Tossicologia genetica e alimenti

Beniamino T. Cenci-Goga

Università degli Studi di Perugia, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Sezione di Ispezione degli Alimenti di Origine Animale

http://www.unipg.it/facvet

La crescente richiesta di cibi naturali ha accresciuto i quesiti riguardanti la pericolosità di molte sostanze chimiche, sia sintetiche che naturali, presenti in piccole quantità negli alimenti

I composti sintetici riscontrabili negli alimenti hanno uno scopo specifico (***sostanze aggiunte***: aromatizzanti, coloranti, conservativi, stabilizzanti...) o sono presenti come contaminanti (***sostanze pervenute***: residui di pesticidi, metalli pesanti e altri inquinanti ambientali).

Il livello di queste sostanze è generalmente molto basso, ma la loro presenza rappresenta un rischio per molti individui e pertanto i rischi potenziali vanno conosciuti.

Un'altra fonte di sostanze chimiche potenzialmente pericolose è rappresentata da quei composti presenti naturalmente in piante e funghi, per i quali è stata dimostrata da alcuni autori la tossicità in animali e piante: si tratta tuttavia di un argomento che esula dai contenuti della presente trattazione.

Un terzo gruppo di sostanze chimiche negli alimenti sono i composti formatisi durante i processi di cottura o di conservazione (***sostanze neoformate***): alcuni studi hanno dimostrato che in seguito alla cottura della carne si liberano composti dotati di attività. Attualmente la valutazione del rischio per i consumatori si basa sull'estrapolazione dei risultati, ottenuti in laboratorio, dai modelli sperimentali all'uomo.

E' noto che le diverse abitudini alimentari sono in rapporto alla diversa incidenza delle malattie, ma la maggior parte dei componenti della dieta che determinano variazioni nell'incidenza dei tumori nella popolazione, non sono stati identificati. La presenza di sostanze chimiche potenzialmente nocive negli alimenti, anche se a livelli molto bassi, è stata spesso implicata come fattore causale, ma il loro apporto è ignoto e non è possibile determinarlo con studi epidemiologici

Storicamente le situazioni in cui le sostanze chimiche sono state identificate come cancerogene, attraverso osservazioni epidemiologiche, erano quelle di esposizione prolungata (di solito occupazionale) per lunghi periodi

Vale la pena ricordare il caso dei tumori cutanei insorti in minatori e addetti alla fabbricazione di insetticidi arsenicali, l'*angiosarcoma epatico da cloruro di vinile*, considerato il tumore più importante nella patologia neoplastica occupazionale dell'uomo, anche se il primo tumore professionale riportato in letteratura da Pott nel 1775 è stato il *carcinoma scrotale* degli spazzacamini, la cui insorgenza era legata all'esposizione, resa prolungata dalla scarsa pulizia, alla fuliggine della cute scrotale

Nel caso degli alimenti il desiderio di identificare sostanze chimiche presenti nella dieta come agenti causali della cancerogenesi potrebbe portare a un'eccessiva semplificazione di un processo a più stadi

La cancerogenesi può comprendere mutazioni, iperplasia, soppressione dell'inibizione da contatto e della comunicazione tra cellule, l'attivazione di oncogèni, la derepressione di geni deprimenti la crescita neoplastica, la espansione clonale e la progressione del tumore. I componenti della dieta possono influenzare ogni momento specifico del processo sia in senso positivo che negativo.

Tra i microcomponenti, quelli che causano danno al DNA e mutazioni, quali le nitrosammine, sono associati all'*iniziazione* del tumore. Va però ricordato che le mutazioni possono verificarsi anche in seguito a errori nella riparazione del DNA o da danno ossidativo sovrapponendosi all'azione dei mutageni introdotti con l'alimento.

