

Toxikologische Beurteilung von Furocumarinen in Lebensmitteln

Die DFG-Senatskommission zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln (SKLM) hat sich aufgrund der vermehrten Verwendung von Pastinaken, die phototoxische Furocumarine enthalten können, in Haushalt und Industrieprodukten mit der toxikologischen Bewertung von Furocumarinen in Lebensmitteln beschäftigt und dabei Daten zu Exposition, Stoffwechsel, Kinetik, Toxizität, Kanzerogenität, Reproduktions- und Entwicklungstoxizität sowie dem Einfluss auf den Fremdstoffmetabolismus ausgewertet. Nach Prüfung der zur Verfügung stehenden Daten wurde das Thema am 23./24. September 2004 abschließend diskutiert und folgender Beschluß gefasst:

(gekürzte Version)

1 Einleitung

Furocumarine sind Verbindungen, bei denen ein Cumarin mit einem Furanring verbunden ist. Je nach Stellung des Furanrings lassen sich Furocumarine vom Psoralen- und vom Angelicin-Typ unterscheiden. [...]

Sie weisen in Kombination mit UVA-Strahlung phototoxische Eigenschaften auf und können dabei cytotoxische und mutagene Wirkungen auslösen (Ashwood-Smith et al., 1980; Berkley et al., 1986; Schlatter, 1988). Einige Verbindungen wie 5- und 8-Methoxypsoralen (5- und 8-MOP) werden in Kombination mit UVA-Strahlung in der sogenannten PUVA-Therapie (**P**soresalen + **U**VA) zur Behandlung von Hauterkrankungen wie Vitiligo (Pigmentdefekt) und Psoriasis (Schuppenflechte) eingesetzt (Schlatter, 1988).

Furocumarine kommen in einer Reihe von Früchten und Gemüsen natürlich vor und finden sich in kalt gepressten Ölen von Zitrusfrüchten. Durch Verwendung dieser Öle können sie in aromatisierte Lebensmittel und kosmetische Mittel gelangen.

In jüngerer Zeit werden die Knollen der furocumarin-haltigen Pastinake wegen ihres würzigen, süßlichen Geschmacks vermehrt zur häuslichen Zubereitung und in Fertigprodukten, insbesondere in Babynahrung verwendet. Dies hat die Senatskommission zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln (SKLM) der Deutschen Forschungsgemeinschaft zum Anlass genommen, Furocumarine hinsichtlich ihrer gesundheitlichen Unbedenklichkeit in Lebensmitteln zu bewerten. In dieser Stellungnahme beschäftigt sich die Senatskommission ausschließlich mit der oralen Aufnahme von Furocumarinen über Lebensmittel. [...]

2 Vorkommen und Gehalte

2.1 Früchte und Gemüse

Furocumarine sind natürliche Inhaltsstoffe einer Vielzahl von Pflanzenarten. Sie finden sich besonders häufig in Doldenblütlern (*Apiaceae*, *Umbelliferae*) wie *Ammi* (Knorpelmöhre), *Pimpinella* (Bibernelle), *Angelika* (Engelwurz) u. Bärenklau (*Heracleum*), in Schmetterlingsblütlern (*Fabaceae*) und Rautengewächsen (*Rutaceae*) (Ramaswamy, 1975; Wagstaff, 1991). Es handelt sich um sekundäre Pflanzenmetaboliten (Phytoalexine), die insbesondere als Reaktion der Pflanze auf Schädlingsbefall und andere Stressereignisse gebildet werden.

Auch Früchte und Gemüse, die als Lebensmittel verwendet werden, können Furocumarine enthalten, z.B. Sellerie (*Apium graveolens* L.), Pastinaken (*Pastinaca sativa*), Petersilie (*Petroselinum crispum*), Möhren (*Daucus carota* L.), Orangen (*Citrus sinensis* L.), Zitronen (*Citrus limon*) und Limetten (*Citrus aurantifolia*) (Wagstaff, 1991). Erhebliche Mengen an Furocumarinen können in vielen Zitrusölen vorkommen, die z.B. aus den Schalen der Bergamotte, Orange, Limette oder Grapefruit kalt gepresst wurden. [...]

Furocumarin-Gehalte in Früchten und Gemüsen können in Abhängigkeit von den Kultivierungs- und Lagerbedingungen erheblich variieren. Die höchsten Gehalte wiesen gelagerte, bereits mikrobiell infizierte Proben von Sellerie und Pastinake auf.

In frisch geernteten, nicht mikrobiell infizierten **Pastinaken** wurden Furocumariningehalte von unter 2,5 mg/kg Frischgewicht (Ostertag et al., 2002) bzw. ca. 3 mg/kg (Mongeau et al., 1994) gefunden. Die Lagerung solcher frisch geernteter Knollen über mehrere Wochen bei – 18°C hatte keinen Einfluß auf den Furocumarin-Gehalt. Jedoch führte bereits eine einwöchige Lagerung von ganzen Knollen bei +4°C zu einer Verzehnfachung des Gesamtgehaltes an Furocumarinen auf ca. 30 mg/kg (Ostertag et al., 2002).

In mikrobiell infizierten Pastinaken wurden Gehalte von 570 mg/kg (Ostertag et al., 2002) bzw. bis zu 2500 mg/kg gefunden (Ceska et al., 1986b). Durchschnittliche Gehalte in Pastinaken des Handels lagen zwischen 20 und 124 mg/kg (Ivie et al., 1981; Ceska et al., 1986b; Baumann et al., 1988; MAFF UK, 1993; Ostertag et al., 2002), wobei 8-MOP (Ivie et

al., 1981) bzw. 8-MOP und Angelicin als Hauptbestandteile identifiziert wurden (Baumann et al. 1988; Ostertag et al., 2002).

