu występujące w produktach spożywczych.
Amines and their nitrosable derivatives present in some food products.

Nazwa aminy lub pochodnej Name of amine or its derivative	Wzór chemiczny Chemical formula	Występowanie Occurrence
Dimetyloamina Dimethylamine	$(\text{CH}_3)_2\text{NH}$	czerwona kapusta, kalafior, rzodkiewka, kukurydza, marynowane ogórki, śledź, liofilizowana kawa, jarmuż, wieprzowina, seler, sałata, marynowana cebula, jęczmień, chmiel, sardynki w oleju, łosoś, makrela, ciemny chleb red cabbage, cauliflower, radish, corn, pickled cucumbers, herring, lyophilised coffee, kale, pork, celeriac, salad, pickled onion, barley, chops, sardines in oil, salmon, shiner, wholemeal bread
Dietyloamina Diethylamine	$(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NH}$	szpinak, marynowane ogórki, śledź, wołowina, jabłka, marynowana cebula, chmiel, ikra dorsza spinach, pickled cucumbers, herring, beef, apples, pickled onion, chops, cod roe
Dipropyloamina Diprophylamine	$(\text{C}_3\text{H}_7)_2\text{NH}$	marynowane ogórki, papryka, seler, cebula, sery dojrzewające, mleko, ciemny chleb pickled cucumbers, paprika, celeriac, onion, ripening cheeses, milk, wholemeal bread
Dibutyloamina Dibutylamine	$(\text{C}_4\text{H}_9)_2\text{NH}$	sery dojrzewające, ciemny chleb, marynowane ogórki, olej sojowy ripening cheeses, wholemeal bread, pickled cucumbers, soy oil
Piperydyna Piperidine		jarmuż, marynowana papryka i seler, kakao, jęczmień, wołowina, liofilizowana kawa, chmiel, pieprz kale, pickled paprika and celeriac, cacao, barley, beef, lyophilised coffee, chops, pepper
Putrescyna Putrescine	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$	sery dojrzewające, sos sojowy, wieprzowina, bekon, kapusta kiszona ripening cheeses, soy sauce, pork, bacon, sauerkraut
Kadaweryna Cadaverine	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_5\text{NH}_2$	sery dojrzewające, groch, wędzona wieprzowina, kiełbasa, sos sojowy, kapusta kiszona ripening cheeses, peas, smoked pork, sausage, soy sauce, sauerkraut

c.d. Tab. 2

Pirolidyna Pyrolidine		szpinak, kukurydza, marynowane papryka, seler, ogórki i cebula, sery dojrzewające, chmiel, słód, rzodkiewka spinach, corn, pickled paprika, celeriac, cucumbers and onion, ripening cheeses, hops, malt, radish,
Tryptamina Tryptamine		pomidor, wieprzowina, bekon, sery dojrzewające, kiełbasa, szynka tomato, pork, bacon, ripening cheeses, sausage, ham
Tyramina Tyramine		sery dojrzewające, pomidor, ryba wędzona i marynowana, mleko, kapusta kiszona, maliny, szynka, banan, piwo, mięso ośmiornicy, kiełbasa, wino, awokado, wieprzowina ripening cheeses, tomato, smoked and pickled fish, milk, sauerkraut, raspberries, ham, banana, beer, octopus meat, sausage, wine, avocado, pork

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie [7, 17, 25] / the authors' own study on the basis of [7, 17, 25].

Na podstawie obszernych badań monitoringowych stwierdzono, że przeciętny mieszkaniec UE pobiera wraz z dietą dziennie od 0,3 do 1,0 μg tych związków, głównie NDMA, NPYR i NPIP, gdyż inne nitrozoaminy występują sporadycznie [30].

Badania przeprowadzone w Polsce w latach 90. XX w. wykazały obecność NDMA, w stężeniach 0,1 - 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w 71 % wędzonych i 61 % pasteryzowanych szynek. Natomiast badania prowadzone w latach 1998 - 2000 wykazały, że stężenie NDMA może być wyższe i wynosić średnio do 1,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w 63 % analizowanych przetworów drobiowych oraz do 1,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w 67 % wędlin podrobowych. W 46 % konserw mięsnych stwierdzono NDMA średnio w stężeniu 0,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, w 67 % surowych kiełbas średnio 0,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ oraz w 72 % wyrobów garmazeryjnych zawartość NDMA wynosiła średnio 1,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ [4].

Spośród wszystkich związków N-nitrozowych, nitrozoaminy są odpowiedzialne za indukcję nowotworów w różnych organach, najczęściej wątroby, jelita grubego, płuc, trzustki, żołądka, nerek, pęcherza moczowego, przełyku i języka [16, 17]. Wszystkie nitrozoaminy wykazują właściwości genotoksyczne, mutagenne, teratogenne i karcynogenne, powodując, m.in. alkilowanie DNA [7].

Tabela 3

Zawartość nitrozoamin w produktach spożywczych.
Content of some nitrosamines in food products.

