

JOURNAL FÜR ERNÄHRUNGSMEDIZIN

KNASMÜLLER S, PARZEFALL W, SCHWAB C

Kanzerogene und gentoxische Substanzen in Lebensmitteln und natürliche Protektionsmechanismen

Journal für Ernährungsmedizin 2001; 3 (1) (Ausgabe für Österreich), 5-16

Homepage:

**[www.kup.at/
ernaehrungsmedizin](http://www.kup.at/ernaehrungsmedizin)**

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

Mit Nachrichten der



**INTERDISZIPLINÄRES ORGAN FÜR PRÄVENTION UND
THERAPIE VON KRANKHEITEN DURCH ERNÄHRUNG**

Erschaffen Sie sich Ihre ertragreiche grüne Oase in Ihrem Zuhause oder in Ihrer Praxis

Mehr als nur eine Dekoration:

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate, Kräuter und auch Ihr Gemüse ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz ohne grünen Daumen?

Dann sind Sie hier richtig



Kanzerogene und gentoxische Substanzen in Lebensmitteln und natürliche Protektionsmechanismen

S. Knasmüller, C. Schwab, W. Parzefall

Die Nahrung und bestimmte darin vorkommende Stoffe (wie natürliche Inhaltsstoffe, Mykotoxine, Nitrosamine, heterozyklische aromatische Amine, PAK's) spielen eine große Rolle in der Karzinogenese. Daneben gibt es aber auch Pflanzeninhaltsstoffe mit antikanzinogener und antimutagener Wirkung. Pflanzliche Phenole und Vitamine wirken einer endogenen Nitrosaminbildung entgegen. Daneben sind Mechanismen zur Inhibierung von Promutagenen und -karzinogenen wirksam, und detoxifizierende Enzyme können induziert werden. Radikalfänger und Phytoöstrogene entfalten auch Schutzfunktionen, die Krebsbildung vermeiden können.

Schlüsselwörter: Kanzerogene, Zusatzstoffe, Nitrosamine, Antimutagene u. antikanzinogene Substanzen, detoxifizierende Enzyme, Phytoöstrogene

Food and some special substances (natural constituents, mycotoxins, nitrosamines, heterocyclic aromatic amines, PAK's) play an important role in the carcinogenesis. There also exist plant ingredients with anticarcinogenic or antimutagenic effects. Phenols or vitamins from plants can suppress endogenous formation of nitrosamines. There are also systems for the inhibition of promutagens and -carcinogens and detoxifying enzymes may be induced. Also radical scavengers and phytoestrogens have protective functions, avoiding the formation of cancer. **J Ernährungsm 2001; 3 (1): 5-16.**

Keywords: Origin of cancer, carcinogens, food additives, nitrosamines, antimutagens, anticarcinogens, detoxifying enzymes, phytoestrogens

Die amerikanischen Forscher Doll und Peto veröffentlichten 1981 eine Faktorenanalyse vermeidbarer Krebsraten in den USA [1]. Die zentrale Aussage dieser Studie ist, daß für die Auslösung von Krebserkrankungen vor allem Umweltfaktoren verantwortlich sind (mehr als 90 %) und der Ernährung neben dem Tabakkonsum eine zentrale Rolle zukommt, während andere Faktoren, die allgemein als besonders wichtig eingestuft werden, wie Umweltverschmutzung, Medikamenteneinnahme oder synthetische Schadstoffe, eine wesentlich geringere Bedeutung besitzen (Abb. 1). Auch in jüngeren Untersuchungen hat sich an dieser Einschätzung nichts wesentliches geändert [2, 3]. Die Bedeutung der Ernährung wird auch klar, wenn man bedenkt, daß ein Mensch bis zu seinem 50. Lebensjahr etwa 50.000 kg an Nahrung (Frischgewicht) zu sich genommen hat. Besonders wichtige Erkenntnisse wurden aus Migrationsstudien erhalten sowie aus vergleichenden Untersuchungen ethnischer oder religiöser Minderheiten, die sich hinsichtlich ihrer Ernährungsgewohnheiten von der Restbevölkerung deutlich unterscheiden. Studien an Japanern, die in die USA auswanderten, zeigten, daß es nach zwei Generationen zu einer Änderung der Krebshäufigkeitsverteilung kommt; die in Japan hohe Inzidenz von Magenkarzinomen ging zurück, während es zu einem deutlichen Anstieg der Dickdarmkrebserkrankungen kam, der für Amerikaner charakteristisch ist [4]. Beobachtungen an 7-Tage-Adventisten, einer religiösen Gruppe mit geringem Fleischverzehr und Alkoholkonsum, zeigten, daß die Inzidenz von Dickdarmkrebs deutlich niedriger ist als bei der Normalbevölkerung [5]. Auf die Reduktion der Krebsinzidenzen bei Vegetariern wird in der Schlußfolgerung näher eingegangen.

In der vorliegenden Arbeit wird ein Überblick über den derzeitigen Stand des Wissens über nahrungsrelevante Risiko- und Schutzfaktoren gegeben. In den Kapiteln 3 und 4 werden die Rolle der Kalorienzufuhr und der Hauptbestandteile der Nahrung beschrieben, nachfolgend werden natürlich vorkommende Kanzerogene in Nahrungsmitteln und Gewürzen, die Mykotoxine sowie die viel diskutierten Lebensmittelzusatzstoffe besprochen (Kapitel 5, 6 und 7). Im Kapitel 8 werden Substanzen erörtert, die durch die Zu-

bereitung in die Lebensmittel gelangen. Im letzten Abschnitt werden Nahrungsbestandteile beschrieben, die vor Krebserkrankungen schützen; die zugrundeliegenden Mechanismen werden anhand einiger ausgewählter Beispiele dargestellt. Zu Beginn wird es jedoch erforderlich sein, den Lesern einen kurzen Überblick über die Mechanismen der Krebsentstehung zu geben und die Methoden der Krebsforschung zu erörtern.

1. Das Mehrstufenkonzept der Krebsentstehung

Das derzeit allgemein akzeptierte Modell des Mehrstufenkonzeptes (Abb. 2) der Krebsentstehung basiert auf den Versuchen von Beerenblum [6, 7]. Es wurde durch zahlreiche Nachfolgestudien bestätigt und besagt, daß bei der Krebsentstehung mehrere Stufen unterschieden werden können. In der *Initiationsphase* entstehen durch DNA-Schäden „initiierte“ Zellen, die sich von den Normalzellen unterscheiden, jedoch noch nicht jenes Teilungsverhalten aufweisen, das für Krebszellen charakteristisch ist. Unter dem Einfluß von *Promotoren* beginnen sich die initiierten („ruhenden“) Krebszellen zu teilen, und es entstehen Tumore, die sich in der *Progressionsphase* weiter vergrößern und zu metastasieren beginnen.

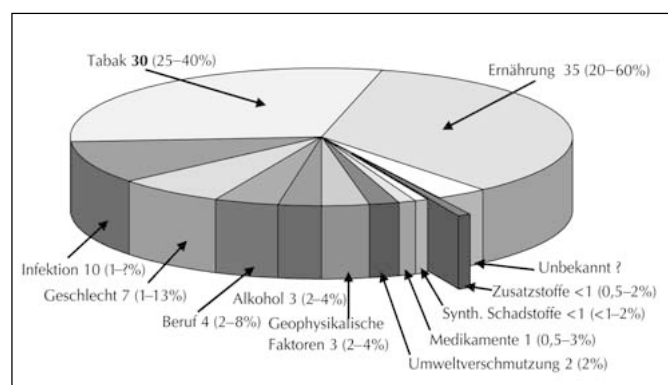


Abbildung 1: Einflußfaktoren der Krebsentstehung nach Doll und Peto [1, 2]

Eingelangt am 10. 12. 1999, angenommen am 29. 01. 2001

Aus dem Institut für Tumorbologie-Krebsforschung der Universität Wien

Korrespondenzadresse: o. Prof. Dr. Siegfried Knasmüller, Dr. Christina Schwab, Dr. Wolfram Parzefall, Institut für Tumorbologie-Krebsforschung der Universität Wien, Borschkegasse 8a, A-1090 Wien, Austria, E-Mail: siegfried.knasmueller@univie.ac.at

Zu den gentoxischen Kanzerogenen zählen die meisten in der vorliegenden Arbeit besprochenen Nahrungsinhaltsstoffe, aber auch Industriechemikalien, wie aromatische Amine, Nitroaromaten, die durch Verbrennungsprozesse gebildet werden, und bestimmte Medikamente, wie Zytostatika, die in der Krebstherapie eingesetzt werden.

Tumorpromovierende Chemikalien sind in der Regel epigenetisch (nicht gentoxisch). Zu ihnen zählen bestimmte Hormone, Umweltschadstoffe wie Pestizide und Dioxine, aber auch nahrungsrelevante Substanzen wie Gallen- und Fettsäuren. In Tabelle 1 sind die Charakteristika von initiiierenden und promovierenden Agentien einander gegenübergestellt. Aufgrund der Irreversibilität und Additivität sowie aufgrund des Fehlens von Schwellenwerten werden initiiierend wirkende Substanzen als wesentlich gefährlicher eingestuft als Promotoren. Da die meisten Kanzerogene sowohl initiiierende als auch promovierende Eigenschaften besitzen, sind die Mechanismen der Kanzerogenese meist wesentlich komplizierter.

Wie erwähnt, wirken Initiatoren DNA-schädigend: Der Zusammenhang zwischen gentoxischer Wirkung (toxische Wirkung auf die Erbsubstanz, die zu vererbaren Änderungen = Mutationen) führt, konnte ursprünglich nicht kausal begründet werden. Erst Ende der achtziger Jahre begann man zu verstehen, daß Mutationen in Krebsgenen (Onkogenen) von Körperzellen ursächlich mit der Krebsentstehung zusammenhängen. Onkogene sind Gene, die für Wachstums- und Signalfunktionen in der Zelle verantwortlich sind, Tumorsuppressorgene verhindern die Teilung von Krebszellen oder sind für die Kontrolle von DNA-

Reparatur und Zelltod (Apoptose) verantwortlich. Durch DNA-Veränderungen in Onkogenen oder in Tumorsuppressorgenen kommt es zu Funktionsstörungen, aus denen letztendlich die ungehemmte Teilungsaktivität der Zellen resultiert, die für Krebszellen charakteristisch ist [8].