In frisch geernteten **Sellerieknollen** wurden Furocumarin-Gehalte zwischen 1,3 und 1,8 mg/kg gefunden (Beier et al., 1983; Chaudhary et al., 1985). Ware des Handels wies Furocumarin-Gehalte bis zu 25 mg/kg auf, wozu Isopimpinellin, 5- und 8-MOP in etwa zu gleichen Teilen beitrugen (Baumann et al., 1988). Gezielte mikrobielle Infektion und anschließende Lagerung über 29 Tage bei 4°C und einer relativen Luftfeuchte von ca. 75% führte zu einem starken Anstieg der Furocumarin-Gehalte von etwa 2 auf 44 mg/kg, wobei etwa die Hälfte des Gehaltes auf 8-MOP entfiel (Chaudhary et al., 1985).

Nur geringfügig belastet waren hingegen industriell hergestellte Produkte wie **Selleriesalat und -saft** mit Gehalten bis zu ca. 2 mg/kg (Baumann et al., 1988) oder andere verarbeitete Lebensmittel wie Suppen oder Pürree mit Gehalten von 0,04 bis 8 mg/kg (MAFF UK, 1993). Industriell hergestellte Fertig-Babynahrung aus dem Glas (Deutschland), die Pastinaken als alleinigen Gemüsebestandteil enthielt, wies hingegen in Einzelfällen Gehalte von bis zu 12,6 mg/kg auf. In Produkten mit Pastinaken als weitere Zutat in Mischung mit anderen Gemüsesorten waren Furocumarine nicht nachweisbar (Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Karlsruhe, 2004).

In **Zitrusfrüchten** ist der Hauptanteil an Furocumarinen in der Schale enthalten. Die Gehalte in **Limettenschalen** schwankten in Abhängigkeit von der Sorte zwischen 334 (westindische Sorte) und 502 mg/kg (persische Sorte). Hauptbestandteile waren 5-MOP und Limettin bei der persischen und Limettin bei der westindischen Sorte. Das Fruchtfleisch enthielt bei beiden Sorten mit 5-6 mg/kg wesentlich geringere Furocumarin-Konzentrationen, wobei Isopimpinellin den Hauptbeitrag lieferte (Nigg et al., 1993).

Das Fruchtfleisch von **Sevilla Orangen** enthielt ca. 13 mg/kg Furocumarine, Orangenmarmelade aus Sevilla Orangen ca. 2 mg/kg und Limettenmarmelade ca. 5 mg/kg (MAFF UK, 1993). In **Grapefruitsaft** wurden ca. 2-10 mg/kg 6',7'-Dihydroxybergamottin nachgewiesen (Tassaneeyakul et al., 2000).

2.2 Aromatisierte Lebensmittel

Aktuelle analytische Daten zu Furocumarin-Gehalten in aromatisierten Lebensmitteln sind bisher in der Literatur nicht vorhanden. Die höchsten Gehalte sind in Produkten zu vermuten, denen Limetten- oder Bergamottöl zugesetzt wurde. Dabei muss unterschieden werden zwischen destillierten und kalt gepressten Ölen.

Weltweit werden nach Angaben des Verbandes der Aromenindustrie ca. 1500 t Limettenöl pro Jahr hergestellt. Der größte Teil wird dabei durch Destillation gewonnen, wodurch nach Angaben der Hersteller Furocumarine abgetrennt werden können. Bei einer vergleichenden Untersuchung von kalt gepresstem und destilliertem Limettenöl konnten nur im kalt gepressten, nicht jedoch im destillierten Limettenöl Furocumarine nachgewiesen werden.

Destilliertes Limettenöl wird zur Aromatisierung von Getränken mit Cola-Geschmack verwendet. Die Produktion von kalt gepresstem Limettenöl wird auf weltweit 100 bis 150 t pro Jahr geschätzt. Es weist nach Industrieangaben einen Furocumarin-Gehalt von 3-6 % auf, was mit Literaturangaben übereinstimmt (Stanley und Vannier, 1967). Der Einsatz in Getränken liegt laut Herstellern bei etwa 50 ppm entsprechend einem Furocumarin-Gehalt von bis zu 3 mg/l. Genauere Angaben zur Verwendung in anderen Produkten sind derzeit nicht erhältlich.

[...]

3 Exposition

In Abhängigkeit von der Nahrungszusammenstellung kann die Furocumarin-Aufnahme erheblichen Schwankungen unterliegen. Eine **maximale Akutexposition** kann insbesondere durch den Verzehr von mikrobiell infizierten Sellerieknollen oder Pastinaken erfolgen. Bei einem Verzehr von 200 g derartiger Pastinaken können unter Zugrundelegung eines Furocumarin-Gehaltes von ca. 500 mg/kg Aufnahmemengen von 100 mg pro Person resultieren. Werden hingegen 200 g Pastinaken oder Sellerie des Handels mit durchschnittlichen Furocumarin-Gehalten von ca. 20-50 mg/kg (Tabelle 2, Anhang) verzehrt, liegen die geschätzten Aufnahmemengen bei ca. **4 bis 10 mg** pro Person.

Abschätzungen zur **durchschnittlichen täglichen Furocumarin-Aufnahme** mit der Nahrung liegen um ca. eine Größenordnung unterhalb dieses Wertes. In den USA wurde die durchschnittliche Aufnahme auf **1,3 mg pro Person** und Tag geschätzt (Wagstaff, 1991). Die Abschätzung wurde unter der Annahme vorgenommen, dass Zitrusfrüchte, Zitrusäfte und mit Zitrusölen aromatisierte Lebensmittel jeweils 0,25 % Zitrusöle enthalten. Hauptexpositionsquelle sind nach dieser Abschätzung Limetten, die einschließlich der mit Limettenöl aromatisierten Erfrischungsgetränke zu ca. 97 % der geschätzten täglichen Gesamt-Aufnahmemenge beitragen.

In Großbritannien wurde die tägliche Furocumarin-Aufnahme auf maximal 0,02 mg/kg KG, d.h. bei Zugrundelegung eines Körpergewichts von 60 kg auf **1,2 mg** pro Person geschätzt (COT, 1996).