Non va inoltre dimenticata l'ipotizzata relazione tra consumo di vegetali e riduzione dell'incidenza dei tumori, probabilmente legata agli antiossidanti di cui i vegetali sono ricchi. Altri cosiddetti *anticancerogeni*, quali le vitamine A sono stati identificati negli alimenti e il loro ruolo è oggetto di studio.

Holistic approach



Holistic approach





'There is a common misperception about how methane gets into the atmosphere. It is actually through belching rather than the other end.'

MICHAEL ABBERTON, a scientist at the Institute of Grassland and Environmental Research in the U.K., on cow belching as a major source of methane emissions that contribute to global climate change. Each cow belches around 100 to 200 liters of methane daily



MORE AT TIME.COM

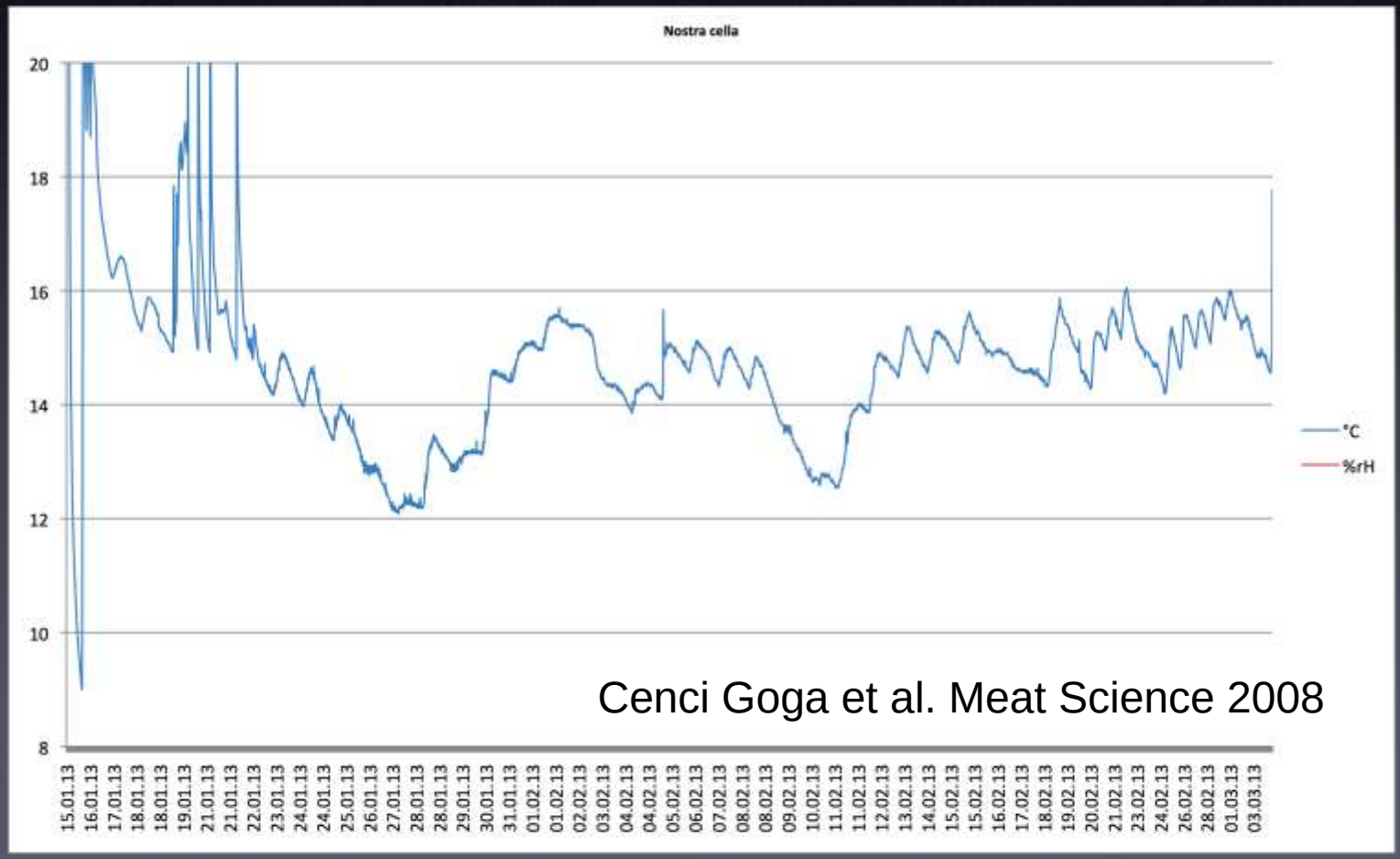
For more daily sound bites, visit **time.com/quotes**

