



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Akrylamid: Skillnader i upptag, metabolism och utsöndring mellan gnagare och människa

Daniel Petersen

**Självständigt arbete i biologi • 15 hp • Grundnivå
Bioteknologiprogrammet, examensarbete
Uppsala 2010**



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Akrylamid:

Skillnader i upptag, metabolism och utsöndring mellan gnagare och människa

Acrylamide:

Differences in absorption, metabolism and excretion between rodents and humans

Daniel Petersen

Handledare:

Erik Ullerås, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap
Lillianne Abramsson Zetterberg, Toxikologiska enheten, Livsmedelsverket

Examinator:

Agneta Oskarsson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grund C

Kurstitel: Självständigt arbete i biologi

Kurskod: EX0418

Program: Kandidatprogrammet i bioteknologi

Utgivningsort: SLU, Uppsala

Utgivningsår: 2010

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: akrylamid, glycidamid, absorption, metabolism, utsöndring, urinmetaboliter,

Keywords: acrylamide, glycidamide, absorption, metabolism, excretion, urine metabolites

Innehållsförteckning

Sammanfattning.....	4
Abstract	5
Förkortningar	6
Strukturformler	7
Inledning.....	8
Metod.....	9
Teoribakgrund.....	9
<i>Akrylamid i livsmedel</i>	9
<i>Upptag</i>	10
<i>Metabolism</i>	10
<i>Utsöndring</i>	11
<i>Hb- addukter</i>	12
Resultatredovisning.....	12
<i>Råttstudier</i>	12
<i>En musstudie</i>	14
<i>Jämförelse mellan råtta och mus</i>	14
<i>Humanstudier</i>	15
<i>Jämförelse mellan människa och råtta</i>	19
<i>Jämförelse mellan enskilda urinmetaboliter mellan människa och gnagare</i>	20
Diskussion.....	21
<i>Slutsats</i>	24
Referenslista	25
<i>Litteraturreferenser</i>	25
<i>Figurreferenser</i>	27
Appendix 1.....	28
<i>Humanstudier och urinmetaboliter</i>	28
Appendix 2.....	31
<i>Råttstudier och urinmetaboliter</i>	31
Appendix 3.....	33
<i>Musstudier och urinmetaboliter</i>	33
Appendix 4.....	34
<i>Halveringstider för akrylamid i människa, råtta och mus</i>	34

Sammanfattning

Akrylamid (AM) används flitigt inom industrin vid framställningen av polyakrylamid. AM påträffas även i stärkelsesrika livsmedel som upphettats. De främsta källorna i svensk kost utgörs av chips, pommes frites, stekt potatis, knäckebröd, kakor och kaffe. Intag av AM via maten har emellertid visat sig orsaka tumörbildning hos gnagare och AM är således klassad som en möjlig carcinogen hos människa. I kroppen omvandlas AM till glycidamid (GA) och det är i själva verket detta ämne som troligen orsakar cancer. Det beror på att GA i större utsträckning binder kovalent till DNA än vad AM gör. I nuläget är det av stort intresse att skaffa sig kunskap om i vilken utsträckning omvandlingen av AM till GA sker i människa. Detta för att i framtiden kunna göra en säkrare riskbedömning. Då västvärldens intag av AM via maten är av betydande mängd (0,5 µg/kg kroppsvikt) är det angeläget att erhålla en tydligare bild beträffande kroppens upptag, metabolism och utsöndring av ämnet. Förutom gnagarstudier har även ett fåtal humanstudier genomförts på senare år m.a.p. utsöndringen av AM. Genom att analysera urinmetaboliter med metoder som ¹³C-NMR och LC/MS är det möjligt att erhålla kunskap om AM:s metabola vägar, samt i vilken utsträckning eliminering sker. Syftet med denna uppsats var att sammanställa resultat från genomförda studier m.a.p. främst utsöndring av råttan, mus och människa, samt att jämföra erhållen information mellan gnagare och människa. Sammanställningen visade att upptaget av AM är effektivt i både människa och gnagare. Huvuddelen av intagen AM konjugeras i både människa och gnagare till N-acetyl-S-(2-carbamoyl-ethyl)-L-cystein (AAMA) vilken sedan utsöndras med urinen. I människa har även ett andra konjugat, S-(3-amino-3-oxopropyl) cystein påträffats och denna svaveloxid av AAMA har ännu inte påträffats i gnagare. Den andra metaboliska huvudvägen i både människa och gnagare är via omvandling till GA. Därifrån går den metaboliska vägen för GA främst via hydrolys till 2,3-dihydroxypropionamide (glyceramid) i människa och via konjugering till merkaptursyrorna N-acetyl-S-(2-carbamoyl-2-hydroxy-ethyl)-L-cystein (GAMA) och N-acetyl-S-(1-carbamoyl-2-hydroxyethyl) cystein (Iso-GAMA) i gnagare. Då glyceramiden är svår att detektera är det ofta besvärligt att bestämma andelen intagen mängd AM som omvandlas vidare till GA i människa. Gnagare utsöndrar AM snabbare än människa. Jämförelser antyder att människans omvandling till GA sannolikt ligger runt 20-25 % av den omvandling som sker i råttan. Det finns alltså skäl att misstänka en lägre cancer risk i människa än i gnagare.

Nyckelord: akrylamid, glycidamid, absorption, metabolism, utsöndring, urinmetaboliter

Abstract

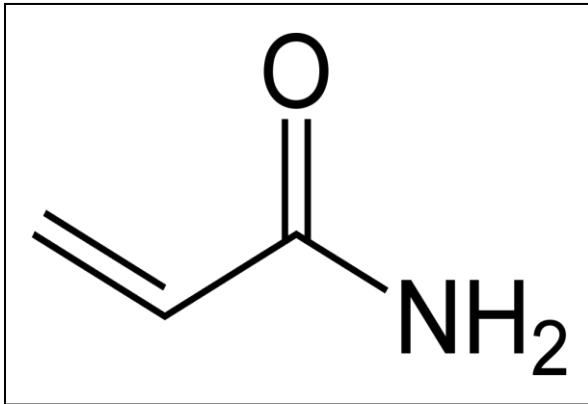
Acrylamide (AM) is a commonly used monomer in the manufacture of polyacrylamide. In addition, AM has been found in heated foods that are rich in starch. The main dietary sources in Sweden tend to be crisps, French fries, fried potatoes, crisp bread, cookies and coffee. Unfortunately, dietary intake of AM has in several studies been shown to cause cancer in rodents. Consequently, the compound is currently regarded as a potential carcinogen in humans. Once in the body, AM may be transformed into the genotoxic compound glycidamide (GA). Research is presently going on to reveal to what extent dietary AM is converted into GA in humans. The main purpose of this research is to outline a foundation for a more accurate risk assessment in the future. Since the westernized population is exposed to a significant amount (0.5 µg/kg body weight.), it is essential to attain a better understanding regarding the absorption, metabolism and secretion of dietary AM. Apart from *in vivo* studies in rodents, lately some *in vivo* studies have been performed in humans. ¹³C NMR och LC/MS are two commonly used techniques when analyzing urinary metabolites. With these methods it is possible to gain information regarding the absorption, metabolism, and the extent of elimination of AM. The objective of this thesis was to compile the results and conclusions that have been published on this topic, and subsequently compare the gained information between rodents and humans. The absorption is generally considered effective in both humans and rodents. In the liver, most of the AM conjugates into N-acetyl-S-(2-carbamoyl-ethyl)-L-cysteine (AAMA), followed by secretion. The second main metabolic path way in both humans and rodents is by transformation into GA. In humans, most of GA is hydrolyzed into 2, 3-dihydroxypropionamide (glyceramid) and in rodents conjugated into the two mercapturic acids N-acetyl-S-(2-carbamoyl-2-hydroxy-ethyl)-L-cysteine (GAMA) och N-acetyl-S-(1-carbamoyl-2-hydroxyethyl) cysteine (Iso-GAMA). Since glyceramid is hard to detect, it may result in difficulties when trying to estimate how much of dietary AM that is actually converted into the genotoxic GA. During the first 24 hours after dietary intake, more AM is excreted in rats than in humans. The conversion into GA in humans is probably around 20-25 % of the conversion that takes place in rats. This is a good reason to believe that a lower risk of cancer is naturally present in humans compared to rodents after dietary intake of AM.

Keywords: acrylamide, glycidamide, absorption, metabolism, secretion, urine metabolites

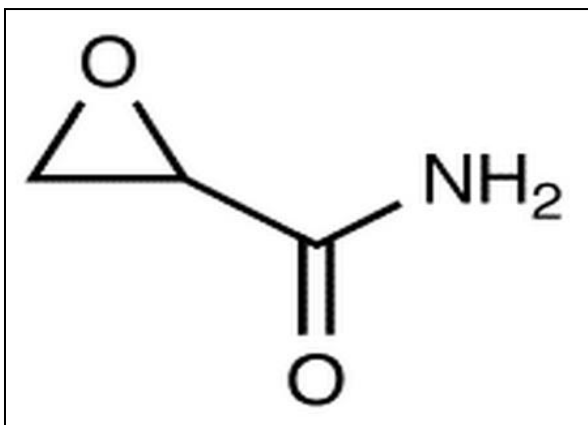
Förkortningar

AM	Akrylamid
AAMA	N-acetyl-S-(2-carbamoylethyl)-L-cystein
DNA	Deoxyribonukleinsyra
GA	Glycidamid
GAMA	N-acetyl-S-(2-carbamoyl-2-hydroxy-ethyl)-L-cystein
Glyceramid	2, 3-dihydroxypropionamide
GST	Glutation-S-transferas
Hb	Hemoglobin
LC/MS	Liquid chromatography/ Mass Spectrometry
NMR	Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
Iso-GAMA	N-acetyl-S-(1-carbamoyl-2-hydroxyethyl) cystein
S-oxid	S-(3-amino-3-oxopropyl) cystein
∑AM	Summan av obunden AM, AAMA, S-oxid
∑GA	Summan av obunden GA, GAMA, Iso-GAMA, glyceramid

Strukturformler



Akrylamid



Glycidamid

Inledning

Akrylamid (AM) används vid industriell framställning av polyakrylamid vars egenskaper utnyttjas bl.a. för vattenrening, murbruk och laborativ separering av makromolekyler. AM har också visat sig bildas vid fritering, stekning och ugnsbakning av stärkelserika livsmedel som potatis och spannmål (Coulter, 2009). Dessutom bildas en betydande mängd AM vid rostning av kaffeböner. De främsta källorna för AM i den svenska kosten utgörs av chips, pommes frites, stekt potatis, kaffe, (knäcke) bröd och kakor (Dybing, *et al.*, 2005). Intag av AM via maten har dessvärre lett till tumörbildning hos gnagare i flera studier (Friedman *et al.*, 1995; Johnson *et al.*, 1986) och AM är enligt WHO (IARC, international agency for research and cancer) klassad som en möjlig carcinogen hos människa.

I kroppen omvandlas AM till flera olika metaboliter och av dessa är det glycidamid (GA) som främst konstaterats ge upphov till den cancerogena (genotoxiska) effekten (Tareke, *et al.*, 2006). Obunden AM är emellertid neurotoxisk (Spencer och Schaumburg, 1975) och påverkar dessutom vid höga doser reproduktion hos gnagare (Dearfield, *et al.*, 2006). Denna uppsats kommer dock inte behandla effekterna av AM utan istället fokusera på GA m.a.p. dess omvandling från AM.