Für Deutschland lässt sich auf der vorgestellten Datenbasis eine durchschnittliche tägliche Furocumarin-Aufnahme über Obst und Gemüse von **0,04 mg** pro Person abschätzen. Der Beitrag der aromatisierten Lebensmittel zur Gesamtexposition erscheint noch unklar. Unter der Annahme, dass in aromatisierten Lebensmitteln ausschließlich kalt gepresste Zitrusöle zum Einsatz kommen, liegt die abgeschätzte durchschnittliche Furocumarin-Aufnahmemenge über aromatisierte Lebensmittel bei ca. **1,41 mg** pro Person und Tag. Die abgeschätzte Gesamtexposition liegt somit bei ca. 1,45 mg pro Person und Tag. [...]

4 Kinetik und Metabolismus

Psoralene werden in Säugern zu einem Großteil in der Leber über Cytochrom P450 abhängige Monooxygenasen metabolisiert (Bickers und Pathak, 1984). Bei oraler Gabe werden sie im Gastrointestinaltrakt beinahe restlos resorbiert (Pathak et al., 1977). Bei Mäusen und beim Menschen wurde innerhalb von 12 h über 90 % der oral verabreichten Dosis an 8-MOP in Form von Metaboliten im Urin gefunden. Hauptwege der Biotransformation sind Epoxidierung, Hydroxylierung, Glucuronid-Konjugation und hydrolytische Öffnung des Lactonrings (Pathak et al., 1977; Schmid et al., 1980a; Bickers und Pathak, 1984). 5-MOP und 8-MOP binden an humane Serumproteine, vor allem an Albumin (Artuc et al., 1979). Ferner wurde für 5-MOP eine Bindung an Low Density Lipoproteine im Serum gefunden (Melo et al., 1984). Der Hauptweg der Ausscheidung verläuft über die Niere, 5-10 % werden über die Fäces ausgeschieden (Pathak et al., 1977).

Für **8-MOP** ist eine metabolische Aktivierung mit anschließender kovalenter Bindung der Metaboliten an mikrosomales Protein gezeigt worden (Sharp et al., 1984). Als Mechanismus der irreversiblen Bindungsknüpfung wird die Bildung eines Furanepoxids oder einer ungesättigten Dicarbonylverbindung vermutet, die mit Sulfhydryl- oder Aminogruppen von Proteinen reagieren können (Mays et al., 1989). Diese Reaktion wird von zwei oder mehr Cytochrom P450 Isoformen katalysiert (Mays et al., 1989) und führt möglicherweise über eine sog. „Suizid-Inaktivierung“ durch kovalente Bindung zur Hemmung von CYP 450-Isoenzymen (Labbe et al., 1989). Als weitere Metaboliten von 8-MOP wurden 5,8-Dihydroxypsoralen und seine Konjugate nachgewiesen (Mays et al., 1987).

An Meerschweinchen wurde für **8-MOP** nach oraler Gabe eine lineare Beziehung zwischen der Konzentration in der Epidermis und im Serum gefunden, für **5-MOP** hingegen eine nichtlineare Beziehung. Bei oraler Gabe äquivalenter Dosen an 5- und 8-MOP war die Konzentration an 5-MOP in Serum und Epidermis niedriger als an 8-MOP, vermutlich aufgrund von unterschiedlicher Resorption und Metabolisierung. Die beobachtete Phototoxizität korrelierte mit der Konzentration in der Epidermis (Kornhauser et al., 1984).

Bei Hunden wurde **8-MOP** nach i.v. Gabe rasch verteilt und ausgeschieden. Die pharmakokinetischen Parameter variierten erheblich zwischen einzelnen Individuen (Monbaliu et al., 1988).

An Makaken wurden nach Gabe von 0, 2, 6 und 18 mg **8-MOP**/kg KG (3 x wöchentlich) eine nicht-lineare Kinetik sowie ein sättigbarer First-Pass-Effekt festgestellt. In der niedrigsten Dosisgruppe (3 x 2 mg/kg KG und Woche) wurden nach 26 Testwochen verminderte Plasmaspiegel beobachtet. Sie waren vergleichbar mit denen beim Menschen nach Gabe von 0,4-0,6 mg/kg KG, d.h. therapeutischen Dosen an 8-MOP (Rozman et al., 1989).

Auch beim Menschen wurde ein sättigbarer First-Pass-Effekt beobachtet (Schmid et al., 1980b; Brickl et al., 1984).

An gesunden männlichen Freiwilligen wurde nach oraler Gabe von 40 mg **8-MOP** (Schmid et al., 1980 b) das Maximum der Plasmakonzentration (ca. 550 ng/ml) nach ca. 1 h erreicht. Nach 6 h wurden ca. 50 ng/ml gemessen. In einer anderen Studie lagen die Furocumarin-Plasmaspiegel 2 bis 4 h nach Verzehr von **300 g Sellerie** (28,2 µg Furocumarine/g) entsprechend einer Dosis von ca. 8,4 mg/Person unterhalb der Nachweisgrenze von 2 ng/ml. Es traten nach UVA Bestrahlung keine phototoxischen Hautreaktionen auf (Schlatter et al., 1991).

Die Daten zur oralen Resorption beim Menschen deuten darauf hin, dass Bioverfügbarkeit und Kinetik individuell stark variieren können und nicht vorhersehbar sind. Nach Gabe therapeutischer Dosen an 8-MOP wiesen sämtliche untersuchten Personen eine jeweils voneinander abweichende Kinetik auf (Herfst und De Wolff, 1982).

Die Pharmakokinetik von **8-MOP** nach i.v. Gabe ist charakterisiert durch eine schnelle Abnahme des Plasma- und Blutspiegels nach Beendigung der Infusion, durch ein großes Verteilungsvolumen und eine rasche Elimination (Billard et al., 1995).