Nitrozoamina Nitrosamine	Stężenie [$\mu\text{g}/\text{kg}$] Concentration [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Źródło pochodzenia Source of origin
NDMA, NDEA (N-nitrozodietanoloamina, N-nitrosodiethanolamine), NDBA (N-nitrozodibutyloamina, N-nitrosodibuthylamine), NPYR (N-nitrozopirolidyna, N-nitrosopyrolidine), NPIP (N-nitrozopiperidyna, N-nitrosopiperidine), NPRO (N-nitrozoprolina, N-nitrosoproline), NSAR (N-nitrososarkozyna, N-nitrososarcosine)	0,4 - 440,0	wędzone kiełbasy, salami, bekon, szynka, konina, wołowina, frank- furterki, hamburgery smoked sausages, salami, bacon, ham, horsemeat, beef, frankfurters, hamburgers
NDMA, NDEA	0,5 - 40,0	ryby świeże, solone i wędzone, przetwory rybne fresh, salted and smoked fish
NDMA, NDEA	1,0 - 10,0	ser, mleko, mąka cheese, milk, flour
NDMA, NDEA, NPIP, NDBA, NDPA (N-nitrozodipropyloamina, N-nitrosodiprophylamine), NMEA (N-nitrozometyloetyloamina, N-nitrosomethylethylamine), NEBA (N-nitrozoetylobutyloamina, N-nitrosoethylbutylamine)	10,0 - 21,0	wino, spirytus, jabłecznik destylo- wany wine, spirit, distilled cider
NDMA	300,0	olej sojowy soy oil

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie [3, 4] / the authors' own study on the basis of [3, 4].

Tabela 4

Dzienne spożycie NDMA.
Daily intake of NDMA.

Kraj Country	Ilość pobranej NDMA [$\mu\text{g}/\text{dzień}$] Intake of NDMA [$\mu\text{g}/\text{day}$]	Główne źródło narażenia Main source of exposure
Wielka Brytania Great Britain	0,53	przetwory mięsne meat products
Holandia The Netherlands	0,38	piwo beer
Niemcy Germany	0,53	przetwory mięsne / meat products
Japonia Japan	1,80	suszone ryby dried fish
Szwecja Sweden	0,29	przetwory mięsne meat products
Finlandia Finland	0,08	wędzone ryby smoked fish

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie [30] / the authors' own study on the basis of [30].

Heterocykliczne aminy aromatyczne (HCA)

HCA (*heterocyclic aromatic amines*) to grupa związków będących produktami pirolizy aminokwasów i białek, które powstają podczas termicznej obróbki żywności (gotowanie, smażenie, pieczenie, grillowanie), głównie mięsa czerwonego oraz ryb. W wysokiej temperaturze ($150 \leq 300 \text{ }^\circ\text{C}$) aminokwasy budujące białka mięsa ulegają reakcji z kreatyną i sacharydami występującymi w mięśniach (reakcja Maillarda), tworząc w ten sposób HCA [29]. Powstają więc głównie na powierzchni mięsa i ryb pieczonych nad otwartym ogniem. W temperaturze niższej ($150 - 200^\circ\text{C}$) na powierzchni smażonego mięsa, jak również w wywarze mięsnym, powstają produkty pochodne, tj. chinoliny, chinoksaliny i pirydyny, równie niebezpieczne, jak HCA.

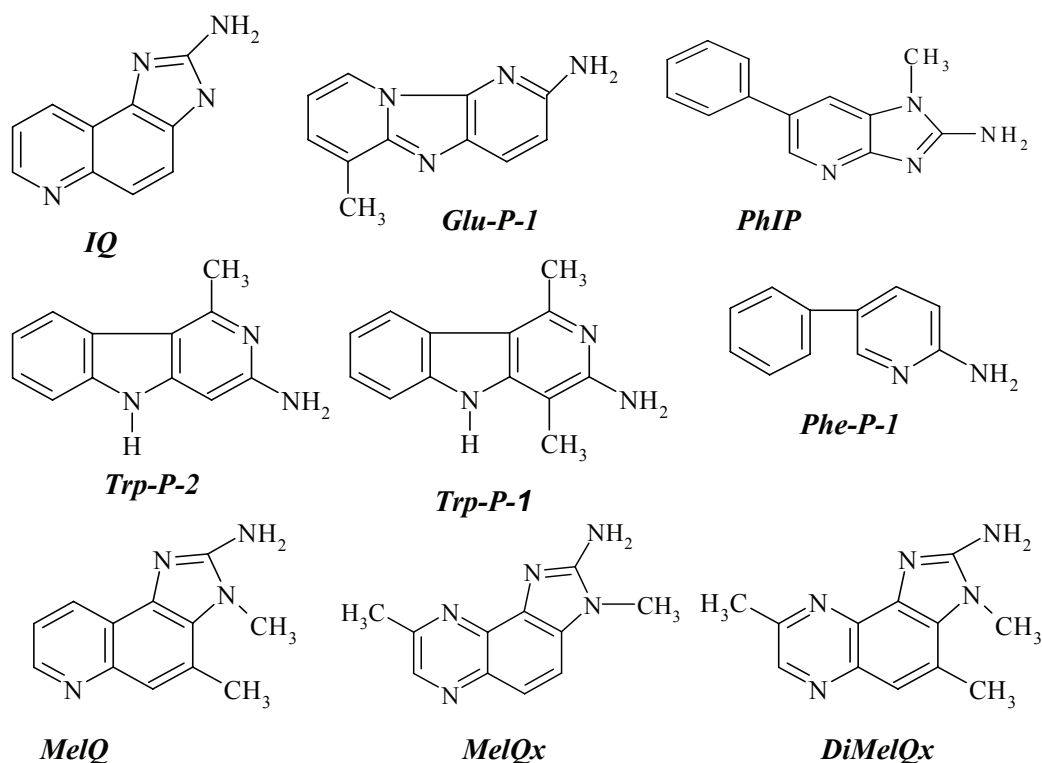
- HCA można podzielić na 2 grupy [5]:
- polarne, do których należą imidazochinoliny (IQ), imidazochinoksaliny (IQx) oraz imidazopirydyny; powstające z aminokwasów, sacharydów i kreatyny;
- niepolarne, takie jak: piroindole i dipiroimidazole.

