

1 Einleitung

1.1 Chemische Kanzerogenese und Fremdstoffmetabolismus

Die Kanzerogenese ist ein mehrstufiger Prozess, der sich in Initiation, Promotion und Progression unterteilt. Sowohl genetische Faktoren als auch krebserregende Einflüsse chemischer, physikalischer oder biologischer Natur gelten als Risikofaktoren für diesen Prozess. Neben den bekannten chemischen Kanzerogenen wie Bestandteilen des Tabakrauches können selbst Medikamente oder Lebensmittel kanzerogen wirkende Substanzen enthalten. Aus physikalischer Sicht ist beispielsweise UV-Licht als potentielle Gefahrenquelle anzuführen, während Onkoviren zu den biologischen Risikofaktoren für eine Krebsentstehung zählen. Eine Schädigung der DNA stellt den ersten Schritt der Kanzerogenese dar, deren weitere Schritte zur Bildung von Tumoren führen können.

Die genotoxische Wirkung kanzerogener Substanzen wie polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoffe (PAK) beruht auf ihrer Fähigkeit, mit der DNA zu reagieren und hierbei DNA-Schädigungen auszulösen. Diese Fähigkeit erhalten die meisten Kanzerogene jedoch erst nach einer metabolischen Aktivierung während des sogenannten Fremdstoffmetabolismus. Dieser Prozess beinhaltet eine Abfolge chemischer Reaktionen im Körper, die lipophile Fremdstoffe in hydrophilere Metaboliten umwandeln und auf diesem Wege eine Ausscheidung der Fremdstoffe ermöglichen. Hierbei lassen sich zwei Phasen unterscheiden: Der Phase-I-Metabolismus wandelt apolare, lipophile Stoffe in polare Stoffe um und führt dabei funktionelle Gruppen ein oder aber demaskiert vorhandene Gruppen. Anschließend können Enzyme des Phase-II-Metabolismus Konjugationsreaktionen des vor- oder umfunktionalisierten Fremdstoffes mit endogenen, hydrophilen Molekülen katalysieren. Dieser Schritt erhöht die Wasserlöslichkeit des Fremdstoffes und fördert seine Exkretion über Leber und Niere. Verantwortlich für die Phase-I-Reaktionen sind die Cytochrom-P450-abhängigen Monooxygenasen (CYPs), welche membrangebundene Enzyme des Endoplasmatischen Retikulums (ER) darstellen. Es sind mehr als 1000 unterschiedliche CYP-Enzyme bekannt (Anzenbacher und Anzenbacherova 2001), was auf deren große Bedeutung im Zellstoffwechsel bei Eukaryoten und auch Prokaryoten hindeutet.

Die Aminosäurezusammensetzung der CYPs bestimmt deren Nomenklatur, wobei eine Identität der Aminosäuren von mehr als 40 Prozent die Enzyme in dieselbe Familie (zum Beispiel 1, 2, 3) und von größer als 50 Prozent in dieselbe Subfamilie (zum Beispiel A, B, C) einteilt. Eukaryotische Formen werden mit Familiennummern kleiner als 100 gekennzeichnet, prokaryotische Formen besitzen Familiennummern größer als 100. Das humane Genom umfasst 18 Familien, die sich in 43 Subfamilien mit 57 aktiven Genen klassifizieren (Guengerich 2004; Nelson 2009). Die CYPs verfügen über eine sehr breite Substratspezifität, die teilweise zusätzlich überlappend ist. Darüber hinaus sind die CYPs auch durch eine Vielzahl von Substraten induzierbar. Planare, lipophile Substanzen wie PAK induzieren zum Beispiel CYP1A1, 1A2 und 1B1.

Der Begriff „Monooxygenase“ basiert auf der Einführung eines Sauerstoffatoms in das Substratmolekül. Bei dieser von den CYPs katalysierten Reaktion wird das zweite Sauerstoffatom des Sauerstoffmoleküls zu Wasser reduziert.