2. Methoden der Krebsforschung

Die moderne Krebsforschung ist eine multidisziplinäre Wissenschaft, in der biologische, zellbiologische, molekulargenetische, biochemische und mathematisch-statistische Methoden angewendet werden. Um Aufschlüsse darüber zu bekommen, ob umwelt- oder nahrungsrelevante Substanzen DNA-schädigend wirken, werden *Mutations-experimente* durchgeführt [9, 10]. Aufgrund der Tatsache, daß die Erbsubstanz bei allen Lebewesen eine weitgehend idente Struktur aufweist, können verschiedene Indikatororganismen bei diesen Untersuchungen eingesetzt werden. Unter anderen verwendet man leicht züchtbare Bakterien oder Säugerzellen, die in Gewebekultur gehalten werden. Mutationen in einzelnen Genen (Genmutationen) können in einfachen Experimenten nachgewiesen werden, in denen auf stoffwechselphysiologische Veränderungen geprüft wird (etwa auf die Fähigkeit von Bakterien, bestimmte Aminosäuren wie Histidin zu synthetisieren wie im Ames-Test). Änderungen auf chromosomaler Ebene (Chromosomenmutationen) können lichtmikroskopisch in Metaphasen von Gewebekulturzellen, aber auch in menschlichen Blutzellen nachgewiesen werden. Etwas weniger zeitaufwendig ist die Erfassung von Kleinkernen, die infolge von Chromosomenbrüchen (Klastogenität) oder Fehlaufteilungen (Aneuploidie) entstehen. Es handelt sich bei Kleinkernen um kleine Körperchen, die neben dem eigentlichen Zellkern liegen. Für die Detektion von Rekombinationsprozessen wurden eigene Modelle mit Hefezellen, Fruchtfliegen und Mäusen entwickelt. Neben Mutationsexperimenten können auch *indirekte Verfahren* eingesetzt werden, um Hinweise auf erbsubstanzschädigende Effekte von Chemikalien zu erhalten. Bei UDS-Tests wird die DNA-Reparaturbedingte „außerfahrplanmäßige“ (unscheduled) DNA-Synthese mittels radioaktiver Markierung in Zellen erfaßt (Einbau von ^3H -Thymidin). Einzelstrangbrüche können durch Filterexperimente (alkalische Eluierung) oder durch Einzelzellgelelektrophoresetests gemessen werden. Die unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit der DNA-Stränge in einem elektrischen Feld führt zur Bildung von „Kometen“, deren Größe vermessen wird und Aus-

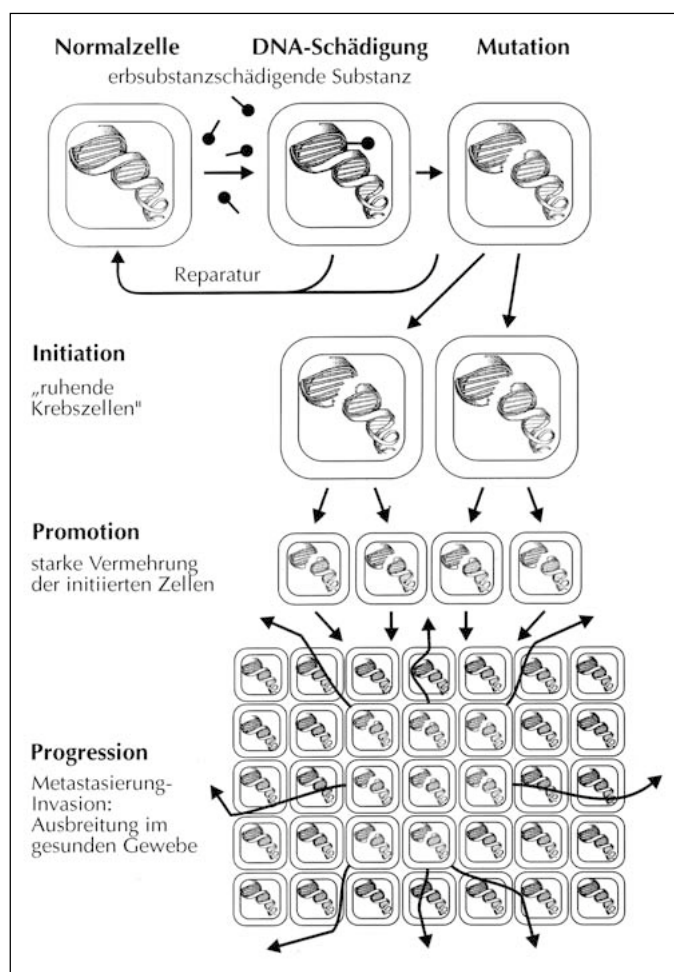


Abbildung 2: Mehrstufenkonzept der Krebsentstehung.

Tabelle 1: Initiation und Promotion

Initiation	Promotion
Auslösung durch gentoxische Effekte	Auslösung durch epigenetische Mechanismen
Wirkung additiv ¹⁾	Wirkung nicht additiv
Wirkung irreversibel ²⁾	Wirkung irreversibel
Kein Schwellenwert ³⁾	Schwellenwert
Geringe Organspezifität	Hohe Organspezifität

1) Gemeint ist, daß in Tierversuchen die Gesamtmenge (tägliche Dosis x Fütterungsdauer), die bei einem bestimmten Prozentsatz der Individuen zu Krebsentstehung führt, relativ konstant ist – eine Verringerung der Dosis erfordert dementsprechend eine Verlängerung der Fütterungszeit.

2) Eine Unterbrechung der Exposition wirkt sich auf die Häufigkeit der Erkrankungen nicht revertierend aus.

3) Es gibt keine „niedrigste“ Dosis, bei der keine Gefährdung gegeben ist. In Tierversuchen zeigt sich jedoch, daß die Dosis so gering werden kann, daß die Lebensdauer der Tiere nicht ausreicht, daß sie Krebs bekommen. „Alle Raucher bekommen Krebs – nur manche erleben ihn nicht.“

kunft über das Ausmaß der Schädigung gibt. Ein ebenfalls aktuelles Verfahren ist die Auftrennung der DNA mittels Restriktionsenzymen. Durch nachfolgende chromatographische Untersuchungen ist es möglich, einzelne Basenaddukte zu detektieren. Einige der Verfahren können auch mit Zellen exponierter Personen durchgeführt werden, und es ist möglich, durch derartige *Biomonitoring-Untersuchungen* Aussagen über genetische Belastungen und das damit verbundene Krebsrisiko beim Menschen zu treffen.

Ein besonderes Problem, das bei *In-vitro*-Verfahren auftritt, die zeit- und kostenaufwendige Untersuchungen mit Labornagern ersetzen sollen, liegt im Defizit der *Nachahmung der Stoffwechselvorgänge*: Die meisten eingesetzten Indikatorzellen sind metabolisch nicht kompetent, d.h., es fehlen ihnen jene Enzyme, die eine Aktivierung und Inaktivierung von körperfremden Substanzen im lebenden Säuger katalysieren [11]. Die derzeit verwendeten Enzymhomogenate sind nur teilweise in der Lage, die komplexen Stoffwechselvorgänge im lebenden Säugetier wiederzugeben.

Versuche, *In-vitro*-Tests zu entwickeln, in denen die Umwandlung von Normalzellen zu Krebszellen erfaßt werden kann (*Transformationstests*), waren nur teilweise erfolgreich: Es wurden zwar Methoden entwickelt, mit denen die Effekte einzelner Klassen von Kanzerogenen erfaßt werden können, die Modelle sind jedoch zu unzuverlässig, um schlüssige Aussagen zu ermöglichen [12]. Daher kann man in der Krebsforschung auf Langzeittierexperimente mit Labornagern derzeit nicht verzichten [13]. Zahlreiche humanrelevante Kanzerogene wurden in Tierversuchen entdeckt. Für die Bearbeitung mechanistischer Fragestellungen werden jedoch zunehmend Versuche mit kultivierten Zellen eingesetzt. Um die Kosten und die Tierzahlen möglichst gering zu halten, werden bei den routinemäßigen Substanzprüfungen meist relativ wenige Tiere hohen Dosen einer Prüfsubstanz ausgesetzt. Diese Art der Exposition ist prinzipiell anders als die menschliche Belastungssituation, bei der meist viele Individuen geringen Dosen über lange Zeiträume ausgesetzt sind. Wie im Kapitel über Lebensmittelzusatzstoffe dargestellt, kann dies zu Fehleinschätzungen führen.

Die zell- und tierexperimentellen Untersuchungen werden durch *epidemiologische Studien* am Menschen ergänzt. Allerdings ist das Auftreten von Krebserkrankungen durch lange Latenzzeiten (15–40 Jahre) charakterisiert, so daß sich bei retrospektiven Untersuchungen (Fallstudien) Probleme durch das mangelhafte Erinnerungsvermögen ergeben. Prospektive Studien (Kohortenstudien) wiederum ermöglichen hohe Teilnehmerzahlen und lange Laufzeiten, sind aber aufgrund der relativen Seltenheit der Erkrankungen äußerst arbeits- und kostenaufwendig.

3. Kalorienzufuhr und Übergewicht

Zahlreiche Studien deuten darauf hin, daß *hyperkalorische Ernährung* und *Übergewicht* Risikofaktoren für die Krebsentstehung, insbesondere für die Auslösung hormonabhängiger Krebsarten, darstellen. In einer internationalen Vergleichsstudie wurde bei Frauen ein deutlicher Zusammenhang zwischen Körpergröße und Brustkrebsinzidenz gefunden, wobei die Körpergröße nicht nur genetisch, sondern auch durch die Kalorienzufuhr im Kindesalter mitbestimmt wird [14]. Besonders gut dokumentiert ist das erhöhte Auftreten von postmenopausalem Brustkrebs bei überge-

wichtigen Frauen [15, 16]. Dieses Phänomen kann durch Störungen des Hormonhaushalts, d. h. durch postmenopausale Östrogenproduktion im peripheren Fettgewebe erklärt werden. Auch aus Tierversuchen geht hervor, daß Übergewicht mit erhöhten Krebsrisiken assoziiert ist. Diverse Mechanismen, wie verringerte Aktivität von protektiven Enzymen, erhöhte Zellteilung und Störungen des Hormonspiegels, könnten dabei eine Rolle spielen [15]. Weiters konnte in Tierversuchen nachgewiesen werden, daß Apoptose in chemisch induzierten Lebertumoren bei Ratten verstärkt auftritt, wenn die Nahrungszufuhr der Tiere reduziert wurde [17].

Lutz und Schlatter [18] berechneten aufgrund bekannter Expositionsdaten aus der Schweiz das Humanrisiko durch gentoxische/nichtgentoxische nahrungsrelevante Kanzerogene auf der Grundlage tierexperimenteller Daten. Insgesamt konnten diesen Berechnungen zufolge nur einige tausend Fälle auf nahrungsrelevante Chemikalien zurückgeführt werden. Dem Alkoholkonsum wurde eine etwas wichtigere Rolle als den anderen Faktoren zugeschrieben (8000 Krebserkrankungen/10⁶ Personen). Aufgrund weiterer tierexperimenteller Daten mit Ratten wurde der Einfluß des Übergewichts ermittelt. Den Berechnungen wurde die Dosis bei Ratten zugrundegelegt, die bei hyperkalorischer Ernährung mit Kohlenhydraten zu einer Verdoppelung der Krebserkrankungen führt (16 g/kg/Tag). Aufgrund der Ernährungsdaten der Schweizer Bevölkerung ließ sich auf das durch Überernährung verursachte Krebsrisiko rückschließen und es zeigte sich, daß etwa 60.000 Krebsfälle/10⁶ Personen durch hyperkalorische Ernährung verursacht sein könnten. Allerdings ist nicht eindeutig klar, ob die in der Studie verwendeten linearen Extrapolationsmodelle auf den Menschen zutreffen, weiters wurden bei der Berechnung der Effekte der Chemikalien synergistische und antagonistische Effekte nicht berücksichtigt.

4. Die Rolle der Hauptbestandteile der Nahrung

Während internationale Vergleichsstudien einen deutlichen Zusammenhang zwischen Fettkonsum und hormonabhängigen Krebsarten und Kolonkrebserkrankungen nahelegten, wurden diese Korrelationen in Fallstudien nur teilweise bestätigt [19]. Ein deutlicher Zusammenhang zeigte sich nur zwischen dem Konsum gesättigter Fettsäuren und Kolonkrebs, während weder mit gesättigten noch mit ungesättigten Fettsäuren Assoziationen mit der Auslösung von Brustkrebserkrankungen gefunden wurden. Es ist jedoch aus Tierversuchen bekannt, daß Linolensäure bei der Brustkrebsentstehung eine zentrale Rolle als Promotor spielt. Weiters ist gut dokumentiert, daß 6fach ungesättigte Fettsäuren die Krebsentstehung begünstigen, während 3fach ungesättigte Fettsäuren hemmend wirken. 6fach ungesättigte Fettsäuren spielen bei der Bildung von Prostaglandinen eine Rolle, die das Immunsystem beeinflussen und unter anderem die Aktivität der Makrophagen inhibieren [20].