5 Toxizität

5.1 Mechanismen

Furocumarine weisen in Verbindung mit UVA-Bestrahlung (320 – 380 nm) phototoxische Eigenschaften auf. Die ablaufenden photochemischen Reaktionen können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

Furocumarine können zwischen Basenpaare der DNA interkalieren und einen nicht-kovalenten Psoralen-DNA-Komplex bilden. UVA Bestrahlung führt sowohl bei angularen Furocumarinen wie Angelicin als auch bei linearen Furocumarinen wie Psoralen oder 8-MOP zur Bildung von kovalenten Photoaddukten aus diesen Komplexen. So können Cyclobutan-Monoaddukte mit Pyrimidinbasen (z.B. 5,6-Position des Thymins) unter Öffnung der 3,4- bzw. 4',5'-Doppelbindung des Psoralens (Tabelle 1, ANHANG) entstehen. Einige der 4',5'-Monoaddukte linearer Psoralene können unter UVA-Bestrahlung in einem weiteren Additionsschritt DNA-Quervernetzungen bilden. 4',5'-Monoaddukte angularer Verbindungen können hingegen aufgrund der angularen Struktur keine weiteren Photoreaktionen eingehen und verursachen aus diesem Grund vermutlich keine DNA-Quervernetzungen (Musajo and Rodighiero, 1972; Dall'Acqua, 1977; Grossweiner, 1984; Dall'Acqua et al. 1984).

Des weiteren kann es durch UVA Bestrahlung zur Generierung von Singulett Sauerstoff aus den freien bzw. komplexierten Furocumarinen sowie aus den 4',5'- Monoaddukten kommen (Joshi und Pathak, 1983; Grossweiner, 1984). Mögliche direkte Angriffspunkte des Singulett Sauerstoffs sind Membranlipide und Enzyme. Bei der Reaktion von Singulett Sauerstoff mit den Ausgangsverbindungen, z.B. 8-MOP, entstehen langlebige reaktive Produkte, die kovalent an Proteine und DNA binden und die Lipidperoxidation starten können

(Grossweiner, 1984; Midden, 1988). Beobachtet wurden ferner eine Schädigung der Lysosomen (Fredericksen et al., 1989) sowie die Bildung neuer Antigene durch kovalente Modifikation von Proteinen (Gasparro et al., 1990).

5.2 Toxizität am Tier

5.2.1. Akute Toxizität

Zur akuten Toxizität der Furocumarine ohne Einwirkung von UV-Licht liegen divergierende Daten vor. Für **8-MOP** wurden an Nagern (Maus, Ratte) LD₅₀-Werte von 200 – 4000 mg/ kg KG in Abhängigkeit von der Formulierung und Art der Gabe (Apostolou et al., 1979; Herold et al., 1981) und beim Meerschweinchen von 505 mg/kg KG nach oraler Gabe gefunden (Herold et al., 1981). Für **5-MOP** wurden orale LD₅₀-Werte bei Mäusen mit 8100 mg/kg KG, bei Ratten mit > 30 000 mg/kg KG und bei Hartley-Meerschweinchen mit 9000 mg/kg KG ermittelt (Herold et al., 1981). **Imperatorin** zeigte in männlichen Mäusen eine LD₅₀ (i.p.) von 373 mg/kg KG (Booer et al., 1970). **Angelicin**, isoliert aus *Selinum vaginatum*, einer im Himalaya vorkommenden Pflanze aus der Familie der Doldenblütler, zeigte in Ratten, Mäusen und Kaninchen bei oraler oder i.p. Gabe sedierende, antikonvulsive und muskelrelaxierende Wirkungen. An Ratten lag die LD₅₀ bei 321 mg/kg (oral) bzw. 165 mg/kg (i.p.) (Chandhoke und Ghatak, 1975).

Nach oraler Gabe von 100 bzw. 400 mg **5-MOP**/kg KG über 8 Tage an Hunde wurden u.a. Anzeichen von Verhaltensstörungen, bullöse Dermatitis, beidseitige Keratitis sowie verminderte Nahrungsaufnahme festgestellt (Herold et al., 1981¹).

5.2.2 Subchronische Toxizität

Dosen von täglich jeweils 0, 25, 50, 100, 200 und 400 mg **8-MOP**/ kg KG wurden unter Ausschluß von UV-Licht an 10 männliche und 10 weibliche Fischer 344 Ratten appliziert (orale Gabe, Schlundsonde, über 90 Tage, 5 x pro Woche). In allen Dosisgruppen wurde eine dosisabhängige und signifikante Erhöhung der Lebergewichte im Verhältnis zum Körpergewicht beobachtet. Dosen von 200 und 400 mg/kg KG führten zu einer erhöhten Sterblichkeitsrate, vermindertem Körpergewicht, einer Lipidanreicherung der Leber und der Nebennieren sowie zu einer Atrophie der Prostata, Samenbläschen und Tubuli semeniferi des Hodens (Dunnik et al., 1984; NTP, 1989).

Neben diesen Daten liegen zur subchronischen Toxizität weitere Studien von Herold et al., 1981, vor, die als inadäquat angesehen werden.

¹ IARC, 1986, vermerkt inadäquaten Datenreport

Nach oraler Gabe von 60 mg **5-MOP**/kg KG über 28 Tage an Hunde (Beagle) wurden verminderte Nahrungsaufnahme und Gewichtsreduktion sowie das Auftreten von Polycythämie und erhöhten Bilirubinspiegeln im Blut, 24 h nach der letzten Dosis, festgestellt (Herold et al., 1981¹).

Nach 13-wöchiger oraler Gabe von 3, 12 und 48 mg **5-MOP**/kg KG (7 x pro Woche) bzw. 26-wöchiger oraler Gabe von 12 und 48 mg **5-MOP**/kg KG (4 x pro Woche) an Hunde wurden bei beiden Versuchsansätzen erhöhte Lebergewichte, Störungen der biliären Funktion sowie Lebernekrosen und – entzündungen gefunden (Herold et al., 1981¹).

