

Daria Pingot

Kacper Pyrzanowski

Jaromir Michałowicz

Bożena Bukowska

TOKSYCZNOŚĆ AKRYLAMIDU I JEGO METABOLITU – GLICYDAMIDU

TOXICITY OF ACRYLAMIDE AND ITS METABOLITE – GLICYDAMIDE

Uniwersytet Łódzki / University of Łódź, Łódź, Poland

Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska / Department of Environmental Pollution Biophysics, Faculty of Biology and Environmental Protection

STRESZCZENIE

Akrylamid jest syntetycznym związkiem chemicznym powszechnie używanym w wielu gałęziach przemysłu. Stosowany jest głównie w produkcji i syntezie poliakrylamidów, które mają bardzo szerokie zastosowanie w produkcji tworzyw sztucznych, farb, lakierów, klejów i zapraw murarskich. Poliakrylamidy używane są również w przemyśle celulozowo-papierniczym i kosmetycznym, m.in. w produkcji przyborów toaletowych i składników kosmetyków. Zainteresowanie akrylamidem wzrosło w 2002 r. po doniesieniu szwedzkich naukowców dotyczącym powstawania tej substancji podczas smażenia i pieczenia niektórych produktów spożywczych. Badania dotyczące toksyczności akrylamidu, a także jego metabolitu – glicydamidu – wskazują na neurotoksyczną, genotoksyczną i kancerogenną aktywność tych substancji. Dotąd bezspornie udowodniono jedynie neurotoksyczne działanie akrylamidu na organizm człowieka. Genotoksyczna aktywność akrylamidu przejawia się głównie po jego metabolicznym przekształceniu do pochodnej epoksydowej glicydamidu. Kancerogenne działanie akrylamidu zostało wykazane jednoznacznie tylko w badaniach na zwierzętach. Badania epidemiologiczne nie dostarczają niepodważalnych dowodów, że akrylamid spożywany wraz z dietą może inicjować powstawanie nowotworów u ludzi. Ocena narażenia na akrylamid dokonywana jest przez pomiary stężenia adduktów tej substancji w ustroju, czyli specyficznych związków powstałych w wyniku połączenia akrylamidu z hemoglobina lub DNA. Med. Pr. 2013;64(2):259–271

Słowa kluczowe: akrylamid, glicydamid, addukty, badania epidemiologiczne, nowotwory

ABSTRACT

Acrylamide is a synthetic chemical compound commonly used in many branches of industry. It is mainly used in the synthesis of polyacrylamides, which are widely employed in plastics, paints, varnishes, adhesives and mortars production. Acrylamide is also applied in the cellulose-paper and cosmetic industries to produce toiletries and cosmetics. The interest in acrylamide increased in 2002, when Swedish scientists showed that a considerable amount of this substance is formed during frying and baking of various foods. Studies concerning toxicity of acrylamide and its metabolite – glycidamide showed their neurotoxic, genotoxic and carcinogenic effects. Nevertheless, in humans only neurotoxic effect of acrylamide has been clearly evidenced. Genotoxic nature of acrylamide manifests itself mainly in its metabolic conversion to the epoxide derivative glycidamide. Carcinogenic effects of acrylamide have been shown in animal studies. Epidemiological studies have not provided explicit evidence that acrylamide supplied with the diet can initiate the formation of tumors in humans. Acrylamide exposure is assessed by measuring specific compounds (adducts) formed during the reaction of acrylamide with hemoglobin and DNA. Med Pr 2013;64(2):259–271

Key words: acrylamide, glycidamide, adducts, epidemiologic studies, neoplasms

Adres 4. autorki: Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź, e-mail: bukow@biol.uni.lodz.pl
Nadesłano: 8 listopada 2012, zatwierdzono: 13 marca 2013

OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA AKRYLAMIDU

Akrylamid, znany również jako 2-propenamid lub amid kwasu akrylowego, według Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej (International Union of Pure and Applied Chemistry – IUPAC) jest związkiem organicznym o wzorze sumarycznym C_3H_5NO (1).

W 1994 roku na podstawie badań przeprowadzonych na myszach i szczurach akrylamid został sklasyfikowany przez Międzynarodową Agencję do Badań nad Rakiem (International Agency for Research on Cancer – IARC) jako związek prawdopodobnie rakotwórczy dla ludzi (2). Według systemu klasyfikacji Unii Europejskiej akrylamid występuje w drugiej kategorii jako

prawdopodobnie rakotwórczy i mutageny oraz w trzeciej kategorii, jako substancja, która może powodować niepłodność (3).

Na początku 2002 r. przedstawiciele Szwedzkiej Państwowej Agencji ds. Żywności (Swedish National Food Agency – SNFA) i pracownicy naukowcy Uniwersytetu Sztokholmskiego (Stockholm University) wspólnie ogłosili, że akrylamid w znacznych stężeniach powstaje podczas obróbki cieplnej pokarmów bogatych w węglowodany (4). Początkowo uważano, że jego źródłem w żywności jest poliakrylamid dodawany do nawozów sztucznych w celu stabilizacji gleb. Nie przypuszczano natomiast, że jego występowanie w produktach żywnościowych wiąże się z obróbką termiczną tych produktów (5,6).

ZASTOSOWANIE AKRYLAMIDU I POLIAKRYLAMIDÓW – ŹRÓDŁA NARAŻENIA

Akrylamid jest znany, produkowany i stosowany od ponad 50 lat przede wszystkim w krajach Europy Zachodniej, w USA i Japonii. Jego głównym przeznaczeniem jest produkcja i synteza poliakrylamidów, które mają bardzo szerokie zastosowanie w wielu różnych gałęziach przemysłu. Poliakrylamidy są wykorzystywane do produkcji tworzyw sztucznych, farb, lakierów, klejów i zapraw murarskich (5). Znalazły również zastosowanie w przemyśle celulozowo-papierniczym i kosmetycznym, m.in. w produkcji przyborów toaletowych oraz jako składniki kosmetyków (2).

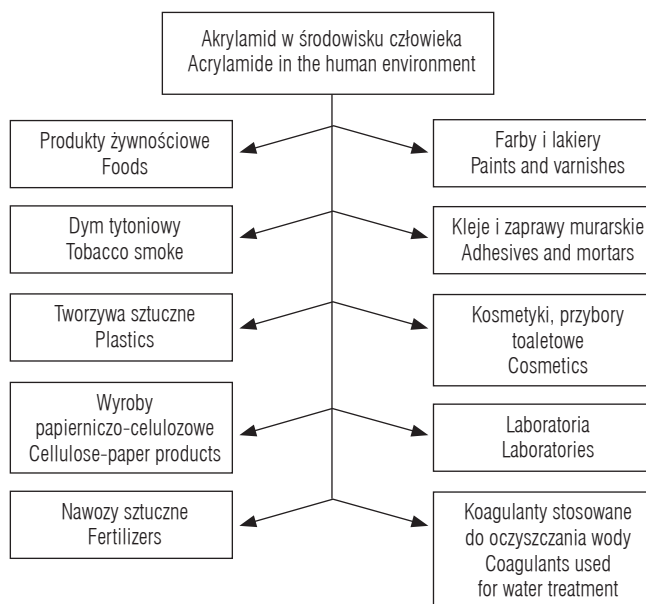
Polimery akrylamidu dodawane są także do nawozów sztucznych w celu hamowania procesu erozji gleby. Zabiegi takie są całkowicie bezpieczne dla ludzi i środowiska naturalnego, ponieważ związki te – ze względu na dużą ruchliwość poliakrylamidów w glebie – ulegają całkowitej biodegradacji i nie wywołują negatywnych skutków (7).

Poliakrylamid stosowany jest także w technologii oczyszczania ścieków i uzdatniania wody pitnej jako flokulant i koagulant – ułatwia i przyspiesza eliminację zanieczyszczeń, a tym samym korzystnie wpływa na fizykochemiczne właściwości oczyszczonej wody (2).

W laboratoriach na całym świecie analogi akrylamidu – poliakrylamidy – używane są w procesie elektroforezy żelowej stosowanej do rozdzielania białek i kwasów nukleinowych (5).

W 2002 r. pracownicy Szwedzkiego Narodowego Urzędu ds. Żywności (Swedish National Food Administration) i Uniwersytetu Sztokholmskiego ogłosili, że niektóre produkty żywnościowe zawierają stosunkowo

duże ilości akrylamidu (8), co rozpoczęło nowy etap badań tego związku. Obecnie wiadomo, że na akrylamid narażeni są ludzie spożywający pokarmy, które zostały podane obróbce termicznej w niskiej wilgotności (1). Ponadto obecność akrylamidu stwierdzono w dymie powstałym podczas spalania wyrobów tytoniowych (1,9). Występowanie akrylamidu w najbliższym otoczeniu człowieka przedstawiono na rycinie 1.



