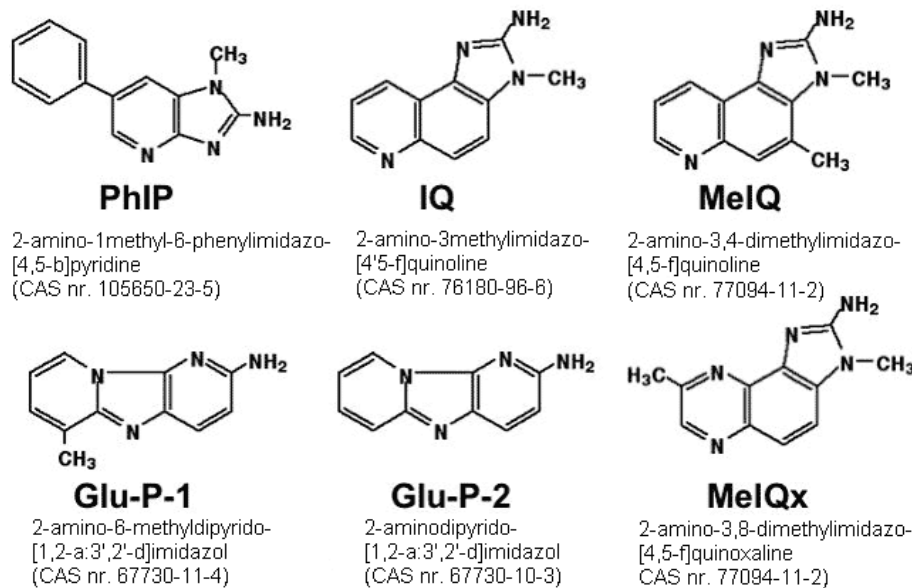


### HETEROCYCLISCHE AROMATISCHE AMINES (HAA)

Met uitzondering van 3 structuren, bevatten de HAA allemaal een imidazolring met een exocyclische aminogroep en een N-methylgroep.

Er zijn 2 belangrijke klassen:

- (i) de aminocarbolines, onderverdeeld in  $\alpha$ -,  $\beta$ - en  $\gamma$ -carbolines, en dipyridoimidazool (een  $\delta$ -azacarboline), met o.m. A $\alpha$ C (2-amino-9H-pyrido[2,3-*b*]indole) en MeA $\alpha$ C (2-Amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-*b*]indol), harman (1-methyl-9H-pyrido[3,4-*b*]indol) en norharman (9H-pyrido[3,4-*b*] indol), Trp-P-1 (3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-*b*]indol) en Trp-P-2 (3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-*b*]indol), Glu-P-1 (2-amino-6-methyldipyrido[1,2-*a*:3',2'-*d*]imidazol) en Glu-P-2 (2-aminodipyrido(1,2-*a*:3',2'-*d*)imidazol),
- (ii) de amino-imidazo-azaarenen (AIAs), met o.m. 4,8-DiMeIQx (2-amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline), 7,8-DiMeIQx (2-amino-3,7,8-trimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline), IQ (2-amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]quinoline), MeIQ (2-amino-3,4-methylimidazo[4,5-*f*]quinoline), MeIQx (2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline), PhIP (2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine)



Figuur 1.7.1. Structurele formule van enkele HAAs

#### Voorkomen & Vorming

HAAs worden als nevenproduct van de Maillard reactie op ppb niveau gevormd tijdens het verhitten van vlees en vis (spierweefsel). Het spierweefsel bevat creatine en creatinine, die tijdens het verhitten kunnen reageren met vrije aminozuren en suikers tot een reeks van HAAs. Andere proteïnebronnen (melk, eieren, tofu, en orgaanvlees zoals lever) bevatten weinig tot geen HAAs, van nature noch wanneer ze verhit zijn (NTP, 2009).