Heterocykliczne aminy aromatyczne zbudowane są z pierścieni aromatycznych oraz grupy aminowej i metylowej ułożonych w różnych pozycjach.

Do najpopularniejszych HCA należą (rys. 1):

- 2-amino-3-metylo-3*H*-imidazo[4,5-*f*]chinolina (IQ);
- 2-amino-3,4-dimetylo-3*H*-imidazo[4,5-*f*]chinolina (MeIQ);
- 2-amino-3,8-dimetylo-3*H*-imidazo[4,5-*f*]chinoksalina (MeIQx);

- 2-amino-1-metylo-6-fenyl-1*H*-imidazo[4,5-*b*]pirydyna (PhIP);
- 3-amino-1,4-dimetylo-5*H*-pirydo[4,3-*b*]indol (Trp-P-1);
- 3-amino-1-metylo-5*H*-pirydo[3,4-*b*]indol (Trp-P-2).



Rys. 1. Wzory strukturalne niektórych heterocyklicznych amin aromatycznych.

Fig. 1. Structural formulas of some heterocyclic aromatic amines.

HCA są tworzone w wyniku obróbki termicznej produktów spożywczych zawierających białka, tj.: ryb, wołowiny, drobiu, wieprzowiny itp. [29]. Zawartość HCA w żywności jest zróżnicowana i wynosi od kilku do kilkuset ng/g żywności (tab. 5). Pomimo że związki te znajdują się w pożywieniu w śladowych ilościach, ich obecność jest bardzo istotna, biorąc pod uwagę silne właściwości mutagenne i karcynogenne [31, 34].

Ilość HCA powstałych podczas obróbki termicznej mięsa nie jest stała i zależy od [14, 15]:

- czasu i temperatury - ilość powstałych HCA jest wprost proporcjonalna do czasu i temperatury termicznej obróbki mięsa;

- rodzaju mięsa - najczęściej HCA znajduje się w dobrze wysmażonym, czerwonym mięsie;
- sposobu przygotowania - mięso poddane procesowi marynowania, smażenia lub grillowania zawiera więcej HCA niż mięso niepeklowane lub gotowane.

IQ po raz pierwszy wyizolowano z pieczonych sardynek, częściej jednak jest spotykana w czerwonym mięsie, jak również w smażonych jajach, (około 0,1 ppb). MeIQ wykryto w pieczonej kiełbasie i hamburgerach [6]. IQ, MeIQ i PhIP to najistotniejsze mutageny w smażonych rybach, a PhIP w pieczonym drobiu. MelQx i PhIP najobficiej występują w ugotowanej wołowinie, odpowiednio w stężeniu 1 - 2 ng/g i 1 - 50 ng/g. HCA są obecne nie tylko w mięsie, ale także w pochodzącym z niego tłuszczu oraz w przypieczonej skórcie [19].

Tabela 5

Zawartość HCA w smażonych produktach żywnościowych.
Content of HCA in fried food products.

HCA [ng/g mięsa] HCA [ng/g of meat]						Produkt The product
IQ	MeIQ	MelQx	PhIP	Trp-P-1	Trp-P-2	
0,3-2	nd*	3-12	23,5-48,5	nd	nd	befszyk pieczony 5 - 15 min w temp. 190 - 275 °C beafsteak roasted for 5 - 15 min at temp. of 190 - 275 °C
0,19	nd	2,11	15,7	0,21	0,25	pieczona wołowina roasted beef
nd	nd	2,33	38,1	0,12	0,18	pieczone kurczę roasted chicken
nd	nd	1,01	42,5	nd	0,15	pieczona baranina roasted mutton
0,04	0,02	0,8-8,5	1,7-91	nd	nd	pieczona wieprzowina roasted pork
0,16-20	0,03-20	0,8-8,5	1,7-91	13,0	13,0	smażona ryba fried fish

*nd – niewykrywalne / not detectable;

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie [6, 14, 19, 26, 27] / the authors' own study on the basis of [6, 14, 19, 26, 27].