Ryc. 1. Źródła akrylamidu
Fig. 1. Sources of acrylamide

BIOTRANSFORMACJA I WYDALANIE AKRYLAMIDU

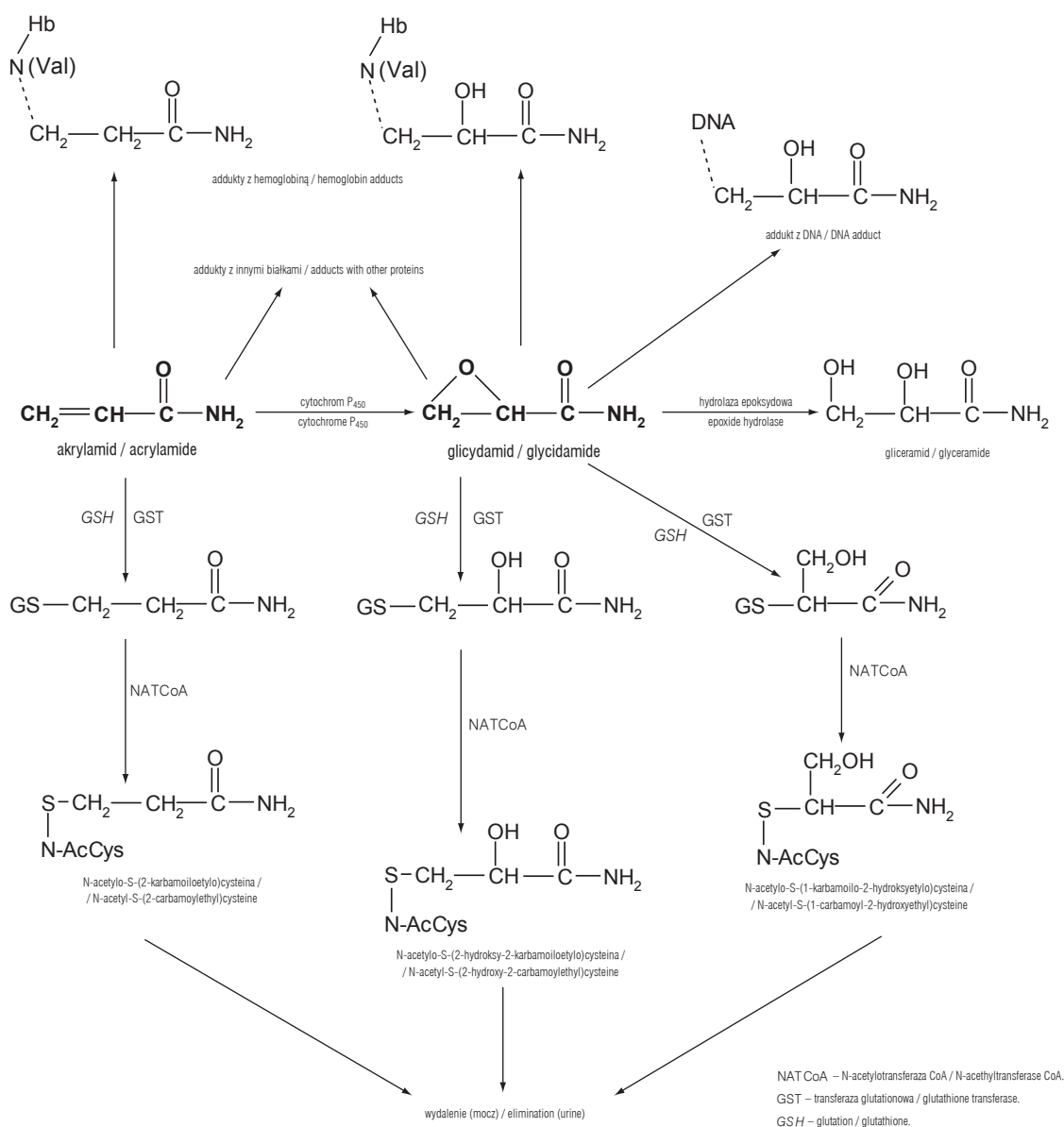
Akrylamid jest wchłaniany do organizmu człowieka przez przewód pokarmowy, układ oddechowy, a także przez skórę, ulegając następnie biotransformacji (3). Sörgel i wsp. (10) analizowali stężenie akrylamidu w tkankach i moczu kobiet oraz mężczyzn. Najniższe stężenie akrylamidu, jakie odnotowali w moczu, wynosiło 1 ng/ml. W mleku matek oznaczyli stężenie 5 ng/ml, a w perfuzacji z łożyska – 2 ng/ml, co wskazuje na bezpośrednie narażenie dziecka na kontakt z akrylamidem już w okresie płodowym. Ponieważ płód i noworodek nie mają jeszcze wykształconej bariery krew-mózg, są one znacznie bardziej narażone na toksyczne działanie akrylamidu. Należy zaznaczyć, że ryzyko zachorowania na chorobę nowotworową oszacowane przez Sörgela i wsp. wynosi 1 przypadek na 100, przy dawce akrylamidu określonej na 1 µg/kg masy ciała dziennie (10).

Badania wykonane przez Sörgela i wsp. (2002) (10) u 9 mężczyzn w wieku 18–52 lat wykazały, że okres półtrwania akrylamidu w organizmie człowieka wynosi 2–7 godzin, co świadczy o stosunkowo wolnym wydalaniu tej substancji. Autorzy wykazali, że niewielka ilość akrylamidu jest wydalana z moczem, a jego większa część (ok. 90%) jest prawdopodobnie metabolizowana.

Jednym ze szlaków metabolizmu akrylamidu w wątrobie zachodzącym przy udziale cytochromu P450 2E1 jest przekształcenie go do pochodnej epoksydowej – glicydamid (4).

Glicydamid – główny metabolit akrylamidu

W organizmie, przy udziale monoooksygenaz wątrobowych cytochromu P450 (głównie izoenzymu CYP2E1), zachodzi przekształcenie akrylamidu do bardziej reaktywnej formy epoksydowej – glicydamid (11). Cytochromy P450 (CYP) są nadrodziną hemoprotein, która odgrywa kluczową rolę w bioaktywacji i detoksykacji licznych substancji szkodliwych. Powszechnie uznaje się, że CYP1A i CYP2E są zaangażowane głównie w metabolizm substancji rakotwórczych, podczas gdy CYP3A, CYP2D i CYP2C są odpowiedzialne za metabolizm leków (12).



Ryc. 2. Główne szlaki metaboliczne akrylamidu w organizmie człowieka (na podstawie 14–16)
 Ryc. 2. The main metabolic pathways of acrylamide in humans (based on 14–16)

Powstały glicydamid ulega najczęściej sprzężeniu z glutationem. W wyniku reakcji powstają koniugaty glutationu, a sprzężanie katalizowane jest przez enzymy z rodziny S-transferaz glutationowych (glutathione S-transferase – GST). Powstałe koniugaty są w kolejnych etapach N-acetylowane przy udziale enzymu N-acetylotransferazy CoA (N-acetyltransferases CoA – NATCoA). Ostatecznymi produktami reakcji są więc pochodne N-acetylocysteiny, czyli kwasymerkaptoowe: N-acetylo-S-(2-karbamilo-2-hydroksyetylo)cysteina oraz N-acetylo-S-(3-amino-2-hydroksy-3-oksopropilo)cysteina (8,13–15). Glicydamid może również ulegać enzymatycznej hydrolizie do dihydroksypropanoamidu pod wpływem hydrolazy epoksydowej (14–16) (ryc. 2).

Bezpośrednie tworzenie koniugatów akrylamidu

Cząsteczka akrylamidu zawiera wiązanie podwójne, co sprawia, że *in vivo* uczestniczy on w interakcjach z cząsteczkami zawierającymi niesparowany elektron, takimi jak grupa sulfhydrylowa ($-SH_2$) ze zredukowanego glutationu lub białek, a także w mniejszym stopniu – z grupą aminową ($-NH_2$) białek. Dzięki tym właściwościom może on bezpośrednio ulegać reakcji sprzężania z glutationem i w kolejnych etapach tworzyć N-acetylo-S-(3-amino-3-oksopropilo)cysteinę (14,15) (ryc. 3).