Auf die Rolle der Proteine und Kohlenhydrate soll hier nur kurz eingegangen werden [21, 22]: Erhöhte Proteinzufuhr ist oft mit erhöhter Fettzufuhr verbunden, so daß es schwer möglich ist, klare Aussagen zu treffen. Eine unabhängige Rolle der Eiweiße bei der Krebsentstehung konnte daher in epidemiologischen Studien bisher nicht nachgewiesen werden. Es gibt jedoch Hinweise auf erhöhte Inzidenzen von Kolon- und Brustkrebs bei Konsum tierischer Proteine (Fleisch), möglicherweise spielen in diesem Zusammenhang heterozyklische aromatische Amine (sie-

he Kapitel 8.2) eine Rolle. Es gibt einige Studien, die auf eine Assoziation von Zuckern (Mono- u. Diglyzeride) und erhöhtem Auftreten von Dickdarmkrebs hinweisen [23, 24], möglicherweise ist dies durch die gesteigerte Gallensäureproduktion bei Zuckeraufnahme bedingt [25]. Inverse Korrelationen bestehen zwischen dem Konsum von Kohlenhydraten und der Inzidenz von Kolon- und Rektumkrebs. Ob diesem Phänomen Schutzmechanismen zugrunde liegen, oder ob die reduzierte Aufnahme von Fetten und Fleisch, in dem zubereitungsbedingte Kanzerogene enthalten sind, ausschlaggebend ist, ist nicht geklärt. Weiters ist die erhöhte Aufnahme von Kohlenhydraten mit einer erhöhten Aufnahme von Ballaststoffen und pflanzlichen Schutzsubstanzen assoziiert, denen besondere Schutzeffekte zugeschrieben werden (siehe Kapitel 9.6) (Tab. 2).

5. Natürlich vorkommende Kanzerogene in pflanzlichen Nahrungsmitteln

Bereits in den siebziger Jahren entdeckte man in Mehl, das aus den Stämmen von Cycadeen-Palmen hergestellt wurde, eine glykosidische Substanz, das Cycasin [26]. Das Mehl wurde auf verschiedenen südpazifischen Inseln und auch auf den Florida Keys zur Herstellung von Backwaren verwendet. Cycasin wird durch die intestinale Darmflora gespalten und das Aglucon (Methylazoxymethanolazetat) in der Leber in DNA-reaktive Stoffwechselprodukte umgewandelt. Cycasin löst im Tierversuch Lebertumoren aus; auch aus epidemiologischen Studien geht hervor, daß der Verzehr von Cycadeenmehl beim Menschen zu erhöhten Leberkrebsraten führt.

Der Adlerfarn (*Pteridium aquilinum*) wird vor allem in Japan und in China für Speisezwecke verwendet. In Verfütterungsexperimenten mit Ratten zeigte sich, daß der Farn intestinale Adenokarzinome und Blasen Tumoren auslöst. Auch bei Weidevieh löste Verfütterung Blasenkarzinome aus, und es gibt Hinweise darauf, daß beim Menschen der Konsum von Adlerfarnen möglicherweise zu Ösophaguskarzinomen führt (siehe auch [41]).

Die Forschung konzentrierte sich in den letzten Jahrzehnten vorwiegend auf die Untersuchung synthetisch hergestellter Chemikalien, sodaß über kanzerogene Effekte von pflanzlichen Nahrungsmitteln und deren Inhaltsstoffen neben den oben erwähnten klassischen Beispielen nur vergleichsweise wenige Daten vorliegen. 1990 veröffentlichte

Tabelle 2: Zusammenhang zwischen Krebs und Hauptnährstoffen (nach World Cancer Research Fund 1993).

	Kalorien- aufnahme	Fett	Protein	Zucker	Polysac- charide
Kolon	↑	↑	↑	↑	↓
Rektum	↑	↑	↑		↓
Pankreas	↑	↑		↑	↓
Brust ¹⁾	↑	↑	↑	↑	
Endometrium	↑	↑	↑		
Eierstöcke	↑	↑	↑		
Prostata	↑	↑	↑		

¹⁾ Nur postmenopausal
 ↑ steigendes Krebsrisiko, ↓ abnehmendes Krebsrisiko,
 ↑ geringer Effekt, ↑ mäßiger Effekt, ↑ starker Effekt

der Amerikaner B. N. Ames [27] eine aufsehenerregende Arbeit über natürlich vorkommende Kanzerogene in Pflanzen: Von 52 Pflanzeninhaltsstoffen, über die tierexperimentelle Daten vorlagen, hatten sich etwa 50 % als krebserzeugend erwiesen. Typische Beispiele sind Gewürzinhaltsstoffe wie Sesamol (in Sesam), Estragol (in Basilikum), Safrol (in Safran), Capsaicin (in Paprika) sowie Methoxypsoralene in Petersilie und Sellerie. Auch phenolische Substanzen wie Kaffeesäure, Katechol und Chlorogensäure, die in relativ hohen Konzentrationen in Getränken und Gemüsen enthalten sind, besitzen krebserzeugendes Potential. In Speisepilzen wurden ebenfalls Kanzerogene entdeckt, etwa das in Champignons enthaltene Agaritin, das bei der Maus Blutgefäßtumoren verursacht. Das in manchen Kohlgemüsen enthaltene Sinigrin induziert ebenfalls bei Nagetieren Tumoren [27, 28]. Ames betonte, daß die menschliche Exposition durch Rückstände synthetischer Pestizide wesentlich geringer sei, als jene durch die Aufnahme der in den Pflanzen enthaltenen „natürlichen“ Pestizide, die von Pflanzen produziert werden, um sich vor Freßfeinden zu schützen. Diese Behauptungen lösten heftige Diskussionen aus. In den fünfziger Jahren war in den USA die Delaney-Klausel verabschiedet worden, die besagte, daß Nahrungsmittel keine wie immer gearteten Kanzerogene enthalten dürfen, und nun zeigte sich, daß viele pflanzliche Lebensmittel *a priori* derartige Substanzen enthalten. Da offensichtlich die Aufnahme der pflanzlichen Kanzerogene aus der Nahrung für den Menschen kein erhebliches Gesundheitsrisiko darstellt, ist es erforderlich, die Interpretation der Tierversuche neu zu überdenken. Positive Ergebnisse aus Hochdosierungsexperimenten mit Labornagern können nicht unreflektiert auf den Menschen übertragen werden, sondern sollten lediglich als Hinweis auf mögliche Krebsgefährdung bewertet werden. Ob tatsächlich ein Risiko für den Menschen besteht, kann nur durch Klärung der zugrundeliegenden Mechanismen beurteilt werden.

6. Mykotoxine

Ebenfalls den natürlichen Kanzerogenen zuzurechnen sind die Gifte, die von Pilzen produziert werden und Nahrungspflanzen am Feld oder während der Lagerung befallen [29]. Aflatoxin B1 (AFB1) wird von *Aspergillus flavus*, einer Pinselschimmelart produziert, die in unseren Breiten nicht vorkommt. Weitere *Aspergillus*-Arten produzieren strukturell ähnliche Gifte, die jedoch wesentlich weniger stark kanzerogen wirken. Befallen werden vor allem Nußarten, aber auch Feigen, und es wird angenommen, daß AFB1 für die hohen Inzidenzen von Leberkrebs in Hochbelastungsgebieten wie China und Zentralafrika verantwortlich ist. Die Substanz wird in der Leber in ein DNA-reaktives Epoxid umgewandelt, wirkt stark genotoxisch und löst in Ratten bereits in sehr geringen Dosen Lebertumoren aus. Aflatoxin wird als gefährlichstes bekanntes Humankanzerogen eingestuft. Jüngere Untersuchungen haben gezeigt, daß AFB1 eine spezielle „Fingerprint“-Mutation in einem bestimmten Genabschnitt (Codon 249) des Tumorsuppressorgens p53 auslöst. Dieses Gen verhindert die Teilung von Krebszellen und ist an der Auslösung von Apoptose beteiligt. Durch Extraktion und Analyse von DNA-Proben aus Leberkrebszellen ist es möglich, Aussagen darüber zu treffen, ob AFB1 bei der Auslösung der Krebserkrankung eine Rolle spielte [30].

Ochratoxin wird von *Aspergillus ochraceus* und *Penicillium verrucosum* gebildet. Diese Pilze befallen vor allem Getreide, wie Hafer und Weizen, sowie Kaffeebohnen, seltener auch Hülsenfrüchte wie Erbsen und Bohnen

[29]. Ochratoxin besitzt eine hohe akute Toxizität und hemmt die Synthese der Aminosäure Phenylalanin. In Balkanländern, wie Rumänien, Bulgarien und Jugoslawien, trat in den achziger Jahren eine Nierenerkrankung (Balkan-endemische Nephropathie, BEN) auf, die durch Ochratoxin ausgelöst wurde. Diese Krankheit ist durch eine nichtentzündliche Verkleinerung der Nieren gekennzeichnet, und BEN-Patienten weisen eine stark erhöhte Inzidenz von Harnleiter- und Nierentumoren gegenüber der Normalbevölkerung auf. Durch gezielte Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß Ochratoxin DNA-Addukte bildet und der Auslösung der Krebserkrankungen gentoxische Schäden zugrunde liegen.

Fusarien-Arten bilden strukturell sehr unterschiedliche Mykotoxine (Trichothecene, Fumonisine) und befallen Getreidearten auf dem Feld (Feldpilzflora). Diese Infektionen treten auch in gemäßigten Zonen auf. Einige der Mykotoxine (Fumonisin B1 [FB1], T-2 Toxin) lösen im Tierversuch Krebserkrankungen aus (FB1 Lebertumoren in der Ratte, T-2 Toxin hepatozelluläre Karzinome und Lungenadenome in Mäusen). Es wurde vermutet, daß diese Gifte mit dem Auftreten von Ösophaguskarzinomen in Hochbelastungsgebieten wie in der Transkei (Südafrika) und China in Zusammenhang stehen [29, 31].

7. Lebensmittelzusatzstoffe

Laut Gesetz handelt es sich um Substanzen, die dazu bestimmt sind, die Beschaffenheit von Lebensmitteln zu beeinflussen oder bestimmte Eigenschaften und Wirkungen zu erzielen. Ausgenommen sind Stoffe mit Lebensmittelcharakter (z. B. Eigelb) oder Substanzen, die unbeabsichtigt in Lebensmittel gelangen [32]. Für die Lebensmittelzusatzstoffe wurden ADI-(Average Daily Intake-)Werte festgelegt. Es sind dies die täglichen Aufnahmemengen in mg/kg Körpergewicht, bei denen keine gesundheitlichen Schäden zu erwarten sind.

Die meisten eingesetzten **Farbstoffe** sind Natursubstanzen, wie Vitamine, Provitamine oder Pflanzenfarbstoffe (Blattgrün, Karotinoide oder Rote-Rübenfarbe). Eine zusammenfassende Darstellung der mutagenen und kanzerogenen Effekte der Lebensmittelzusatzstoffe geben die Artikel von Knasmüller und Bursch [33, 34]. In Abbildung 3 sind die Strukturformeln einiger krebverdächtiger Lebensmittelzusatzstoffe dargestellt.