Całkowite stężenie HCA w przetworzonym termicznie mięsie może wynosić od 1 do 500 ng/g, z reguły jednak nie przekracza 100 ng/g. W największej ilości występują PhIP (do 450 ng/g), IQ (do 240 ng/g) oraz MelQx (do 89 ng/g), podczas gdy stężenie

MelQ wynosi około 0,03 ng/g, a Trp-P-2 od 0,3 do 13 ng/g. Dzielne spożycie wszystkich HCA przez dorosłą osobę waha się od 1 do 17 ng/kg masy ciała, natomiast samej PhIP może sięgać do 865 ng (średnio 72 ng), zależnie od diety. Należy pamiętać, że HCA wykryto również w winie, piwie, dymie papierosowym oraz w dymie powstającym podczas obróbki mięsa, tak więc ekspozycja na te związki dotyczy także drogi inhalacyjnej. Tą drogą pobierana jest głównie PhIP, która jest obecna także w spaliniach samochodowych, w popiele pochodzącym ze spalarni śmieci oraz w powietrzu [14].

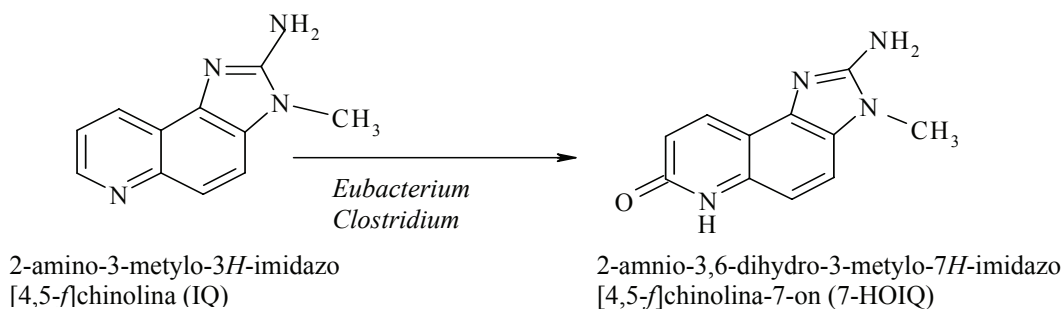
HCA wykazują działanie mutagenne [2, 29, 31]. Wchłanianie niewielkich ilości HCA (głównie PhIP i MeIQx w ilości od 0,1 do 12 mg/dobę) może powodować uszkodzenia DNA [21]. Istnieją dowody wskazujące, że HCA uszkadzają komórki mięśnia sercowego, a zatem przyczyniają się do chorób tego organu. Jednakże HCA działają przede wszystkim na geny, których mutacje mają istotne znaczenie w powstawaniu nowotworów jelit, a także piersi. Stwierdzono, że HCA indukują wymiany siostrzanych chromatyd, aberracje chromosomowe, niekontrolowane syntezy DNA oraz formowanie reaktywnych adduktów DNA [5, 31]. Najczęstszą mutacją genową prowadzącą do rozwoju raka jelita grubego jest substytucja, podczas gdy HCA najczęściej powodują mutacje typu zmiany ramki odczytu [2]. Ilość HCA pobranych wraz z pokarmem jest zbyt mała, aby wywołać nowotwór. Konieczne są sprzyjające czynniki środowiskowe, np. podatność na choroby jelit. Mechanizmy naprawcze w organizmie ludzkim usuwają większość mutacji genowych i tylko niektóre z nich mogą dać początek rozwojowi komórek rakowych. HCA w większości ulegają detoksyfikacji w reakcji sprzęgania z kwasem glukuronidowym w wątrobie (1 - 4 % HCA wykrywanych jest w moczu w niezmienionej postaci) [5].

Mutagenność HCA udowodniono także w teście Ames. IQ okazała się wysoce mutagenna po aktywacji metabolicznej frakcją S9 (wyciąg enzymów wątrobowych szczura). PhIP wykazuje stosunkowo słabe właściwości mutagenne w teście Ames i w porównaniu z IQ i MeIQx wykazuje większą mutagenność w komórkach ssaków. Jest to informacja bardzo istotna, ponieważ PhIP występuje w przetworzonym termicznie mięsie i rybach w największych ilościach [34]. W teście kometkowym *in vitro* z zastosowaniem linii komórek promielocytów białaczkowych HL60 wykazano wysoką genotoksyczność HCA (IQ, MeIQx oraz PhIP w stężeniach 25 µg/ml) [22].