Sen i wsp. (2012) (17) przeprowadzili badania mające na celu określenie wpływu akrylamidu na poziom ekspresji cytochromu P450 i S-transferazy glutationowej w ludzkiej linii komórek raka wątroby HepG2. Oznaczyli oni aktywność monoooksygenaz oraz poziom ekspresji białka cytochromu i wykazali, że akrylamid

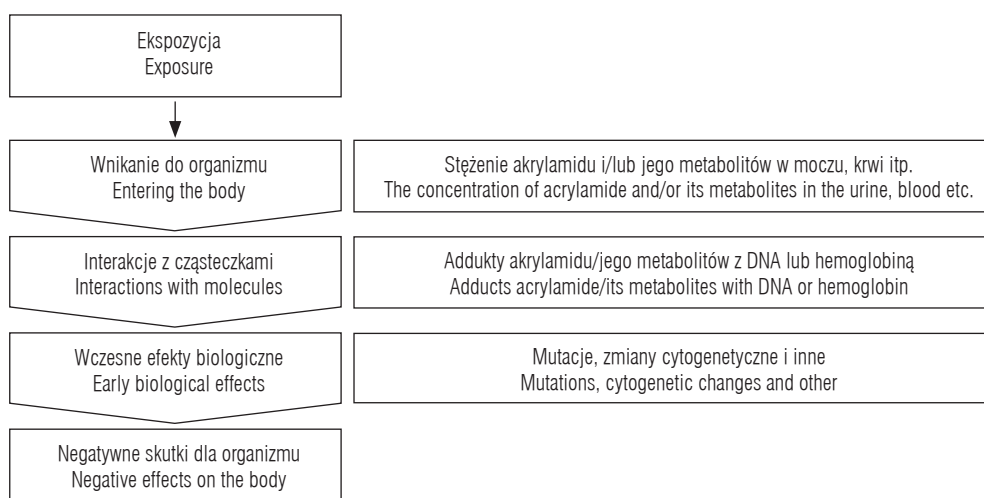
zwiększa ekspresję genów dla CYP2E1 i GST. Ponadto wiadomo, że akrylamid może stymulować proces metabolicznego przekształcenia akrylamidu do glicydamidu przez wzrost ekspresji izoenzymu CYP1A2. Zwiększona ekspresja tych izoenzymów (CYP2E1, CYP1A2) może w konsekwencji powodować zwiększenie stężenia glicydamidu w organizmie.

Równowaga między detoksykacją a aktywacją poszczególnych związków u danego gatunku jest silnie uzależniona od relatywnego stężenia i form cytochromu P450 (12). Obecnie można stwierdzić, że u ludzi, prawdopodobnie ze względu na wyższą aktywność izoenzymu CYP2E1, następuje efektywniejsze przekształcenie akrylamidu w glicydamid niż u szczurów (3).

BIOMARKERY I METODY UMOŻLIWIJĄCE OCENĘ NARAŻENIA NA AKRYLAMID

Powszechne występowanie akrylamidu w diecie człowieka, jego zmienna zawartość nawet w tego samego rodzaju żywności, a także ekspozycja na tę substancję z innych źródeł (np. dym tytoniowy), sprawiają, że ocena narażenia na akrylamid u ludzi jest bardzo trudna. Z tego powodu ocena ekspozycji na akrylamid odbywa się na podstawie analizy stężenia określonych biomarkerów, takich jak addukty akrylamidu z DNA lub hemoglobina (18,19).

Poza oceną narażenia organizmu na akrylamid obecność adduktów pozwala określić współczynnik przekształcenia akrylamidu do glicydamidu, porównać wpływ różnych jego dawek oraz ocenić wielkość dawki, przy której występują efekty niepożądane (15).



Ryc. 3. Efekty biologiczne związane z powstawaniem adduktów akrylamidu w organizmie (na podstawie 15)
Fig. 3. The biological effects connected with the formation of acrylamide adducts in the organism (based on 15)

Zarówno addukty akrylamidu, jak i jego metabolitu – glicydamid – z hemoglobina i DNA są stabilne (11). W przypadku hemoglobiny tworzone są one od końca N-terminalnego peptydu, na którym znajduje się wolna grupa aminowa, pochodząca od waliny (16).

Poziom adduktów tworzonych z hemoglobina jest proporcjonalny do dawki akrylamidu oddziałującej na organizm (16,20). Addukty akrylamidu i glicydamid od wielu lat służą jako wskaźnik narażenia i obecności akrylamidu w organizmie osób palących papierosy i osób zawodowo narażonych na kontakt z tą substancją (9).

Addukty tworzone z DNA odgrywają kluczową rolę w ocenie genotoksyczności akrylamidu, natomiast obecność adduktów z hemoglobina pozwala określić oddziaływanie neurotoksyczne i kancerogenne tej substancji. Wykazano, że addukty powstałe w wyniku połączenia akrylamidu z hemoglobina są bardziej stabilne niż addukty z DNA. Okres ich obecności (trwania) w organizmie zależy od czasu życia krwinek czerwonych i u ludzi wynosi ok. 120 dni, szczurów – 60 dni, a myszy – 40 dni. Czas połowicznego zaniku adduktów z DNA to zaledwie 4 dni (19) (ryc. 3).

Znane do tej pory techniki umożliwiające oznaczanie zawartości akrylamidu w produktach spożywczych – takie jak chromatografia gazowa i wysokosprawna chromatografia cieczowa, sprzężone ze spektrometrią mas – są pracochłonne i drogie. W 2011 r. Garabagiu i Mihailescu (21) zaproponowali metodę detekcji akrylamidu opartą na konfiguracji elektrochemicznej wykorzystującej szkło opłaszczone mieszaniną nanocząstek złota oraz tlenu indu i cyny.

Ze względu na swoją wysoką czułość oraz prostą budowę sensory znalazły zastosowanie w określaniu zawartości akrylamidu w produktach spożywczych (21). Przykładem jest czujnik woltamperometryczny opracowany przez Stobiecką i wsp. (22) oraz biosensor elektrochemiczny zaprojektowany przez Krajewską i wsp. (23). Ostatnio, dzięki postępowi genomiki, zostały opracowane biosensory dla akrylamidu wykorzystujące różne rodzaje mikroorganizmów. Kwolek-Mirek i wsp. (24) wykazali, że drożdże *Saccharomyces cerevisiae* mogą być używane jako model badawczy do oceny biochemicznych mechanizmów toksyczności akrylamidu w komórkach. Okazało się, że akrylamid powoduje ograniczenie wzrostu drożdży poprzez zmniejszenie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (superoxide dismutase – SOD) w sposób zależny od stężenia badanego związku. Zmniejszenie aktywności SOD u drożdży spowodowane przez akrylamid skutkowało wzrostem

poziomu reaktywnych form tlenu oraz zmniejszeniem stężenia glutationu zredukowanego. Toksyczność akrylamidu dla komórek drożdży może być wyeliminowana przez zastosowanie antyoksydantów (askorbinianu, cysteiny, N-acetylocysteiny, glutationu i ditiotreitolu) lub obniżenie zawartości tlenu w powietrzu.

Wyniki powyższych badań udowodniły rolę stresu oksydacyjnego w toksycznym działaniu akrylamidu i pozwoliły w prosty sposób udowodnić szkodliwy wpływ akrylamidu na komórki eukariotyczne (24).

WPŁYW AKRYLAMIDU NA ZWIERZĘTA I CZŁOWIEKA

Neurotoksyczne działanie akrylamidu

Toksyczne działanie akrylamidu na tkankę nerwową zostało wykazane w badaniach na zwierzętach doświadczalnych, a następnie potwierdzone podczas obserwacji neurotoksycznego wpływu akrylamidu na ludzi (25). Długotrwały kontakt z akrylamidem może być przyczyną uszkodzenia zakończeń nerwowych w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym. Skutkiem takiego uszkodzenia mogą być zaburzenia neurologiczne i motoryczne, takie jak osłabienie, mrowienie i drętwienie kończyn, drgawki, a także ataksja (26).

Pierwsze badania toksykologiczne przeprowadzone w latach 1984–1991 sugerowały, że opary akrylamidu podrażniają oczy i skórę oraz powodują paraliż układu mózgowo-rdzeniowego. Neurotoksyczny wpływ akrylamidu na ludzi został również potwierdzony w 1997 r., kiedy podczas budowy tunelu w Szwecji nastąpił wyciek stosowanych w nim akrylamidu i N-metyloakrylamidu. Znaleziona w pobliżu placu budowy duża liczba martwych ryb oraz sparaliżowane bydło świadczyły o toksycznym wpływie tej substancji. Ponadto na podstawie analizy obecności adduktów akrylamidu utworzonych z hemoglobina stwierdzono u kilku pracowników budujących tunel objawy porażenia nerwów obwodowych, podobne do opisywanych podczas zatrucia akrylamidem (26).

Akrylamid może reagować z resztami cysteiny obecnej w presynaptycznym białku błonowym, a tym samym znacznie zmniejszać uwalnianie neuroprzekazników, co ostatecznie może prowadzić do procesu degeneracji neuronów (27).