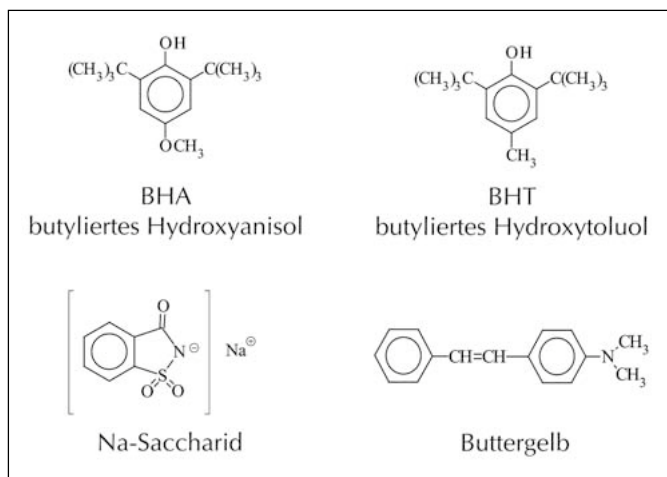


Abbildung 3: Lebensmittelzusatzstoffe, die im Tierversuch Krebs auslösen.

Im Hinblick auf mögliche kanzerogene Wirkungen sind vor allem synthetisch hergestellte **Azofarbstoffe** von Interesse. Diese sind durch eine Stickstoff-Doppelbindung gekennzeichnet. Es ist bekannt, daß Hautzellen, aber auch intestinale Mikroorganismen die Azobindung spalten können. Dadurch können aromatische Amine entstehen, die u. a. in der Blase Tumoren induzieren [35]. Die derzeit für Lebensmittel zugelassenen Azofarbstoffe sind relativ gut untersucht, und es gibt bei den meisten keine Hinweise auf krebserzeugende Wirkung. Für Amarant (E 123), das in Likören und Bittersoda verwendet wird, ist die Datenlage unzureichend, da nur Ergebnisse von veralteten Studien vorliegen. Erythrosin (E 127), ein roter Farbstoff, der für Cocktaillikören oder in Mischobstkonserven Verwendung findet, löste bei Ratten in hoher Dosierung Schilddrüsentumoren aus. Dieser Effekt beruht auf einer Erhöhung der TSH-Sekretion. Es ist bekannt, daß Ratten besonders empfindlich auf Verbindungen reagieren, die über diesen Mechanismus Tumoren auslösen, daher können diese Ergebnisse nicht auf den Menschen übertragen werden [36]. Allerdings ist die Diskussion um Erythrosin durch neuere Ergebnisse wieder aufgelebt, die zeigten, daß die Substanz die Teilung von Brustkrebszellen (*in vitro*) via Bindung an Östrogenrezeptoren induziert und darüber hinaus Mutationen im p53-Tumorsuppressorgen auslöst [37]. Andere Farbstoffe, wie Cochenillerot A (E 124), Tartrazin (E 102) oder Gelborange (E 110), erwiesen sich in Tierversuchen als harmlos. Aus Vorsichtsgründen, aber auch wegen gelegentlicher allergischer Reaktionen, wurde der Einsatz von Azofarbstoffen bei der Lebensmittelherstellung in den letzten Jahren drastisch eingeschränkt. Kohleschwarz (E 153) wird ebenfalls als Farbstoff verwendet und enthält krebserregende Substanzen. Es wird jedoch nur in Wachsüberzügen von Käsen verwendet und nicht verzehrt.

Konservierungsmittel werden zugesetzt, um den Verderb von Nahrungsmitteln durch Mikroorganismen zu verhindern. Das in Japan zwischen 1965 und 1974 verwendete, 2-Furylfuramid (AF2), das Tofu, Würsten und Fischkonserven zugesetzt wurde, ist der klassische „Bösewicht“ unter diesen Substanzen. AF2 löst bei der Maus Vormagentumoren und bei der Ratte Magen- und Brustkrebs aus und wurde umgehend aus dem Verkehr gezogen [38]. Nitritzusatz zu Fleischwaren dient der Unterdrückung von Bakterienwachstum (u. a. von *Clostridium botulinum*). Durch Pökeln von Fleischwaren können aus Nitrit und Nahrungs-Aminen Nitrosamine gebildet werden (s. Kapitel 8.1). Der Zusatz von Nitrat und Nitrit wurde daher gesetzlich streng geregelt, und eine überwiegende Ernährung mit gepökelten Fleischwaren sollte vermieden werden. Propionsäure wurde früher vor allem Schnittbrot zugesetzt. Diese Verbindung löst in hohen Dosierungen Vormagentumoren bei der Ratte aus und wird aus Sicherheitsgründen nicht mehr verwendet [39].

Unter den **Antioxidantien**, die zugesetzt werden, um Reaktionen mit Luftsauerstoff zu verhindern (Ranzigwerden von Fetten), sind vor allem zwei phenolische Substanzen von Interesse: butyliertes Hydroxytoluol (BHT, E 321), das derzeit nur in Kaugummi verwendet wird, und butyliertes Hydroxyanisol (BHA, E 320), das in Biskuits, Kuchen und Rinderbrühe zu finden ist (Übersichtsarbeiten siehe [40, 41]). In Langzeitexperimenten mit BHA zeigte sich, daß Verfütterung an Ratten ab 0,25 % in der Nahrung Vormagentumoren auslöst. Der Mensch besitzt keinen Vormagen, das Epithel des unteren Teils der Speiseröhre weist jedoch strukturelle Ähnlichkeiten mit den Vormagenzellen auf. In Versuchen mit Primaten

wurde durch BHA keine Krebsauslösung beobachtet, und es wird angenommen, daß der Induktion der Tumoren in Nagen entzündliche, nichtgentoxische Prozesse zugrunde liegen. In Initiations-Promotions-Experimenten bewirkte BHA nach der Behandlung der Tiere eine Verstärkung der Krebsauslösung durch initiiierende Kanzerogene. Bei Vorbehandlung der Versuchstiere mit BHA wurden dagegen überwiegend antikanzerogene Effekte beobachtet. Ähnliche Synergismen und Antagonismen wurden mit BHT beobachtet. Aufgrund der derzeitigen Datenlage wird BHA als nichtgentoxisches Kanzerogen eingestuft. Bei Einhaltung des ADI-Wertes (0,7 mg/kg) ist keine Gefährdung des Menschen zu befürchten.

Besonders heftig wurden die **künstlichen Süßstoffe** diskutiert. Derzeit sind vier Stoffgruppen zugelassen, die mit römischen Nummern gekennzeichnet werden: Saccharin (I), Cyclamat (II), Aspartam (III) und Acesulfam (IV). 1977 wurde erstmals über einen Zusammenhang zwischen dem Konsum von Saccharin (es werden sowohl das Na-Salz als auch Benzoessäurederivate als Süßmittel verwendet) und erhöhten Blasenkrebsraten beim Menschen berichtet. Großangelegte Folgestudien (u. a. mit 21.000 Diabetikern) bestätigten diesen Zusammenhang nicht. Es wurde jedoch in Zwei-Generationsstudien mit Ratten eine deutliche Erhöhung der Blasenkarzinome bei männlichen Tieren beobachtet [42]. Bei weiblichen Tieren traten diese Effekte kaum auf, auch Versuche mit anderen Spezies verliefen negativ. In Experimenten mit den Kalium- und Kalzium-Salzen wurden keine Hinweise auf krebsauslösende Wirkungen erhalten, während in Versuchen mit Natrium-Salzen anderer Verbindungen (Na-Glutamat, Na-Citrat) wie auch mit Na-Saccharin eine gesteigerte Zellproliferation des Harnblasenepithels und tumorpromovierende Effekte bei Ratten beobachtet wurden. In Gentoxizitätsuntersuchungen mit Na-Saccharin wurden durchwegs negative Ergebnisse erhalten. Es konnte durch eingehende mechanistische Untersuchungen gezeigt werden, daß die Effekte von Na-Saccharin bei der Ratte mit dem hohem Proteingehalt und dem niedrigen pH-Wert des Harns kausal zusammenhängen. Darüber hinaus fand man, daß bei Fütterung hoher Na-Saccharin-Dosen im Harn Silikatkristalle gebildet werden, die vermutlich über entzündliche Reizungen des Blasenepithels zur Tumorauslösung führen. Aufgrund der völlig anderen Zusammensetzung des menschlichen Harns und der vergleichsweise geringen täglichen Aufnahmemengen ist nicht anzunehmen, daß Na-Saccharin beim Menschen ein Risiko darstellt. Darauf weisen auch zahlreiche epidemiologische Studien hin. Auch über Cyclamat liegen vereinzelt Hinweise auf kanzerogene Effekte aus Tierexperimenten vor, die jedoch in Wiederholungsexperimenten nicht bestätigt werden konnten [43].

Wir haben uns im vorliegenden Kapitel auf die Besprechung jener Lebensmittelzusatzstoffe konzentriert, über die Hinweise auf eine mögliche Krebsgefährdung vorliegen. Bei den meisten Substanzen zeigt sich, daß beim Menschen keine Gefährdung zu befürchten ist, in einigen wenigen Fällen sollten weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um die Unbedenklichkeit der zugesetzten Chemikalien weiter abzuklären. Über den größten Teil der Zusatzstoffe liegen jedoch Daten vor, die zeigen, daß sie keine krebsauslösenden Eigenschaften aufweisen, und es kann aufgrund des derzeitigen Wissenstandes festgestellt werden, daß das menschliche Krebsrisiko durch Lebensmittelzusatzstoffe als sehr gering bzw. vernachlässigbar anzusehen ist.

8. Substanzen, die bei der Zubereitung der Nahrungsmittel entstehen

Durch die Zubereitung von Lebensmitteln, insbesondere von fleischhaltigen Nahrungsmitteln, entstehen verschiedene Klassen von gentoxisch wirkenden Kanzerogenen. Die Strukturformeln typischer Vertreter der verschiedenen Substanzen sind in Abbildung 4 dargestellt.

