



Benjamin Sachse

seit 07/2012 – Promotion unter Leitung von Herrn Dr. Monien und Herrn Prof. Glatt: „Metabolische Aktivierung und Inaktivierung der Nahrungsmittelkanzerogene 5-Hydroxymethylfurfural und Furfurylalkohol“

2006-2010 Studium der Pharmazie an der Freien Universität Berlin

DGPT-Preis für den besten Vortrag aus dem Bereich der Toxikologie

“Metabolic activation of food carcinogens 5-hydroxymethylfurfural and furfuryl alcohol”

(Metabolische Aktivierung der Nahrungsmittelkanzerogene 5-Hydroxymethylfurfural und Furfurylalkohol)

Benjamin Sachse

Deutsches Institut für Ernährungsforschung (DIfE)

5-Hydroxymethylfurfural (HMF) und Furfurylalkohol (FFA) sind hitzeinduzierte Nahrungsmittelkontaminanten [1], welche in Nagern Tumoren auslösen [2]. Die Bioaktivierung beider Verbindungen erfolgt über Sulfotransferasen (SULT) [3,4]. Die Abstände zwischen den kanzerogenen Dosen im Tier und der täglichen Aufnahme von HMF und FFA durch den Menschen sind gering [2,5], weshalb eine Humanrelevanz der Kanzerogenitätsbefunde nicht ausgeschlossen werden kann. Da die Expression und Substratspezifität der SULT zwischen verschiedenen Spezies stark variiert, ist außerdem eine höhere Empfindlichkeit des Menschen gegenüber gentoxischen Effekten von HMF und FFA möglich.

Ziel unserer Arbeit war es, die SULT-vermittelte Bioaktivierung von HMF und FFA für Mensch, Maus und Ratte zu vergleichen. In diesem Zusammenhang interessierte uns außerdem die Detoxifizierung beider Stoffe, welche im Wesentlichen durch Alkohol- und Aldehyddehydrogenasen vermittelt wird [6,7].

Untersuchungen zur Bioaktivierung von HMF mit 30 einzelnen SULT aus Mensch, Maus und Ratte in vitro zeigten, dass die orthologen SULT-1A1-Formen aller drei Spezies die

stärkste Aktivierung bewirkten. Weitere Versuche mit Leberhomogenaten der drei Spezies ergaben, dass die HMF-Sulfokonjugation in Nagern sechs bis 80-fach höher als im Menschen war. Wir konnten mit den gleichen Leberhomogenaten außerdem nachweisen, dass die oxidative Umsetzung von HMF in allen drei Spezies deutlich ausgeprägter war als die Sulfokonjugation. In den menschlichen Leberproben war dieser Faktor mit etwa 20.000 am höchsten.

Die kurze Halbwertszeit des Sulfatesters von FFA [8] behinderte eine direkte Messung der Bioaktivierung von FFA *in vitro*. In Übersichtsmessungen, bei denen FFA mit einzelnen SULT umgesetzt und das stabile Reaktionsprodukt mit Adenosin gemessen wurde, konnten wir jedoch auch für die FFA-Aktivierung eine prädominante Rolle der drei orthologen SULT-1A1-Formen zeigen.

Zur Bestätigung der Bioaktivierung von FFA *in vivo*, verwendeten wir vier verschiedene Mauslinien mit unterschiedlichem SULT-Status: Wildtyp-Tiere, Mäuse mit Knockout (KO) der murinen Sult1a1 beziehungsweise Sult1d1 sowie eine humanisierte SULT1A1/1A2-transgene Mauslinie mit KO der murinen Sult1a1 und Sult1d1. Als Endpunkt der SULT-vermittelten Bioaktivierung wurden die spezifischen DNA-Addukte mittels Isotopenverdünnungs-LC-MS/MS gemessen. Während ein KO der Sult1d1 keinen ausgeprägten Effekt bewirkte, führte ein Fehlen der Sult1a1 zu einer starken Abnahme der DNA-Addukte. Das Adduktniveau der transgenen Tiere war gegenüber dem Wildtyp erhöht.

Des Weiteren wurde der Einfluss von Ethanol und 4-Methylpyrazol auf die Bildung von FFA-Addukten untersucht. Beide Stoffe hemmen die Alkoholdehydrogenase [9] und somit den detoxifizierenden Stoffwechsel. Sowohl Ethanol als auch 4-Methylpyrazol führten zu einer Erhöhung der Genotoxizität von FFA in Leber, Niere, Lunge und Kolon von Wildtyp- und humanisierten Mäusen.

Zusammenfassend weisen unsere Ergebnisse darauf hin, dass die Kapazität der HMF-Sulfokonjugation in Nagern etwas stärker ist als im Menschen. Außerdem überwiegt die oxidative Detoxifizierung die Bioaktivierung von HMF. Nach Behandlung mit FFA wurden spezifische DNA-Addukte in Wildtyp- und humanisierten Mäusen gefunden. Dieser Befund unterstreicht die toxikologische Bedeutung für den Menschen.

Literatur:

- [1] Brands, C.M. and van Boekel, M.A. (2001) Reactions of monosaccharides during heating of sugar-casein systems: building of a reaction network model. *J Agric Food Chem*, 49, 4667-4675.
- [2] National Toxicology Program (1999) Toxicology and carcinogenesis studies of furfuryl alcohol (CAS No.98-00-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies). *Natl. Toxicol. Program Tech. Report Series*, vol. 482, pp. 1-248.
- [3] Lee, Y.C., Shlyankevich, M., Jeong, H.K., Douglas, J.S. and Surh, Y.J. (1995) Bioactivation of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde to an electrophilic and mutagenic allylic sulfuric acid ester. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 209, 996-1002.

- [4] Glatt, H.R., Schneider, H., Murkovic, M., Monien, B.H. and Meinl, W. (2012) Hydroxymethyl-substituted furans: mutagenicity in *Salmonella typhimurium* strains engineered for expression of various human and rodent sulphotransferases. *Mutagenesis*, 27, 41-48.
- [5] Murkovic, M. and Swasti, Y.R. (2013) 5-Hydroxymethyl-Furfural and Furfuryl Alcohol: Occurrence, Exposure and Detection. In Pedreschi Plasencia, F. and Ciesarova, Z. (eds.), *Chemical Food Safety and Health*. Nova Publishers, Inc., New York, pp. 43-55.
- [6] Godfrey, V.B., Chen, L.J., Griffin, R.J., Lebetkin, E.H. and Burka, L.T. (1999) Distribution and metabolism of (5-hydroxymethyl)furfural in male F344 rats and B6C3F1 mice after oral administration. *J Toxicol Environ Health A*, 57, 199-210.
- [7] Nomeir, A.A., Silveira, D.M., McComish, M.F. and Chadwick, M. (1992) Comparative metabolism and disposition of furfural and furfuryl alcohol in rats. *Drug Metab Dispos*, 20, 198-204.
- [8] Glatt, H.R. and Sommer, Y. (2006) Health risks by 5-hydroxymethylfurfural (HMF) and related compounds. In Skog, K. and Alexander, J. (eds.), *Acrylamide and Other Health Hazardous Compounds in Heat-treated Foods*. Woodhead Publishing, Cambridge (England), pp. 328-357.
- [9] Lee, S.L., Shih, H.T., Chi, Y.C., Li, Y.P. and Yin, S.J. (2011) Oxidation of methanol, ethylene glycol, and isopropanol with human alcohol dehydrogenases and the inhibition by ethanol and 4-methylpyrazole. *Chem Biol Interact*, 191, 26-31.