Op basis van het vormingsmechanisme worden er 2 belangrijke groepen onderscheiden: de 'thermische HAAs' of aminoimidazol-quinolines (IQ-type) en de 'pyrolytische HAAs' of aminoimidazol-pyridines (non-IQ-type). M.b.t. de laatste groep levert PhIP de belangrijkste bijdrage aan de totale blootstelling (Jakszyn *et al.*, 2004). De thermische HAAs worden gevormd door de reactie van vrije aminozuren, creatin(in)e en hexosen. De precursor ondergaat verdere dehydratie en cyclisatie waarbij pyrool- en pyridinederivaten gevormd worden. De heterocyclische pyridinen en pyrazines ondergaan verdere transformatie en reageren met Strecker aldehyden en creatin(in)e waardoor imidazo-quinoxalinen gevormd worden, mogelijk d.m.v. reactie met vrije radicalen. Bij temperaturen van ongeveer 225 à 250°C, lijken deze verbindingen verder te degraderen en te reageren met andere verbindingen. De vorming van de non-IQ-type HAAs vindt plaats boven 300°C via pyrolytische reacties tussen aminozuren en eiwitten. Hierbij worden via radicale reacties veel reactieve fragmenten gevormd. Er wordt aangenomen dat deze fragmenten condenseren tot nieuwe heterocyclische structuren en dat via reacties met vrije radicalen pyrolytische mutagene stoffen worden gevormd (Alaejos *et al.*, 2008). HAAs kunnen ook gevormd worden bij temperaturen beneden 100°C, waarbij een lage wateractiviteit aan het productoppervlakte en/of de relatieve lange verhittingstijd de vorming favoriseren (Skog *et al.*, 1998).

De hoeveelheid HAAs die gevormd worden, hangt voornamelijk af van de verhittingstemperatuur, de bereidingsmethode en het vleestype (precursoren, vet). De gehalten variëren in de meeste studies van 1 tot 80 ng/g vlees voor PhIP, de meest voorkomende HAA in de voeding. Andere veel voorkomende HAAs zijn MeIQx en DiMeIQx, waarvoor veelal maximaal een gehalte van respectievelijk 6 ng/g vlees en 1 ng/g vlees vermeld wordt (Rohrman *et al.*, 2007; Skog *et al.*, 1998). Panresidu's bevatten meestal hogere HAA concentraties dan het vlees zelf. Jus op basis van het vleesvocht en braadvet kan bijgevolg een relatief hoog HAA gehalte bevatten.

### **Toxiciteit**

Een aantal epidemiologische studies hebben een verband aangetoond tussen de frequente consumptie van goed doorbakken of gegrild vlees dat HAAs bevat, en een verhoogd risico voor colorectale kanker, prostaat- en borstkanker. Bovendien werden DNA-adducten van HAAs gedetecteerd in menselijke weefsels, waaruit blijkt dat HAAs genetische schade induceren, zelfs al zijn de concentraties van deze verbindingen in verhit vlees zeer laag (van een ppb orde) (Alaejos *et al.*, 2008; Turesky, 2007).

De interpretatie van de toxicologische eigenschappen dient met de nodige omzichtigheid te gebeuren. HAAs veroorzaken mutaties in de meeste testsystemen: bacteriën, zoogdiercellen in cultuur en *in vivo* blootgestelde knaagdieren. Het mutagene potentieel van HAAs is afhankelijk van hun chemische structuur en hun vermogen tot N-oxidatie met vorming van het reactieve "nitrenium" ion. Ofschoon het genotoxische potentieel van HAAs met een factor 1000 varieert in mutageniteitstesten op bacteriën, wordt een dergelijk breed scala niet waargenomen in testen met zoogdiercellen, waar de biologische activiteit zwakker is. De verschillen in biologische, potentiële mogelijkheden van de HAAs geobserveerd in verschillende *in vitro* testen zijn te wijten aan verschillen op het niveau van exogene en endogene metabole activatiesystemen, verschillen in DNA-adduct reparatiecapaciteit, verschillen in "gen-locus" eindpunten voor mutageniteit, en verschillen op het niveau van basesequentie en van effecten van naburige basen op de HAA-DNA laesies, wat allemaal de mutatiefrequentie beïnvloedt (Turesky, 2007).