8.1 Nitrosamine

Diese Verbindungen wurden in den fünfziger und sechziger Jahren vor allem von Mitarbeitern des Heidelberger Krebsforschungszentrums erforscht. Eine ausgezeichnete Darstellung über Vorkommen und biologische Effekte von Nitrosaminen in Lebensmitteln findet sich bei Lijinski [44]. Nitrosamine entstehen durch Umsetzung sekundärer Amine (aus eiweißreicher Nahrung) mit einem nitrosierenden Agens. Es sind ca. 200 Verbindungen bekannt, am intensivsten untersucht wurden einzelne Modellschubstanzen, wie das hochkanzerogene Dimethylnitrosamin (NDMA), Nitrosopyrrolidin (NPYR) und Nitrosopiperidin (NPIP). Die Bildung der Nitrosamine erfolgt entweder exogen, d. h. bei der Pökellung im Fleisch, oder aber endogen, während der Verdauung, im sauren Milieu des Magens. Im letzteren Fall spielt bei der Nitrosaminbildung der Konsum von nitrathaltigem Trinkwasser bzw. der Verzehr von nitrit- oder nitratreichem Gemüse eine Rolle. Nitrat wird im Verdauungstrakt jeweils zu Nitrit umgewandelt. Interessanterweise wurden in den 70er Jahren auch im Bier relativ hohe NDMA-Belastungen nachgewiesen. Durch eine Senkung der Temperatur beim Darren des Malzes konnten jedoch diese Belastungen drastisch reduziert werden. Fast alle Nitrosamine werden, vor allem in der Leber, durch Hydroxylierung am α -C-Atom metabolisch aktiviert. Die gebildeten N-Hydroxylamine sind instabil und zerfallen zu DNA-reaktiven Stoffwechselprodukten. Nitrosamine lösen im Tierversuch Krebs aus, die Organspezifität ist von der chemischen Struktur abhängig, und es gibt auch starke Speziesunterschiede. Die Stärke der Wirkung hängt wesentlich von der Aktivierungskapazität der Gewebe ab. Als Faustregel gilt, daß die kanzerogene Potenz der Alkylnitrosamine mit steigender Kettenlänge abnimmt, symmetrisch substituierte Nitrosamine induzieren oft Lebertumoren, während von asymmetrisch substituierten Nitrosaminen andere Organe, etwa der Ösophagus, betroffen sind. Es sind auch Nitrosamine bekannt, die vor allem in der Blase und in der Nasenhöhle Tumoren auslösen. Einige Nitrosamine sind sehr potente Kanzerogene. Extrapoliert man von den Dosierungen, die in Experimenten mit Ratten noch keine Tumoren auslösen (no effect

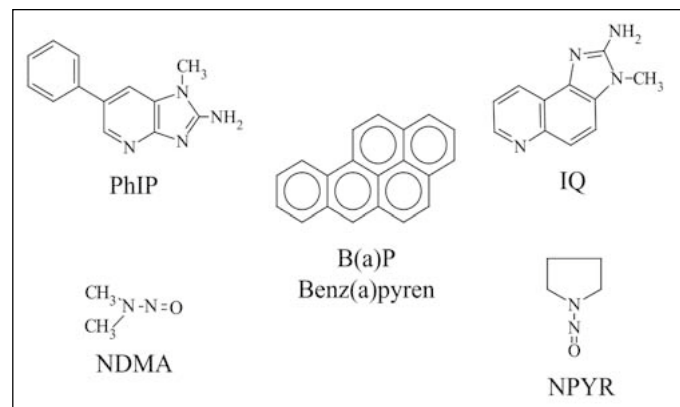


Abbildung 4: Vertreter von Substanzklassen, die durch die Nahrungszubereitung entstehen.

level, NOEL), auf die menschliche Situation, so ergeben sich für die stärksten Nitrosamine Werte von $\leq 1 \mu\text{g}/\text{Person}/\text{Tag}$ (Unsicherheitsfaktor 1000). Die tatsächlichen Belastungswerte liegen in Mitteleuropa im Bereich von 1 bis 33, bei Rauchern von 5 bis 41 $\mu\text{g}/\text{Person}/\text{Tag}$. Eine Reihe von Untersuchungen deutet darauf hin, daß Nitrosamine auch beim Menschen krebserzeugend wirken, beispielsweise nimmt in China die Inzidenz von Nasenkrebs von Norden nach Süden hin stark zu (Nordchina 2–3 Fälle/100.000, Südchina mit Maximalwerten bei Guangdong und Guanxi von 25–40 Fällen/100.000), und es ergaben sich deutliche Hinweise darauf, daß der Konsum von nitrosaminhaltigen Trockenfischen für dieses Phänomen verantwortlich ist. Auch die erhöhten Ösophaguskrebsraten in Gebieten mit stark nitratbelastetem Trinkwasser wurden mit Nitrosaminen in Zusammenhang gebracht. Bei der Auslösung von Krebserkrankungen durch Tabakkonsum könnten Nitrosamine eine wichtige Rolle spielen. Allerdings enthält Zigarettenrauch mehr als 1000 verschiedene Substanzen, u. a. auch PAK's (s. u.), die ebenfalls an der Krebserzeugung beteiligt sein können. Häufiger Alkoholkonsum „multipliziert“ das Krebsrisiko von Rauchern. Eine plausible Erklärung für diesen Synergismus ist in der Tatsache zu finden, daß ein Enzym, das an der Aktivierung der Nitrosamine beteiligt ist (Cytochrom 2E1), durch Alkohol induziert wird [45].

8.2 Heterozyklische aromatische Amine (HAA)

Diese Substanzen wurden in den siebziger Jahren von dem Japaner Sugimura und seinen Mitarbeitern entdeckt [46]. Sie entstehen durch thermische Zersetzung von eiweißreicher Nahrung (Fisch und Fleisch). An der Bildungsreaktion sind neben Aminosäuren auch Kreatinin (liegt im Muskel als Kreatinolphosphat vor) und Zucker beteiligt. Derzeit sind mehr als 20 Substanzen bekannt. Den chemischen Strukturen nach unterscheidet man zwischen Pyrido-Imidazolen (Trp-P-1, Glu-P-1), Quinolinen (IQ, MeIQ), Quinoxalinen (MeIQx) und Pyridinen (PhIP). Die meisten Substanzen sind in Fleisch- und Fischwaren in ng/g-Mengen enthalten, besonders häufig ist PhIP in Fleischwaren zu finden (mehr als 90 % der Gesamt-HAA-Menge). Die Konzentrationen hängen stark von der Zubereitungsart bzw. von der Temperatur und Erhitzungsdauer ab und steigen in der Reihenfolge Kochen/Dämpfen – Braten/Backen – Grillen. HAA unterliegen im Säugetier komplexen Aktivierungs- und Detoxifizierungsreaktionen. Eine zentrale Rolle spielt die Hydroxylierung am exozyklischen N-Atom, die durch Cytochrom 1A2 vor allem in der Leber katalysiert wird, sowie O-Acetylierung. Die letztere Reaktion läuft insbesondere in Dickdarmzellen ab. HAA weisen in Bakterientests eine sehr hohe Mutagenität auf und wurden daher ursprünglich als besonders gefährlich betrachtet. Die genotoxischen Effekte in Säugerzellen oder in Versuchstieren sind wesentlich geringer. In Kanzerisierungsstudien mit Labornagern lösen HAA, insbesondere im Dickdarm, Tumorbildung aus, weiters aber auch in der Leber, der Zymbal- und Klitorisdrüse, in Blutgefäßen und im Vormagen. Die TD_{50} -Werte (die täglichen Aufnahmemengen, die bei 50 % der Versuchstiere zu Tumoren führen) liegen bei der Ratte für die meisten Substanzen zwischen 0,5 und 34 mg/kg, bei Mäusen zwischen 5 und 41 mg/kg [35, 47]. Die durchschnittlichen täglichen Aufnahmemengen wurden beim Menschen mit westlicher Ernährung auf 3,5 $\mu\text{g}/\text{Tag}$ geschätzt, eine Menge, die um einen Faktor 10.000 niedriger ist, als jene, die im Tierversuch erforderlich ist, um Tumore zu induzieren [47]. Es ist jedoch bekannt, daß die Inzidenz des Dickdarmkarzinoms in Industrieländern allmählich ansteigt, nicht jedoch in Entwick-

lungsländern. Insbesondere hoher Fleischkonsum ist für die Ernährung in „reichen“ Ländern typisch. Wie erwähnt sind Cytochrom 1A2 und Acetyltransferasen an der Aktivierung der HAA beteiligt, wobei es beim Menschen „schnelle“ und „langsame“ Acetylierer gibt. Langsame Acetylierer weisen in einem der Gene, die für N-Acetyltransferase (NAT2) kodieren, Mutationen auf, die zu Funktionsstörungen führen. Humanstudien haben gezeigt, daß bei Personen, die schnelle Acetylierer sind und zusätzlich eine hohe 1A2-Aktivität besitzen, das Dickdarmkrebsrisiko hochsignifikant (ca. 10fach) erhöht ist, wenn sie einen hohen Fleischkonsum haben [48, 49]. Diese Befunde deuten darauf hin, daß HAA an der Ätiologie des Dickdarmkarzinoms beim Menschen beteiligt sind.

8.3 Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)

Anfang der dreißiger Jahre wurde die erste aromatische Kohlenwasserstoffverbindung (Dibenz(a,h)anthracen) aus Steinkohlenteer isoliert. Nachfolgend entdeckte man zahlreiche weitere Substanzen, die aus mehreren (2–6) kondensierten aromatischen Ringen bestehen. PAK werden bei der unvollständigen Verbrennung organischer Substanzen gebildet, es sind ubiquitäre Umweltschadstoffe, die vor allem in Abgasen enthalten sind. An Staubteilchen gebunden, gelangen sie in die Luft, und können so Gemüse und Obst kontaminieren. Sie entstehen aber auch bei der Nahrungszubereitung, beim Braten und Grillen von Fleisch über offener Flamme. Wenn Fetttropfen im Feuer verbrennen, so setzen sich PAK auf der äußeren Kruste des Grillgutes ab [50]. Die metabolische Aktivierung dieser Verbindungen wurde vom amerikanischen Forscherteam Miller geklärt: Der primäre Metabolit, ein Epoxid, wird durch Epoxidhydrolasen zu einem Diol abgebaut, welches durch eine Epoxidierung in Diolepoxide umgewandelt wird. Verbindungen, die eine Epoxidgruppe im Bereich einer „Bucht“ besitzen (bay-region epoxide) sind besonders DNA-reaktiv. Stark kanzerogen wirken einige der 4-Ringverbindungen (7,12-Dimethylbenzanthracen (DMBA), sowie Methylchrysen), zu den Kanzerogenen mit 5 Ringen zählen Benzo(a)pyren (B(a)P) und Dibenz(a,h)pyren. Diese Verbindungen wurden über viele Jahre hinweg in der Krebsforschung als Modellsubstanzen verwendet, um die Entstehung von Lungen-, Brust- oder Vormagenkrebs zu studieren. Unter den Substanzen mit 6 Ringen sind die meisten krebserzeugend. Sie spielen jedoch in der Umwelt eine untergeordnete Rolle, da sie nur in geringen Mengen gebildet werden. PAK lösen bei Pinselversuchen mit Mäusen Hauttumore aus, ihre Gefährlichkeitsabschätzung basiert vor allem auf diesen Experimenten. Die Extrapolation der Ergebnisse derartiger Untersuchungen auf den Menschen ist jedoch problematisch, da große Speziesunterschiede bestehen und die Aufnahmewege für den Menschen (primär über Atemluft und Nahrung) verschieden von den im Tierexperiment angewendeten (Haut) sind. Beim Menschen werden nur 10 % der PAK aus dem Darm aufgenommen, bei Nagetieren wesentlich mehr (ca. 50 %). Die B(a)P-Exposition in den Niederlanden liegt im Mittel bei 0,08 $\mu\text{g}/\text{Person}/\text{Tag}$. Auf der Basis von Tierversuchen und linearer Extrapolation ergibt dies ein Zusatzrisiko von 0,06–0,4 Fälle/10⁶ Personen. Der Wert für die Gesamt-PAK-Belastung beträgt das 20–25fache [51]. Die entsprechenden nahrungsbedingten B(a)P-Belastungen sind in Österreich 3–4fach höher, da hier stark geräucherte Selch- und Speckwaren konsumiert werden [52]. Vor allem in „Ab Hof“-Produkten wurden wiederholt PAK-Konzentrationen nachgewiesen, die die zugelassenen Grenzwerte überschreiten.

8.4 Humanrelevanz kanzerogener Nahrungsinhaltsstoffe

Tabelle 3 gibt eine Übersicht über die derzeitige Einschätzung der menschlichen Gefährdung durch Nahrungsinhaltsstoffe.