Das Vorkommen der CYPs verteilt sich auf den Gastrointestinaltrakt (Ösophagus, Magen, Duodenum und Kolon), den Respirationstrakt (nasale Mukosa, Lunge), die Leber als wichtigstes Entgiftungsorgan sowie die Nebennieren, die Ovarien und die Plazenta. Nach Lin *et al.* (1999) verfügt die Leber über die höchsten CYP-Gehalte. Andere Organe wie zum Beispiel der Dünndarm sind jedoch auch an der Metabolisierung von Xenobiotika beteiligt.

Die Metabolisierung muss allerdings nicht in allen Fällen zu einer Detoxifizierung von giftigen Fremdstoffen führen, sondern kann auch eine chemische Aktivierung von Kanzerogenen zu reaktiven Metaboliten zur Folge haben. Solche genotoxischen Metaboliten können mit Proteinen und der DNA Addukte bilden. Die Addukte können im Anschluss über DNA-Mutationen und Aktivierung von Onkogenen mit gleichzeitiger Unterdrückung von Tumorsuppressor-Genen die Entstehung eines Tumors begünstigen (Abb. 1).

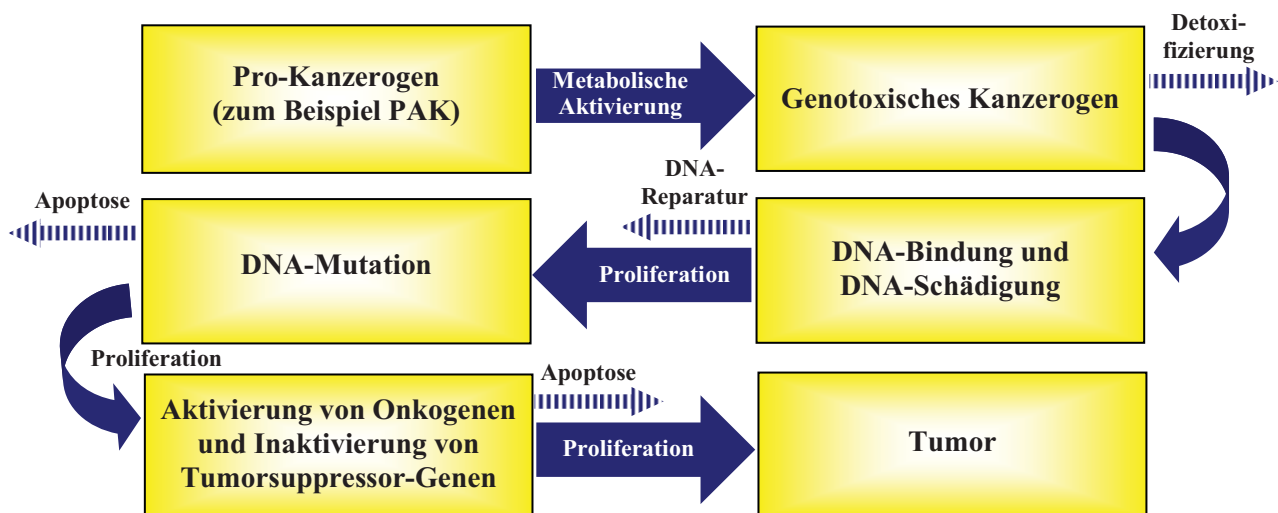


Abbildung 1: Mechanismus der chemischen Kanzerogenese (verändert nach Hengstler 2008)

Zur Bestimmung der metabolischen Prozesse werden sogenannte Biomarker im Rahmen eines Überwachungssystems (Biomonitoring) eingesetzt. Dabei repräsentieren Biomarker Indikatoren für Belastungen, die zum Beispiel aus der Exposition gegenüber bestimmten Schadstoffen resultieren. Die Messung dieser Biomarker gibt unter anderem Auskunft über den Grad einer Detoxifizierung, wie sie meist bei der Bildung von Glutathionkonjugaten und Mercaptursäuren einhergeht.