Występujące w żywności HCA to mutageny i karcynogeny mające negatywny wpływ na zdrowie człowieka. Badania nad karcynogennością mięsa przygotowywanego w wysokiej temperaturze trwają od 1939 roku, kiedy to szwedzki chemik Widmark odkrył, że ekstrakt mięsny powoduje nowotwory skóry u myszy [20]. Badania *in vivo* wykazały, że HCA indukują nowotwory u myszy i szczurów głównie w wątrobie, jelicie grubym, płucach i innych tkankach (naczynia krwionośne, skóra, jelito cienkie, jama ustna, prostata, dolna część przełyku, węzły chłonne). Podawanie myszom po-

karmu, w którym stężenie HCA wynosiło 50 - 800 ppm powodowało nowotwory płuc, żołądka, jelita grubego i cienkiego [21].

Mikroorganizmy jelitowe mają zdolność przemiany heterocyklicznych amin aromatycznych do mutagenów bezpośrednich [5]. Po inkubacji IQ z zawiesiną treści jelitowej człowieka, związek przy udziale bakterii beztlenowych z rodzajów *Bacteroides* (*B. thetaiotaomicron*), *Clostridium* (*C. clostridiiforme* i *C. perfringens*), *Eubacterium* (głównie *E. moniliforme*) oraz *Escherichia coli* ulegał przekształceniu do 7-hydroksy metabolitu (7-OHIQ) (rys. 2). 7-hydroksy-IQ wykazuje wysoką mutagenność w teście Ames, a także indukuje uszkodzenia DNA w kolonocytach *in vitro* [33]. Mikroorganizmy jelitowe wpływają na genotoksyczność HCA. Woda fekalna, uzyskana po karmieniu szczurów IQ z konwencjonalnym składem mikroorganizmów jelitowych, wykazywała o wiele większą genotoksyczność w teście kometkowym niż szczurów gnotobiotycznych, co świadczy o tym że bakterie jelitowe aktywują IQ do mutagenu bezpośredniego. Również w badaniach *in vivo* na szczurach wykazano, że mikroorganizmy jelitowe wegetarian w mniejszym stopniu przyczyniają się do aktywacji IQ niż mikroflora konwencjonalna, gdyż stopień uszkodzenia DNA, co także wykazano w teście kometkowym, był kilkakrotnie niższy niż stopień uszkodzenia DNA w grupie odżywiającej się mięsem [13]. Dowiedziono, że inne podobne metabolity mogą powstawać ze strukturalnie podobnych heterocyklicznych amin. Głównymi metabolitami MelQ i MelQx powstałymi podczas inkubacji z zawiesiną mikroorganizmów fekalnych człowieka w warunkach beztlenowych są karbonylowe formy tych związków, a więc odpowiednio: 2-amino-3,6-dihydro-3,4-dimetyloimidazo[4,5-*f*]chinolino-7-on i 2-amino-3,6-dihydro-3,8-dimetyloimidazo[4,5-*f*]chinoksalino-7-on [5]. Oba są mutagenami bezpośrednimi.



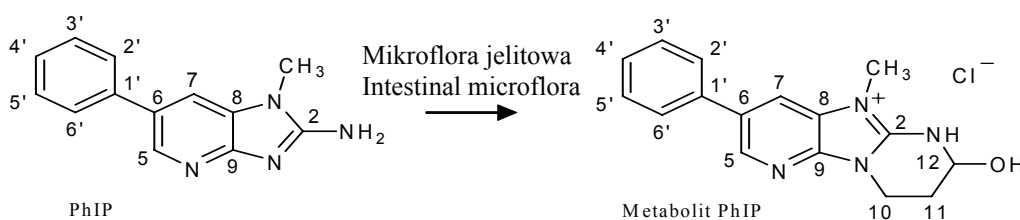
Rys. 2. Przemiana IQ do 7-HOIQ.

Fig. 2. Transformation of IQ to 7-OHIQ.

W badaniach nad metabolizmem PhIP przez mikroorganizmy jelitowe próbki kału od 6 ochotników poddano beztlenowej inkubacji przez 72 h i stwierdzono, że mikroor-

ganizmy jelitowe aktywnie przetwarzają od 55 do 95 % PhIP. Metodami ESI-MS/MS, NMR i IC potwierdzono obecność głównego metabolitu PhIP, którym był 7-hydroksy-5-metylo-3-fenyl-6,7,8,9-tetrahydropirydo[3',2:4,5]imidazo[1,2 α]pirymidyno-5-chlorek (rys. 3). Nic nie wiadomo o aktywności biologicznej nowo wykrytego związku. Nie wiadomo, czy jest on bardziej, czy mniej mutagenny od swojego prekursora, a więc czy mikroflora jelitowa bierze udział w jego aktywacji, czy detoksyfikacji. Metabolit ten został wykryty nie tylko w badaniach *in vitro*, ale także *in vivo*, w moczu i w kale [32].