Då den orala exponeringen av AM i västvärlden är av betydande mängd, 0,2-1,4 µg/kg kroppsvikt hos vuxna och upp till 4,4 µg/kg, k.v. hos barn (Svensson, *et al.*, 2003), är det angeläget att bilda sig en tydligare bild av dess upptag, metabolism och utsöndring. Detta för att i framtiden kunna göra en säkrare riskbedömning. Vid en riskbedömning är det centralt att beakta omvandlingen av AM till GA. Beträffande omvandlingen är det även viktigt att ta hänsyn till de olikheter som kan finnas mellan arter, exponeringsätt och dos. På senare år har förutom studier på gnagare, även ett fåtal humanstudier genomförts m.a.p. metabolism och utsöndring. Det är således angeläget att en sammanställning av resultat och slutsatser genomförs från dessa studier.

Syftet med denna uppsats är att sammanställa den information som finns om upptag, metabolism och utsöndring av dietärt intagen AM och sedan jämföra erhållna resultat mellan gnagare och människa. Genom att få en klarare bild av skillnaderna i AM-metabolism mellan gnagare och människa, kommer förhoppningsvis risken kring genotoxisk effekt hos människa att klargöras något. Förutom att mäta AM-halterna i maten kan exponering genom oralt intag mätas på två sätt, dels via urinmetaboliter och dels via hemoglobinaddukter i blodet. Då denna uppsats behandlar de metabola vägarna av AM mer i detalj samt dess utsöndring, kommer i huvudsak information från urinmetaboliter att sammanställas.

I teoribakgrundsdelen beskrivs AM ur livsmedelssynpunkt tillsammans med dess upptag, metabolism och utsöndring. Även Hb-addukter kommer att tas upp här. Detta ger läsaren det som krävs för att sätta sig in i ämnet. I resultatredovisningsdelen kommer sammanställd information samt figurer med relevanta jämförelser att presenteras. I diskussionsdelen kommer avslutningsvis den erhållna informationen att diskuteras samt slutsats att dras.

Metod

Till teoribakgrundsdelens om AM i livsmedel har information främst hämtats från en bok (Coulter, 2009). I resterande delar har vetenskapliga artiklar använts vilka hämtats från PubMed och Web of Knowledge. Från dessa artiklar har data, resultat samt slutsatser samlats som berört upptag, metabolism och utsöndring av AM i råttor, mus, och människa. Artiklarna som använts behandlar främst urinmetaboliter och inte Hb-addukter. Från sammanställd data gjordes figurer för att illustrera jämförelser inom och mellan människa och gnagare m.a.p. bl.a. intagen dos och tid. Vid insamling av data har standardavvikelser inte beaktats, vilket innebär att värdena i uppsatsen bör tolkas som estimat. I flera av uppsatsens figurer används Σ AM och Σ GA. Med Σ AM menas summan av obunden AM, AAMA (och ibland S-oxid) medan Σ GA menas med summan av obunden GA, GAMA, Iso-GAMA och Glyceramid. Dessa förkortningar används m.a.p. utsöndringen för att erhålla en tydligare bild av andelen intagen AM som omvandlats vidare till GA.

Teoribakgrund

Akrylamid i livsmedel

Exponering av människor via mycket höga halter av AM i närmiljön, vilket har inträffat genom industriolyckor, har visat sig leda till skador av nervsystemet. Den mycket mindre mängd AM som påträffas i livsmedel anses emellertid inte kunna leda till detta. Ett långvarigt intag av AM via maten har dock påvisat tumörer i gnagare. För närvarande finns emellertid inget vetenskapligt stöd att intagen AM via maten framkallar cancer i människa (Coulter, 2009).

Medelintaget av AM för populationen i västvärlden har uppskattats till 0,5 μ g/kg, k.v. (Dybing, *et al.*, 2005). AM påträffas huvudsakligen i stärkelserika livsmedel som upphettats genom stekning, fritering, rostning och ugnsbakning, t ex chips, pommes frites, kaffe, (knäcke) bröd och kakor (Coulter, 2009). AM-bildning påverkas dessutom av faktorer som pH, tid, och vatteninnehåll (Rydberg, *et al.*, 2003). Det dagliga intaget av AM i Sverige fördelas på följande livsmedel: kaffe: 39 %, potatisprodukter: 26 %, och (knäcke) bröd: 17 % (Svensson, *et al.*, 2003). Det är allmänt accepterat att det är maillardreaktionen som ligger bakom AM-bildningen i åtminstone stärkelseinnehållande livsmedel (Coulter, 2009). Maillardreaktionen innebär att reducerande socker som fruktos och glukos reagerar med asparagin genom en kondensationsreaktion (Mottram, D.S., *et al.*, 2002).

Potatisens halt av reducerande sockerarter och aminosyran asparagin är således viktiga faktorer för AM-bildning. Asparagin i potatis kan utgöra uppemot 30 % av halten fria aminosyror. Denna halt kan möjligen sänkas under potatisens väg till färdig produkt, men med detta följer emellertid en försämring av smak. Asparagin är nämligen en viktig bidragsgivare till smak i potatisprodukter. Den höga temperaturen som används vid fritering (≥ 120) är även den nödvändig för att uppnå både önskvärd smak och krispighet. Dessvärre är det över 120 °C som majoriteten av AM-bildningen äger rum, även om den visserligen påbörjas redan vid lägre

temperatur. En friteringstemperatur som inte överstiger 120 °C är alltså att eftersträva (Coul-tate., 2009).

Förutom en sänkt friteringstemperatur är det möjligt att minska AM-bildning genom att förkoka potatis innan fritering. Att sänka sockerhalten i potatis genom att förvara den i en temperatur som inte understiger 8-10 °C är exempel på en annan metod. Vid låga temperaturer ökar nämligen sockerhalten i potatis markant (Amrein *et al.*, 2003). I samband med brödbakning kan enzymet asparaginas tillsättas i degen. Detta enzym omvandlar asparagin till aminosyran aspartat och detta skulle följaktligen leda till minskad AM-bildning i det färdiggräddade brödet (Coul-tate., 2009). Andra generella metoder som visat sig minska AM-halten i livsmedel är sänkning av pH och ökad vattenhalt (Jung, *et al.*, 2003; Taubert, *et al.*, 2004).

Upptag

Med upptaget av AM menas den oralt intagna mängd som tas upp i tarmen genom absorptionen. Absorptionen innebär i sin tur själva transporten av AM genom tarmen till portablodet. Andelen av den intagna dosen som inte absorberas lämnar följaktligen kroppen med feces. AM har visat sig absorberas snabbt i möss, råttor och människor efter intag via mat och vatten (Dybing, *et al.*, 2005). Det har dessutom påvisats att AM snabbt försvinner från blodet efter oralt intag hos gnagare (Miller, *et al.*, 1982). En studie (Sörgel, *et al.*, 2002) har demonstrerat att AM passerar genom blod/placenta barriären i mänsklig moderkaka och även genom blod/mjölk barriären i samband med amning. Dessa försök visar att oralt intagen AM kan nå kroppens alla vävnader. En jämn fördelning har dessutom konstaterats i kroppen och detta beror förmodligen på att AM är mycket polär och därmed en vattenlöslig molekyl.

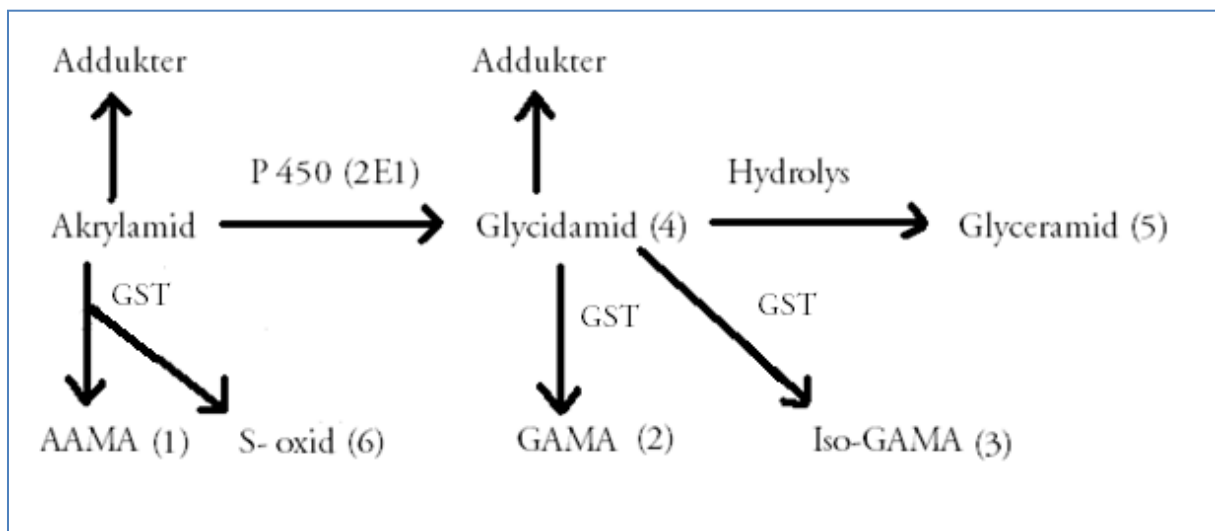
Med biotillgänglighet av AM menas den oralt intagna andelen som lyckas nå kroppens cirkulationssystem via absorptionen, d.v.s. biotillgängligheten kan generellt påverkas av bl.a. matrix i fast föda. För AM har biotillgängligheten konstaterats vara hög med hela 68-90 % i råttor, 73 % i hundar och 99 % i minigrisar. Man vet inte med säkerhet hur biotillgängligheten av AM generellt är i människa men den antas vara hög. En studie som genomförts på grisar (Aureli, *et al.*, 2007) visade att absorptionen av AM var lika stor oavsett om AM intogs via fast föda eller via vattenlösning. En annan studie (Zödl, *et al.*, 2007) konstaterade att akrylamidens absorption är passiv.

Metabolism

Det mesta av intagen AM via maten tas om hand av kroppen på samma sätt som många andra kroppsfrämmande ämnen. Levern avgiftar kroppen genom att låta AM konjugera med tripeptiden glutation till metaboliter vilka sedan utsöndras med urinen (Dybing, *et al.*, 2005). Konjugeringen katalyseras av enzymet Glutation-S-transferas (GST) och resulterar i metaboliten AAMA (N-acetyl-S-(2-carbamoylethyl)-L-cystein). Dessutom har ett andra konjugat, en sva-vel-oxid av AAMA (S-(3-amino-3-oxopropyl)cystein) påträffats (Fennel, *et al.*, 2005). Den andra metabola huvudvägen för AM är att omvandlas till den mycket reaktiva och cykliska etern glycidamid (GA) genom s.k. epoxylering (Sumner, *et al.*, 1992). Epoxyleringen katalyseras av enzymkomplexet cytokrom P450 (2E1). GA kan även den konjugeras med glutation i

levern av GST och resultera i de två merkaptursyrorna GAMA (N-acetyl-S-(2-carbamoyl-2-hydroxy-ethyl)-L-cystein) och Iso-GAMA (N-acetyl-S-(1-carbamoyl-2-hydroxyethyl) cystein). GA kan även genomgå en hydrolys till glyceramid (2,3-dihydroxypropionamide). I urinen påträffas både obunden AM och GA i mindre mängder (Sumner, *et al.*, 1992).

Både AM och GA kan binda kovalent till makromolekyler i kroppen vilket resulterar i addukter (Fennel, *et al.*, 2005). AM har en större förmåga att binda till proteiner medan reaktiva GA i större utsträckning binder till nukleinsyran DNA, vilket i sin tur potentiellt kan orsaka cancer (Dybing, *et al.*, 2005). En allmän illustration över akrylamidens metabola vägar som härmed beskrivits samt de urinmetaboliter som hittills detekterats i människa och gnagare kan ses i **Figur 1**. Att notera är att de metabola vägarna varierar mellan arter vilket i sin tur resulterar i varierande förekomst av de enskilda urinmetaboliterna. Denna aspekt kommer dock behandlas senare.