Szczególną wrażliwością na akrylamid charakteryzuje się kinaza kreatynowa, której aktywność hamowana jest przez tę substancję w mózgu i nerwie kulszowym (28). Skutkiem hamowania aktywności ww. enzymu jest niedobór adenosyno-5'-trifosforanu (adenosine-5'-triphos-

phate – ATP) w komórce, co może prowadzić do jej śmierci. Badania eksperymentalne wykazały ponadto, że aktywność kinazy kreatynowej w mózgu człowieka jest całkowicie hamowana przez akrylamid już w stężeniu wynoszącym 50 mM, podczas gdy kinaza kreatynowa w mózgu królika wykazywała jeszcze 10% swojej aktywności pod wpływem wyższego stężenia akrylamidu, tj. 300 mM. Świadczy to o tym, że mózg człowieka jest bardzo wrażliwy na działanie akrylamidu (28).

Długotrwały kontakt z akrylamidem może prowadzić do nieodwracalnego uszkodzenia układu nerwowego przez hamowanie przekazywania impulsów między neuronami (25). Należy jednak podkreślić, że neurotoksyczne efekty związane z narażeniem na akrylamid występują tylko pod wpływem wysokiej dawki tego związku, tj. 0,5 mg/kg masy ciała na dzień. Tak wysoka dawka nie może oddziaływać na człowieka wskutek spożywania żywności zawierającej tę substancję (29).

Toksyczne działanie akrylamidu na system nerwowy jest wykorzystywane w przyspieszaniu procesu postępu degeneracji neuronów u zwierząt doświadczalnych. Ewaleifoh i wsp. (30) opracowali nową technikę wykorzystującą akrylamid do wzmagania degeneracji aksonów w mysich modelach neuropatii.

Czy akrylamid wykazuje potencjał genotoksyczny?

Niektóre doświadczenia przeprowadzone na szczurach wydają się potwierdzać hipotezę o genotoksyczności akrylamidu. Wykazuje on niewielką reaktywność w stosunku do DNA, natomiast genotoksyczny wpływ akrylamidu wiąże się głównie z jego przemianą w glicydamid. Wyniki badań wskazujące na genotoksyczny wpływ glicydamid są bardziej spójne. Glicydamid ze względu na swoją wysoką reaktywność może tworzyć addukty z DNA, a jak wiadomo, tworzenie adduktów z DNA jest kluczowym elementem w wielostopniowym procesie kancerogenezy (17). Glicydamid jest silnym czynnikiem mutagennym, powoduje głównie mutacje punktowe i może przyczynić się do powstawania nowotworów u ludzi (31).

Błasiak i wsp. (32) badali wpływ akrylamidu na DNA prawidłowych ludzkich limfocytów. Analizowali oni wpływ akrylamidu na aktywność kaspazy-3 oraz jego oddziaływanie na efektywność procesu naprawy DNA po uprzednim uszkodzeniu go nadtlaniem wodoru. Wykazano, że akrylamid upośledza naprawę DNA uszkodzonego przez nadtlenek wodoru i zwiększa aktywność kaspazy-3, nasilając proces apoptozy. Autorzy badania stwierdzili, że akrylamid powoduje pęknięcia nici DNA, alkiluje zasady, zaburza naprawę DNA

i ostatecznie powoduje apoptozę limfocytów. Nie przesądzi jednak, czy jest to wynik działania akrylamidu, czy jego reaktywnego metabolitu – glicydamidu (32). Wstępna inkubacja limfocytów z N-tert-butylo-alfa-fenylonitronem, a także witaminami C i E, zmniejszyła szkodliwy wpływ akrylamidu na DNA. Sugeruje to, że wolne rodniki / reaktywne formy tlenu mogą brać udział w uszkodzeniach DNA spowodowanych przez ten związek.

Sciandrello i wsp. (33) prowadząc badania dotyczące wpływu akrylamidu na komórki chomika chińskiego V79, wykazali, że akrylamid poprzez hamowanie aktywności topoizomerazy II upośledza rozplatanie podwójnej helisy DNA, co może prowadzić do zmian w ekspresji genów.

Genotoksyczne działanie akrylamidu potwierdzone zostało także w badaniach *in vitro* na ludzkich komórkach wątroby HepG2. Badany związek spowodował oksydacyjne uszkodzenia DNA, indukowane przez reaktywne formy tlenu, oraz prowadził do wyczerpania się puli glutationu (34).

Kancerogenność

Badania na myszach

Akrylamid jest substancją rakotwórczą dla gryzoni. Wykazano, że wywołuje nowotwory wielu narządów, w tym u samców szczurów – tarczycy, płuc i jąder, a u samic – sutka. Akrylamid inicjuje również rozwój nowotworów skóry u różnych gatunków myszy. Kancerogenność akrylamidu jest silnie związana z jego genotoksycznym działaniem, skutkującym pojawieniem się mutacji (35).

W teście przesiewowym określającym liczbę i częstość występowania nowotworów płuc w szczepie myszy A/J, wrażliwej na rozwój tego nowotworu, zbadano 40 samic i 40 samców. Badane myszy otrzymywały następujące dawki akrylamidu (rozpuszczonego w wodzie destylowanej): 6,25; 12,5 lub 25 mg/kg masy ciała. Związek podawany był doustnie 3 razy w tygodniu przez 8 tygodni. Zwierzęta uśmiercano 7 miesięcy po zakończeniu badania. Autorzy odnotowali znaczący wzrost liczby myszy z gruczolakiem płuc, zależny od dawki podawanego związku (36).

W badaniu eksperymentalnym podobnym do opisanego powyżej Bull i wsp. (36) analizowali grupę kilkunastu myszy. Otrzymywały one 3 razy w tygodniu przez 8 tygodni dootrzewnowo zastrzyki z akrylamidu (rozpuszczonego w wodzie destylowanej) w następujących dawkach: 0 (kontrola), 1; 3; 10; 30 i 60 mg/kg masy ciała. Dodatkową kontrolą była grupa, w której

nie wykonano iniekcji. Podawanie najwyższej dawki akrylamidu (60 mg/kg masy ciała) zostało przerwane z powodu objawów neuropatii obwodowej i niskiej przeżywalności zwierząt. W pozostałych grupach podawanych dawek zwierzęta przeżyły do 6 miesięcy i po tym czasie zostały uśmiercone. Częstość występowania gruczolaków płuc u badanych myszy wzrastała wraz z zastosowaną dawką akrylamidu. Znaczący wzrost w stosunku do kontroli odnotowano dla 2 najwyższych dawek, np. dla dawki 10 mg/kg masy ciała częstość występowania gruczolaków płuc wynosiła 9/17 u samic i 6/16 u samców, a już dla dawki 30 mg/kg masy ciała – 11/14 u samic i 10/17 u samców. Należy podkreślić, że niskie dawki (1 i 3 mg/kg masy ciała) nie powodowały znaczącego wzrostu częstości występowania tego nowotworu w porównaniu do kontroli.

W innych badaniach Bull i wsp. (36) podawali grupie 40 samic myszy Swiss-ICR drogą doustną akrylamid rozpuszczony w wodzie w następujących dawkach: 0, 75, 150 i 300 mg/kg masy ciała. Dawki były podzielone na 6 równych części i podawane przez 2 tygodnie. Dwa tygodnie po podaniu ostatniej dawki zwierzętom zaaplikowano skórnie tkankowy aktywator plazminogenu (tissue plasminogen activator – TPA) w stężeniu 2,5 µg/mysz, rozpuszczony w 0,2 ml acetonu. Aktywator podawany był 3 razy w tygodniu przez 20 tygodni. Następnie po 52 tygodniach zwierzęta uśmiercono oraz w poszczególnych grupach przeanalizowano ich skórę i płuca. Do zakończenia eksperymentu przeżyło 34–36 zwierząt (36,37). Zaobserwowano zwiększenie częstości występowania nowotworów skóry i guzów płuc u samic myszy Swiss-ICR po podaniu akrylamidu

we wszystkich badanych dawkach w połączeniu z TPA (36,37).

Z kolei na grupie 40 samic myszy Sencar Bull i wsp. (36) badali wpływ akrylamidu w dawkach: 12,5, 25 i 50 mg/kg masy ciała. Związek podawany był dożyłkowo, dermalnie oraz przez iniekcję dootrzewnową. Okres dawkowania wynosił 2 tygodnie, w 6 dawkach na tydzień. Dwa tygodnie później miejscowo podano po 1 µg tkankowego aktywatora plazminogenu. Prawie wszystkie zwierzęta przeżyły 52 tygodnie i po tym czasie zostały uśmiercone. Także w tych badaniach stwierdzono zwiększenie częstości występowania nowotworów skóry u samic myszy Sencar po podaniu każdej z użytych dawek akrylamidu w połączeniu z TPA (36,37).