9. Antimutagene und antikanzerogene Pflanzeninhaltsstoffe

Bereits in den fünfziger Jahren begann man mit der Suche nach Antimutagenen, die den Menschen vor den Konsequenzen von DNA-Schäden schützen sollen. Die ersten Verbindungen, die entdeckt wurden, waren strahlenprotektive Agentien, die Mutationsauslösung durch ionisierende Strahlung inhibierten [53]. Insbesondere von japanischen Arbeitsgruppen wurden zahlreiche Pflanzenarten mittels *In-vitro*-Experimenten auf antimutagene Inhaltsstoffe hin geprüft, und es wurde tatsächlich eine Reihe von Substanzen identifiziert, welche die Auslösung von Mutationen durch Chemikalien inhibieren [54]. Einige davon erwiesen sich auch im lebenden Säugetier als schützend. Der Amerikaner Lee Wattenberg (University of Minnesota) führte mit seinen Mitarbeitern großangelegte Studien mit Gemüseinhaltsstoffen durch, in denen er Schutzeffekte gegenüber Modellkanzerogenen wie B(a)P und DMBA untersuchte [55]. Er entdeckte eine Reihe von Substanzen, die insbesondere durch Induktion von Schutzenzymen protektiv wirken. In den letzten Jahren versucht man zunehmend durch moderne Biomonitoring-Verfahren festzustellen, ob durch bestimmte Ernährungsweisen des Menschen eine Reduktion von DNA-Schäden bewirkt wird. Diese experimentellen

Untersuchungen werden durch epidemiologische Untersuchungen ergänzt, die mittlerweile deutlich gezeigt haben, daß die Inzidenz der Krebserkrankungen bei erhöhtem Gemüsekonsum deutlich erniedrigt ist (siehe Schlußbetrachtung). Eine detaillierte Beschreibung der Wirkungsweisen der antimutagenen/antikanzerogenen Nahrungsinhaltsstoffe ist im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht möglich. Es werden jedoch die wichtigsten Schutzmechanismen besprochen und durch entsprechende Beispiele illustriert. Tabelle 4 zeigt vereinfacht eine Typologie der nahrungsrelevanten Antimutagene und Antikanzerogene [56].

9.1 Inhibition der endogenen Bildung von Nitrosaminen

Die Inhibition der Nitrosaminbildung durch pflanzliche Phenole und Vitamine (C u. E) ist durch zahlreiche Experimente dokumentiert [57]. Durch Reduktion des nitrosierenden Agens wird die Umsetzung des Amins unterbunden. Als besonders effektiv erwiesen sich Phenole, die in para-Stellung substituiert sind. Beispiele für pflanzliche Inhaltsstoffe, welche die Nitrosaminbildung inhibieren, sind Pflanzensäuren, wie Gerb-, Zimt- oder Chlorogensäure, sowie phenol- und vitaminreiche Getränke, wie Tee, Kaffee und Gemüsesäfte. In Tiermodellen konnte gezeigt werden, daß bei Fütterung der Substanzen oder von Gemüsen, die diese Inhaltsstoffe besitzen, die durch Nitrosamine induzierten, gentoxischen, kanzerogenen und zytotoxischen Effekte reduziert werden. Chemisch-analytische Untersuchungen beim Menschen zeigten, daß die Konzentration von endogen gebildetem Nitrosoprolin durch Supplementierung der Nahrung mit Vitamin C drastisch gesenkt werden kann.

9.2 Direkte Inaktivierung von gentoxischen Kanzerogenen

Der Japaner Hayatsu und seine Mitarbeiter wiesen nach, daß HAA und PAK durch *Tetrapyrrolverbindungen* (Chlorophylle, Häminverbindungen) inaktiviert werden [58]. Dies führt zu einer drastischen Reduktion der Gentoxizität dieser Substanzen. In Tierversuchen konnte gezeigt werden, daß

Tabelle 3: Humanrelevanz von kanzerogenen Nahrungsinhaltsstoffen

Substanzgruppe	Vorkommen/ Exposition	Relevanz
Mykotoxine	Aflatoxine: vor allem in Entwicklungsländern	hohe Leberkrebsinzidenz
	Ochratoxine	Blasen/Harntraktum-tumore in Balkan-ländern
	Fusarientoxine	Effekte unklar
PAHs	Aufnahme von B(a)P via Nahrung 150–360 ng/P/T (Österreich)	geringe Gefährdung
Heterozyklische aromatische Amine	geschätzte Gesamtaufnahme in Europa 3–4 µg/P/T	auf der Basis der TV-Daten gering, insgesamt unklar
Nitrosamine	Aufnahme/Bildung vor allem durch Fleischwaren/Trinkwasser NOEL Ratte: NDMA 10 µg/kg BW, NPYR 290 µg/kg BW geschätzte Belastung durch Nahrungsmittel NDMA: 1,1 µg/P/T NPYR: 0,1–0,15 µg/P/T	lokale Relevanz bei einseitiger Ernährung oder durch nitrat-belastetes Trinkwasser
Lebensmittel-zusatzstoffe	gentoxische Kanzerogene wurden verboten, nicht gentoxische Kanzerogene in der Anwendung stark eingeschränkt	gering, wahrscheinlich vernachlässigbar
Pflanzeninhaltsstoffe	zahlreiche gentoxische Kanzerogene in TV identifiziert	unklar

Tabelle 4: Typologie von Antimutagenen und Antikanzerogenen (in Anlehnung an DeFlora und Ramel 1988)

Mechanismus	Beispiel
Verhinderung der Entstehung von Mutagenen und Kanzerogenen	Verhinderung der endogenen Nitrosaminbildung durch Phenole und Vitamine
Direkte chemisch/physikalische Inaktivierung	Inaktivierung von PAK und HAA durch Ballaststoffe und Chlorophylle, Inaktivierung von DNA-reaktiven Sauerstoffradikalen durch Antioxidantien
Inhibition der Aktivierung von Promutagenen und Prokanzerogenen	Inhibition der α -C-Hydroxylierung von Nitrosaminen durch Isothiocyanate
Induktion von Schutzenzymen	Erhöhung von Glutathion-S-transferase Aktivitäten durch Inhaltsstoffe von Kohlgemüsen
Inaktivierung von DNA-reaktiven Stoffwechselprodukten	Detoxifizierung von B(a)P-Diol-Epoxiden durch Flavonoide und bestimmte pflanzliche Säuren
Antimutagene Effekte durch Interaktion mit DNA-Reparatur/Replikation	„Bioantimutagene“ Substanzen, wie Gemüseinhaltsstoffe (Coumarin, Vanillin, Zimtaldehyd)
Substanzen, die Promotionsprozesse verhindern	Phytoöstrogene und Proteaseinhibitoren in Getreiden und Sojapflanzen

auch die kanzerogenen Effekte dieser Nahrungsmutagene reduziert werden. Auch für Ballaststoffe wurde eine direkte Inaktivierung von HAA nachgewiesen.

Einen Sonderfall stellt die Inaktivierung reaktiver Sauerstoffspezies durch *Radikalfänger* dar. Radikalbelastungen entstehen sowohl durch endogene Bildung (beispielsweise durch Atmungsprozesse und Makrophagentätigkeit) als auch durch exogene Einflüsse (u. a. durch Medikamente, Tabakrauch und ionisierende Strahlung). Es ist bekannt, daß Radikale auf direktem Weg, vor allem durch Oxidation der Basen, DNA-Schäden auslösen. Durch Lipidperoxidationsprozesse entstehen darüber hinaus Produkte, die ebenfalls mutagene und kanzerogene Eigenschaften besitzen. Sowohl bestimmte Vitamine (A, C, E), Karotinoide sowie Polyphenole, Flavonoide und Allylverbindungen schützen vor DNA-Schädigung durch Radikale und wirken im Tierversuch antikanzerogen [59]. Die in die Antioxidantien gesetzten Hoffnungen des Krebschutzes wurden jedoch durch die Ergebnisse einer großen finnischen Studie erschüttert, in der ca. 29.000 Raucher über 6 Jahre hindurch täglich 50 mg Vitamin E oder 25 mg β -Karotin erhielten. Es wurde keine Reduktion der Lungenkrebsinzidenz beobachtet, in der β -Karotin-Gruppe trat sogar ein Anstieg auf. In der Vitamin E-Gruppe waren jedoch die Inzidenzen von Prostata- und Dickdarmkrebs etwas reduziert [60].

9.3 Inhibition der Aktivierung von Promutagenen und Prokarzinogenen

Ein typisches Beispiel für diesen Wirkungsmechanismus ist die Inhibition der Aktivierung von Nitrosaminen durch Isothiocyanate (ITCs). Diese Substanzen entstehen aus glykosidischen Inhaltsstoffen von Kohlgemüsen (Glukosinolaten). Eine Zusammenfassung der bisher vorliegenden Daten findet sich in der Arbeit von Hecht et al. [61]: Vorbehandlung der Ratten mit Glukosinolaten oder ITCs (etwa Benzyl-ITC oder Phenethyl-ITC) bewirkte eine Inhibition der Auslösung von Tumoren durch bestimmte Nitrosamine. Auch in Gentoxizitätsexperimenten wurde eine Inhibition der DNA-Schädigung beobachtet. Ob diese Effekte auch für den Menschen relevant sind, ist zweifelhaft. In den Tierversuchen wurden durchwegs sehr hohe Kanzerogendosen für die Tumorauslösung verwendet und nur über einen kurzen Zeitraum verabreicht. Ob es sinnvoll ist, bei der für den Menschen relevanten Langzeitexposition Enzyme kontinuierlich zu inhibieren, von denen wichtige Stoffwechselschritte katalysiert werden, ist fraglich.

9.4 Induktion von detoxifizierenden Enzymen

Zahlreiche Kanzerogene und DNA-reaktive Substanzen werden in Säugetieren und auch im Menschen durch Phase II-Enzyme detoxifiziert. Dabei werden reaktive Metabolite mit Sulfat, Acetylgruppen, Glucuronsäure oder Glutathion konjugiert. Eines der wichtigsten Schutzenzymssysteme sind die Glutathion-S-Transferasen (GSTs), welche die Bindung des Tripeptids Glutathion an elektrophile Substanzen katalysieren [62]. Es ist seit vielen Jahren bekannt, daß Inhaltsstoffe pflanzlicher Nahrungsmittel GSTs induzieren. Typische Beispiele sind Allylsulfide in Knoblauch und Zwiebeln, die Abbauprodukte der bereits erwähnten Glukosinolaten in Kohlgemüsen, phenolische Substanzen, wie BHA und BHT, sowie Kahweol- und Cafestolpalmitat, die in Kaffee und anderen Getränken enthalten sind oder das Terpen d-Limonen in Orangenöl. In Tierversuchen inhibierten GST-Induktoren die Auslösung von Krebserkrankungen durch PAK und durch viele andere Kanzerogene. Jüngere Untersuchungen haben gezeigt, daß Kohlgemüsesdiäten auch beim Menschen eine Induktion von GSTs verursachen und daß

parallel dazu eine Abnahme genetischer Schäden zu beobachten ist. Man hat daher mit der Entwicklung von Screeningmethoden begonnen, durch die es möglich sein sollte, besonders wirksame Induktoren zu identifizieren. Auch epidemiologische Studien deuten darauf hin, daß durch Konsum von Kohlgemüsen die Inzidenz bestimmter Krebserkrankungen (vor allem im Verdauungstrakt) reduziert wird.