Bei Wistar AF Ratten, die über ein Jahr Dosen von 70, 280 und 560 mg/kg KG **5-MOP** oral erhalten hatten, zeigten sich bei der höchsten Dosis geringfügige Veränderungen wie erhöhte Wasseraufnahme, verminderte Gewichtszunahme, reduzierte Blutharnstoffspiegel und erhöhte Lebergewichte (Herold et al., 1981¹). Schilddrüsenunterfunktion trat frühzeitig auf und blieb bestehen. Bei fast einem Drittel der männlichen Tiere traten epidermoide Zysten der Schilddrüse in allen Dosisgruppen auf (Anzahl der Kontrolltiere nicht angegeben). Bei weiblichen Tieren zeigte sich dosisabhängig eine Bindegewebs-Proliferation im Bereich der Nebennieren.

Eine Studie an männlichen und weiblichen Makaken mit oraler Gabe von 0, 2, 6 oder 18 mg/kg KG **8-MOP** (3 x wöchentlich über 26 Wochen) führte zu gastrointestinaler Toxizität gekennzeichnet durch dosisabhängiges Erbrechen ab 3 x 6 mg/kg KG/Woche (Rozman et al., 1989).

5.2.3 Kanzerogenität

In Untersuchungen zur kanzerogenen Wirkung an verschiedenen Mäusestämmen wurden **5-MOP**, **8-MOP** und **Psoralen** topisch zusammen mit UVA oder einer das Sonnenlicht simulierenden Bestrahlung auf die Haut appliziert. Es traten Papillome und Plattenepithel-Karzinome auf (Zajdela & Bisagni, 1981; Cartwright und Walter, 1983; Young et al., 1983).

In einer Kanzerogenitätsstudie an Ratten wurde in Abwesenheit von UVA-Licht nach oraler Gabe von 0, 37.5 oder 75 mg/kg **8-MOP** an 5 Tagen der Woche über 103 Wochen eine kanzerogene Wirkung bei männlichen Tieren festgestellt. Die Inzidenzen für tubuläre Zellhyperplasie, Adenome und Adenokarzinome der Niere und für Karzinome der Zymbaldrüse waren in Abhängigkeit von der Dosis erhöht. Bei weiblichen Tieren zeigte sich hingegen auch bei der höchsten Dosis keine Evidenz für eine kanzerogene Aktivität (NTP, 1989).

5.2.4 Reproduktions- und Entwicklungstoxizität

Eine Studie, in der Gruppen von 26 trächtigen Sprague- Dawley Ratten oral mit 0, 70 oder 560 mg/kg KG **5-MOP** an den Tagen 6-15 der Tragzeit behandelt wurden, stellte bei 560 mg/kg KG zwar maternale Toxizität (vermindertes Körpergewicht), aber keine signifikante Zunahme an Anomalien bei den überlebenden Nachkommen fest. Die Anzahl an Einnistungen in die Gebärmutter und die Fötal- bzw. Plazentagewichte waren reduziert (Herold et al., 1981).

Gruppen von 15 trächtigen Kaninchen erhielten oral 0, 70 oder 560 mg/kg KG **5-MOP** an den Tagen 7-18 der Tragzeit. Bei 560 mg/kg KG trat maternale Toxizität (vermindertes Körpergewicht) auf (Herold et al., 1981). Der Befund einer dosisabhängigen Zunahme an Anomalien wurde von der IARC (1986) als nicht adäquat eingestuft, da wesentliche Angaben über Art und Umfang der Anomalien fehlen.

Eine dosisabhängige Verminderung der Geburtenrate an weiblichen Ratten sowie eine verminderte Gewichtszunahme an weiblichen und männlichen Ratten zeigte sich in Anwesenheit von UVA-Licht nach Gabe von 0, 250, 1250 und 2500 ppm **5-MOP** bzw. **8-MOP** über das Futter von Tag 21 bis zur Geburt (weibliche Tiere) bzw. Tag 21 bis 61 (männliche Tiere). Das Geburtsgewicht der Nachkommen und der Zeitpunkt der Geburt waren unverändert (Diawara et al., 1997 a und b). Bei weiblichen Ratten führten 1250 und 2500 ppm **5-MOP** bzw. **8-MOP** (entsprechend einer Dosis von 100 und 200 mg/kg KG) bei Gabe über das Futter von Tag 21 über ca. 39-49 Tage bis zur erwarteten Niederkunft zu einer Abnahme der Nachkommenzahl. Ferner kam es zu einer Abnahme der Uterusgewichte und des Estradiols im Serum. Während der Behandlung wurden die Tiere täglich für 45 min mit UVA Licht bestrahlt (Diawara et al., 1999).

Bei männlichen Ratten hatte 79-tägige orale Gabe von **5-MOP** bzw. **8-MOP** (0, 75 und 150 mg/kg KG) ohne UVA-Bestrahlung eine Abnahme der Hypophysengewichte und der Spermienzahl sowie eine Zunahme der relativen Hodengewichte und des Serum-Testosterons zur Folge. Beim Verpaaren der Tiere war die Häufigkeit von Trächtigkeiten vermindert (Diawara et al., 2001).

5.3 Genotoxizität/Mutagenität

Furocumarine sind ohne UV-Lichteinwirkung nur schwach mutagen, in Verbindung mit UVA-Strahlung zeigen 5- und 8-MOP in verschiedenen Testsystemen jedoch genotoxische und mutagene Eigenschaften (Zusammenfassung bei IARC, 1980 und IARC, 1986).

In *in vitro* Assays **mit isolierter DNA** bilden **5-MOP** und **8-MOP** im Dunkeln nichtkovalente Komplexe (Dall'Acqua et al., 1978, 1979; Isaacs et al., 1984) und binden kovalent unter Lichteinfluss (Musajo et al., 1966; Musajo & Rodighiero, 1972; Rodighiero et al., 1970). Unter

Photoinduktion kommt es zum Auftreten von „Interstrand Cross Links“ (Dall’Acqua et al., 1979).