Sources: A.P.; New York *Times*; A.P. (2); *Financial Times*; Reuters

- Mutagenic pollution of the natural environment is undoubtedly a serious and general problem. Reports of various agencies indicate that the presence of mutagenic compounds in different habitats is a common phenomenon rather than an exception.

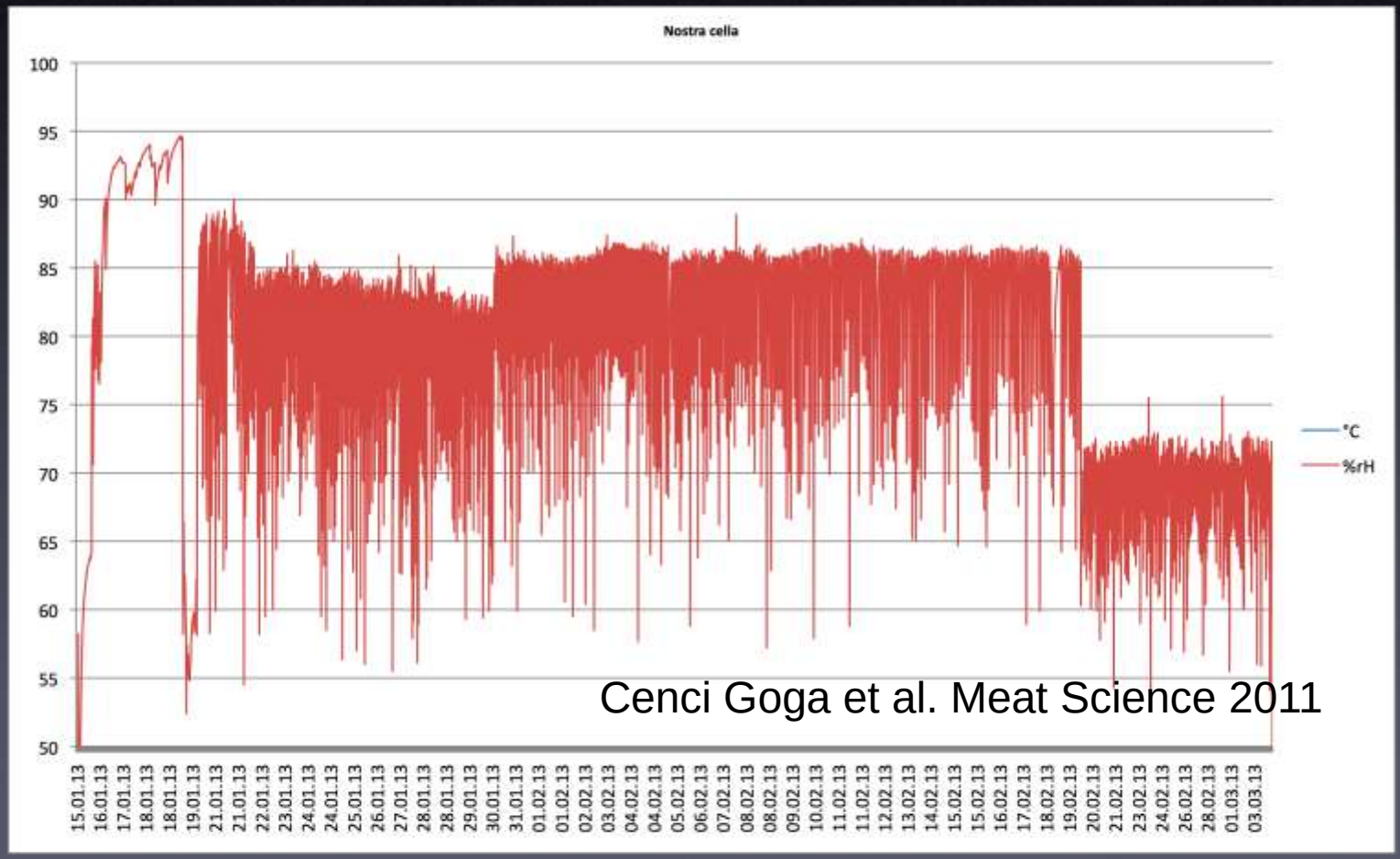
- The list of known mutagenic chemicals is very long. The Environmental Mutagen Information Center database
- www.nlm.nih.gov/pubs/factsheets/emicfs.html
- contains over 20 000 citations to literature on agents that have been tested for mutagenic activity.