Badania na szczurach

Johnson i wsp. (38) badali 90 samców i 90 samic szczurów Fischer 344. Zwierzęta przez 2 lata otrzymywały w wodzie do picia następujące dawki akrylamidu: 0; 0,01; 0,1; 0,5 lub 2 mg/kg masy ciała na dobę. Stwierdzono, że przeżywalność zwierząt otrzymujących najwyższe dawki badanego związku zmniejszyła się wśród badanych grup o różnej płci.

W badaniach Friedmana i wsp. (39), przeprowadzonych w celu potwierdzenia wyników otrzymanych przez Johnsona i wsp. (38), określano korelacje między dawką akrylamidu a częstością występowania nowotworów. W tym celu samce i samice szczurów Fischer 344 przydzielono do grup o różnych rozmiarach ciała, którym podawano akrylamid w wodzie pitnej przez 2 lata. Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono i porównano w tabeli 1. (38,39).

Tabela 1. Wyniki badań wpływu rakotwórczego akrylamidu przeprowadzone na szczurach (38,39)

Table 1. The results of investigations concerning carcinogenic effect of acrylamide on rats (38,39)

Lokalizacja nowotworu Location of neoplasms	Wyniki badań Results of investigations	
	Johnson i wsp., 1986 (38)	Friedman i wsp., 1995 (39)
Tarczycza / Thyroid	+	+
Otrzewna / Peritoneum	+	-
Płuca (międzybłoniak opłucnej) / Lungs (mesothelioma)	+	+
Sutki (guzy) / Nipples (tumors)	+	+
Centralny układ nerwowy / Central nervous system	+	-
Jama ustna / Mouth	+	-
Macica / Uterus	+	-
Łechtaczka u samic / Clitoris in females	+	+
Gruczoł krokowy u samców / Prostate in males	+	+

„+” – obecność nowotworu / neoplasms presence.

„-” – brak obecności nowotworu / neoplasms absence.

Badania przeprowadzone na zwierzętach potwierdziły rakotwórcze działanie akrylamidu. Wykazano, że powoduje on rozwój raka wielu narządów u szczurów i myszy. Warto również zauważyć, że nowotwory u zwierząt rozwijały się głównie w organach hormonalnie zależnych, np. w tarczycy. Powyższe dane sugerują, że akrylamid wykazuje potencjał rakotwórczy, a jego oddziaływanie może stanowić zagrożenie rozwojem raka u ludzi (37).

Z kolei badania Raju i wsp. (40) wykazały, że akrylamid podawany w diecie w dawkach, które wcześniej w innych badaniach (np. Friedmana i wsp. (39)) powodowały guzy u gryzoni, nie zwiększa ryzyka rozwoju zmian przedrakowych okrężnicy szczurów, a nawet zmniejsza poziom zmian charakterystycznych dla stanów przedrakowych.

Narażenie środowiskowe i zawodowe a rozwój raka (badania epidemiologiczne)

Miejsca rozwoju nowotworów u gryzoni, które związane są z narażeniem na akrylamid, niekoniecznie będą wskazywać potencjalne miejsca powstawania nowotworów u ludzi. Przykładem może być benzydyna, która jest znanym czynnikiem powodującym rozwój raka pęcherza moczowego u ludzi, natomiast podawana doustnie zwierzętom powoduje powstanie guzów wątroby u myszy i chomików, a u szczurów indukuje rozwój guzów gruczołu sutkowego. Nie należy więc zakładać, że guzy rozwijające się u myszy i szczurów w warunkach laboratoryjnych mogą powstać także u ludzi narażonych na kontakt z akrylamidem (37).

Należy nadmienić, że w badaniach na zwierzętach doświadczalnych dawka ekspozycji na akrylamid jest od 1 tys. do 100 tys. razy wyższa niż ta, na którą narażeni są ludzie poprzez dietę. Tak więc zarówno dawka, jak i źródło narażenia na akrylamid są inne w przypadku badań na zwierzętach i w odniesieniu do ludzi (41).

Badania epidemiologiczne

Ponad 30% żywności spożywanej przez amerykańskie i europejskie społeczeństwa zawiera akrylamid, substancję sklasyfikowaną jako „prawdopodobnie rakotwórczą dla człowieka”, co stanowi problem ze względu na zagrożenie zdrowotne dla populacji ogólnej. W związku z tym naukowcy postanowili określić, czy spożycie akrylamidu w stężeniu obecnym w żywności może być istotnym czynnikiem ryzyka rozwoju nowotworów złośliwych.

Przeprowadzone badania wykazały (29,42,43), że średnie spożycie akrylamidu u osób dorosłych wyno-

si 0,5 mg/kg masy ciała na dobę. Wśród dzieci jest ono wyższe i wynosi ok. 0,6 mg/kg, co prawdopodobnie wynika z ich mniejszej masy ciała, a tym samym – większej ilości akrylamidu przyjmowanej w przeliczeniu na 1 kg masy ciała. Ponadto spożycie niektórych pokarmów „bogatych” w akrylamid, takich jak frytki i chipsy ziemniaczane, jest u dzieci wyższe niż u osób dorosłych.

Larsson i wsp. (41) w badaniach opartych na danych zawartych w kwestionariuszu oszacowali znacznie niższą wartość średniego spożycia akrylamidu przez osobę dorosłą (średnio: 36,1 µg), przy czym głównymi produktami, w których występował akrylamid, były: kawa (23%), chleb pełnoziarnisty (17%), pieczywo chrupkie (8%), pieczywo białe (7%), ciastka/bułki (7%), wafle/krakersy/suchary (6%), płatki śniadaniowe (6%) oraz smażone ziemniaki (6%).

Ocena narażenia populacji ogólnej na akrylamid oparta jest także (poza interpretacją danych zawartych w kwestionariuszu) na pomiarze stężenia biomarkerów narażenia na tę substancję, głównie adduktów akrylamidu i jego metabolitu glicydamidu z hemoglobina oraz obecności końcowych produktów przemian akrylamidu i glicydamidu (kwasów merkapturowych) w moczu (43).

Wyniki badań porównawczych Bjellaasa i wsp. (44) oraz Boettcher i wsp. (45) wykazały wzrost stężenia ww. biomarkerów narażenia u osób jedzących żywność przetwarzaną w wysokich temperaturach. Podobnie Kutting i wsp. (46) oraz Vikström i wsp. (47) wykazali zależność między rodzajem spożywanego pokarmu a wartością stężenia adduktów akrylamidu i glicydamidu z hemoglobina, przy czym najwyższe stężenie biomarkerów narażenia oznaczyli u osób palących papierosy.

Osoby takie wydają się być grupą w sposób znaczący narażoną na oddziaływanie akrylamidu. Wielu autorów wykazało zależność między paleniem tytoniu a zwiększonym narażeniem organizmu na akrylamid. Vesper i wsp. (9) oraz Schettgen i wsp. (48) wykazali, że palacze tytoniu mają podwyższony (w stosunku do osób niepalących papierosów) poziom adduktów akrylamidu i glicydamidu z hemoglobina oraz wyższą zawartość kwasów merkapturowych w moczu (9,48). Narażenie na akrylamid palaczy papierosów dobrze obrazują wyniki uzyskane przez Urbana i wsp. (49), wskazujące na kilkukrotne podwyższenie stężenia kwasów merkapturowych w moczu tych osób (dla pochodnej akrylamidu: 29–337 µg/l, glicydamidu: 10–111 µg/l) w porównaniu z osobami niepalącymi tytoniu (dla pochodnej akrylamidu: 24–42 µg/l, glicydamidu: 3–17 µg/l). Po-

dobną zależność zaobserwowali Vikström i wsp. (47), którzy oznaczyli znacznie wyższy poziom adduktów akrylamidu i glicydamiu z hemoglobina u palaczy w porównaniu z osobami niepalącymi.

Zawodowe narażenie na akrylamid dotyczy przede wszystkim pracowników zatrudnionych:

- przy pracach budowlanych, podczas których stosowano akrylamid oraz jego pochodną – N-metyloakrylamid (50),
- przy produkcji akrylamidu (51–54) i poliakrylamidów (55,53),
- w laboratoriach biomedycznych (56,57).

Ocena narażenia zawodowego na akrylamid oparta jest na pomiarze stężenia tej substancji w miejscu pracy (głównie w powietrzu zakładu produkcyjnego) lub/oraz na podstawie zawartości produktów transformacji akrylamidu w ustroju (53).

Dotychczasowe wyniki badań wskazują na powszechne, jednak bardzo zróżnicowane narażenie na akrylamid pracowników zatrudnionych przy jego produkcji i przetwarzaniu. Calleman i wsp. (58) wykazali, że średnie stężenie akrylamidu w powietrzu w miejscach jego syntezy i polimeryzacji wynosiło odpowiednio: 1070 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ i 3270 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, natomiast Moorman i wsp. (53) oznaczyli znacznie niższe średnie stężenie akrylamidu w miejscu jego produkcji – 350 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Z kolei Bergmark i wsp. nie wykazali znacznego narażenia na tę substancję (średnie stężenie: 2,45 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) u pracowników laboratoriów odważających i plimeryzujących akrylamid w celu przeprowadzenia rozdzielów elektroforetycznych (56).