Er werden soort- en geslachtsgerelateerde verschillen in gevoeligheid aangetoond m.b.t. HAA-geïnduceerde carcinogeniciteit, waarbij ratten tot 20 maal gevoeliger bleken te zijn dan muizen en mannelijke ratten enigszins gevoeliger bleken te zijn dan de vrouwelijke ratten.

MeIQ dat oraal toegediend wordt, veroorzaakt tumoren in vele weefsels, en dit zowel bij muizen als bij ratten. Bij muizen induceert MeIQ kliermaagtumoren (beide geslachten) en tumoren van het caecum, de dikke darm en de lever (wijfjes). Bij ratten veroorzaakt MeIQ tumoren van de dikke darm, de mondholte en de klier van Zymbal (beide geslachten), melkkliertumoren (wijfjes) en huidtumoren (mannetjes).

Oraal toegediende MeIQx veroorzaakt eveneens tumoren in vele weefsels, zowel bij muizen als ratten. Bij muizen induceert MeIQx levertumoren (beide geslachten), longtumoren (wijfjes) en lymfomen en leukemie (mannetjes). Bij ratten induceert MeIQx levertumoren en tumoren van de klier van Zymbal (beide geslachten), huidtumoren (mannetjes) en tumoren van de clitoris (wijfjes). MeIQx induceert geen tumoren in cynomolgus apen na toediening via nasogastrische intubatie gedurende 84 maanden.

Oraal toegediend IQ veroorzaakt tumoren in vele weefsels bij muizen, ratten en apen. Bij muizen worden tumoren geïnduceerd in de kliermaag, lever en longen (beide geslachten). Bij ratten veroorzaakt IQ tumoren van de dunne darm, de lever, de mondholte en de klier van Zymbal (beide geslachten), tumoren van de borstklieren en de clitoris (wijfjes) en van de dikke darm en huidtumoren (mannetjes). In cynomolgus apen induceert IQ levertumoren.

Oraal toegediende PhIP veroorzaakt zowel bij muizen als ratten tumoren in vele weefsels. Bij muizen induceert PhIP lymfomen (beide geslachten) en tumoren van de dunne darm (mannetjes). Bij ratten induceert PhIP lymfomen, tumoren van de dunne darm, de dikke darm en de prostaat (mannetjes) en van de melkklier (wijfjes).

De kankerverwekkende effecten van deze HAAs kunnen worden geremd of versterkt door verschillende factoren, met inbegrip van interacties tussen HAA mengsels.

Er werd aangetoond dat de DNA-binding van MeIQx 10 keer hoger is in het menselijke darmweefsel dan bij knaagdieren. Er wordt gesuggereerd dat de mens tot 250 keer meer gevoelig kan zijn voor tumorinductie door HAA dan ratten. IQ bleek ten minste drie keer meer leverkanker te induceren bij niet-primaat apen dan bij ratten, en ongeveer 35 keer meer dan bij muizen (Zimmerli *et al.*, 2001). De gegevens m.b.t. DNA-adducten geven aan dat de metabole activering van HAAs doeltreffender is bij de mens dan in proefdieren en dat het risico voor individuen die snelle acetylators zijn, groter risico kan zijn dan voor langzame acetylators.

De meer actieve bacteriemutagenen, zoals MeIQx en IQ, blijken minder mutageen potentieel te hebben in zoogdiercellen dan PhIP dat 50 keer minder mutageen is in bacteriologische systemen (Turesky, 2007;

**fiche 1.7. Heterocyclische aromatische amines (HAA)**

Versie 22/03/2010

Knize & Felton, 2008). Studies tonen aan dat IQ, MeIQx, 4,8-DiMeIQx en PhIP verantwoordelijk zouden zijn voor ongeveer 70% van de totale mutageniciteit van extracten van verhit vlees (Zimmerli *et al.*, 2001).