Głównym sposobem detoksyfikacji i usuwania HCA z organizmu człowieka jest reakcja sprzęgania z kwasem glukuronidowym w wątrobie, po czym metabolit jest transportowany wraz z żółcią do jelit. Mikroorganizmy jelitowe mogą hydrolizować sprzężone glukuronidy wątrobowe, co prowadzi do uwolnienia toksyn w jelicie [31]. Około 40-80 % PhIP nie ulega wchłonięciu i wchodzi w kontakt z mikroorganizmami jelitowymi [32].

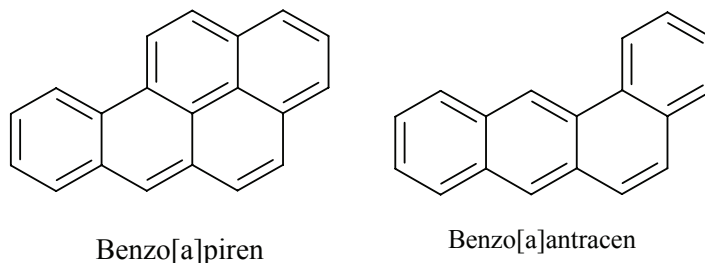


Rys. 3. Przemiana PhIP przez mikroorganizmy jelitowe.
Fig. 3. Transformation of PhIP by intestinal microbiota.

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA)

Policykliczne węglowodory aromatyczne (*polycyclic aromatic hydrocarbons* - PAH) to związki występujące w dymie papierosowym, grillowanym i wędzonym mięsie, zanieczyszczonym miejskim powietrzu, spalinach oraz liściach herbaty [1, 5]. Wykryto je także w przetworach mlecznych, owocach, warzywach, olejach oraz zbożach [28]. Do WWA zalicza się około 250 substancji, z których 16 jest szczególnie niebezpiecznych dla zdrowia i środowiska, a 6 z nich (głównie benzo[a]piren - B[a]P oraz 1,2,5,6-dibenzoantracen) (rys. 4) wykazuje właściwości karcynogenne. Powszechnie występujące w środowisku WWA to: benzo[a]antracen, dibenzo[a]antracen, piren, antracen i chryzyna [23]. WWA to produkty niepełnego spalania substancji organicznych. Występują w mięsie, rybach grillowanych oraz wędzonych. WWA powstają w efekcie pirolizy tłuszczu podczas smażenia i pieczenia, zwłaszcza nad otwartym ogniem. Przetworzona termicznie żywność szczególnie obfituje w te karcynogeny. WWA wykryto w wędzonych rybach i mięsie w ilości 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, w pieczonym mięsie

w ilości 130 $\mu\text{g}/\text{kg}$, podczas, gdy w surowej żywności występują w stężeniach od 0,01 do 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ [37].



Rys. 4. Wzory strukturalne niektórych policyklicznych węglowodorów aromatycznych wykrytych w żywności.

Fig. 4. Structural formulas of some polycyclic aromatic hydrocarbons detected in food.

Zależnie od stylu życia dawka WWA, na którą narażony jest człowiek, wynosi średnio 3 $\mu\text{g}/\text{dzień}$ w przypadku osób niepalących. Palacze są dodatkowo narażeni na 2-5 $\mu\text{g}/\text{dzień}$ (jedna paczka papierosów) lub nawet do 15 $\mu\text{g}/\text{dzień}$ (3 paczki papierosów dziennie). Znaczącym zagrożeniem są oleje roślinne, margaryna, a także kawa i herbata, ze względu na proces palenia ziaren oraz suszenia liści. Szczególnie dużo tych związków, bo aż 2-5 mg/kg , wykryto blisko autostrad w powietrzu, glebie, liściach i florze glebowej, podczas gdy w czystym środowisku WWA występują w zakresie 5-100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ [23]. W organizmie człowieka związki te mogą być przekształcane przez nitroreduktazę mikroorganizmów jelitowych do amin aromatycznych, poprzez zamianę grupy nitrowej na aminową, z wytworzeniem N-hydroksy produktów pośrednich. Właściwość tę wykazują głównie bakterie z rodzajów *Clostridium* oraz *Eubacterium*. Stwierdzono, że u gnotobiotycznych szczurów poziom redukcji grupy nitrowej w kwasie p-nitrobenzoesowym był o wiele niższy niż u zwierząt o naturalnym składzie mikroorganizmów przewodu pokarmowego. Redukcja tego kwasu do kwasu 4-aminobenzoesowego powodowała generowanie szeregu wolnych rodników o właściwościach genotoksycznych. Wykryto, iż 1-nitropiren to związek powstający w reakcji tlenków azotu z pirenem, powszechnie występujący w spalinach samochodowych. Stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia człowieka, gdyż odznacza się silną mutagennością oraz wysoką karcynogennością. Mikroorganizmy jelitowe odpowiadają za aktywację metaboliczną 1-nitropirenu do 1-aminopirenu, czego dowodem jest fakt, że w moczu gnotobiotycznych szczurów nie wykrywa się 1-aminopirenu [1]. Wykazano również, że mikroorganizmy jelitowe przyczyniają się do przekształcania WWA do ich bardziej aktywnych pochodnych estrogenowych. WWA są wysoce genotoksyczne i w znacznym stopniu odpowiedzialne za indukcję nowotworów jelita grubego [28].