In Mikroorganismen ist **8-MOP** in Abwesenheit von UV-Licht und ohne Zusatz von S9-Mix ein schwaches Frameshift-Mutagen (Clarke und Wade, 1975; Bridges und Mottershead, 1977; Ashwood-Smith, 1978) und zeigt in Anwesenheit von S9-Mix mutagene Eigenschaften (NTP, 1989). **5-MOP** zeigt ebenfalls mutagene Eigenschaften im Dunkeln (Ashwood-Smith et al., 1980). Für **Heraclenin** und **Imperatorin** wird in einigen Testsystemen über mutagene Wirkungen in der Dunkelheit berichtet (Ivie et al., 1980), andere zeigen hingegen keine Mutagenität (Schimmer und Abel, 1986). Unter Lichteinfluß binden 5-MOP und 8-MOP kovalent an DNA in Bakterien und Hefen (Averbeck, 1985) und wirken gentoxisch/mutagen (Ashwood-Smith et al., 1980; Pool und Deutsch-Wenzel, 1979; Pool et al., 1982). Ebenfalls gentoxisch/mutagen wirken Heraclenin und Imperatorin (Schimmer und Abel, 1986).

In Säugerzellen induziert **8-MOP** in Abwesenheit von UV-Licht Mutationen (Bridges et al., 1978) sowie Schwesterchromatid-Austausch und Chromosomenaberrationen (NTP, 1989), **Heraclenin** führt zu Chromosomenschäden (Abel und Schimmer, 1986). Heraclenin und Imperatorin zeigen im Dunkeln klastogenes Potential (Abel und Schimmer, 1986). Unter Lichteinfluss binden **5-MOP** und **8-MOP** kovalent an DNA (Papadopoulos und Averbeck, 1985) und verursachen Mutationen (Loveday und Donahue, 1984), „Interstrand Cross Links“ (Papadopoulos und Averbeck, 1985) sowie Schwesterchromatid-Austausch (SCEs) (Loveday und Donahue, 1984; Natarajan et al., 1981; Abel und Mannschedel, 1985; Abel et al., 1985).

In vitro in Kombination mit UVA-Bestrahlung induzierte **Isopimpinellin** keine SCEs in humanen Lymphocyten, zeigte aber schwach klastogenes Potential, ähnlich dem 8-MOP. Allerdings führte die Inkubation mit Isopimpinellin im Unterschied zur Inkubation mit 8-MOP/5-MOP zum Auftreten von atypischen Chromosomen (Abel et al., 1985).

In vivo induzierte die orale Gabe von 8-MOP (300 und 600 mg/kg) Mikronuklei in peripheren Erythrocyten bei der Maus (Stivala et al., 1995).

5.4 Toxizität beim Menschen

Über akute phototoxische Wirkungen beim Menschen nach oraler Furocumarin-Aufnahme in Verbindung mit Sonnenlicht bzw. UVA-Strahlung wird mehrfach berichtet.

In einer Studie an Freiwilligen führte z.B. die orale Aufnahme von 50 mg **8-MOP** zu Erythemen und Ödemen nach Exposition mit Sonnenlicht (Fitzpatrick und Pathak, 1984).

Nach Verzehr von ca. 450 g Sellerie in Kombination mit ca. halbstündiger UVA-Bestrahlung in einem Sonnenstudio wurden schwere Hautverbrennungen (Erythem, Ödeme und Blasen) beobachtet. Die aufgenommene Psoralenmenge wurde auf 45 mg geschätzt (Ljunggren, 1990).

Als Schwellendosis (oral) für das Auftreten von Erythemen beim Menschen (in Verbindung mit Sonnenlicht) wurden 14 mg (ca. 0,23 mg/kg KG bei 60 kg KG) **8-MOP** angegeben (Brickl et al., 1984). Auf der Basis von Expositionsuntersuchungen wurde für den Erwachsenen ein Schwellenwert der phototoxischen Wirkung (in Kombination mit UVA) im Bereich von **10 mg 8-MOP + 10 mg 5-MOP** oder **15 mg 8-MOP-Äquivalenten** (0,25 mg/kg KG bei 60 kg KG) abgeschätzt (Schlatter et al., 1991).

Die meisten Informationen zur Toxizität von Psoralenen beim Menschen liegen aus Studien an Psoriasis-Patienten bzw. Patienten mit anderen Hauterkrankungen wie Vitiligo vor. Die therapeutische Dosis bei der Behandlung der Psoriasis liegt im Bereich von **500 - 600 µg 8-MOP/kg KG** bzw. **1 200 µg 5-MOP/kg KG** oral in Kombination mit UVA (0,5 - 7 J/cm², Wellenlängenbereich 315-400 nm, Maximum bei 355 nm). Ein Aufenthalt von 5-30 Minuten im Freien zwischen 10 und 14 Uhr genügt vermutlich auch im Winter, um an unbedeckten Hautstellen die bei der PUVA-Therapie übliche UVA-Dosis zu erreichen (Schlatter, 1988).

In der prospektiven PUVA Follow Up Studie an 1380 oral behandelten Psoriasis Patienten war die orale Exposition mit therapeutischen Dosen an **Psoralen + UVA** (PUVA) assoziiert mit einem dosisabhängigen Anstieg des Risikos für Plattenepithel-Karzinome (Stern et al. 1998), Basalzellen-Karzinome (Stern et al., 1998; Katz et al., 2002) und Melanome (Stern et al., 2001). Unter den 892 Männern der Studie war zudem ein dosisabhängiger Anstieg an Genitaltumoren zu verzeichnen (Stern et al., 2002).