Figur 1: Illustration över akrylamidens möjliga metabola vägar samt de urinmetaboliter (1-6) som hittills identifierats i gnagare och/eller människa.

Utsöndring

Med utsöndring av AM menas den andel av intagen mängd som kroppen eliminerar via njurarna med urinen. Genom att kvantifiera de enskilda metaboliterna som detekteras i urinen är det möjligt att bilda sig en uppfattning om bl.a. tiden det tar för AM att metaboliseras i kroppen. Det är dessutom möjligt att erhålla detaljerad information om metabolismen av AM (Fennel, *et al.*, 2005). En vanligt förekommande metod som används vid analys av de olika urinmetaboliterna är ^{13}C NMR. En fördel med ^{13}C NMR är att den mycket polära metaboliten glyceramid kan detekteras. Denna teknik klarar dock inte av att detektera mycket små mängder av enskilda metaboliter (Fennel, *et al.*, 2005). En annan metod som blir alltmer populär vid analys av urinmetaboliter är LC/MS och denna teknik klarar av att detektera även mindre mängder som kan finnas av enskilda metaboliter. En betydande nackdel med LC/MS är att glyceramid inte kan detekteras vilket resulterar i svårigheter när man vill ta reda på den andel av intagen AM som omvandlats vidare till GA (Fennel, *et al.*, 2006).

Hb- addukter

Blodproteinet hemoglobin (Hb) är ett typiskt exempel på makromolekyl som både obunden AM och GA binder till kovalent. De s.k. Hb-addukterna AAVal och GAVal bildas när AM och GA reagerar med N-terminalens aminosyra valin på hemoglobinet. AAVal och GAVal cirkulerar därefter i kroppens cirkulationssystem tills de bryts ned tillsammans med de röda blodkropparna. Mycket forskning fokuserar på Hb-addukter m.a.p. intagen akrylamid och dess vidare omvandling till genotoxiska GA. Detta eftersom förhållandet mellan de två olika Hb-addukterna bättre speglar verkligheten m.a.p. DNA-addukter än vad urinmetaboliter gör. Genom att mäta halten av dessa Hb-addukter i blodprov med hjälp av LC-MS är det möjligt att erhålla en uppskattad kvot (AAVal/GAVal) som i sin tur ger information om intagen mängd, samt i vilken utsträckning omvandling till GA sker. Att notera är att Hb-addukter är användbara när man vill uppskatta ett medelintag av AM under de senaste månaderna. Detta är möjligt eftersom de röda blodkropparna som innehåller hemoglobinet har en livslängd på tre månader. Med urinmetaboliter däremot kan information erhållas som ger en bild av intaget de senaste dygnen (Fennel, *et al.*, 2006). Med analys av urinmetaboliter kan mer detaljer kring metabolism vinnas. Det ideala är dock att kombinera mätning av Hb-addukter med urinmetaboliter för att på det sättet styrka erhållna resultat.

Resultatredovisning

Syftet med denna uppsats är att sammanställa den information som finns tillgänglig om främst utsöndringen av dietärt intagen AM och därefter jämföra erhållna resultat mellan gnagare och människa. Detta för att i sin tur erhålla information om skillnader i metabolism mellan arterna. Härmed kommer en sammanställning av studier på råttor, mus och människa att presenteras mer ingående tillsammans med relevanta jämförelser.

Råttstudier

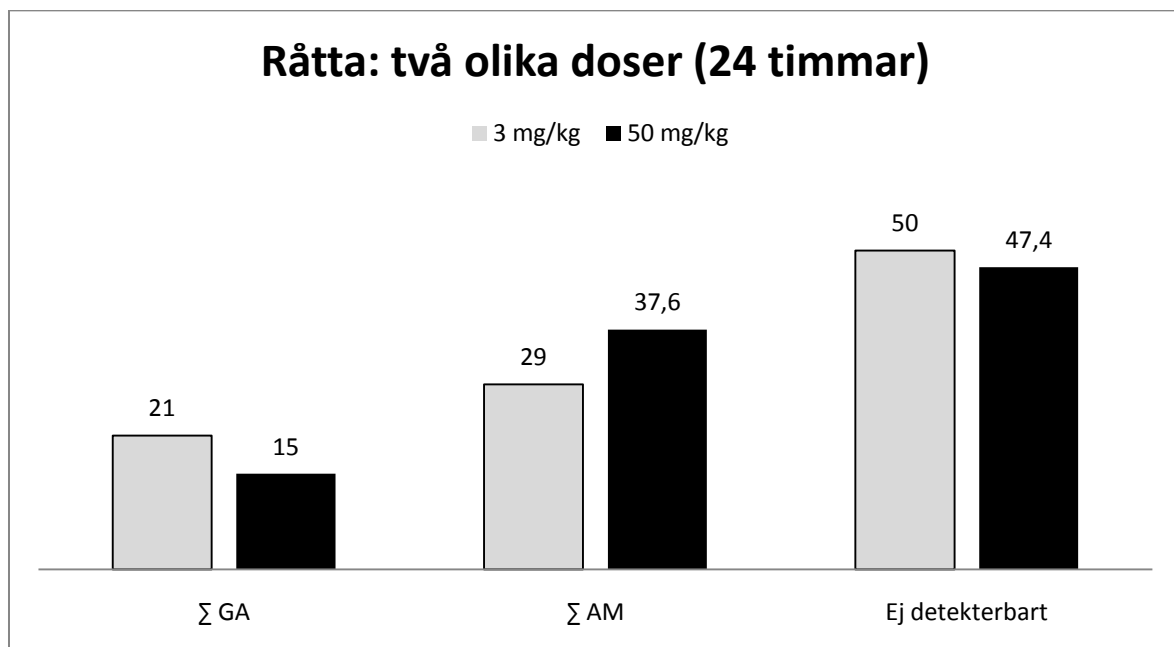
En studie (Sumner, *et al.*, 1992) studerade metabolismen i F344 råttor efter ett oralt intag av (1,2,3-¹³C₃) märkt AM. I studien gavs en dos på 50 mg/kg kroppsvikt (k.v.) via sondmatning. Analysen utfördes med ¹³C-NMR på de urinprov som samlats under 24 timmar. Av intagen dos detekterades ca 50 % i urinen. Av de detekterbara urinmetaboliterna stod AAMA för ca 67 %, obunden GA för ca 5,5 %, GAMA för 16 %, Iso-GAMA för 9 % och glyceramid för ca 2,5 %.

I en andra studie (Sumner, *et al.*, 2003) studerades metabolismen i F344 råttor vid olika typer av exponeringsätt (oralt, intraperitonealt, inandning och dermalt). Vid det orala exponeringsättet intogs en mängd på 50 mg/kg, k.v. (1,2,3-¹³C₃) märkt AM via sondmatning. Urinmetaboliterna analyserades sedan med ¹³C-NMR i urin som samlats under 24 timmar efter intag. Av intagen dos detekterades ca 53 % i urinen. Av de detekterbara urinmetaboliterna stod AAMA för 71 %, obunden GA för 7,3 %, GAMA för 13 %, Iso-GAMA för 6,8 och glyceramid för 1,2 %.

I ovanstående studier (Sumner, 1992; 2003) påvisades en likartad utsöndring m.a.p. sammansättningen av de detekterbara urinmetaboliterna.

I en tredje studie (Fennel, *et al.*, 2005) exponerades F344 råttor för en dos av (1,2,3-¹³C₃) märkt AM via sondmatning (3 mg/kg, k.v.). Råttornas utsöndring följdes sedan under 24 timmar och urinprov analyserades med ¹³C-NMR. Av intagen dos detekterades ca 50 % i urinen. Av de detekterbara urinmetaboliterna stod AAMA för 59 %, GAMA för 25 %, Iso-GAMA för 16 %. I denna studie kunde inte obunden GA kvantifieras då halten var för liten (GA kunde dock detekteras). Halten glyceramid var så pass låg så att den inte kunde detekteras i denna studie.

De två nyare rättstudierna som presenterats ovan (Sumner, *et al.*, 2003; Fennel, *et al.*, 2005) har gemensamt att urinmetaboliter samlats under 24 timmar efter en intagen mängd (3,0 och 50 mg/kg, k.v.) av (1,2,3-¹³C₃) märkt AM via sondmatning. **Figur 2** visar en sammanställning av dessa två studier. Figuren visar andelen (%) av vardera intagna mängden som utsöndras som AM tillsammans med dess metaboliter (Σ AM), GA tillsammans med dess metaboliter (Σ GA) och som en ännu inte detekterbar andel. Den icke detekterbara andelen är fortfarande kvar i kroppen och/eller har utgått med feces. Ca 50 % av båda doserna hade ännu inte detekterats i urinen efter den givna tidsperioden. Av de utsöndrade metaboliterna hörde den största andelen till Σ AM medan en jämförelsevis mindre andel utsöndrades som Σ GA. Vid den mindre dosen utsöndrades däremot en lägre andel Σ AM än vid den större dosen. Från dessa rättstudier konstaterades att rättans huvudsakliga metabola väg för AM var via konjugeringen till AAMA och att det mesta av nybildat GA konjugeras till GAMA och Iso-GAMA. Glyceramid är den GA- metabolit som utsöndras i lägst mängd.



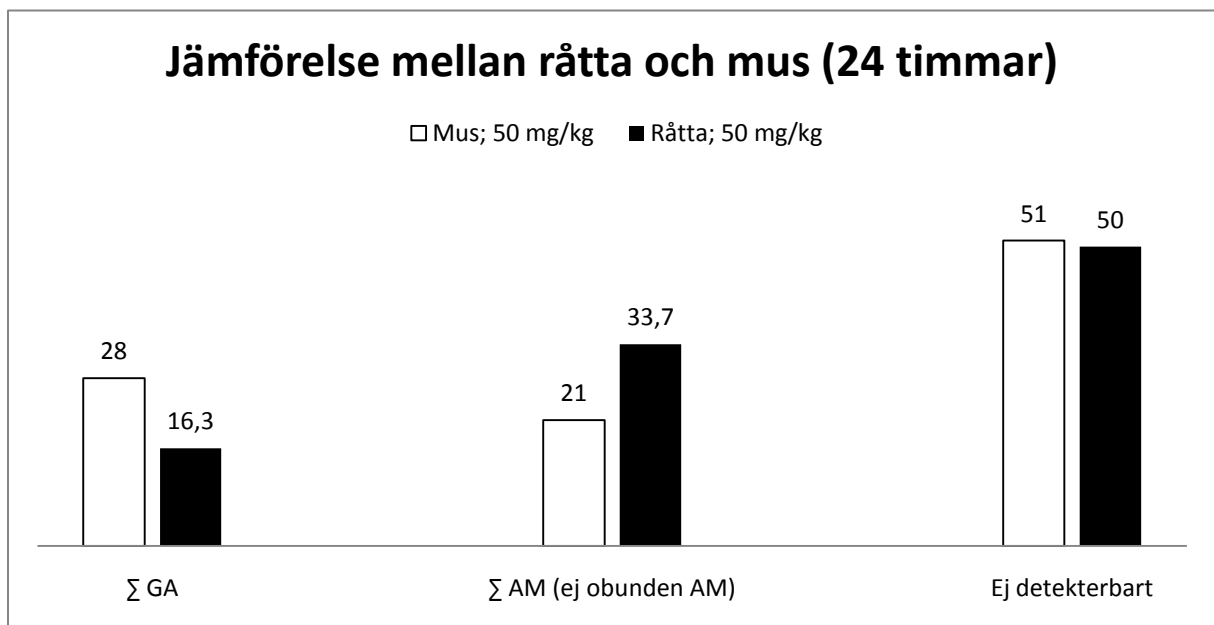
Figur 2: Akrylamidens öde (% av dietärt intagen mängd) i råttor efter två orala doser (3 och 50 mg/kg, k.v.). Staplarna illustrerar andelen obunden AM och AAMA (Σ AM) i förhållande till andelen obunden GA, GAMA, Iso-GAMA och Glyceramid (Σ GA) som utsöndrats under 24 timmar. Den ej detekterbara andelen är fortfarande kvar i kroppen och/eller har utgått med feces. Att notera är att Σ GA är större vid den mindre dosen. (Sumner, *et al.*, 2003; Fennel, *et al.*, 2005)

En musstudie

En studie (Sumner, *et al.*, 1992) studerade utsöndringen från B6C3F1möss med ^{13}C -NMR efter ett oralt intag på 50 mg/kg, k.v. av (1,2,3- $^{13}\text{C}_3$) märkt AM. Det visade sig att ca 51 % av den intagna mängden utsöndrades med urinen under 24 timmar. Den främsta urinmetaboliten som detekterades i mus var AAMA och denna motsvarade ca 40 % av de detekterbara urinmetaboliterna. De återstående 60 % härstammade från GA och bestod av åtminstone 21 % GAMA, 12 % Iso-GAMA, 17 % obunden GA och 5 % som glyceramid.