Podsumowanie

Stwierdzono, że 30-40 % nowotworów można byłoby uniknąć poprzez prowadzenie aktywnego stylu życia, utrzymanie właściwej masy ciała oraz odpowiednią dietę. Konsumpcja czerwonego mięsa (zwłaszcza grillowanego), otyłość oraz niska podaż błonnika, przyczyniają się do zwiększonego ryzyka występowania nowotworów przewodu pokarmowego. Karcynogeny takie, jak: nitrozoaminy, heterocykliczne aminy aromatyczne i wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne występują powszechnie nie tylko w pożywieniu, ale także w dymie papierosowym, spalinach samochodowych i kosmetykach. Pobór nawet niewielkich ilości tych związków może powodować uszkodzenia DNA, co w efekcie może prowadzić do karcynogenezy.

Literatura

- [1] Abnet C.C.: Carcinogenic food contaminants. *Cancer. Invest.*, 2007, **25**, 189-196.
- [2] Cross A.J., Ward M.H., Schenk M.J., Kulldorf M., Cozen W., Davis S., Colt J.S., Hartge P., Cerhan J.R., Sinha R.: Meat and meat-mutagen intake and risk of non-Hodgkin lymphoma results from a NCI-SEER case-control study. *Carcinogenesis*, 2006, **27**, 293-297.
- [3] Domański W., Makles Z.: Niebezpieczne nitrozoaminy, CIOP-PIB, Warszawa 2002.
- [4] Domańska K.: Występowanie rakotwórczych nitrozoamin w krajowych przetworach mięsnych. Praca doktorska, Państwowy Instytut Weterynaryjny, Puławy 2003.
- [5] de Kok T.M.C.M., van Maanen J.M.S.: Evaluation of fecal mutagenicity and colorectal cancer risk. *Mutat. Res.*, 2000, **463**, 53-101.
- [6] Eisenbrand G., Tang W.: Food-borne heterocyclic amines. Chemistry, formation, occurrence and biological activities. A literature review. *Toxicol.*, 1993, **84**, 1-82.
- [7] Gangolli S.D., van den Brandt P.A., Feron V.J., Janzowsky, C., Koeman, J.H., Speijers G.J., Spiegelhalter B., Walker R., Wisnok J.S.: Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *Eur. J. Pharmacol.*, 1994, **292**, 1-38.
- [8] Hughes R., Magee E.A.M., Bingham S.: Protein degradation in the large intestine: relevance to colorectal cancer. *Curr. Issues Intest. Microbiol.*, 2000, **1**, 51-58.
- [9] Hughes R., Rowland I.R.: Metabolic activities of the gut microflora in relation to cancer. *Microb. Ecol. Health Dis.*, 2000, **12**, 179-185.
- [10] Hughes R., Cross A.J., Pollock J.R.A., Bingham S.: Dose - dependent effect of dietary meat and endogenous colonic N-nitrosation. *Carcinogenesis*, 2001, **22** (1), 199-202.
- [11] Humbolt C., Combourieu B., Väisänen M.L., Furet J.P., Delort A.M., Rabot S.: ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy-based studies of the metabolism of food-borne carcinogen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline by human intestinal microbiota. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, **71**, 5116-5123.
- [12] Jakszyn P., González C.A.: Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: A systematic review of the epidemiological evidence. *World J. Gastroenterol.*, 2006, **12**, 4296-4303.
- [13] Kassie F., Rabot S., Kundi M., Chabicovsky M., Qin H.M., Knasümler S.: Intestinal microflora plays a crucial role in the genotoxicity of the cooked food mutagen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ). *Carcinogenesis*, 2001, **22**, 1721-1725.