Obecnie, celem ochrony pracowników zatrudnionych przy produkcji akrylamidu, wiele państw wprowadziło normy regulujące dopuszczalne wartości stężeń tej substancji w zakładach pracy. Przykładowo w 2003 r. Amerykańska Agencja ds. Bezpieczeństwa Zawodowego i Zdrowia (The United States Occupational Safety and Health Administration – OSHA) ustaliła 300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ jako dopuszczalne stężenie akrylamidu w miejscu pracy (59), natomiast w 2009 r. na Amerykańskiej Konferencji Rządowych Higienistów Przemysłowych (The American Conference of Governmental Industrial Hygienists – ACGIH) zasugerowano obniżenie go do 30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (60).

Wśród pracowników narażonych na akrylamid stwierdza się podwyższony (w porównaniu z grupami nienarażonymi zawodowo) poziom biomarkerów narażenia na tę substancję, w tym występowanie adduktów hemoglobiny z akrylamidem i jego metabolitem (glicydamiem), a także obecność kwasów merkapturowych

w moczu. Moorman i wsp. (53) w pracy przeglądowej zwrócili uwagę na podwyższone stężenie adduktów akrylamidu (15–1884 pmol/g) i adduktów glicydamiu (17,8–1376 pmol/g) z hemoglobina u pracowników zatrudnionych przy wytwarzaniu akrylamidu. Ponadto stwierdzono u nich obecność jednego z końcowych produktów przemian akrylamidu, tj. N-acetylo-S-(2-karmamoilometylo)cysteiny, którego stężenie oznaczono w przedziale od śladowego aż do 15,4 mg/l.

Statystyczna zależność między stopniem narażenia organizmu na akrylamid a stężeniem biomarkerów akrylamidu obecnych we krwi i moczu została wykazana ponad wszelką wątpliwość. Z kolei korelacja wyników dotyczących środowiskowego i zawodowego narażenia ludzi na tę substancję (wyrażoną m.in. poprzez obecność tych metabolitów w organizmie) a zachorowalnością na nowotwory złośliwe nie pozwala jak dotąd jednoznacznie stwierdzić wpływu akrylamidu na proces nowotworzenia u ludzi, szczególnie narażonych środowiskowo na tę substancję.

Narażenie zawodowe na akrylamid a rozwój raka

W odniesieniu do narażenia zawodowego Marsh i wsp. (61) wykazali wzrost zachorowalności na nowotwory trzustki u osób zatrudnionych przy produkcji akrylamidu, a Tornqvist i Paulsson (62) oraz Marsh i wsp. (52) stwierdzili niewielki wzrost zachorowania na raka płuc wśród pracowników zawodowo narażonych na tę substancję. Dotychczasowe wyniki badań wskazywały także na podwyższone ryzyko rozwoju nowotworów nerek i pęcherza wśród osób narażonych na akrylamid (63).

Sobel i wsp. (64) przeprowadzili badania pracowników zatrudnionych przy przetwórstwie akrylamidu w zakładach w Michigan (USA), oceniając wpływ akrylamidu na 371 pracowników w latach 1955–1982. Oceny narażenia dokonano poprzez pomiar jego stężenia w powietrzu. W latach 1955–1957 stężenie akrylamidu wynosiło 0,1–1,0 mg/m³, a w 1957–1979 – 0,1–0,6 mg/m³ przy czym tylko 19% badanych zaczęło pracować przed rokiem 1960. Przeżywalność zbadano od początkowej ekspozycji do końca 1982 r. Wśród pracowników odnotowano 38 zgonów, podczas gdy według statystyk spodziewano się 29, czyli śmiertelność na raka była nieco większa niż oczekiwano.

Kolejne większe badania kohortowe, przeprowadzone przez Collinsa i wsp. (65), dotyczyły określenia śmiertelności pracowników w 4 zakładach (1 w Holandii, 3 w Stanach Zjednoczonych). Łącznie badaniu pod-

dano 8854 mężczyzn, którzy potencjalnie byli narażeni na kontakt z akrylamidem od 1925 do 1976 r. Szacunki dotyczące narażenia na akrylamid były wyznaczone na podstawie monitoringu stężenia akrylamidu w powietrzu z 1977 r. Szacowany współczynnik śmiertelności został obliczony na podstawie krajowej śmiertelności oraz dostosowany do wieku i rasy. Wzrost zachorowań na raka trzustki i chłoniaka ziarniczego stwierdzono u pracowników narażonych na stężenie akrylamidu wyższe niż 0,30 mg/m³/rok. Wśród wszystkich narażonych zaobserwowano natomiast mniejszą śmiertelność na nowotwory w porównaniu z wyliczonym współczynnikiem śmiertelności. Uzyskane wyniki badań nie wykazywały ostatecznie istotnego związku przyczynowego między ekspozycją na akrylamid a umieralnością na raka (62).

W oparciu o dane doświadczalne na zwierzętach Agencji Ochrony Środowiska z USA (US Environmental Protection Agency – US EPA) i uwzględniając narażenie ludzi na akrylamid rzędu 0,01 mg/m³, pracownicy Instytutu Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi ryzyko zachorowania na nowotwory oszacowali na 0,0002 (66). Oznacza to ryzyko rozwoju nowotworu u 2 spośród 10 tys. osób narażonych przez 5 lat na akrylamid w stężeniu 10 µg/m³ w miejscu pracy.

Z kolei Świdwińska-Gajewska i Szymczak (68), w oparciu o dane doświadczalne na szczurach uzyskane przez Belanda i wsp. (67), oszacowali ryzyko zachorowania na raka tarczycy u ludzi. Stwierdzili, że dla NDS równego 0,1 mg/m³ i narażenia przez okres 40 lat wynosi ono $8,8 \times 10^{-5}$. Natomiast dla człowieka pracującego przez 6 lat w średnim narażeniu na akrylamid o stężeniu 0,01 mg/m³ ryzyko zachorowania na raka tarczycy wynosi $1,32 \times 10^{-6}$. Oznacza to możliwość zachorowania 1 osoby spośród 1 mln narażonych przez 6 lat na akrylamid w stężeniu 0,01 mg/m³.

Narażenie populacji ogólnej na akrylamid a rozwój raka

Jak dotąd w nielicznych badaniach wskazywano na niewielki związek między narażeniem ogólnopopulacyjnym na akrylamid a wzrostem zachorowalności na nowotwory złośliwe. Olesen i wsp. (69) wykazali związek między stopniem narażenia na akrylamid (badania przeprowadzone u kobiet w Danii), wyrażający się obecnością podwyższonego stężenia adduktów akrylamidu i glicydamidu z hemoglobina oraz wzrostem zachorowalności na raka piersi. Autorzy stwierdzili jednak, że istotny wzrost zachorowalności dotyczył wyłącznie podgrupy osób palących wyroby tytoniowe.

W innym badaniu, obejmującym dużą grupę kobiet z Holandii, Hogervorst i wsp. (70) zaobserwowali korelację między spożyciem produktów żywnościowych zawierających relatywnie wysokie stężenia akrylamidu a wzrostem liczby przypadków rozwoju raka jajników. Z innej strony, liczne wyniki badań epidemiologicznych prowadzone w Holandii przez Hogervosta i wsp. (71,72) nie potwierdziły rakotwórczego oddziaływania akrylamidu na organizmy ludzi zarówno w warunkach narażenia środowiskowego, jak i zawodowego. Negatywny wynik przyniosła analiza porównawcza mająca wykazać potencjalny wzrost zachorowalności na raka mózgu osób narażonych na akrylamid obecny w pokarmie (71). Podwyższonego ryzyka rozwoju raka płuc nie wykazano również w grupie mieszkańców Holandii narażonej na spożycie akrylamidu obecnego w produktach żywnościowych (72).

W dotychczas przeprowadzonych badaniach nie wykazano także związku między narażeniem środowiskowym na akrylamid a podwyższonym rozwojem raka prostaty u mężczyzn (Szwecja) (41) ani nie stwierdzono związku z rozwojem raka jelita grubego i raka odbytu w badaniu przeprowadzonym w grupie ponad 800 tys. mieszkank tego kraju (73). Podobne, negatywne wyniki uzyskano, porównując spożycie akrylamidu z posiłkami z zachorowalnością na nowotwory żołądka i przełyku (70).