9.5 Antimutagene, die DNA-Reparaturprozesse beeinflussen

DNA-Schäden werden nicht nur durch Umweltchemikalien ausgelöst, sondern auch durch DNA-Replikationsprozesse und durch endogen gebildete Substanzen (etwa Radikale). Daher sind im Verlauf der Evolution komplizierte DNA-Reparatursysteme entstanden, durch welche die Schäden beseitigt werden. Der Japaner Kada entdeckte auf der Suche nach Antimutagenen eine Reihe von Verbindungen, vor allem Inhaltsstoffe von Gewürzen, wie Vanillin, Zimtaldehyd und Coumarin, die in Bakterientests die Auslösung von chemisch induzierten Mutationen verhinderten [63]. Da diese Effekte nur mit Stämmen beobachtet wurden, die intakte DNA-Reparatur besaßen, nicht aber in reparaturdefizienten Stämmen, nahm er an, daß diese Effekte durch Induktion von Reparaturenzymen ausgelöst werden. Nachfolgende Untersuchungen, die mit Säugerzellen *in vitro* sowie mit Labornagern durchgeführt wurden, ergaben äußerst widersprüchliche Ergebnisse [64]. Über mögliche Schutzeffekte derartiger Substanzen beim Menschen können derzeit keine Aussagen getroffen werden, dennoch stellt die Suche nach Substanzen, die Reparaturprozesse stimulieren, einen vielversprechenden Ansatz in der Antimutageneseforschung dar.

9.6 Die Rolle der Ballaststoffe

Als Ballaststoffe werden Nahrungsbestandteile bezeichnet, die bei der Verdauung nicht abgebaut und in den Körper aufgenommen werden können. Eine detaillierte Beschreibung der Schutzwirkung von Ballaststoffen findet sich im Buch von Watzl und Leitzmann [65]. Chemisch gesehen handelt es sich um eine heterogene Gruppe von Substanzen, meist bestehen sie aus Kettenmolekülen von Zuckerbausteinen. Burkitt formulierte 1971 die Ballaststoffhypothese, daß diese Substanzen vor Dickdarmkrebs schützen. Diese Annahme beruht auf Vergleichen der Krebsinzidenzen und der Ernährungsweisen von Amerikanern und Afrikanern, wobei es plausibel schien, daß durch Verdünnungseffekte und verkürzte Transitzeiten im Darm schädliche Nahrungsstoffe in geringerem Maß in den Körper aufgenommen werden. Aus Tierversuchen ließen sich aufgrund widersprüchlicher Ergebnisse keine eindeutigen Beweise für die Schutzeffekte der Ballaststoffe ableiten. Ausgedehnte epidemiologische Untersuchungen zeigten jedoch, daß eine erhöhte Aufnahme von Ballaststoffen mit einer Abnahme des Dickdarmkarzinomrisikos korreliert. Man schätzte, daß bei einer Aufnahme von 25 g Ballaststoffen/Tag das relative Risiko für Dickdarmkrebserkrankungen etwa um 50 % niedriger ist, als jenes von Personen, die weniger als 12 g/Tag konsumieren. Neben den erwähnten Mechanismen konnte auch gezeigt werden, daß durch die Ballaststoffe die bakterielle Umsetzung primärer in sekundäre Gallensäuren stark reduziert ist, und es ist bekannt, daß sekundäre Gallensäuren bei der Promotion von Dickdarmkrebs eine Rolle spielen. Weitere Mechanismen, die möglicherweise an den Schutzeffekten der Ballaststoffe beteiligt sind, stellen die Bildung von Butyrat und die Hemmung der Aktivität von Enzymen (wie etwa von Glukosidasen) dar, die zu einer Freisetzung von Kanzerogenen im Darm führen. Dies entspricht in Österreich mehr als 6000 Krebstoten pro Jahr.

10. Antipromovierend wirkende Nahrungsinhaltsstoffe

Sauerstoffradikale können auch an Promotionsprozessen beteiligt sein [66, 67], daher wirken *Radikalfänger*, die in pflanzlichen Nahrungsmitteln enthalten sind (s. o.), auch auf dieser Stufe der Krebsentstehung schützend.

Phytoöstrogene sind pflanzliche Inhaltsstoffe, die eine ähnliche Wirkung auslösen, wie die in Tieren synthetisierten Östrogene [68]. Strukturell weisen diese Verbindungen keine Ähnlichkeit zu den Steroidhormonen auf, der räumliche Abstand zwischen den Hydroxylgruppen ist jedoch nahezu identisch mit den C3- und C17-OH-Gruppen des Östradiols (Abb. 5).

Isoflavonoide wie etwa Genistein findet man in tropischen Hülsenfrüchten (z. B. in Sojabohnen), Lignane (z. B. Secoisolaricireinol) sind in Getreiden enthalten, vor allem in Leinsamen. Endogene Östrogene üben ihre Wirkung über Bindungen an Östrogenrezeptoren aus und stimulieren so Zellteilungsprozesse. Phytoöstrogene besetzen diese Rezeptoren, ihre Wirkung ist jedoch wesentlich schwächer als die der endogenen Hormone. Darüber hinaus greifen diese Substanzen in den Hormonstoffwechsel ein und verursachen die Synthese von schwächer wirkenden Östrogenen und induzieren die Bildung von Proteinen (Sexual Hormon Binding Globulin), durch welche die endogenen Östrogene inaktiviert werden. In Tierversuchen zeigte sich, daß die Verfütterung von phytoöstrogenreichen Sojaprodukten die Auslösung von chemisch induziertem Brustkrebs in Ratten vermindert. Für eine Wechselwirkung von Phytoöstrogenen mit endogenen Hormonen spricht auch, daß der Verzehr isoflavonoidhaltiger Sojaprodukte bei Frauen den Menstruationszyklus verlängert. Biochemisch-epidemiologische Studien zeigten, daß bei Brustkrebspatientinnen nur sehr geringe Konzentrationen an Abbauprodukten von Phytoöstrogenen im Harn nachweisbar sind, während bei Vegetarierinnen wesentlich höhere Konzentrationen gefunden wurden. Die niedrige Inzidenz bestimmter hormonabhängiger Krebsarten in Japan hängt möglicherweise kausal mit dem höheren Konsum phytoöstrogenreicher Nahrungsmittel zusammen.

Sojabohnen und diverse Getreidearten enthalten auch andere Inhaltsstoffe mit antipromovierenden/antinitiiierenden Eigenschaften, beispielsweise *Proteaseinhibitoren*, welche die Aktivität proteinspaltender Enzyme hemmen [65]. In Tierversuchen erwiesen sich diese Substanzen bereits in sehr geringen Konzentrationen als protektiv. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind nicht eindeutig geklärt. Es wurde angenommen, daß neben antioxidativen

Effekten auch die Reduktion der Verfügbarkeit von Aminosäuren und die Hemmung tumorspezifischer Proteasen an den Schutzwirkungen beteiligt sind. Ob Proteaseinhibitoren auch beim Menschen protektiv wirken, ist nicht geklärt.

Schlußbetrachtung

In den letzten drei Jahrzehnten sind viele tausend Einzelstudien über gentoxische, kanzerogene und protektive Effekte von Nahrungsinhaltsstoffen veröffentlicht worden, alleine über heterozyklische Amine liegen derzeit etwa 1500 Publikationen vor. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen haben nicht nur zu grundlegenden Erkenntnissen über die Mechanismen der Krebsentstehung geführt, sondern es war auch möglich, auf ihrer Basis wissenschaftliche Ernährungsrichtlinien zu erarbeiten. Nachfolgend sind die wichtigsten Erkenntnisse des US-National Research Council [69] wiedergegeben:

- Überernährung stellt ein größeres Risiko im Hinblick auf krebsauslösende Wirkungen dar als synthetische oder natürliche Nahrungsinhaltsstoffe.
- Bisher wurden vor allem synthetische Chemikalien (Lebensmittelzusatzstoffe, Pestizidrückstände) besonders eingehend auf ihre Gefährlichkeit untersucht. Neuere Erkenntnisse deuten darauf hin, daß auch pflanzliche Nahrungsmittel kanzerogene Stoffe enthalten können und daß bei der Nahrungszubereitung ebenfalls Kanzerogene gebildet werden.
- Es gibt deutliche Hinweise darauf, daß Alkoholkonsum zu einem erhöhten Krebsrisiko führt.
- Zahlreiche pflanzliche Nahrungsmittel enthalten Mikronährstoffe, die vor Krebserkrankungen schützen.
- Trotz intensiver Bemühungen gibt es noch einen erheblichen Forschungsbedarf, vor allem im Hinblick auf Humanstudien, welche die Frage klären sollten, in welchem Ausmaß das Krebsrisiko durch bestimmte Nahrungsmittel reduziert werden kann.

Zahlreiche Studien belegen die protektive Wirkung von Obst- und Gemüsekonsum auf die Gesundheit des Menschen. In einer großen Vegetarierstudie [70] wurde die Krebsmortalität von Vegetariern mit jener der Gesamtbevölkerung verglichen. Dabei zeigte sich, daß die Zahl der bösartigen Neubildungen bei vegetarischer Lebensweise um 59 % reduziert war. Deutliche Schutzeffekte wurden vor allem im Bereich der Verdauungsorgane festgestellt. In anderen epidemiologischen Studien wurden ebenfalls eindeutig protektive Effekte nachgewiesen, wobei neben einer Abnahme der Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts auch eine deutliche Beziehung zwischen Obst- und Gemüseverzehr und epithelialen Krebsarten (Speiseröhre, Leber, Kehlkopf, Brust und Gallenblase) festgestellt wurde. Schätzungen von Baily und Williams (1993) zufolge könnte durch Umstellung der Ernährung auf überwiegend pflanzliche Kost die Zahl der Krebserkrankungen um durchschnittlich 35 % vermindert werden.

Die Erforschung der diversen Protektionsmechanismen, die in den letzten Kapiteln dieser Arbeit kurz beschrieben wurden, zählt zu den faszinierendsten Bereichen der modernen Krebsforschung, von dem noch interessante und wichtige Erkenntnisse zu erwarten sind.

Literatur:

1. Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. J Natl Cancer Inst 1981; 66: 1191–308.