Jämförelse mellan råtta och mus

Studien (Sumner, *et al.*, 1992) studerade utsöndringen från både råtta och mus efter ett oralt intag på 50 mg/kg, k.v. av (1,2,3- $^{13}\text{C}_3$) märkt AM. Utsöndringen som detekterades med ^{13}C -NMR, påvisade att ca 50 % av intagen dos i både råtta och mus eliminerades med urinen under 24 timmar. Hos råtta utgjorde AAMA 70 % av de detekterbara urinmetaboliterna medan andelen AAMA hos mus utgjorde 40 %. De återstående detekterbara urinmetaboliterna härstammade från GA och dessa motsvarade 30 % hos råtta och hela 60 % hos mus. **Figur 3** visar denna jämförelse som andelen (%) av intagen mängd. I detta fall utsöndrades 21 % i musen och 34 % i råttan som ΣAM medan 28 % i mus och 16 % i råtta utsöndrades som ΣGA . Detta visar en betydligt högre andel AM som utsöndras som ΣGA i mus jämfört med i råtta. Då den icke detekterbara andelen är ungefär likartad (ca 50 %) hos båda arter innebär detta att andelen som utsöndrats som ΣAM är större i råtta än i mus.



Figur 3: Jämförelse mellan andelen (%) av intagen mängd) AM hos mus och råtta m.a.p. akrylamidens öde under 24 timmar efter en oralt intagen mängd på 50 mg/kg, k.v. En betydligt större andel AM utsöndras som ΣGA i mus jämfört med i råtta. Den ej detekterbara andelen är fortfarande kvar i kroppen och/eller har utgått med feces. (Sumner, *et al.*, 1992)

Humanstudier

I en humanstudie (Fennel, *et al.*, 2005) studerades utsöndringen efter en enkel dos av (1,2,3-¹³C) märkt AM hos människa. En mängd på 3 mg/kg, k.v. intogs via vattenlösning av sex män (sterila volontärer) och deras utsöndring följdes under 24 timmar. Individuella urinprov som motsvarade männens utsöndring under den angivna tiden analyserades med ¹³C NMR m.a.p. dess innehåll av urinmetaboliter. Under 24 timmar utsöndrades ca 34 % av den intagna dosen med urinen. Av den detekterbara andelen urinmetaboliter utsöndrades ca 72 % som AAMA, ca 14 % som S-oxiden av AAMA, ca 2,6 % som obunden GA och ca 11 % som glyceramid. Varken GAMA eller Iso-GAMA kunde kvantifieras då halterna av dessa metaboliter var för små.

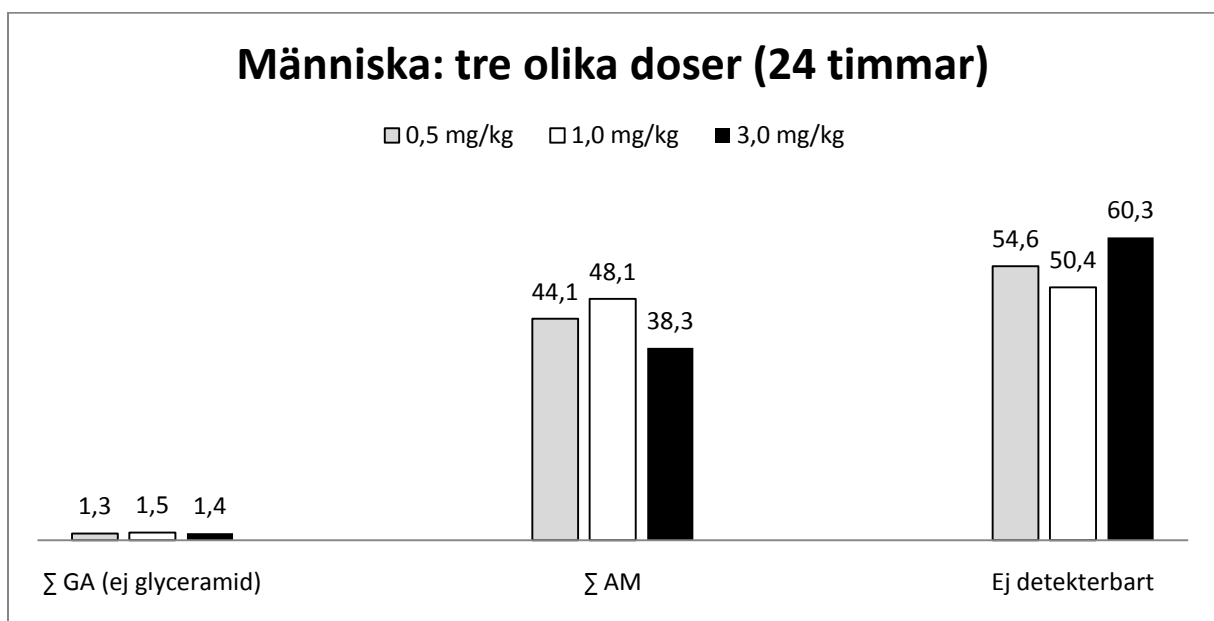
Från denna studie av Fennel konstaterades att den främsta metabola vägen av AM i människa är via konjugering till AAMA samt till en S-oxid av denna. Tillsammans utgjorde de ca 86 % av de detekterbara urinmetaboliterna. S-oxiden hade inte tidigare påträffats i varken människa eller gnagare. Omvandling till GA fastställdes vara den andra metabola huvudvägen för AM. Av GA- metaboliterna var glyceramid den metabolit som påträffades i störst mängd hos människa. Konjugering av GA till GAMA och Iso-GAMA konstaterades ske i mycket liten utsträckning hos människa eftersom GAMA kunde detekteras men inte kvantifieras och Iso-GAMA inte ens kunde detekteras. Den lilla mängd obunden GA som påträffats samt glyceramiden stod tillsammans för ca 14 % av de detekterbara urinmetaboliterna.

I en senare studie (Fennel, *et al.*, 2006) studerades människans utsöndring efter tre enkla doser (0,5, 1,0 och 3,0 mg/kg, k.v.) av ¹³C- märkt AM. I studien intog 6 sterila män AM via vattenlösning. Utsöndringen följdes sedan genom urinprov under 24 timmar. Urinprov samlades 0-2, 2-4, 4-8, 8-16 och 16-24 timmar efter intaget. De individuella urinproven analyserades sedan med hjälp av LC/MS. Av doserna 0,5, 1,0 och 3,0 mg/kg, k.v. utsöndrades 45,4 %, 49,6 % och 39,7 % av respektive dos. Av den detekterbara andelen utsöndrade urinmetaboliter var ca 69 % AAMA, ca 18 % S-oxiden, ca 10 % obunden AM och ca 1 % som obunden GA. Urinmetaboliterna GAMA och Iso-GAMA stod för mindre än 2 % och metaboliten glyceramid kunde inte detekteras med LC-MS.

Från denna studie konstaterades att obunden AM utsöndras redan vid ett tidigt stadium då det mesta av obunden AM utsöndrades under 4 timmar efter intaget. Av resterande urinmetaboliter utsöndrades huvuddelen efter 8-16 timmar. Från studiens resultat konstaterades att intagen AM snabbt absorberas och elimineras av kroppen. Det konstaterades även att det inte gick att använda sig av LC/MS för att detektera glyceramid, vilken i den tidigare studien visat sig vara den främsta GA metaboliten hos människa. I denna studie resulterade detta faktum därför i svårigheter vid uppskattningen av omvandlingsgraden av AM till GA för de tre doserna. Från studien konstaterades efter jämförelse med gnagarstudier att utsöndringen av AM samt dess omvandling till GA är långsammare i människor jämfört med gnagare. Dessutom påpekades att omvandlingen skedde i mindre utsträckning hos människa.

I denna studie kunde även en dosrelaterad ökning av Hb-addukter observeras. Detta dossvar visade att inom ett intag av 0,5-3,0 mg/kg inträffar ingen mättnad av P450 hos människa m.a.p. enzymets förmåga att omvandla AM till GA.

En sammanställning från ovanstående studie (Fennel, *et al.*, 2006) kan ses i **Figur 4**. Här visas andelen (%) av vardera dosen (0,5, 1,0 och 3,0 mg/kg, k.v.) som utsöndrats som obunden AM och dess metaboliter (Σ AM) samt som obunden GA och dess metaboliter (Σ GA utan glyceramid). Tillsammans med Σ AM och Σ GA visas även den icke detekterbara andelen efter den angivna tiden. Efter 24 timmar hade ca 50 % av de två mindre doserna (0,5 och 1,0 mg/kg, k.v.) inte hunnit detekteras i urinen medan hela 60 % inte detekterats av den högre dosen (3 mg/kg, k.v.).



Figur 4: Akrylamidens öde (% av dietärt intagen mängd) i människa efter tre orala doser (0,5, 1,0 och 3,0 mg/kg, k.v.). Staplarna illustrerar andelen obunden AM, AAMA och S-oxid (Σ AM) i förhållande till andelen obunden GA, GAMA, Iso-GAMA (Σ GA) som utsöndrats under 24 timmar. Glyceramid är dock inte medräknad. Den ej detekterbara andelen är fortfarande kvar i kroppen och/eller har utgått med feces. (Fennel, *et al.*, 2006)

Vid jämförelse hade den största andelen urinmetaboliter vid samtliga doser utsöndrats som Σ AM medan en betydligt mindre andel utsöndrats som Σ GA. Vid det givna dosintervallet kunde således inte en signifikant skillnad observeras av andelen AM som omvandlats vidare till GA. Vid den största dosen hade däremot en jämförelsevis mindre Σ AM hunnit utsöndrats. Σ GA är med stor sannolikhet större i verkligheten än vad denna figur antyder eftersom glyceramid inte kan detekteras med LC/MS.

I en annan studie (Boettcher, *et al.*, 2006) studerades metabolismen av AM endast m.a.p. urinmetaboliterna AAMA och GAMA. En enskild man intog en enkel oral dos på 13 μ g/kg, k.v. via vattenlösning. Utsöndringen följdes sedan under 46 timmar och urinprov analyserades med LC/MS/MS. Efter den angivna tiden utsöndrades 56,2 % av den intagna dosen med uri-

nen i form av AAMA och GAMA. Av dessa 56,2 % utgjorde AAMA hela 51,7 % medan GAMA utgjorde resterande 4,6 %.