1.2 Polzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)

Die PAK stellen eine mehrere Hundert Einzelsubstanzen umfassende Stoffgruppe dar, deren Mitglieder aus mindestens zwei kondensierten Benzolringen bestehen. Der einfachste Vertreter ist das zwei Benzolringe umfassende Naphthalin. Die PAK sind meist neutrale,

unpolare Feststoffe, die eine geringe Wasserlöslichkeit aufweisen und mit steigender Anzahl an Ringen schwerer flüchtig und weniger wasserlöslich werden. Der bekannteste Vertreter der PAK ist das Benzo[*a*]pyren (B[*a*]P), welches eine der am längsten beschriebenen kanzerogenen Substanzen repräsentiert. Des Weiteren dient es als Leitsubstanz für die Abschätzung der in einer Matrix insgesamt enthaltenen Menge an PAK.

Die Entstehung der PAK erfolgt beim unvollständigen Verbrennen (Pyrolyse) und beim Erhitzen von organischem Material unter Luftabschluss, wobei stets PAK-Gemische gebildet werden. Die Hauptquellen für PAK stellen Tabakrauch sowie Mineralöle und deren Folgeprodukte dar. In die Atmosphäre gelangen PAK zudem durch die Emission aus Müllverbrennungsanlagen und dem Kraftfahrzeugverkehr. Dieser Vorgang hat die ubiquitäre Verbreitung der PAK in der Luft und im Boden zur Folge, wodurch es wiederum zur Aufnahme dieser Stoffe durch Nutzpflanzen kommen kann. Der Räucherungsprozess für bestimmte Lebensmittel wie Fleisch- und Fischprodukte in einem rußhaltigen Heißrauch führt zur Anreicherung der PAK in der jeweiligen Nahrung. Der in der EU-Verordnung 208/2005 angegebene aktuelle Grenzwert für die PAK-Leitsubstanz B[*a*]P beträgt für Fleisch und Fleischerzeugnisse sowie für Räucherfisch jeweils 5 µg/kg Lebensmittel (EG-Verordnung 208/2005 vom 4. Februar 2005). Weitere Höchstgehalte bestehen gemäß dieser Verordnung für Öle und Fette (2 µg B[*a*]P/kg Lebensmittel), Babynahrung (1 µg B[*a*]P/kg Lebensmittel) und Schalentiere (10 µg B[*a*]P/kg Lebensmittel). Einen zusätzlichen lebensmittelrelevanten Entstehungsprozess für PAK stellt das Grillen von Fleisch dar. Hierbei entstehen je nach Fettanteil des Grillguts sowie der verwendeten Grilltechnik unterschiedlich hohe PAK-Anteile im für den Verzehr bestimmten Fleisch. Bei Fleisch mit hohem Fettgehalt ist durch Pyrolysevorgänge vom in die Holzkohle herabtropfenden Fett eine höhere Kontamination mit PAK zu erwarten als bei magerem Fleisch.

Die Hauptaufnahmekanäle für PAK basieren gegenwärtig auf Lebensmitteln mit prozentual hohem Verzehranteil wie pflanzliche Fette und Öle, Obst und Gemüse sowie Getreideprodukte. Bei Rauchern kommt je nach Höhe des täglichen Zigarettenkonsums eine zusätzliche PAK-Aufnahmekanäle hinzu. Neben der oralen und inhalativen Aufnahme von PAK kommt auch der dermalen Aufnahme eine Bedeutung zu, da PAK aufgrund ihrer Lipophilie gut durch die Lipoproteinschichten der Haut diffundieren können.

Während die akute Toxizität der PAK gering ist, stellen die Langzeitwirkungen eine wesentlich höhere Gefahr dar. So wirken verschiedene PAK kanzerogen, mutagen und reproduktionstoxisch. Eine kanzerogene Wirkung haben vor allem PAK, die aus vier oder mehr Benzolringen aufgebaut sind. Bei nicht linearer Anellierung mehrerer Benzolringe entstehen Bay- und Fjord-Region-PAK (Abb. 2). Vicinale Dihydrodiolepoxide mit einem Oxiranring in einer Bay- oder Fjord-Region sind sehr reaktiv gegenüber DNA. Die räumliche Anordnung des Oxiranrings erschwert eine Interaktion mit detoxifizierenden Enzymen.