Reasumując, należy stwierdzić, że dotychczasowe wyniki badań nie dowodzą w sposób jednoznaczny potencjalnego wzrostu ryzyka zachorowalności na raka u ludzi narażonych na akrylamid zawodowo, a szczególnie środowiskowo. Przeprowadzona w 2011 r. przez Pelucchio i wsp. (43) metaanaliza dotychczasowych badań epidemiologicznych wykazała, że wyłącznie rozwój nowotworu nerek może być wiązany z narażeniem organizmu człowieka na tę substancję. Autorzy pracy wskazują jednak, że brak jednoznacznych pozytywnych korelacji może w niektórych przypadkach wiązać się z bardzo niewielkim, a więc trudnym do uchwycenia wzrostem zachorowalności na raka lub/ oraz wynikać z nie w pełni właściwego doboru osób do badań epidemiologicznych.

PODSUMOWANIE

Badania dotyczące szkodliwego oddziaływania akrylamidu, a także jego metabolitów wskazują na 3 rodzaje toksyczności: neurotoksyczność, genotoksyczność i kancerogenność. Dotąd bezspornie udowodniono jedynie neurotoksyczne działanie akrylamidu na orga-

nizm człowieka. Genotoksyczna aktywność akrylamidu przejawia się głównie po jego metabolicznym przekształceniu do pochodnej epoksydowej – glicydamiidu. Kancerogenne działanie akrylamidu zostało wykazane w badaniach na zwierzętach. W odniesieniu do ludzi oceny narażenia na akrylamid dokonuje się poprzez pomiar adduktów, czyli specyficznych związków powstałych w wyniku połączenia akrylamidu z hemoglobiną lub DNA. Badania epidemiologiczne nie dostarczyły jeszcze niepodważalnych dowodów, że akrylamid przyjmowany z dietą może inicjować powstawanie nowotworów u ludzi.

PIŚMIENNICTWO

1. Jankowska J., Helbin J., Potocki A.: Akryloamid jako substancja obca w żywności. *Probl. Hig. Epidemiol.* 2009;90(2):171–174
2. Murkovic M.: Acrylamide in Austrian foods. *J. Biochem. Biophys. Methods* 2004;61:161–167
3. Carere A.: Genotoxicity and carcinogenicity of acrylamide: A critical review. *Ann. Ist. Super. Sanità* 2006;42(2): 144–155
4. Stadler R.H., Scholz G.: Acrylamide: An update on current knowledge in analysis, levels in food, mechanisms of formation, and potential strategies of control. *Nutr. Rev.* 2004;62(12):449–467
5. Żyżelewicz D., Nebesny E., Oracz J.: Akrylamid – powstawanie, właściwości fizykochemiczne i biologiczne. *Bromatol. Chem. Toksykol.* 2010;3:415–427
6. Eriksson S.: Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology. Doctoral Thesis 2005. Department of Environmental Chemistry, Stockholm University, Stockholm 2005, ss. 1–83
7. Szczerbina T.: Akrylamid – potencjalnie rakotwórcza substancja występująca w żywności. *Kosmos. Probl. Nauk Biol.* 2005;54(4):367–372
8. Dybing E., Farmer P.B., Andersen M., Fennell T.R., Lalljie S.P.D., Müller D.J.G. i wsp.: Human exposure and internal dose assessments of acrylamide in food. *Food Chem. Toxicol.* 2005;43:365–410
9. Vesper H.W., Bernert J.T., Ospina M., Meyers T., Ingham L., Smith A. i wsp.: Assessment of the relation between biomarkers for smoking and biomarkers for acrylamide exposure in humans. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2007;16(11):2471–2478
10. Sörgel F., Weissenbacher R., Kinig-schippers M., Hofmann A., Illauer M., Skott A. i wsp.: 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* 2002;48:267–274
11. Tareke E., Lyn-Cook B., Roninson B., Ali S.: Acrylamide: A dietary carcinogen formed *in vivo*? *J. Agric. Food Chem.* 2008;56:6020–6023
12. Arslan S., Ozgun O., Celik G., Semiz A., Dusen O., Mammadov R. i wsp.: Effects of *Cyclamen trochopteranthum* on hepatic drug metabolizing enzymes. *Arch. Biol. Sci. Belgrade* 2011;63:545–555
13. Fennell T.R., Sumner S.C.J., Snyder R.W., Burgess J., Friedman M.A.: Kinetics of elimination of urinary metabolites of acrylamide in humans. *Toxicol. Sci.* 2006;93(2): 256–267
14. Latzin J.M., Schindler B.K., Weiss T., Angerer J., Koch H.M.: Determination of 2,3-dihydroxypropionamide, an oxidative metabolite of acrylamide, in human urine by gas chromatography coupled with mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 2012;402:2431–2438
15. European Food Safety Authority Scientific Colloquium: Acrylamide carcinogenicity – new evidence in relation to dietary exposure [cytowany 9 października 2013]. *Summ. Rep.* 2008;11:1–161. Adres: http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Kvasnickova2/EFSA_AA-karcinogenita.pdf
16. Klauing J.E.: Acrylamide carcinogenicity. *J. Agric. Food Chem.* 2008;56:5984–5988
17. Sen A., Ozgun O., Arinç E., Arslan S.: Diverse action of acrylamide on cytochrome P450 and glutathione S-transferase isozyme activities, mRNA levels and protein levels in human hepatocarcinoma cells. *Cell Biol. Toxicol.* 2012;28:175–186
18. Besaratinia A., Pfeifer G.P.: DNA adduction and mutagenic properties of acrylamide. *Mutat. Res.* 2005;580:31–40
19. Vikström A.C., Warholm M., Paulsson B., Axmon A., Wirfält E., Törnqvist M.: Hemoglobin adducts as a measure of variations in exposure to acrylamide in food and comparison to questionnaire data. *Food Chem. Toxicol.* 2012;50:2531–2539
20. Vikström A.C., Abramsson-Zetterberg L., Naruszewicz M., Athanassiadis I., Granath F.N., Törnqvist M.: *In vivo* doses of acrylamide and glycidamide in humans after intake of acrylamide-rich food. *Toxicol. Sci.* 2011;119:41–49
21. Garabagiu S., Mihailescu G.: Simple hemoglobin – gold nanoparticles modified electrode for the amperometric detection of acrylamide. *J. Electroanal. Chem.* 2011;659:196–200
22. Stobiecka A., Radecka H., Radecki J.: Novel voltammetric biosensor for determining acrylamide in food samples. *Biosens. Bioelectron.* 2007;22:2165–2170