**Tabel 1.7.1. Indeling volgens de IARC.**

IARC groep	HAA
2A	IQ (2-amino-3methylimidazo[4'5-f]quinoline)
2B	A-α-C (2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indol), Glu-P-1 (2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazol), Glu-P-2 (2-aminodipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazol), MeA-α-C (2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indol), MeIQ (2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline), MeIQx (2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline), PhIP (2-amino-1methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine), Trp-P-1 (3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indol), Trp-P-2 (3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indol)

**Blootstellingsschatting**

**Tabel 1.7.2. HAA blootstelling (ng/dag per persoon) vermeld in de literatuur**

HAA's totaal	PhIP	MeIQx	DiMeIQx	opmerkingen	Ref.
		200-2600		Gehalte in urine	1
	100-13800			Gehalte in verhit vlees & vis	1
		100-1300		Gehalte in verhit vlees & vis	1
800-8400				Gehalte in verhit vlees & vis; HAA's niet gespecificeerd	1
40-7000				Gehalte in verhit vlees, vis & vleesjus; Σ(IQ, MeIQ, MeIQx, DiMeIQx, PhIP)	1
< 500-4000				Gehalte in verhit vlees, vis & vleesjus; Σ( MeIQx, DiMeIQx, PhIP)	1
1820				Σ(IQ, MeIQx, DiMeIQx, PhIP, AαC)	1
160	72	72	16	Gehalte in verhit vlees, vis & vleesjus; Σ(IQ, MeIQ, MeIQx, DiMeIQx, PhIP)	1
	78,1	21,9			2
31	16,8	9,5	1,7	Gehalte in verhit vlees	3
397	156	85	39	Gehalte in verhit vlees en vleesjus; Σ(IQ, MeIQ, MeIQx, DiMeIQx, PhIP)	4

(1) Augustsson *et al.* (1997); (2) Cantwell *et al.* (2004); (3) Rohrmann *et al.* (2007); (4) Zimmerli *et al.* (2001)

**Risicokarakterisatie**

Er wordt in de literatuur een theoretisch restrisico voor kanker van  $10^{-3}$ - $10^{-4}$  vermeld (Zimmerli *et al.*, 2001; Layton *et al.*, 1995; Bogen, 1994). Dergelijk restrisico wordt als niet te verwaarlozen beschouwd, maar dient wel in perspectief geplaatst te worden.

**Tabel 1.7.3. MOE waarden voor PhIP (phenyl imidazopyridine)**

T25 (mg/kg lg/dag)	BMDL <sub>10</sub> (mg/kg lg/dag)	Inname (ng/kg lg/dag)	MOE		Opmerkingen	Ref.
			T25	BMDL <sub>10</sub>		
2,0	1,25	4,8 – 7,6	260.000-420.000	170.000-260.000	gemiddelde blootstelling (USA)	O'Brien <i>et al.</i> (2006)
2,0	0,74	6 - 20	300.000-100.000	120.000-40.000	Gemiddelde / hoge inname	Carthew <i>et al.</i> (2010)

**Richtlijnen / Limieten**

/  
(PhIP wordt wel vermeld in de U.S. Californische 'Proposition Law 65' of 'Safe Drinking Water and Toxic Enforcement Act' van 1986, opgesteld om de consument te waarschuwen voor carcinogenen; <http://www.oehha.org/prop65.html>)