Studien uppskattade en utsöndringskvot (GAMA/AAMA) på 0,1 hos människa vilken de jämförde med en kvot på råttan (0,2) samt på mus (0,5). Med denna jämförelse konstaterade studien att människans metabolism av AM är mer lik råttans än musens. Därför anser studien att akrylamidens potential att vara genotoxisk är mer jämförbar mellan råttan och människa än mellan människa och mus. Denna studie tog dock inte med S-oxiden och glyceramid vilka båda visat sig vara betydelsefulla metaboliter i människa.

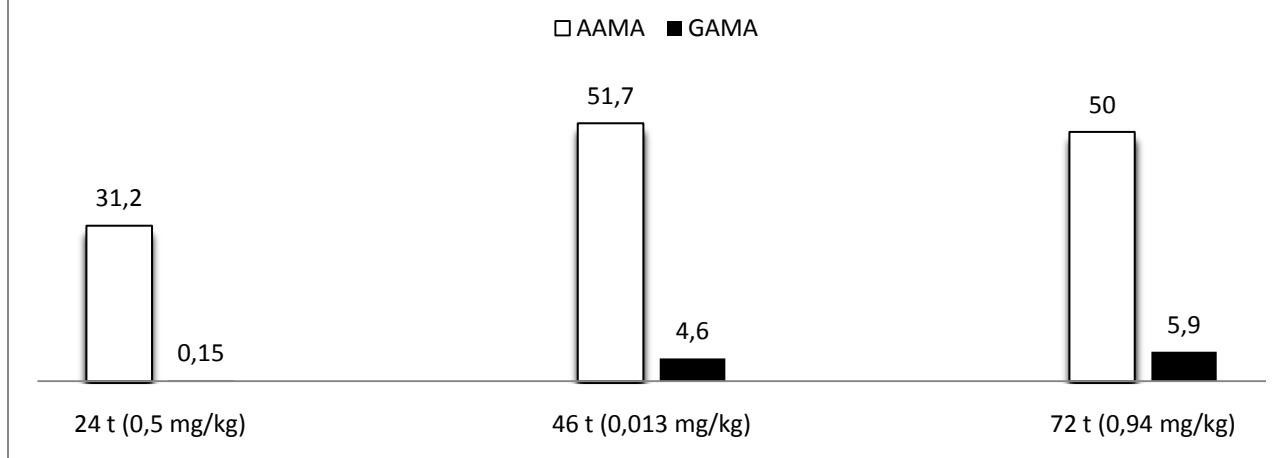
I en fjärde humanstudie (Fuhr, *et al.*, 2006) intog 6 personer en måltid som innehöll en dos på 0,94 mg/kg. Därefter följdes deras utsöndring under 72 timmar. Urinproven analyserades med LC/MS och hela 60,3 % av den intagna dosen detekterades efter den givna tidsperioden. Av dessa 60,3 % utgjorde obunden AM 4,4 %, AAMA 50 % och GAMA 5,9 %. Ingen obunden GA detekterades. Utsöndringen av obunden AM började 0-2 timmar efter intag och majoriteten av obunden AM utsöndrades efter 2-4 timmar. Jämförelsevis började utsöndringen av AAMA och GAMA efter 2-4 timmar. Majoriteten av AAMA utsöndrades efter 6-8 timmar och majoriteten av GAMA utsöndrades efter hela 12-16 timmar.

I denna studie konstaterades att de metabola vägarna var likartade de vägar som tidigare observerats vid både lägre och högre doser i människa. Studiens slutsats stämde överens med tidigare studier att det mesta av intagen AM via maten absorberas i människa och att konjugering av AM till AAMA sker i mycket större utsträckning än dess omvandling till GA. Denna studie nämnde dock inte alls glyceramid.

De två studierna ovan (Boettcher, *et al.*, 2005; Fuhr, *et al.*, 2006) har huvudsakligen fokuserat på att kvantifiera urinmetaboliterna AAMA och GAMA. **Figur 5** visar dessa två oberoende studier tillsammans med en tidigare presenterad studie (Fennel, *et al.*, 2006). Figuren illustrerar andelen (%) av intagen AM som utsöndrats som AAMA och GAMA 24, 46 respektive 72 timmar efter intag.

Figuren belyser att andelen AM som omvandlas vidare till GA möjligen ökar med tid i människa. I den första studien på 24 timmar (0,5 mg/kg, k.v.) hade fördelningen mellan de två urinmetaboliterna visat endast spår av GAMA (0,15 %) medan nästan allt utgjordes av AAMA (31,2 %). Studien på 46 timmar (0,013 mg/kg, k.v.) visade däremot en betydligt högre andel utsöndrad GAMA (4,6 %) jämfört med föregående studie. AAMA utgjorde fortfarande huvuddelen av de båda, vars andel (ca 50 %) också ökat jämfört med den första studien. Den tredje och sista studien på 72 timmar (0,94 mg/kg, k.v.) påvisade även den en relativt hög andel utsöndrad GAMA (5,9 %) jämfört med den första studien. Utsöndrad AAMA låg efter denna tid fortfarande kvar vid ca 50 %. Att notera är att den andra dosen (0,013 mg/kg, k.v.) är mycket mindre än den första (0,5 mg/kg, k.v.) och tredje (0,94 mg/kg, k.v.).

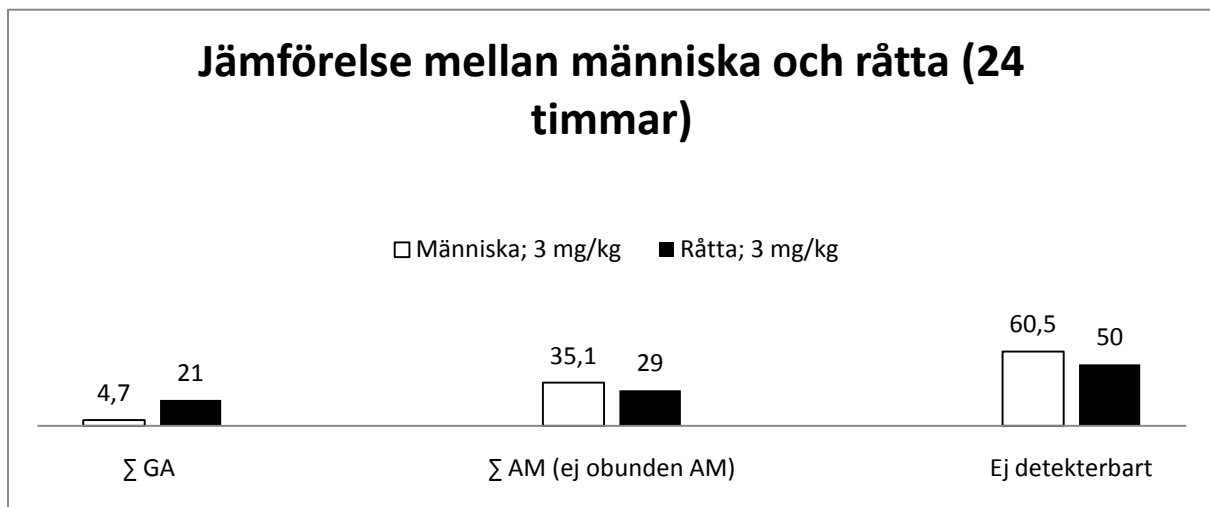
Människa: andelen utsöndrad AAMA och GAMA efter 24, 46 och 72 timmar



Figur 5: Tre oberoende studier där intag av AM (0,5, 0,013 och 0,94 mg/kg, k.v.) genomförts på människa. Staplarna visar andelen (%) av intagen dos som utsöndrats som AAMA och GAMA efter 24, 46 respektive 72 timmar. Under de första 24 timmarna (0,5 mg/kg, k.v.) hade en obetydlig andel AM utsöndrats som GAMA. I den andra studien på 46 timmar (0,013 mg/kg, k.v.) hade en högre andel AM utsöndrats som GAMA. I den tredje studien på 72 timmar (0,94 mg/kg, k.v.) hade även den en hög andel utsöndrad GAMA jämfört med den första studien. (Fennel, *et al.*, 2006; Boettcher, *et al.*, 2005; Fuhr, *et al.*, 2006)

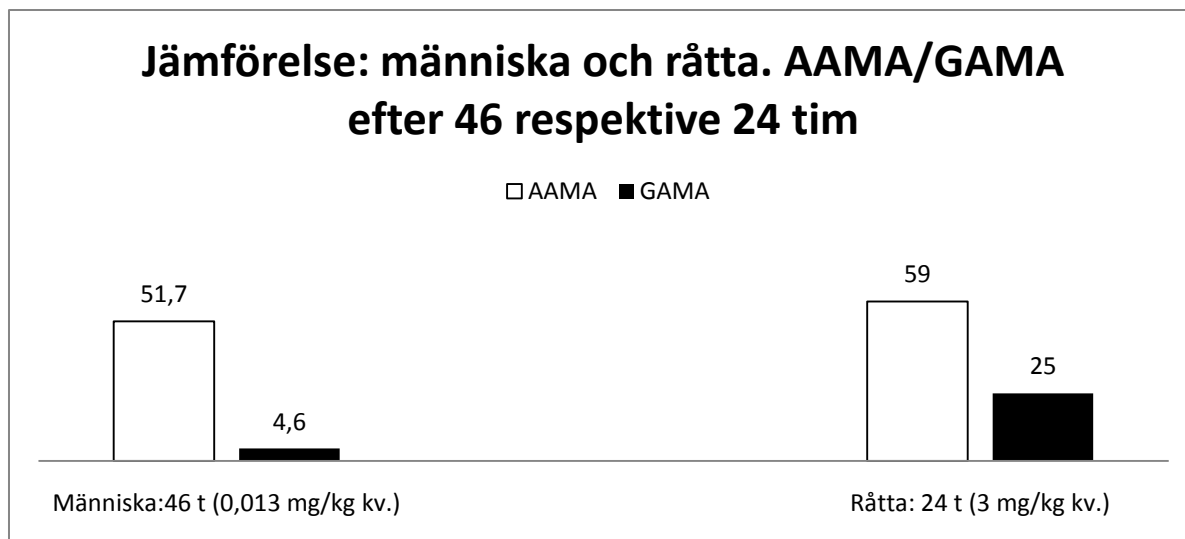
Jämförelse mellan människa och råtta

En jämförelse mellan resultat från en humanstudie (Fennel, *et al.*, 2006) och resultat från en råttstudie (Fennel, *et al.*, 2005) kan ses i **Figur 6**. Studierna följdes upp under 24 timmar efter ett intag på 3 mg/kg, k.v. oral dos AM. Andelen (%) intagen dos som inte kunde detekteras i urinen efter 24 timmar var högre i människor (61,5 %) jämfört med i råttor (50 %). Andelen som utsöndras som Σ AM var också något högre i människor (34 %) jämfört med i råttor (29 %). En betydligt större andel intagen AM utsöndras emellertid som Σ GA i råttor (21 %) jämfört med hos människor (4,7 %).