5.5 Einfluss auf den Fremdstoffmetabolismus

6',7'-Dihydroxybergamottin und daraus abgeleitete Furocumarin-Dimere, die z.B. in Grapefruitsaft gefunden werden, sind hochpotente Inhibitoren von Cytochrom P450 (CYP) 3A und anderen CYP Isoenzymen, die für den Metabolismus vieler Arzneimittel eine zentrale Rolle spielen (Tassaneeyakul et al., 2000; Übersicht bei Evans, 2000). Imperatorin und Isopimpinellin erwiesen sich z.B. als Inhibitoren von CYP 2B, während Bergamottin und Coriandrin die Aktivität von CYP 1A1 und 1A2 in der Leber hemmten. Bergamottin inhibierte darüber hinaus die Enzymaktivität von CYP 3A (Wen et al., 2002). Genuß von Grapefruitsaft in üblichen Mengen kann deshalb für einige Arzneimittel eine Zunahme der Bioverfügbarkeit bzw. der maximalen Plasmakonzentration oder der Eliminations-Halbwertszeit zur Folge haben (Zusammenfassung bei Bailey et al., 1998). Des Weiteren könnte auch eine CYP-abhängige Aktivierung von Arzneimitteln aus der Prodrug in die wirksame Form gehemmt werden.

An Mäusen hatte die Vorbehandlung mit Preßsaft aus Sellerie bzw. Petersilie eine Verlängerung der Pentobarbital-Schlafzeit zur Folge (Jakovljevic et al., 2002).

6 Bewertung

Eine Dosis ohne Wirkung für die wiederholte Aufnahme von Furocumarinen läßt sich nicht angeben. In subchronischen Studien waren bei Hunden 48 mg 5-MOP/kg KG/Tag noch lebertoxisch. Bei Affen führten 6 mg 8-MOP/kg KG/Tag noch zu gastrointestinaler Toxizität (Erbrechen). Sowohl 5-MOP als auch 8-MOP sind genotoxisch. 8-MOP wirkte in einem 2-Jahres-Versuch mit Ratten in der niedrigsten geprüften Dosis von 37,5 mg/kg KG/Tag noch nierentoxisch und carcinogen.

Die niedrigste Furocumarin-Dosis, die im Zusammenwirken mit UVA erkennbare phototoxische Effekte beim Menschen zeigte, liegt nach Brickl et al. (1984) bei Erwachsenen im Bereich von 14 mg 8-MOP, d.h. bei etwa 0,23 mg/kg KG bei 60 kg KG, oder nach Schlatter et al. (1991) bei 10 mg 8-MOP + 10 mg 5-MOP oder 15 mg 8-MOP-Äquivalenten (0,25 mg/kg KG bei 60 kg KG).

Die tägliche Furocumarin-Aufnahme über Lebensmittel wurde auf durchschnittlich 1,3 mg (USA) bzw. maximal 1,2 mg (Großbritannien) pro Person, entsprechend 0,020 - 0,023 mg/kg KG geschätzt (Wagstaff, 1991; COT, 1996). Eine erste Abschätzung für Deutschland kommt unter der Annahme, dass ausschließlich destillierte Zitrusöle bei der Aromatisierung von Lebensmitteln verwendet werden, auf eine deutlich geringere durchschnittliche tägliche Aufnahmemenge von etwa 0,04 mg pro Person. Wird dagegen eine ausschließliche Verwendung von kalt gepressten Zitrusölen in aromatisierten Lebensmitteln zugrunde gelegt, ergibt sich eine durchschnittliche tägliche Aufnahmemenge von etwa 1,45 mg pro Person, was im Bereich des für die USA abgeschätzten Wertes liegt.

Diese aus dem durchschnittlichen Verzehr Furocumarin-haltiger Lebensmittel errechneten Aufnahmemengen liegen etwa zwei bis drei Größenordnungen unter den niedrigsten bei subchronischer und chronischer Verabreichung im Tierversuch als toxisch beschriebenen Dosierungen. Geringer ist ihr Abstand zur therapeutischen Dosis von 0,5 - 0,6 mg 8-MOP/kg KG (Faktor 30) und zur niedrigsten phototoxischen Dosis von 0,23 mg/kg KG (Faktor 10).

Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt eine Abschätzung, die nicht von durchschnittlichen Aufnahmemengen aus allen in Frage kommenden Lebensmitteln ausgeht, sondern von der Annahme eines Verzehrs von 200 g Sellerie oder Pastinaken mit den höchsten in Proben aus dem Handel angetroffenen Furocumarin-Gehalten von 25 mg/kg (Sellerie) bzw. 50 mg/kg (Pastinake). Auch die in diesem Fall aufgenommenen Mengen an Furocumarinen liegen mit 5 bzw. 10 mg, wenn auch nicht so deutlich, unter der von Erwachsenen bekannten niedrigsten phototoxischen Dosis von 14 mg (8-MOP) bzw. 20 mg (8-MOP + 5-MOP). Es ist anzunehmen, dass bei Aufnahme von Furocumarin-haltigen Lebensmitteln aufgrund von Matrixeffekten die Bioverfügbarkeit geringer ist als nach Aufnahme von reinen Furocumarinen in isolierter Form. Letztere wurden bei den Untersuchungen zur Ableitung der phototoxischen Dosis verabreicht. Bei Kindern ist die phototoxische Dosis nicht bekannt.

Eine gesonderte Betrachtung erfordert die Situation bei Kleinkindern. In jüngerer Zeit werden z.B. die Knollen der Pastinake sowie Sellerie und Petersilienwurzeln vermehrt als Gemüse in Babynahrung, sowohl zur häuslichen Zubereitung als auch in industriell hergestellten Fertigprodukten, verwendet. Orientierende Untersuchungen von Babyfertignahrung ("Gläschennahrung") des deutschen Marktes mit Pastinaken als alleinigem Gemüsebestandteil zeigten in Einzelfällen Gehalte bis zu ca. 13 mg/kg Furocumarine (Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Karlsruhe, 2004). Beim Verzehr von 200 g eines solchen Fertigbreis mit dem höchsten gefundenen Gehalt würden demnach ca. 2,5 mg Furocumarine aufgenommen. Bei einem Körpergewicht von 7 kg entspricht dies einer Dosis von etwa 0,36 mg/kg KG, was die niedrigste von Erwachsenen bekannte phototoxische Dosis überschreiten würde.