23. Krajewska A., Radecki J., Radecka H.: A voltammetric biosensor based on glassy carbon electrodes modified with single-walled carbon nanotubes/hemoglobin for detection of acrylamide in water extracts from potato crisps. *Sensors* 2008;8:5832–5844
24. Kwolek-Mirek M., Zadrag-Tęcza R., Bednarska S., Bartosz G.: Yeast *Saccharomyces cerevisiae* devoid of Cu, Zn-superoxide dismutase as a cellular model to study acrylamide toxicity. *Toxicol. In Vitro* 2010;25:573–579
25. LoPachin R.M.: The changing view of acrylamide neurotoxicity. *Neurotoxicology* 2004;25:617–630
26. Keramat J., LeBail A., Prost C., Jafari M.: Acrylamide in baking products: A review article. *Food Bioprocess Technol.* 2011;4:530–543
27. LoPachin R.M., Barber D.S.: Synaptic cysteine sulfhydryl groups as targets of electrophilic neurotoxicants. *Toxicol. Sci.* 2006;94:240–255
28. Sheng Q., Zou H., Lü Z., Zou F., Park Y., Yan Y. i wsp.: Effects of acrylamide on the activity and structure of human brain creatine kinase. *Int. J. Mol. Sci.* 2009;10:4210–4222
29. Claus A., Carle R., Schieber A.: Acrylamide in cereal products: A review. *J. Cereal Sci.* 2008;47:118–113
30. Ewaleifoh O., Trinh M., Griffin J.W., Nguyen T.: A novel system to accelerate the progression of nerve degeneration in transgenic mouse models of neuropathies. *Exp. Neurol.* 2012;237:153–159
31. Gamboa da Costa G., Churchwell M., Hamilton P., Tungeln L., Beland F., Marques M. i wsp.: DNA adduct formation from acrylamide via conversion to glycidamide in adult and neonatal mice. *Chem. Res. Toxicol.* 2003;16:1328–1337
32. Błasiak J., Gloc E., Woźniak K., Czechowska A.: Genotoxicity of acrylamide in human lymphocytes. *Chem. Biol. Interact.* 2004;149:137–149
33. Sciandrello G., Mauro M., Caradonna F., Catanzaro I., Saverini M., Barbata G.: Acrylamide catalytically inhibits topoisomerase II in V79 cells. *Toxicol. In Vitro* 2010;24:830–834
34. Jiang L., Cao J., An Y., Geng C., Qu S., Jiang L. i wsp.: Genotoxicity of acrylamide in human hepatoma G2 (HepG2) cells. *Toxicol. In Vitro* 2007;21:1486–1492
35. Wang R., McDaniel L.P., Manjanatha M.G., Shelton S.D., Doerge D.R., Mei N.: Mutagenicity of acrylamide and glycidamide in the testes of Big Blue Mice. *Toxicol. Sci.* 2010;117(1):72–80
36. Bull R.J., Robinson M., Laurie R.D., Stoner G.D., Greisiger E., Meier J.R. i wsp.: Carcinogenic effects of acrylamide in SENCAR and A/J mice. *Cancer Res.* 1984;44:107–111
37. Rice J.M.: The carcinogenicity of acrylamide. *Mutat. Res.* 2005;580:3–20
38. Johnson K.A., Gorzinski S.J., Bodner K.M., Campbell R.A., Wolf C.H., Friedman M.A. i wsp.: Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fischer 344 rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1986;85:154–168
39. Friedman M.A., Dulak L.H., Stedham M.A.: A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1995;27:95–105
40. Raju J., Sondagar C., Roberts J., Aziz S.A., Caldwell D., Vavasour E. i wsp.: Dietary acrylamide does not increase colon aberrant crypt foci formation in male F344 rats. *Food Chem. Toxicol.* 2011;49:1373–1380
41. Larsson C.S., Akesson A., Bergkvist L., Wolk A.: Dietary acrylamide intake and risk of colorectal cancer in a prospective cohort of men. *Eur. J. Cancer* 2009;45:513–516
42. Mucci L.A., Wilson K.M.: Acrylamide intake through diet and human cancer risk. *J. Agric. Food Chem.* 2008;56:6013–6019
43. Pelucchi C., La Vecchia C., Bosetti C., Boyle P., Boffetta P.: Exposure to acrylamide and human cancer—a review and meta-analysis of epidemiologic studies. *Ann. Oncol.* 2011;22:1487–1499
44. Bjellaas T., Stolen L.H., Haugen M.: Urinary acrylamide metabolites as biomarkers for short-term dietary exposure to acrylamide. *Food Chem. Toxicol.* 2007;45:1020–1026
45. Boettcher M.I., Schettgen T., Kutting B., Pischetsrieder M., Angerer J.: Mercapturic acids of acrylamide and glycidamide as biomarkers of the internal exposure to acrylamide in the general population. *Mutat. Res* 2005;580(1–2):167–176
46. Kutting B., Uter W., Drexler H.: The association between self-reported acrylamide intake and hemoglobin adducts as biomarkers of exposure. *Cancer Causes Control* 2008;19:273–281
47. Vikström A.C., Warholm M., Paulsson B., Axmon A., Wirfält E., Törnqvist M.: Hemoglobin adducts as a measure of variations in exposure to acrylamide in food and comparison to questionnaire data. *Food Chem. Toxicol.* 2012;50(7):2531–2539
48. Schettgen T., Rossbach B., Kutting B., Letzel S., Drexler H., Angerer J.: Determination of haemoglobin adducts of acrylamide and glycidamide in smoking and non-smoking persons of the general population. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 2004;207(6):531–539
49. Urban M., Kavvadias D., Riedel K., Scherer G., Tricker A.R.: Urinary mercapturic acids and a hemoglobin

- adduct for the dosimetry of acrylamide exposure in smokers and nonsmokers. *Inhal. Toxicol.* 2006;18(10):831–839
50. Hagmar L., Törnqvist M., Nordander C., Rosén I., Bruze M., Kautiainen A. i wsp.: Health effects of occupational exposure to acrylamide using hemoglobin adducts as biomarkers of internal dose. *Scand. J. Work Environ. Health* 2001;27(4):219–226
51. Swaen G.M.H., Haider S., Burns C.J., Bodner K., Burns C.J., Bodner K. i wsp.: Mortality study update of acrylamide workers. *Occup. Environ. Med.* 2007;64(6):396–401
52. Marsh G.M., Youk A.O., Buchanich J.M., Kant I.J., Swaen G.: Mortality patterns among workers exposed to acrylamide: updated follow up. *J. Occup. Environ. Med.* 2007;49:82–95
53. Moorman W.J., Reutman S.S., Shaw P.B., Blade L.M., Marlow D., Vesper H. i wsp.: Occupational exposure to acrylamide in closed system production plants: air levels and biomonitoring. *J. Toxicol. Environ. Health A.* 2012;75(2):100–111
54. Huang Y.F., Wu K.Y., Liou Y.F., Liou S.H., Uang S.N., Chen C.C. i wsp.: Biological monitoring for occupational acrylamide exposure from acrylamide production workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 2011;84(3):303–313
55. Bergmark E., Calleman C.J., He F., Costa L.G.: Determination of hemoglobin adducts in humans occupationally exposed to acrylamide. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1993;120(1):45–54
56. Pantusa V.P., Stock T.H., Morandi M.T., Harrist R.B., Afshar M.: Inhalation exposures to acrylamide in biomedical laboratories. *AIHA J.* 2002;63(4):468–473
57. Jones K., Garfitt S., Emms V., Warren N., Cocker J., Farmer P.: Correlation of haemoglobin-acrylamide adducts with airborne exposure: An occupational survey. *Toxicol. Lett.* 2006;162(2–3):174–180
58. Calleman C.J., Wu Y., He F., Tian G., Bergmark E., Zhang S. i wsp.: Relationships between biomarkers of exposure and neurological effects in a group of workers exposed to acrylamide. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1994;126(2):361–371
59. Occupational Safety and Health Administration (2003): Sampling and analytical methods: Acrylamide, PV2004 [cytowany 22 czerwca 2009]. Adres: http://www.osha.gov/dts/sltc/methods/partial/pv_2004/2004.html
60. American Conference on Governmental Industrial Hygienists: Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices for 2009. ACGIH, Cincinnati, OH (USA) 2009
61. Marsh G.M., Lucas L., Youk A.O., Schall L.C.: Mortality patterns among worker exposed to acrylamide: 1994 follow up. *Occup. Environ. Med.* 1999;56:181–190
62. Törnqvist M., Paulsson B.: Cancer risk from exposure to occupational acrylamide. *Occup. Environ. Med.* 2001;58:608–609
63. Hogervorst J.G.F., Schouten L.J., Konings E.J.M., Goldbohm R.A.: Dietary acrylamide intake and the risk of renal cell, bladder, and prostate cancer. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008;87(5):1428–1438
64. Sobel W., Bond G.G., Parsons T.W., Brenner F.E.: Acrylamide cohort mortality study. *Br. J. Ind. Med.* 1986;43:785–788
65. Collins J.J., Swaen G.M., Marsh G.M.: Mortality patterns among workers exposed to acrylamide. *J. Occup. Environ. Med.* 1989;31:614–617
66. Stetkiewicz J., Hanke W., Szymczak W.: Akrylamid. Wytyczne szacowania ryzyka zdrowotnego dla czynników rakotwórczych. Zeszyt 3. Instytut Medycyny Pracy, Łódź 1996, ss. 5–22
67. Beland F.A., Mellick P.W., Olson G.R., Mendoza M.C.B., Marques M.M., Doerge D.R.: Carcinogenicity of acrylamide in B6C3F1 mice and F344/N rats from a 2-year drinking water exposure. *Food Chem. Toxicol.* 2013;51:149–159
68. Świdwińska-Gajewska A., Szymczak W.: Akrylamid. Wytyczne szacowania ryzyka zdrowotnego dla czynników rakotwórczych. Zeszyt 1(30). Instytut Medycyny Pracy, Łódź 2012, ss. 5–40
69. Olesen P.T., Olsen A., Frandsen H., Frederiksen K., Overvad K., Tjønneland A.: Acrylamide exposure and incidence of breast cancer among postmenopausal women in the Danish diet. *Cancer and health study. Int. J. Cancer* 2008;122:2094–2100
70. Hogervorst J.G., Schouten L.J., Konings E.J., Goldbohm R.A., van den Brandt P.A.: A prospective study of dietary acrylamide intake and the risk of endometrial, ovarian, and breast cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2007;16:2304–2313
71. Hogervorst J.G., Schouten L.J., Konings E.J., Goldbohm R.A., van den Brandt P.A.: Dietary acrylamide intake and brain cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2009;18(5):1663–1666
72. Hogervorst J.G.F., Schouten L.J., Konings E.J.M., Goldbohm R.A., van den Brandt P.A.: Lung cancer risk in relation to dietary acrylamide intake. *J. Natl. Cancer Inst.* 2009;101(9):651–662
73. Mucci L.A., Adami H.O., Wolk A.: Prospective study of dietary acrylamide and risk of colorectal cancer among women. *Int. J. Cancer* 2006;118(1):169–173