- [14] Keating G.A., Layton D.W., Felton J.: Factors determining dietary intakes of heterocyclic aromatic amines in cooked foods. *Mutat. Res.*, 1999, **443**, 149-156.
- [15] Knize M.G., Kulp G.S., Salmon C.P., Keating G.A., Felton J.S.: Factors affecting human heterocyclic amine intake and the metabolism of PhIP. *Mut. Res.*, 2002, **506-507**, 153-162.
- [16] Krul C.A.M., Zeilmaier M.J., Schothorst R.C., Havenaar R.: Intra-gastric formation and modulation of N-nitrosodimethylamine in a dynamic in vitro gastrointestinal model under human physiological conditions. *Food Chem. Toxicol.*, 2004, **42**, 51-63.
- [17] Lijinsky W.: N-nitroso compounds in the diet. *Mutat. Res.*, 1999, **443**, 129-138.
- [18] Lunn J.C., Kuhnle G., Mai V., Frankenfeld C., Shuker D.E.G., Glen R.C., Goodman J.M., Pollock J.R.A., Bingham S.A.: The effect of haem in red and processed meat on the endogenous formation of N-nitroso compounds in the upper gastrointestinal tract. *Carcinogenesis*, 2007, **28**, 685-690.
- [19] Lynch A.M., Murray S., Gooderham N.J., Bobis A.R.: Exposure to and activation of dietary heterocyclic amines in human. *Critical Rev. Oncol. Hematol.*, 1995, **21**, 19-31.
- [20] Murkovic M.: Analysis of heterocyclic aromatic amines. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, In press: DOI: 10.1007/s00216-007-1306-z.
- [21] Nagao M.: A new approach to risk estimation of food-borne carcinogens - heterocyclic amines - based on molecular information. *Mutat. Res.*, 1999, **431**, 3-12.
- [22] Nowak A.: Rozkład karcynogennych metabolitów przez jelitowe bakterie z rodzaju *Lactobacillus*. Praca doktorska, Politechnika Łódzka, Łódź 2008.
- [23] Phillips D.H.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutat. Res.*, 1999, **443**, 139-147.
- [24] Sen N.P., Seaman S., McPherson M.: Further studies on the occurrence of volatile and non-volatile nitrosamines in foods. IARC scientific publications, 1980, **31**, 457-465.
- [25] Shephard S.E., Schlatter Ch., Lutz W.K.: Assessment of the risk of formation of carcinogenic N-nitroso compounds from dietary precursors in the stomach. *Food Chem. Toxicol.*, 1987, **25 (1)**, 91-108.
- [26] Sinha R., Rothman N., Salmon C.P., Knize M.G., Brown E.D., Swanson C. A., Rhodes D., Rossi S., Felton J.S., Levander O.A.: Heterocyclic amines content in beef cooked by different methods to varying degrees of doneness and gravy made from meat drippings. *Food Chem. Toxicol.*, 1998a, **36**, 279-287.
- [27] Sinha R., Knize M.G., Salmon C.P., Brown E.D., Rhodes D., Felton J.S., Levander O.A., Rothman N.: Heterocyclic amine content of pork products cooked by different methods and to varying degrees of doneness. *Food Chem. Toxicol.*, 1998b, **36**, 289-297.
- [28] Tfouni S.A.V., Toledo M.C.F.: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in cane sugar. *Food Cont.*, 2007, **18**, 948-952.
- [29] Toribio F., Busquets R., Puignou L., Galceran M.T.: Heterocyclic aromatic amines in griddled beef steak analyzed using a single extract clean-up procedure. *Food Chem. Toxicol.*, 2007, **45**, 667-675.
- [30] Tricker A.R., Preussmann R.: Carcinogenic N-nitrosamines in the diet: occurrence, formation, mechanism and carcinogenic potential. *Mutat. Res.*, 1991, **259**, 277-289.
- [31] Turesky R.J.: Formation and biochemistry of carcinogenic heterocyclic aromatic amines in cooked meats. *Toxicol. Lett.*, 2007, **168**, 219-227.
- [32] Vanhaecke L., Verstraete W., Van de Wiele T.: Metabolism of the food associated carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine by human intestinal microbiota. *Reprod. Nutr. Dev.*, 2006, **46 (1S)**, S1-S138.
- [33] Van Tassell R.L., Kingston D.G.I., Wilkins T.D.: Metabolism of dietary genotoxins by the human colonic microflora: the fecapentaenes and heterocyclic amines. *Mutat. Res.*, 1990, **238**, 209-221.
- [34] Wu K., Giovannucci E., Byrne C., Platz E.A., Fuchs C., Willett W.C., Sinha R.: Meat mutagens and risk of distal colon adenoma in cohort of U.S. Men. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2006, **15**, 1120-1125.

- [35] Yurchenko S., Mölder U.: Volatile N-nitrosamines in various fish products. *Food Chem.*, 2006, **96**, 325-333.
- [36] Yurchenko S., Mölder U.: The occurrence of volatile N-nitrosamines in Estonian meat products. *Food Chem.*, 2007, **100**, 1713-1721.
- [37] Food Safety - from the Farm to the Fork, http://ec.europa.eu/food/index_en.htm
- [38] INCHEM – Chemical safety information, <http://inchem.org/>

CARCINOGENS IN HUMAN GASTROINTESTINAL TRACT

S u m m a r y

Diet rich in meat proteins can contribute to colon cancer. Nitrosamines, heterocyclic aromatic amines (HCA), and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are compounds exhibiting the documented mutagenic and carcinogenic activity. They commonly appear both in the human environment and in the food products, which are grilled, corned, smoked, and preserved with nitrogen salts. Those carcinogens can also be formed from their precursors present in the diet or transformed in human colon by intestinal microbiota to their equally harmful derivatives.

Key words: diet, nitrosamines, heterocyclic aromatic amines (HCA), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), colon carcinogens ☒