Una nuova sfida per l'industria

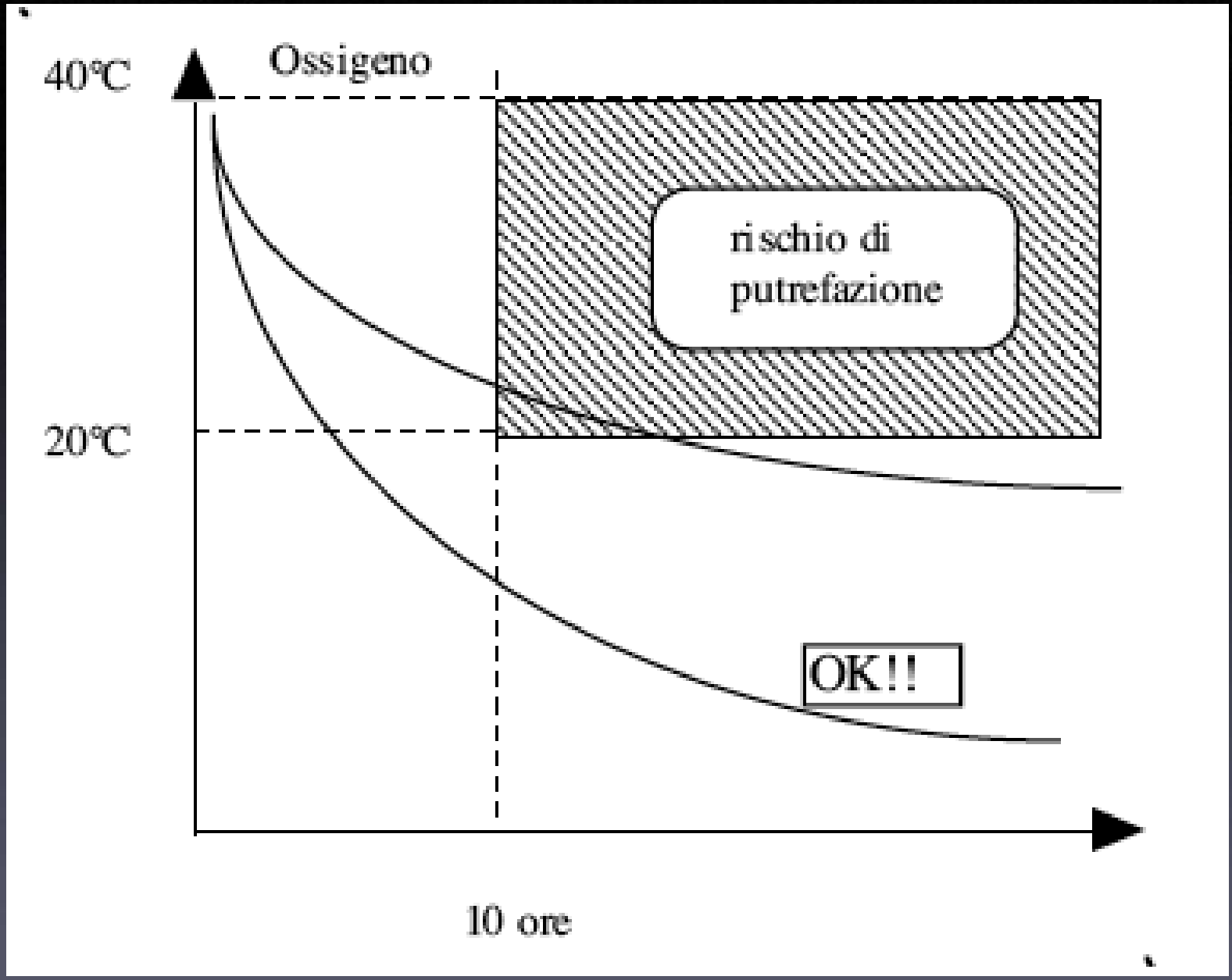


Cenci Goga et al. Meat Science 2008

Una nuova sfida per l'industria



Cenci Goga et al. Meat Science 2011


40°C
Ossigeno
rischio di
putrefazione
20°C
OK!!
10 ore

Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect
Meat Science 78 (2008) 381–390
MEAT SCIENCE
www.elsevier.com/locate/meatsci

Use of starter cultures of dairy origin in the production of *Salame nostrano*, an Italian dry-cured sausage

B.T. Cenci-Goga *, D. Ranucci, D. Miraglia, A. Cioffi

Dipartimento di Scienze Biopatologiche, Laboratorio di Ispezione degli Alimenti di Origine Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia, 06126 Perugia, Italy

Received 14 January 2007; received in revised form 5 June 2007; accepted 2 July 2007