Figur 6: En jämförelse mellan andelen (%) intagen AM hos människa och råtta m.a.p. dess öde under 24 timmar efter en oral dos på 3 mg/kg, k.v. En betydligt större andel AM utsöndras som Σ GA hos råttor jämfört med hos människor under denna tid. Den ej detekterbara andelen är fortfarande kvar i kroppen och/eller har utgått med feces. (Fennel, *et al.*, 2005; 2006)

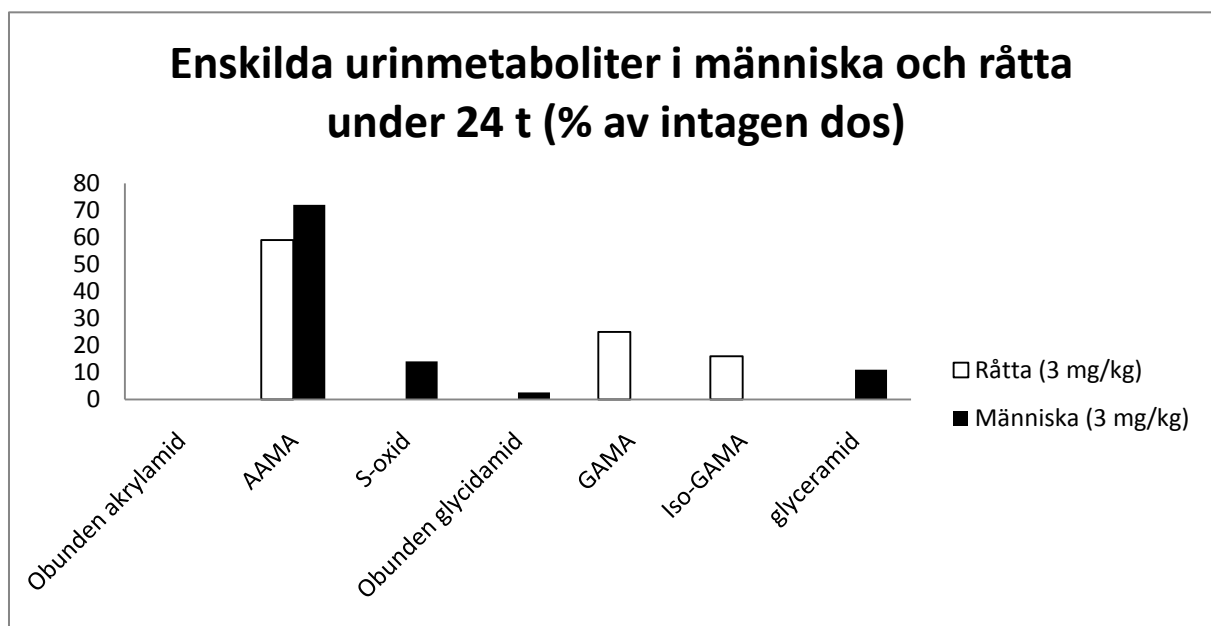
Eftersom rättans ämnesomsättning är mycket snabbare än människans var det av intresse att göra en annan figur där inte tiden var den betydande faktorn. **Figur 7** illustrerar en jämförelse där människans AM-metabolism istället har uppskattats vara hälften av rättans. Människans intag var en dos på 13 μ g/kg, k.v. och utsöndringen följdes under två dygn (Boettcher, *et al.*, 2005) medan rättans dos var på 3 mg/kg, k.v. och följdes under ett dygn (Fennel, *et al.*, 2005). Figuren visar en jämförelse av andelen (%) av intagen mängd som utsöndrats som AAMA och GAMA av respektive intagen dos och under vardera tidsperioden. Utsöndringen av GAMA i människor kan uppskattas till 1/5 av rättans utsöndring. Utsöndringen av AAMA är jämförelsevis relativt likartad.



Figur 7: En jämförelse mellan andelen (%) intagen AM hos människa och råtta m.a.p. utsöndringen av AAMA och GAMA efter 46 respektive 24 timmar efter orala doser på 13 µg/kg, k.v. hos människa och 3 mg/kg, k.v. hos råtta. Utsöndringen av GAMA i människa kan uppskattas till 1/5 av rattans utsöndring. Utsöndringen av AAMA är jämförelsevis relativt likartad. (Fennel, *et al.*, 2005; 2006)

Jämförelse mellan enskilda urinmetaboliter mellan människa och gnagare

Genom att studera sammansättningen på de enskilda urinmetaboliterna efter intag av AM kan man erhålla detaljerad information om AM-metabolism. En jämförelse mellan urinmetaboliternas sammansättning i förhållande till varandra har genomförts mellan människor och råttor (Fennel, *et al.*, 2005) och demonstreras i **Figur 8**. Utsöndringen har följts under 24 timmar efter intagen dos på 3 mg/kg, k.v. Den metabolit som utsöndrades mest hos både människa och råtta var AAMA. Förekomsten av AAMA skiljde sig inte anmärkningsvärt mellan arterna även om människan utsöndrar en något högre andel. Råttan utsöndrade mycket större mängder GAMA och Iso-GAMA jämfört med människan som utsöndrar dessa två merkap-tursyror i betydligt mindre utsträckning. S-oxiden av AAMA påträffas endast hos människa och har ännu inte detekterats i gnagare. Glyceramiden påträffas i mycket större mängder hos människan men detekterades inte hos råtta vid den givna dosen. Dessutom påträffades obunden glycidamid hos människan.



Figur 8: Urinmetaboliternas sammansättning i förhållande till varandra mellan råtta och människa under de första 24 timmarna efter ett intag på 3 mg/kg, k.v. Urinmetaboliterna som detekterades hos råtta var AAMA, GAMA och Iso-GAMA. Människan utsöndrade däremot en större mängd AAMA än råttan och GAMA och Iso-GAMA utsöndrades i jämförelsevis i mycket mindre utsträckning. Dessutom påträffades S-oxiden, glyceramid samt obunden AM och GA endast hos människa vid denna dos. (Fennel, *et al.*, 2005)

Diskussion

Den första sammanställningen (**Figur 2**) genomfördes på råttstudier (Sumner, *et al.*, 2003; Fennel, *et al.*, 2005) där två doser (3 och 50 mg/kg) AM intogs via vattenlösning och utsöndringen följdes under 24 timmar. Intaget av den lägre dosen resulterade i en ökad metabolism av AM till GA (41 % av de detekterbara urinmetaboliterna), jämfört med den högre dosen (28 % av de detekterbara urinmetaboliterna). Detta skulle kunna betyda att det sker en mättnad av enzymet P450 (2E1) vid mycket stora intag hos råtta.

En jämförelse (**Figur 3**) genomfördes mellan mus och råtta (Sumner, *et al.*, 1992) m.a.p. utsöndrade urinmetaboliter under 24 timmar efter ett större intag på 50 mg/kg, k.v. Jämförelsen visade tydligt att en större andel intagen AM omvandlas till GA i musen. Råttan kan således ha en effektivare konjugering av AM än vad möss har, vilket i så fall skulle förklara denna mindre andelen AM som omvandlas vidare till GA i råtta. Eftersom det gäller olika arter så skulle skillnaden också kunna bero på naturliga skillnader i metabolismen av AM.

Den första sammanställningen (**Figur 4**) från en humanstudie (Fennel, *et al.*, 2006) där tre olika doser (0,5, 1,0 och 3,0 mg/kg) AM intogs och utsöndringen följdes under 24 timmar, visade inte på en skillnad i utsöndringen av Σ GA inom det givna dosintervallet. Eftersom det inte var möjligt att detektera glyceramid med LC-MS resulterade detta i svårigheter att kvantifiera andelen intagen AM som i själva verket omvandlats vidare till GA. Från denna studie kan det konstateras att omvandlingen till GA är betydligt lägre i människa än det som rappor-

terats i råtta (41 % vid 3 mg/kg) och i mus (59 % vid 50 mg/kg). Omvandlingen visade sig dessutom vara betydligt långsammare i människa.

Den andra sammanställningen (**Figur 5**) på människa visade en jämförelse mellan tre olika studier (Fennel, *et al.*, 2006; Boettcher, *et al.*, 2005; Fuhr, *et al.*, 2006) där intag genomförts med låga koncentrationer (0,5, 0,013 och 0,94 mg/kg, k.v.). Studierna hade dokumenterat utsöndringen av AAMA och GAMA efter 24, 46 respektive 72 timmar. Figur 5 belyste att andelen AM som omvandlas vidare till GA möjligen ökar med tiden i människa. Vid intaget på 0,5 mg/kg, k.v. hade nämligen obetydliga mängder GAMA utsöndrats med urinen under de första 24 timmarna. Däremot vid det mycket lägre intaget på 0,013 mg/kg, k.v. påvisades emellertid en högre utsöndring av GAMA efter 46 timmars uppföljning. Även den tredje studien på 72 timmar visade en ökad utsöndring av GAMA jämfört med tidigare studien. I denna sista studie hade en dos på 0,94 mg/kg, k.v. intagits. Denna jämförelse kan tyda på att storleken på dosen (inom det givna dosintervallet) möjligen har mindre betydelse för graden av omvandling till GA och att tiden efter intaget istället kan vara en viktigare faktor. Om detta stämmer innebär det att det sker en relativt långsam omvandling av AM till GA hos människa. Denna aspekt är av central betydelse eftersom många humanstudier på AM endast följer utsöndringen 24 timmar efter intag.

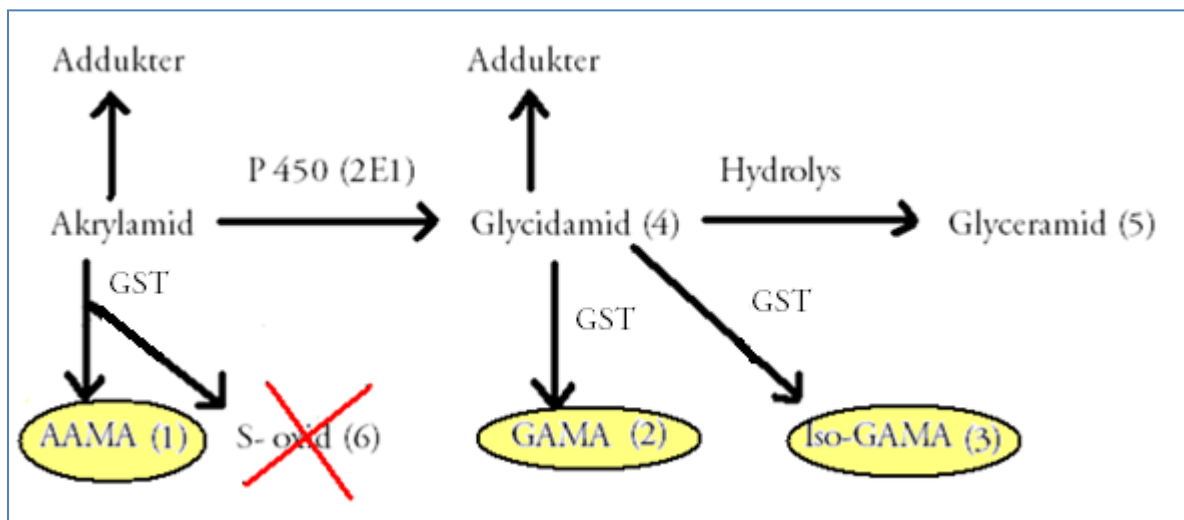
En jämförelse (**Figur 6**) genomfördes mellan råtta och människa (Fennel, *et al.*, 2005; 2006) m.a.p. utsöndrade urinmetaboliter under 24 timmar efter intagen mängd på 3 mg/kg, k.v. Det visades tydligt att en större andel intagen AM omvandlas vidare till GA i råtta än i människa under denna tid. Utifrån figuren kan man estimerar att omvandlingen till GA i människa är runt 25 % av råttans omvandling. Människans AM-metabolism är dock troligtvis långsammare än råttans AM-metabolism vilket innebär att en uppföljning av utsöndring på 24 timmar antagligen är för kort m.a.p. omvandling till GA i människa. Hänsyn till metaboliseringen togs dock i figur 7. Hos människa är också en större andel AM ännu inte detekterbar efter 24 timmar vilket innebär att andelen som omvandlas vidare till GA antagligen kommer att öka med tid. Bortsett från metabol hastighet är människans konjugering av AM antagligen mycket effektivare än råttans vilket också resulterar i en mindre omvandling till GA. Det kan även vara så att P450 (2E1) finns i större halt och/eller är aktivare i råttan vilket skulle då skulle medföra i en ökad GA-bildning.