Mitigatie
<p>Efficiënte methodes om het HAA gehalte in levensmiddelen te verlagen, zijn: verhitten &lt; 180 à 200°C, het vlees tijdens het bakken/braden regelmatig keren, het vlees voorverhitten in een microgolfoven gedurende minimum 2 min en het vocht verwijderen alvorens het vlees volgens de conventionele methode te bakken/braden, marinades aanbrengen vóór het grillen (NTP, 2009).</p> <p>Er werd aangetoond dat wanneer sojabloem, antioxidantia, glucose of lactose toegevoegd wordt aan gemalen vlees, de mutagene activiteit daalt. Daarnaast bleek de vorming van HAAs verlaagd te worden door waterbindende componenten zoals zout, sojaproteïnen of zetmeel die het transport van precursoren naar het oppervlakte van het vlees verhinderen, aan gemalen vlees toe te voegen (Knize &amp; Felton, 2008).</p>
Opmerkingen
/
Referentie
<p>Alaejos M., González V., Afonso A. (2008) Exposure to heterocyclic aromatic amines from the consumption of cooked red meat and its effect on human cancer risk: A review. <i>Food Additives &amp; Contaminants: Part A</i> 25(1), 2 – 24.</p> <p>Augustsson K., Skog K., Jägerstad M. &amp; Steineck G. (1997) Assessment of the human exposure to heterocyclic amines. <i>Carcinogenesis</i> 18(10), 1931-1935.</p> <p>Bogen K. (1994) Cancer potencies of heterocyclic amines found in cooked foods. <i>Food and Chemical Toxicology</i> 32(6), 505-515.</p> <p>Carthew P., DiNovi M. &amp; Setzer W. (2010) Application of the Margin of Exposure (MOE) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic. Example: CAS No: 105650-23-5 PhIP (2-amino-1methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine). <i>Food and Chemical Toxicology</i> 48, S98-S105.</p> <p>Jakszyn P., Agudo A., Ibáñez R., Gracia-Closas R., Pera G., Amiano P. &amp; González C. (2004) development of a food database of nitrosamines, heterocyclic amines, and polycyclic aromatic hydrocarbons. <i>Journal of Nutrition</i> 134, 2011-2014</p> <p>Knize M. &amp; Felton J. (2008) Chapter 19: Heterocyclic amines. In: Comprehensive Analytical Chemistry. Volume 51. Food Contaminants and Residue Analysis. Pico Y. (Ed.), Wilson and Wilson's, Elsevier, p. 685-701.</p> <p>Layton D., Bogen K., Knize M., Hatch F., Johnson V. &amp; Felton J. (1995) Cancer risk of heterocyclic amines in cooked foods: an analysis and implications for research. <i>Carcinogenesis</i> 16(1), 39-52.</p> <p>NTP (2009) Report on carcinogens (ROC), Eleventh Edition - Selected heterocyclic amines. <a href="http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/eleventh/profiles/s092vhca.pdf">http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/eleventh/profiles/s092vhca.pdf</a></p> <p>O'Brien, J., Renwick, A., Constable, A., Dybing, E., Müller, D., Schlatter, J., Slob, W., Tueting, W., van Benthem, J., Williams, G. &amp; Wolfreys, A. (2006) Approaches to the risk assessment of genotoxic carcinogens in food: a critical appraisal. <i>Food and Chemical Toxicology</i> 44, 1613-1635.</p> <p>Rohrmann S., Zoller D., Hermann S, Linseisen J. (2007) Intake of heterocyclic aromatic amines from meat in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Heidelberg cohort. <i>British Journal of Nutrition</i> 98, 1112–1115.</p> <p>Skog K., Johansson M. &amp; Jagerstad M. (1998) Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: A review on formation, occurrence and intake. <i>Food and Chemical Toxicology</i> 36, 879-896.</p> <p>Turesky R. (2007) Formation and biochemistry of carcinogenic heterocyclic aromatic amines in cooked meats. <i>Toxicology Letters</i> 168, 219–227.</p> <p>Zimmerli B., Rhyn P., Zoller O. &amp; Schlatter J. (2001) Occurrence of heterocyclic aromatic amines in the Swiss diet: analytical method, exposure estimation and risk assessment. <i>Food Additives and Contaminants</i> 18(6), 533-551.</p>