Meat Science 90 (2012) 599–606

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

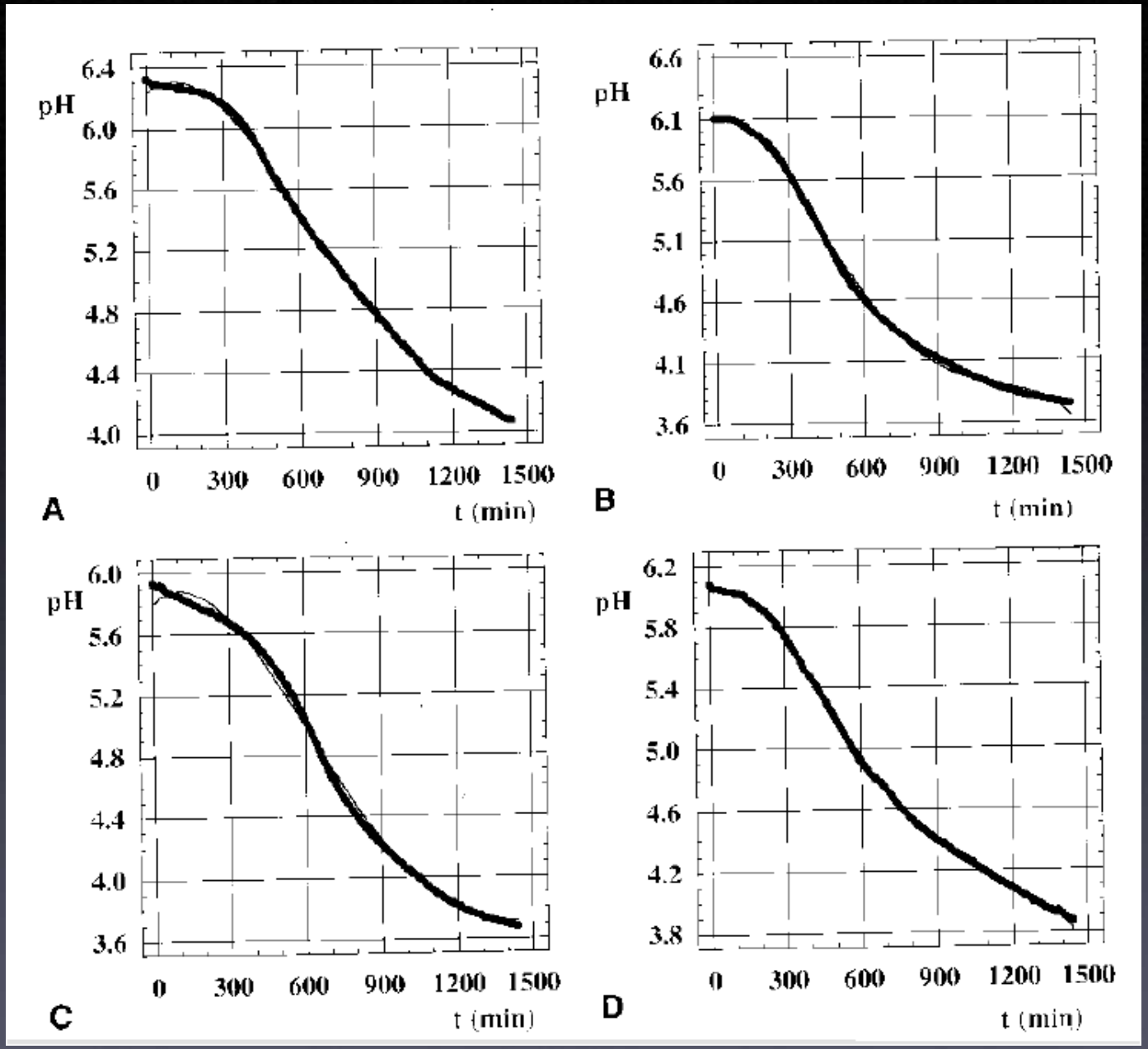
Meat Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/meatsci

Effect of selected dairy starter cultures on microbiological, chemical and sensory characteristics of swine and venison (*Dama dama*) nitrite-free dry-cured sausages

B.T. Cenci-Goga [a,*], P.V. Rossitto [b], P. Sechi [a], S. Parmegiani [a], V. Cambiotti [a], J.S. Cullor [b]

[a] Dipartimento di Scienze Biopatologiche, Laboratorio di Ispezione degli Alimenti di Origine Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia, 06126 Perugia, Italy
[b] Veterinary Medicine Teaching and Research Center, UC Davis, School of Veterinary Medicine, 18830 Road 112, Tulare, CA 93274, USA



Cenci Goga et al. Meat Science 2013, in press

- As chemical mutagens elicit deleterious effects on living organisms at extremely low concentrations, their detection in natural habitats, at levels that can be dangerous for animals or humans, may be difficult and complicated. Chemical methods for detection of mutagenic compounds are expensive and time consuming.

- As there are hundreds of different mutagenic chemicals, it is a problem when performing a quick and preliminary assay to determine mutagenic contamination in the tested environmental sample. Biological assays may be an alternative to chemical analysis when detecting the presence of mutagenic compounds in the environment. Although no currently available biological test can provide detailed and precise information about the chemical nature of detected mutagens, such tests provide a possibility to answer the question whether examined samples contain mutagens at levels potentially dangerous for organisms.

- Microbiological mutagenicity tests seem to be very useful tools for such detection, among them the Ames test, more than 30 years after the publication of the original paper (Ames et al., 1975) is still one of the best known and most widely used in-vitro test system to detect mutagenic effects of chemicals.