Figur 7 illustrerade en jämförelse där människans AM-metabolism hade uppskattats vara hälften av råttans (Fennel, *et al.*, 2005; 2006). Ett antagande gjordes alltså att mängden AM som råttan metaboliserar under ett dygn skulle människan metabolisera under två dygn. Människans intag hade varit en mängd på 13 µg/kg, k.v. och utsöndringen hade följts under två dygn medan råttans dos var på 3 mg/kg, k.v. och följdes endast under ett dygn. Med doskillnaderna i beaktande kan omvandlingen till GA i människa uppskattas till runt 25 % av råttans omvandling. Utsöndringen av AAMA var jämförelsevis likartad mellan människa och råtta. Figur 7 visar troligtvis en något mer sanningsenlig bild av omvandlingen till GA än den tidsbundna jämförelsen i Figur 6, där utsöndringen istället följdes 24 timmar. Dessvärre är GAMA naturligt sparsamt förekommande i människa och jämförelsen tar inte heller hänsyn till den glyceramid som bildades. Glyceramid skulle antagligen visa en jämförelsevis mycket större andel GA-bildning än vad GAMA i nuläget gör i denna figur. Detta betyder att det är en

aning förrädiskt att jämföra GAMA med den mycket frekventa AAMA, och utifrån det hävda att risken för genotoxicitet är liten genom att bara jämföra staplarnas längd.

En jämförelse (**Figur 8**) gjordes även på sammansättningen av de enskilda urinmetaboliterna mellan människa och råtta under de första 24 timmarna efter ett intag på 3 mg/kg, k.v. (Fennel, *et al.*, 2005). Det visade sig att kvantiteten av de olika metaboliterna i förhållande till varandra varierade stort mellan människa och råtta. Den främsta metabola vägen hos båda arter och där den största likheten mellan arterna fanns var via konjugering till AAMA. En annan viktig metabol väg hos råtta var omvandlingen till GA vilken snabbt konjugerades vidare till GAMA och Iso-GAMA. Denna konjugering påträffas även hos människa men i mycket mindre utsträckning (åtminstone under de första 24 tim). Hos människa påträffas däremot ett andra konjugat, en S-oxid av AAMA, som i nuläget inte hittats i gnagare. Dessutom detekterades obunden GA hos människan vid denna intagna mängd. Hydrolysen av GA till glyceramid sker också i mycket större utsträckning i människa än i råtta. Att lägga på minnet är att vid större doser (50 mg/kg, k.v.) utsöndras dock både obunden GA samt glyceramiden i betydelsefulla mängder även i råtta.

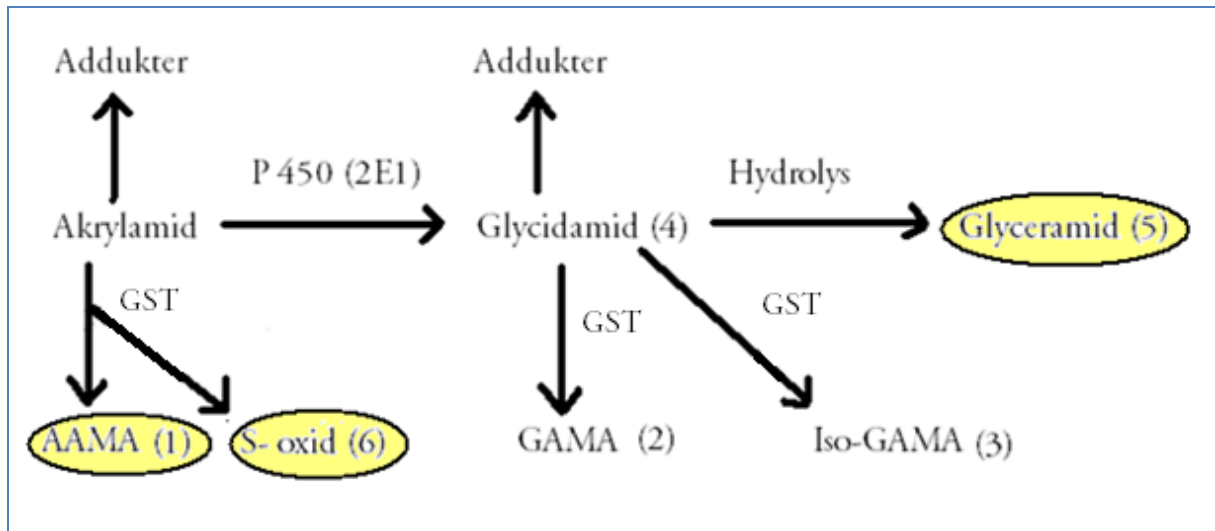
Sammanfattningsvis illustrerar **Figur 9** de metabola vägarna som huvudsakligen sker i gnagare. De huvudsakliga urinmetaboliter som detekterats har i figuren cirklats och färgats in. De främsta urinmetaboliterna hos gnagare har visat sig vara AAMA, GAMA och Iso-GAMA. Detta innebär att det mesta av intagen AM konjugeras till AAMA eller omvandlas vidare till GA, vilken i sin tur tenderar att snabbt konjugeras till GAMA och Iso-GAMA. S-oxiden påträffas inte alls i gnagare och glyceramid endast i små mängder.



Figur 9: De huvudsakliga metabola vägarna i **gnagare**. AAMA, GAMA och Iso-GAMA utgör majoriteten av de detekterbara urinmetaboliterna. Att notera är att S-oxiden av AAMA inte påträffas alls hos gnagare och att glyceramid påträffas i mycket liten utsträckning.

En sammanfattning av de främsta metabola vägar i människa illustreras i **Figur 10**. Urinmetaboliter som detekterats i störst omfattning har på samma sätt som i Figur 9 cirklats och färgats in. De främsta urinmetaboliterna hos människa har visat sig vara AAMA, S-oxiden och glyceramid. Detta innebär att den huvudsakliga andelen av intagen AM konjugeras även i

människa. S-oxiden påträffas endast i människa. Den andra metabola huvudvägen är att AM omvandlas vidare till GA, vilken i stor utsträckning hydrolyseras till glyceramid. Konjugering av GA sker i betydligt mindre utsträckning än i gnagare då GAMA och Iso-GAMA endast hittas i små mängder.



Figur 10: De huvudsakliga metabola vägarna i **människa**. AAMA, S-oxiden av AAMA och glyceramid utgör majoriteten av de detekterbara urinmetaboliterna. Att notera är att GAMA och Iso-GAMA påträffas i mycket liten utsträckning i människa.

Slutsats

Upptaget av AM är sannolikt mycket effektivt i både människa och gnagare och inga uppenbara skillnader har där påträffats. Det verkar heller inte som att absorptionen skulle skilja markant mellan olika intag. Dessutom har absorptionen visat sig vara effektiv oavsett om intag skett via fast föda eller via vattenlösning.

Tydliga skillnader i metabolism och utsöndring kan konstateras mellan människa och gnagare. Jämfört med gnagare är människans omvandling till GA långsammare och sker även i mindre utsträckning. Metabolismen av AM skiljer främst genom att en större andel av den intagna mängden omvandlas vidare till GA i råttan. Människans konjugering av AM är även den effektivare. Det mesta av nybildad GA hydrolyseras vidare till glyceramid i människa medan konjugering till GAMA och Iso-GAMA istället är den huvudsakliga vägen i gnagare. En jämförelse mellan mus och råttan visar att omvandling till GA i störst utsträckning sker i mus. Detta innebär att råttan är mer lik människan m.a.p. AM-metabolism. I människa har ett dosintervall inom 0,5-3 mg/kg, k.v. inte kunnat visa någon skillnad m.a.p. andelen AM som metaboliseras vidare till GA.

En sammanställning av studier m.a.p. tid indikerar dock att omvandling till GA möjligen ökar efter det första dygnet i människa.

De metabola vägarna skiljer inte i människa beroende på dos åtminstone upp till 3 mg/kg, k.v. I gnagare har dock mycket stora doser (50 mg/kg, k.v.) påvisat en mindre omvandling till GA jämfört med lägre doser, vilket tyder på en eventuell mättnad av P450 (2E1).

Omvandlingen till GA i människa ligger troligtvis runt 20-25 % av den omvandling som sker i råtta. Det finns alltså skäl att anta en lägre cancerrisk i människa jämfört med gnagare.

Jag skulle vilja passa på att rekommendera ytterligare humanstudier där utsöndringen följs upp under längre tid än 24 timmar. I nuläget har de flesta humanstudier följt utsöndringen under ett dygn, vilket sannolikt är för kort tid m.a.p. GA-bildning. Jag vill även betona att en analysmetod som både klarar av att detektera glyceramid och även lägre halter av vissa urinmetaboliter är att eftersträva. Innan dess kommer det vara besvärligt att med säkerhet uppskatta andelen intagen AM som omvandlas vidare till det potentiellt cancerframkallande GA i människa.

Referenslista

Litteraturreferenser

Amrein, T.M., Bach-Mann, S., Noti, A., et al., (2003). Potential of acrylamide formation, sugars, and free asparagine in potatoes: a comparison of cultivars and farming systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 5556-5560.

Aureli, F., Pasquale, M.D. Lucchetti, D., Aureli, P., Coni, E., (2007). An absorption study of dietary administered acrylamide in swine. *Food and chemical Toxicology*. **45**, 1202-1209.

Boettcher, M.I., Bolt, H.M., Drexler, H., Angerer, J., (2005). Excretion of Mercapturic Acids of Acrylamide and Glycidamide in Human Urine after Single Oral Administration of Deuterium-labeled Acrylamide. *Archives of Toxicology*, 1-11.

Coulter, T.P., 2006. *FOOD, the Chemistry of its Components*. 5th ed. Cambridge: RSC Publishing.

Dearfield, K. L., Douglas, G.R., Ehling, UH, Moore, M.M., Sega, G.A., Brusick, D.J., (1995), Acrylamide: A review of its genotoxicity and an assessment of heritable genetic risk. *Mutat. Res.* **330**, 71-99.

Doerge, R.D., Young, J.F., McDaniel, L.P., Twaddle, N.C., Churchwell, M.I., (2005). Toxicokinetics of acrylamide and glycidamide in Fisher 344 rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. **208**, 199-209.

Doerge, R.D., Young, J.F., McDaniel, L.P., Twaddle, N.C., Churchwell, M.I., (2005). Toxicokinetics of acrylamide and glycidamide in B6C3F mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*. **202**, 258-267.

Dybing, E., Farmer, P.B., Andersen, M., Fennel, T.R., Lalljie, S.P.D., et al., (2005), ILSI Report: human exposure and internal dose assessments of acrylamide in food, *Food Chem. Toxicol.*, **43**, 365-410.

Hartmann, E.C., Boettcher, M.I., Bolt, H.M., Drexler, H., Angerer, J., (2009). N-Acetyl-S-(1-carbamoyl-2-hydroxy-ethyl)-L-cysteine (iso-GAMA) a further product of human metabolism

of acrylamide: comparison with the simultaneously excreted other mercapturic acids. *Arch Toxicol.* **83**, 731-734.