Bei der häuslichen Zubereitung von Babynahrung ist nicht damit zu rechnen, dass die Aufnahme von Furocumarinen phototoxische Dosen erreicht, wenn erntefrische oder tiefgekühlte Pastinaken verwendet werden. Bei Verwendung unsachgemäß gelagerter Pastinaken ist dies hingegen nicht auszuschließen. Eine Mahlzeit mit etwa 100 g Pastinaken hohen Furocumariningehaltes (50 mg/kg) würde z.B. zur Aufnahme von 5 mg Furocumarinen führen, was einer Dosis von ca. 0,71 mg/kg KG bei einem 7 kg schweren Kind entspräche.

Sorgfalt bei Lagerung und Verarbeitung im Haushalt und Vermeidung des Verzehrs lange gelagerter, eventuell sogar Schimmel-befallener Sellerieknollen und Pastinaken ist besonders angebracht. Beispielsweise führte die Lagerung bei Raumtemperatur nach 53 Tagen mit beginnender Verschimmelung zum Anstieg des Furocumariningehaltes in Pastinaken auf etwa 500 mg/kg (Ostertag et al., 2002).

Zur Abschätzung des Risikos einer carcinogenen Wirkung von Furocumarinen nach Exposition über die Nahrung ist die Datenlage nicht ausreichend. Erkenntnisse über eine Zunahme bestimmter Hautkrebsarten nach PUVA-Therapie lassen allerdings vermuten, daß eine überhöhte Zufuhr von Furocumarinen mit der Nahrung in Kombination mit UVA-Strahlung zu einer Zunahme des Hautkrebsrisikos führen könnte. Ein Anhaltspunkt ergibt sich aus der Epidemiologie der PUVA Behandlung. Nach oraler Langzeitbehandlung im Bereich deutlich phototoxischer Dosen in Kombination mit therapeutischer UVA Bestrahlung war ein Dosis-abhängiger Anstieg an Hauttumoren erkennbar. Bei üblichem Verzehr furocumarinhaltiger Lebensmittel, der deutlich unterhalb des Bereiches phototoxischer Dosen bleibt, wird das zusätzliche Hautkrebsrisiko hingegen als vernachlässigbar gering angesehen.

Furocumarine können auch fremdstoffmetabolisierende Enzyme beeinflussen, die im Arzneimittel-Metabolismus eine Rolle spielen, mit entsprechenden Konsequenzen für die Wirksamkeit der Arzneimittel. So kann die Furocumarinaufnahme, z.B. über Grapefruitsaft zu einer Steigerung der Bioverfügbarkeit eines Arzneimittels führen. Entsprechende Warnhinweise sollten daher in Patienteninformationen zu finden sein.

Zusammenfassend kommt die SKLM zu der Schlussfolgerung, dass bei normalem Verzehr von adäquat gelagerten, verarbeiteten pflanzlichen potentiell

furocumarinhaltigen Lebensmitteln kein Risiko des Auftretens phototoxischer Wirkungen erkennbar ist. Besonders für Sellerie und Pastinaken besteht jedoch das Risiko, dass je nach Lagerungs-, Behandlungs- und Herstellungsbedingungen die Gehalte an Furocumarinen stark ansteigen. Für diese Lebensmittel kann in solchen Fällen die Aufnahme phototoxischer Mengen nicht ausgeschlossen werden. Die Datenlage zur Abschätzung des Risikos aus mit Zitrusölen aromatisierten Lebensmitteln ist derzeit noch ungenügend. Eine endgültige Abschätzung des Risikos einer krebserzeugenden Wirkung ist angesichts der Komplexität der Einflussfaktoren, insbesondere der Expositionshöhe, des Metabolismus und dessen Beeinflussung sowie des Einflusses von Licht derzeit nicht möglich. Bei üblichem Verzehr furocumarinhaltiger Lebensmittel, der deutlich unterhalb des Bereiches phototoxischer Dosen bleibt, wird das zusätzliche Hautkrebsrisiko als vernachlässigbar gering angesehen. Der hohe Verzehr unsachgemäß gelagerter Knollen sowie extreme Aufnahmemengen sollten insbesondere bei Kindern vermieden werden.

7 Forschungsbedarf

Forschungsbedarf besteht in Bezug auf Faktoren, die für eine verstärkte Furocumarinbildung in der Rohware verantwortlich sind. Insbesondere der Einfluss der Lager- und Herstellungsbedingungen auf die Furocumarinegehalte ist zu untersuchen. Möglichkeiten der Prävention durch lebensmitteltechnologische, pflanzenbauliche und pflanzenzüchterische Maßnahmen zur Minimierung der Furocumarinegehalte, insbesondere in Babynahrung, sollten nachdrücklich geprüft bzw. gefördert werden.

In Bezug auf die toxikologische Bedeutung der Furocumarine bei Aufnahme über die Nahrung ist die Klärung von Resorption, Metabolismus und Ausscheidung vordringlich. Wirkmechanismen und Dosis-Wirkungsbeziehungen toxischer/gentoxischer Effekte sind unter Berücksichtigung individueller Einflussfaktoren aufzuklären. Schließlich ist auch ein mögliches Zusammenwirken verschiedener Furocumarine, wie sie in Lebensmitteln vorkommen können, d.h. die Prüfung auf Kombinationswirkungen zu untersuchen. Auch die Beeinflussung des Metabolismus von Arzneimitteln und anderen Fremdstoffen durch Verzehr von Furocumarin-haltigen Lebensmitteln ist zu prüfen.

Weiterhin fehlen aktuelle analytische Daten zu Vorkommen und Gehalt der Furocumarine in Zitrusölen, vor allem in Limettenöl und daraus hergestellten Lebensmitteln.

8 Literatur

[...]

ANHANG

[...]

Der Beschluss kann über das wissenschaftliche Sekretariat im Original-Wortlaut bezogen werden.

Scientific Office
DFG-Senatskommission
zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln
SKLM
Universität Kaiserslautern
Erwin-Schrödinger-Straße 52
D-67663 Kaiserslautern

sklm@rhrk.uni-kl.de