Es existieren Einteilungen von PAK in Klassifikationsgruppen, die als erwiesenermaßen (Gruppe 1), wahrscheinlich (Gruppe 2A) oder möglicherweise krebserregend (Gruppe 2B) für den Menschen beurteilt werden (International Agency for Research on Cancer (IARC) 2008).

In Abbildung 2 ist stellvertretend für jede Gefahrengruppe ein PAK-Molekül dargestellt: B[a]P gehört der Gruppe 1 an, während Dibenzo[*a,l*]pyren (DB[*a,l*]P) in die Gruppe 2A und Benzo[*c*]phenanthren (B[*c*]Phe) in die Gruppe 2B eingeordnet ist. Darüber hinaus existieren Untersuchungen, die dem DB[*a,l*]P die stärkste kanzerogene Wirkung in der Klasse der PAK zusprechen (Devanesan *et al.* 1990; Jacob *et al.* 1999; Luch 2009). Aufgrund der sterischen Hinderung der Fjord-Region-Dihydrodiolepoxyde gehört das 11,12-Dihydroxy-11,12-dihydro-13,14-epoxydibenzo[*a,l*]pyren (DBPDE) zu den potentesten ultimalen Kanzerogenen der PAK (Jacob *et al.* 1999).

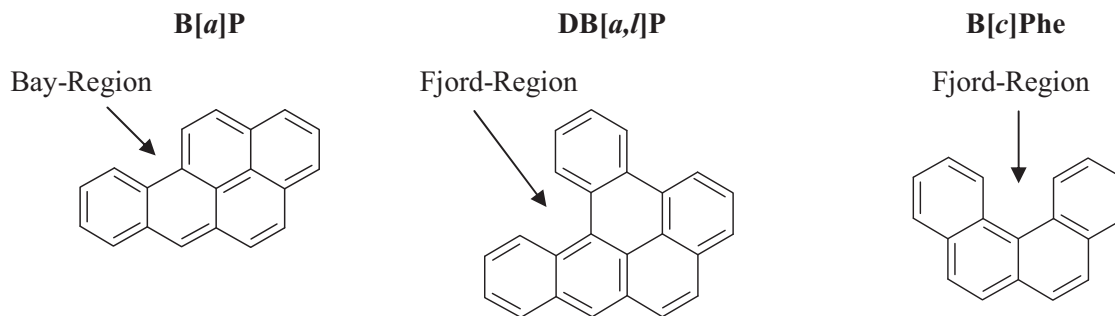


Abbildung 2: Strukturformeln der PAK B[a]P, DB[*a,l*]P und B[*c*]Phe

Bei Vorliegen der PAK in unveränderter Form besteht keine Kanzerogenität, sondern es ist eine metabolische Aktivierung zur Ausbildung der kanzerogenen Wirkung erforderlich. Folglich sind PAK pro-kanzerogen, da sie erst durch bestimmte enzymatische Reaktionen ihr kanzerogenes Potential entwickeln. Die Aktivierung des Pro-Kanzerogens B[a]P wurde schon von den Arbeitsgruppen Jerina (Thakker *et al.* 1977) und Conney (Conney 1982) beschrieben. Abbildung 3 gibt einen Überblick über die im Körper durch die enzymatische Metabolisierung von B[a]P entstehenden unterschiedlichen Metaboliten wie Phenole, Dihydrodiole, sehr reaktive Dihydrodiolepoxyde und überwiegend detoxifizierte Konjugate (Glutathionkonjugate, Glucuronide, Sulfate) sowie Tetrole und weist außerdem auf die Bildung von DNA-Addukten hin. Bei den Konjugationsreaktionen sind nukleophile Metaboliten, wie hydroxylierte Verbindungen, potentielle Substrate für Sulfotransferasen (SULT) und UDP-Glucuronosyltransferasen (UGT). Elektrophile Metaboliten, wie Epoxide und Chinone, können durch Glutathion-*S*-Transferasen (GST) konjugiert werden.