Friedman, M.A., Dulak, M.H., och Stedman, M.A., (1995), a lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide, *Fundam. Appl. Toxicol.*, **27**, 95-105

Fennel, T.R., Sumner, S.C.J., Snyder, R.W., Burgess, J., Spicer, R., Bridson, W.E., Friedman, M.A., (2005). Metabolism and Hemoglobin Adduct Formation of Acrylamide in Humans. *Toxicological sciences.* **85**, 447-459.

Fennel, T.R., Sumner, S.C.J., Snyder, R.W., Burgess, J., Friedman, M.A., (2006). Kinetics of Elimination of Urinary Metabolites of Acrylamide in Humans. *Toxicological sciences* **93**, 256-267.

Fuhr, U., Boettcher, M.I., Kinzig-Schippers, M., Weyer, A., Jetter, A., Lazar, A., et al., (2006). Toxicokinetics of Acrylamide in Humans after Ingestion of a Defined Dose in a Test Meal to Improve Risk Assessment for Acrylamide Carcinogenicity. *Cancer Epidemiology biomarkers & prevention*, **15**, 266-271.

Johnson, K.A., Gorzinski, S.J., Bodner, K.M., Campbell, R.A., Wolf, C.H., (1986), Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fisher 344 rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **85**, 154-168.

Jung, M.Y., Choi, D.S., och Ju, J.W., (2003). A novel technique for limitation of acrylamide formation in fried and baked corn chips and in French fries. *Journal of Food Science.*, **68**, 1287-1290.

Mottram, D.S., Wedzicha, B.L., och Dodson, A.T., (2002), Acrylamide is formed in the Maillard reaction, *Nature*, 419, 448-449.

Miller, M.J., Carter, D.E., och Sipes, I.G., (1982). Pharmacokinetics of Acrylamide in Fisher-334 Rats. *Toxicology and applied pharmacology.* **63**, 36-44.

Rydberg, P., Eriksson, S., Tareke, E., Karlsson, P., Ehrenberg, L., Törnqvist, M., (2003), Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs, *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 7012-7018.

Spencer, P.S., och Schaumburg, H.H., (1975), Nervous system degeneration produced by acrylamide monomer. *Environ. Health Perspect.*, **11**, 129-133.

Svensson, K., Abramsson, L.Z., Becker, W., Glynn, A., Hellenäs, K.E., Lind, Y., Rosen, J., (2003), Dietary intake of acrylamide in Sweden. *Food and Chemical Toxicology.*, 41, 1581-1586.

Sörgel, F., Weissenbacher, R., Kinzig-Schippers, M., Hofmann, A., Illauer, M., Skott, A., Landersdorfer, C., (2002). Acrylamide: Increased Concentrations in Homemade Food and First evidence of its variable Absorption from Food, variable Metabolism and Placental and Breast Milk Transfer in Humans. *Chemotherapy.* **48**, 267-274.

Sumner, C.J., MacNeela, J.P., och Fennel, T.R., (1992). Characterization and Quantitation of Urinary Metabolites of [1, 2, 3-¹³C] Acrylamide in Rats and Mice Using ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Chem. Res. Toxicol.* **5**, 81-89.

Sumner, C.J., Williams, C.C., Snyder, R.W., Krol, W.L., Asgharian, B., Fennel, T.R., (2003). Acrylamide: A Comparison of Metabolism and Hemoglobin Adducts in Rodents following Dermal, Intraperitoneal, Oral, or Inhalation Exposure. *Toxicological Sciences*, **75**, 260-270.

Tareke, E., Twaddle, N.C., McDaniel, L.P., Churchwell, M.I., Young, J.F., Doerge, D.R., (2006), Relationships between biomarkers of exposure and toxicokinetics in Fisher 344 rats and B6C3F1 mice administered single doses of acrylamide and glycidamide and multiple doses of acrylamide. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **217**, 63-75.

Taubert, D., Harlfinger, S., Henkes, L., Berkels, R., Schomig, E., (2004). Influence of processing parameters on acrylamide formation during frying of potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **52**, 2735-2739.

Figurreferenser

Samtliga figurer 1-10 har gjorts på egen hand och baseras på info som samlats från artiklar. De värden som används i figurer och tabeller refereras till motsvarande artikel i figurtexten.

Appendix 1

Humanstudier och urinmetaboliter

Metabolit	Intagen dos (mg/kg)	Ut-söndringstid (tim)	% av detek-terbara me-taboliter	Total mängd (µmol)	% av intagen dos	Antal pers/kön/intag	Referens
Obunden AM	0.94	72		0,59	4.4	6/båda/Fast föda	Fuhr, <i>et al.</i> , 2006
	0.5	24	10,2	21,8	4,67	6/män/vatten	Fennel, <i>et al.</i> , 2006
	1,0	24	9,97	49,1	5,02	6/män/vatten	Fennel, <i>et al.</i> , 2006
	3,0	24	8,58	95	3,23	6/män/vatten	Fennel, <i>et al.</i> , 2006
AAMA	3.0	24	72	679	22	6/män/vatten	Fennel, <i>et al.</i> , 2005
	0.94	72		6,34	50	6/båda/ Fast föda	Fuhr, <i>et al.</i> , 2006
	0,5	24	68,3	145	31,2	6/män/vatten	Fennel, <i>et al.</i> , 2006
	1,0	24	69,0	338	34,4	6/män/vatten	Fennel, <i>et al.</i> , 2006
	3,0	24	69,10	825	27,8	6/män/vatten	Fennel, <i>et al.</i> , 2006
	0,013	46			51,7	1/man/vatten	Boettcher,

							<i>et al., 2005</i>
S-oxid av AAMA	3.0	24	14,1	130	4,2	6/män/vatten	Fennel, <i>et al., 2005</i>
	0.5	24	18,2	38,2	8,26	6/män/vatten	Fennel, <i>et al., 2006</i>
	1,0	24	17,5	85,5	8,68	6/män/vatten	Fennel, <i>et al., 2006</i>
	3,0	24	18,55	218	7,25	6/män/vatten	Fennel, <i>et al., 2006</i>
GAMA	3.0	24	BD	BD	BD	6/män/vatten	Fennel, <i>et al., 2005</i>
	0.94	72		0,65	5.9	6/båda/ Fast föda	Fuhr, <i>et al., 2006</i>
	0,5	24	0,33	0,69	0,15	6/män/vatten	Fennel, <i>et al., 2006</i>
	1,0	24	0,34	1,64	0,17	6/män/vatten	Fennel, <i>et al., 2006</i>
	3,0	24	0,36	4,46	0,15	6/män/vatten	Fennel, <i>et al., 2006</i>
	0,013	46			4,6	1/man/vatten	Boettcher, <i>et al., 2005</i>
Iso-GAMA	3.0	24	BD	BD	BD	6/män/vatten	Fennel, <i>et al., 2005</i>
	0,5	24	1,48	3,12	0,67	6/män/vatten	Fennel, <i>et al., 2006</i>
	1,0	24	1,32	6,42	0,65	6/män/vatten	Fennel, <i>et al., 2006</i>
	3,0	24	1,38	16,5	0,55	6/män/vatten	Fennel, <i>et al., 2006</i>
Obunden GA	3.0	24	2,6	25	0,79	6/män/vatten	Fennel, <i>et al., 2005</i>
	0.5	24	0.96	2,02	0.43	6/män/vatten	Fennel, <i>et al., 2006</i>

	1,0	24	1,26	6,39	0,63	6/män/vatten	Fennel, et al., 2006
	3,0	24	1,65	16,8	0,65	6/män/vatten	Fennel, et al., 2006
Glyce- ramid	3.0	24	11,0	102	3,3	6/män/vatten	Fennel, et al., 2005
	0,5-3	-	-	-	-	6/män/vatten	Fennel, et al., 2006
Total ut- söndring: (% av in- tagen dos)	3.0	24		1056	34	6/män/vatten	Fennel, et al., 2005
	0.94	72			60.3	6/båda/Fast föda	Fuhr, et al., 2006(1)
	0,5	24			45,6	6/män/vatten	Fennel, et al., 2006
	1,0	24			49,9	6/män/vatten	Fennel, et al., 2006
	3,0	24			39,9	6/män/vatten	Fennel, et al., 2006

Appendix 2

Råttstudier och urinmetaboliter

Metabolit	Intagen dos (mg/kg)	Utsöndringstid (tim)	% av detekterbara metaboliter	Total mängd (µmol)	% av intagen dos	Antal pers/kön/intag	Referens
Obunden AM							
AAMA	3	24	59	2,6	29	4/hane/sond matning	Fennel, <i>et al.</i> , 2005
	50	24	71		37,6	4/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 2003
	50	24	67,4		33,7	4/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 1992
GAMA	3	24	25	1,1	13	4/hane/sond matning	Fennel, <i>et al.</i> , 2005
	50	24	13		6,9	4/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 2003
	50	24	15,7		7,85	4/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 1992
	3	24	16	0,69	8,0	4/hane/sond matning	Fennel, <i>et al.</i> , 2005

Iso-GAMA	50	24	6,8		3,6	4/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 2003
	50	24	9		4,5	4/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 1992
Obunden GA	3	24	-	-	-	4/hane/sond matning	Fennel, <i>et al.</i> , 2005
	50	24	7,3		3,9	4/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 2003
	50	24	5,5		2,75	4/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 1992
Glyceramid	3	24	-	-	-	4/hane/sond matning	Fennel, <i>et al.</i> , 2005
	50	24	1.2		0,64	4/hane/sond matning	Fennel, <i>et al.</i> , 2005
	50	24	2,4		1,2	4/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 1992
Total utsöndring: (% av intagen dos)	3	24		4,3	50	4/hane/sond matning	Fennel, <i>et al.</i> , 2005
	50	24		88	53	4/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 2003
	50	24			50	4/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 1992

Appendix 3

Musstudier och urinmetaboliter

Metabolit	Intagen dos (mg/kg, k.v.)	Utsöndringstid (tim)	% av detekterbara urinmetaboliter	% av intagen dos	Övrigt	Referens
Obunden AM						
AAMA	50 mg/kg	24	41,2	21	3/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 1992
GAMA	50 mg/kg	24	21,3	11	3/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 1992
Iso-GAMA	50 mg/kg	24	11,7	6	3/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 1992
Obunden GA	50 mg/kg	24	16,8	9	3/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 1992
Glyceramid	50 mg/kg	24	5,3	3	3/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 1992
Total utsöndring: (% av int. Dos)	50 mg/kg	24		51	3/hane/sond matning	Sumner, <i>et al.</i> , 1992

Appendix 4

Halveringstider för akrylamid i människa, råtta och mus

Halveringstid för människa

Dos (mg/kg)	Halveringstid (tim)	Antal pers/kön	Intag via:	Referens
0,5	3,13	6/män/vatten	Vattenlösning	Fennel, et al., 2006
1,0	3,25	6/män/vatten	Vattenlösning	Fennel, et al., 2006
3,0	3,49	6/män/vatten	Vattenlösning	Fennel, et al., 2006
0.94	2,4	6/båda	Fast föda	Fuhr, et al., 2006
Framgår ej	2,2	1/man	Fast föda	Sörgel, 2002
Framgår ej	7	1/man	Fast föda	Sörgel, 2002

Halveringstid för råtta

Dos (mg/kg, k.v.)	Halveringstid (tim)	kön	Intag via:	Referens
0,1	2,2	hanar	sondmatning	Doerge, D.R., et al., 2005
0,1	1,6	honor	sondmatning	Doerge, D.R., et al., 2005

Halveringstid för mus

Dos (mg/kg, k.v.)	Halveringstid (tim)	kön	Intag via:	Referens
0,1	1,6	Hanar	sondmatning	Doerge, D.R., et al., 2005
0,1	1,3	Honor	sondmatning	Doerge, D.R., et al., 2005