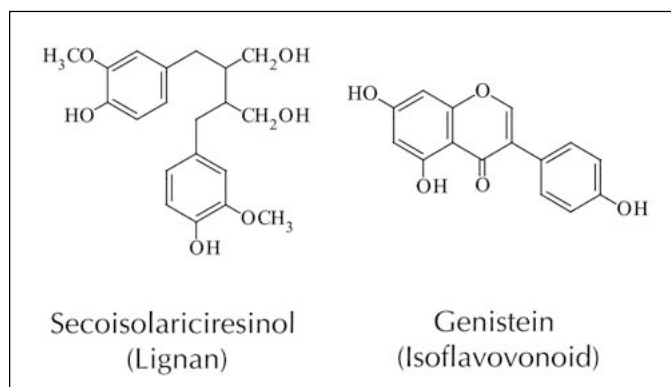


Abbildung 5: Chemische Strukturen von Phytoöstrogenen

2. Doll R. The lessons of life: keynote address of the nutrition and cancer conference. *Cancer Res* 1992; 52: 2024–9.
3. Milner JA. Mechanisms for nutritional inhibition of carcinogenesis. In: Moon TE, Micozzi MS (eds). *Nutrition and cancer prevention: investigating the roles of micronutrients*. Marcel Dekker, New York, 1989; 13–32.
4. Dunn JE. Cancer epidemiology in populations of the United States with emphasis of Hawaii and California and Japan. *Cancer Research* 1975; 35: 3240–5.
5. Phillips RL, Garfinkel L, Kuzma JW, Beeson WL, Lotz T, Brin B. Mortality among 3245 California Seventh-Day Adventists for selected cancer sites. *J Natl Cancer Inst* 1980; 65: 1097–107.
6. Schulte-Hermann R, Marian B, Bursch W. Tumorpromotion. In: Marquardt H, Schäfer SG (Hrsg). *Lehrbuch der Toxikologie*. BI Wissenschafts-Verlag, Ort?, 1994; 148–77.
7. Pitot HC. *Fundamentals of Oncology*. Dekter Press, New York, Basel, 1986; 139–62.
8. Varmus H, Weinberg RA. *Genes and the Biology of Cancer*. Scientific American Library, New York, 1993.
9. Fahrig R. Mutationsforschung und genetische Toxikologie. Wissenschaftliche Buchgemeinschaft, Darmstadt, 1993.
10. Phillips DH, Venitt S. *Environmental Mutagenesis*. Bios Press, Eynsham, 1995.
11. Wiebel FJ. Do we need *in vivo* assays in case of negative *in vitro* test results? In: Madle S, Müller L (eds). *Current issues in genetic toxicology*. MMV Medizin-Verlag, Ort?, 1993; 25–31.
12. Kayser D. Kurzzeittest zum Nachweis von Kanzerogenen. *Schriftenreihe des BGV 1/86*, 1986.
13. Schulte-Hermann R, Paukovits W. Sicherheit für Gesunde – Therapie für Kranke. In: Lembeck F (Hrsg). *Alternativen zum Tierversuch*. Thieme, Stuttgart, 1988; 148–57.
14. Micozzi MS. Cross-cultural correlations of childhood growth and adult breast cancer. *Am J Phys Anthropol* 1987; 73: 525–37.
15. World Cancer Research Fund. *Diet and Cancers: Genetic Cellular and Physiological Mechanisms* 1993.
16. Dao TL, Hilf R. Dietary fat and breast cancer. *Adv Exp Med and Biol* 1992; 322: 223–7.
17. Grasl-Kraupp B, Bursch W, Ruddkay-Nedlecky B, Wagner A, Schulte-Hermann R. Food restrictions eliminates preneoplastic cells through apoptosis and antagonizes carcinogenesis in rat liver. *Proc Natl Acad Sci, USA* 1994; 9: 9995–9.
18. Lutz WK, Schlatter J. Chemical carcinogens and overnutrition in diet-related cancer. *Carcinogenesis* 1992; 13: 2211–6.
19. Kritchevsky D, Klurfehl DM. Fat and cancer. In: Alfin-Slater RB and Kritchevsky D (eds). *Human nutrition, a comprehensive treatise*. Volume 7, *Cancer and Nutrition*. Plenum Press, New York, London, 1991; 127–40.
20. Simopoulos AP. Nutritional cancer risks derived from energy and fat. *Medical Oncology and Tumor Pharmacotherapy* 1987; 4: 227–39.
21. Visek WJ, Clinton SK. Dietary protein and cancer. In: Alfin-Slater RB and Kritchevsky D (eds). *Human nutrition, a comprehensive treatise*. Volume 7, *Cancer and Nutrition*. Plenum Press, New York, London, 1991; 103–26.
22. Carroll KC. Carbohydrate and cancer. In: Alfin-Slater RB and Kritchevsky D (eds). *Human nutrition, a comprehensive treatise*. Volume 7, *Cancer and Nutrition*, 1991; 97–102.
23. Bristol JB, Emmett PM, Heaton KW, Williamson RCN. Sugar, fat, and the risk of colorectal cancer. *Br Med J* 1985; 291: 1467–70.
24. Tuyns AJ, Haelterman M, Kaaks R. Colorectal cancer and the intake of nutrients: Oligosaccharides are a risk factor, fats are not. a case—control study in Belgium. *Nutr Canc* 1987; 10: 181–96.
25. Caderni G, Dolara P, Spagnesi T, Luceri C, Bianchini F, Mastrandera V, Morozzi G. Rats fed high starch diets have lower colonic proliferation and fecal bile acids than high sucrose-fed controls. *J Nutr* 1993; 123: 704–12.
26. Morgan GR, Hoffmann GR. Cycasin and its mutagenic metabolites. *Mutat Res* 1983; 114: 19–58.
27. Ames BN. Dietary pestizides (99,9 % all natural). *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7777–81.
28. National Research Council. *Carcinogens and Anticarcinogens in the Diet*. US Natl Acad Press, Washington, 1996.
29. IARC. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. WHO, Lyon, 1993, 56.
30. Ozturk M, et al. p53 mutation in hepatocellular carcinoma after aflatoxin exposure. *Lancet* 1991; 338: 1356–66.
31. Gelderblom WCA, Snyman SD, Abel S, Lepeke-Mazur S, Smuts CM, Van der Westerhuizen L, Marasas WFO, Victor TC, Knasmüller S, Huber W. Hepatotoxicity and carcinogenicity of the Fumonisin in rats. A review regarding mechanistic implications for establishing risks in humans. In: Jackson A (ed). *Fumonisin in Food*. Plenum Press, New York, 1996; 279–96.
32. Elmadfa I, Muskat E, Fritzsche D. E-Nummern, Lebensmittelzusatzstoffe. Gräfe und Unzer, München, 1990.
33. Knasmüller S, Bursch W. Sind Lebensmittelzusatzstoffe krebserregend? Teil A. *Der Hausarzt* 1997; 8 (7–8): 16–9.
34. Knasmüller S, Bursch W. Sind Lebensmittelzusatzstoffe krebserregend? Teil B. *Der Hausarzt* 1997; 8 (9): 6–12.
35. Richter E. Azofarbstoffe. In: Marquardt H und Schäfer SG (Hrsg). *Lehrbuch der Toxikologie*. Wissenschaftsverlag, Mannheim, 1994; 492–504.
36. WHO. Evaluation of certain food additives and contaminants 37th Report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 1991; No. 806: 19–20.
37. Dees C. Erythrosine and breast cancer. *Env Health Perspect* 1997; 105: 625–31.
38. IARC. Evaluation of carcinogenic risks to humans. Some food additives and naturally occurring substances. WHO, Lyon, 1983; Vol. 31: 47–52.
39. Harrison PT. Propionic acid and the phenomenon of rodent forestomach tumorigenesis: a review. *Food Chem Toxicol* 1992; 30: 333–40.
40. Verhagen H, Schildermann P, Leinjang JCS. Butylated hydroxyanisole in perspective. *Mutat Res* 1991; 80: 109–34.
41. IARC. Evaluation of carcinogenic risks to humans. Some naturally occurring and synthetic food components, furocoumarins and ultraviolet radiation. WHO, Lyon, 1986; Vol. 40: 123–61.
42. Ellwein LB, Cohen SM. The health risks of saccharin revisited. *Crit Rev Toxicol* 1990; 20: 311–26.
43. Ahmed FE, Thomas DB. Assessment of the carcinogenicity of the non-nutritive sweetener cyclamate. *Crit Rev Toxicol* 1992; 22: 81–118.
44. Lijinski W. *Chemistry and biology of N-nitrosocompounds*. University Press, Cambridge, 1992.
45. Knasmüller S, Kassie F, Zöhrer E, Kundi M, McCoy D, Schulte-Hermann R. Effects of ethanol treatment on DNA-damage induced in *Escherichia coli* K-12 in various organs of mice by N-nitrosomornictotine, 4-(methylnitrosomino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone and N-nitrosopyrrolidine. *Carcinogenesis* 1994; 15: 263–70.
46. Sugimura T. Mutagens, carcinogens, and tumor promoters in our daily food. *Cancer* 1982; 49: 1970–84.
47. Hatch FT, Knize GM, Moore DH, Felton JS. Quantitative correlation of mutagenic and carcinogenic potencies for heterocyclic amines from cooked foods and additional aromatic amines. *Mutat Res* 1992; 271: 269–87.
48. Minchin RF, Kadlubar FF, Ilett KF. Role of acetylation in colorectal cancer. *Mutat Res* 1993; 290: 35–42.
49. Lang NP, Butler MA, Massengill J, Lawson M, Stotts RC, Hauer-Jensen M, Kadlubar FF. Rapid metabolic phenotypes for acetyltransferase and cytochrome P4501A2 and putative exposure to food-borne heterocyclic amines increase the risk for colorectal cancer or polyps. *Cancer Epidem Biomark Prev* 1994; 3: 675–82.
50. Lijinski W. The formation and occurrence of polynuclear aromatic hydrocarbons associated with food. *Mutat Res* 1991; 259: 251–61.
51. Kramers PGN, Van der Heijden CA. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH): Carcinogenic data and risk extrapolations. *Toxicol Environ Chem* 1988; 16: 341–51.
52. Pfannhauser W. Bericht des Forschungsinstitutes für Ernährungswirtschaft. Wien, 1989.
53. Gebhard E. Antimutagens: data and problems. *Humangenetik* 1994; 24: 1–33.
54. Kada T, Inoue T, Ohta T, Shirasu Y. Antimutagens and their mode of action. In: Shankel DM, Hartman PE, Kada T, Hollaender A. *Antimutagenesis and anticarcinogenesis-mechanisms*. Plenum Press, New York, London, 1984; 180–97.
55. Wattenberg L. Inhibition of carcinogenesis for non-nutrient constituents of the diet. In: Waldron KW, Johnson IT, Fenwick GR (eds). *Food and cancer prevention, chemical and biological aspects*. Royal Soc Chem, Cambridge, 1993; 12–23.
56. De Flora S, Ramel C. Mechanisms of inhibitions of mutagenesis and carcinogenesis: classification and overview. *Metabol Res* 1988; 202: 285–306.
57. Bartsch H, Oshima H, Pignatelli B. Inhibitors of endogenous nitrosation mechanisms and implications in human cancer prevention. *Mutat Res* 1988; 202: 307–24.
58. Hayatsu H, Arimoto S, Negishi T. Dietary inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat Res* 1988; 202: 429–46.
59. Nohl H. Biologie und Toxikologie des Sauerstoffs. In: Uranüs S (ed). *Chirurgische Forschung. Die Milz, Sauerstoffradikale und Reperfusionvorgänge*. Zuckschwerdt-Verlag, München, 1994; 59–80.
60. Heinonen OP. The effect of vitamin E and β -carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Engl J Med* 1994; 330: 1029–35.
61. Hecht S. Approaches to chemoprevention of lung cancer based on carcinogens in tobacco smoke. *Env Health Perspect* 1997; 104: 955–64.
62. Kensler TW. Chemoprevention by inducers of carcinogen detoxification enzymes. *Env Health Perspect* 1997; 104: 965–70.
63. Kada T, Shirasu Y, Ikekawa N, Nomoto N. Detection of natural bio-antimutagens and *in vivo* and *in vitro* analysis of their action. In: Ramel C, Lambert B, Magnusson I (eds). *Genetic toxicology of environmental chemical: Part A: Basic principles and mechanisms of action*. Alan Liss, New York, 1986; 385–93.
64. Ohta T. Modification of genotoxicity by naturally occurring flavourings. *Crit Rev Toxicol* 1993; 23: 127–46.
65. Watzl B, Leitzmann C. *Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln*. Hippokrates Verlag, Stuttgart, 1995.
66. Cerutti PA. Prooxidant states and tumor promotion. *Science* 1985; 227: 375–80.
67. Hochstein P, Atallah P. The nature of oxidants and antioxidant systems in the inhibition of mutation and cancer. *Mutat Res* 1988; 202: 363–75.
68. Griffith K, Adlercreutz, Boyle P, Denis L, Nicholson RJ, Morton MS. *Nutrition and Cancer*. Chapter 6. Possible Effects of Lignans and Isoflavonoid Phytoestrogens on the Endocrine Status of Women. Isis Press, Oxford, 1996; 55–75.
69. National Research Council. *Carcinogens and Anticarcinogens in the Human Diet*. National Academy Press, Washington, 1996.
70. Chang-Claude J, Frentzel-Beyme R, Eilber U. Prospektive epidemiologische Studie bei Vegetariern: Ergebnisse nach 10 Jahren Follow-up. Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg, 1991.