- Nel 1988 un articolo di Heddle trattò l'argomento in questi termini: "*I shall deal with the data as if rats rather than people were doing the testing and were using the mouse bioassay and the STT*

- STT: short term test, cioè prove a breve termine.

- Ipotizzò cioè di determinare quale predizione potessero ottenere per loro stessi i ratti nel condurre esperimenti sui topi. Da questo punto di vista la cancerogenesi nei topi, che noi conosciamo, permette di avere la stima di quella nei ratti, nota anche essa, e dalla concordanza fra le due è possibile farsi un idea della bontà di queste prove nel rivelare i cancerogeni per l'uomo.

- Ebbene, *dal punto di vista del ratto* i test condotti sui topi danno i seguenti risultati: sono identificati correttamente il 63% dei cancerogeni e 79% dei non cancerogeni per i ratti, ma c'è il 37% di falsi negativi e il 21% di falsi positivi. "*An intelligent rat might be less than satisfied with this result*" (Heddle, 1988).

What is a mutation?

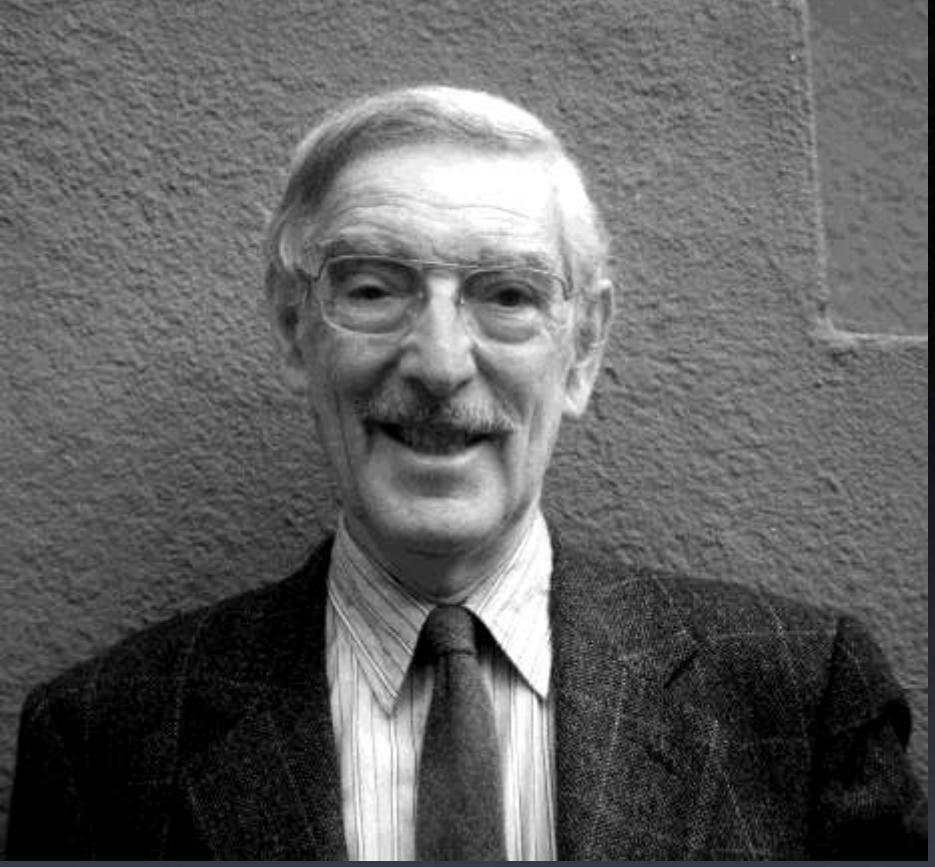
- We can consider a mutation any stable and hereditary modification to genetic heritage. Mutations arise by specific DNA damaging events, such as a compound's covalent binding to specific bases, intercalation, or both.

What kind of mutations do STT detect?

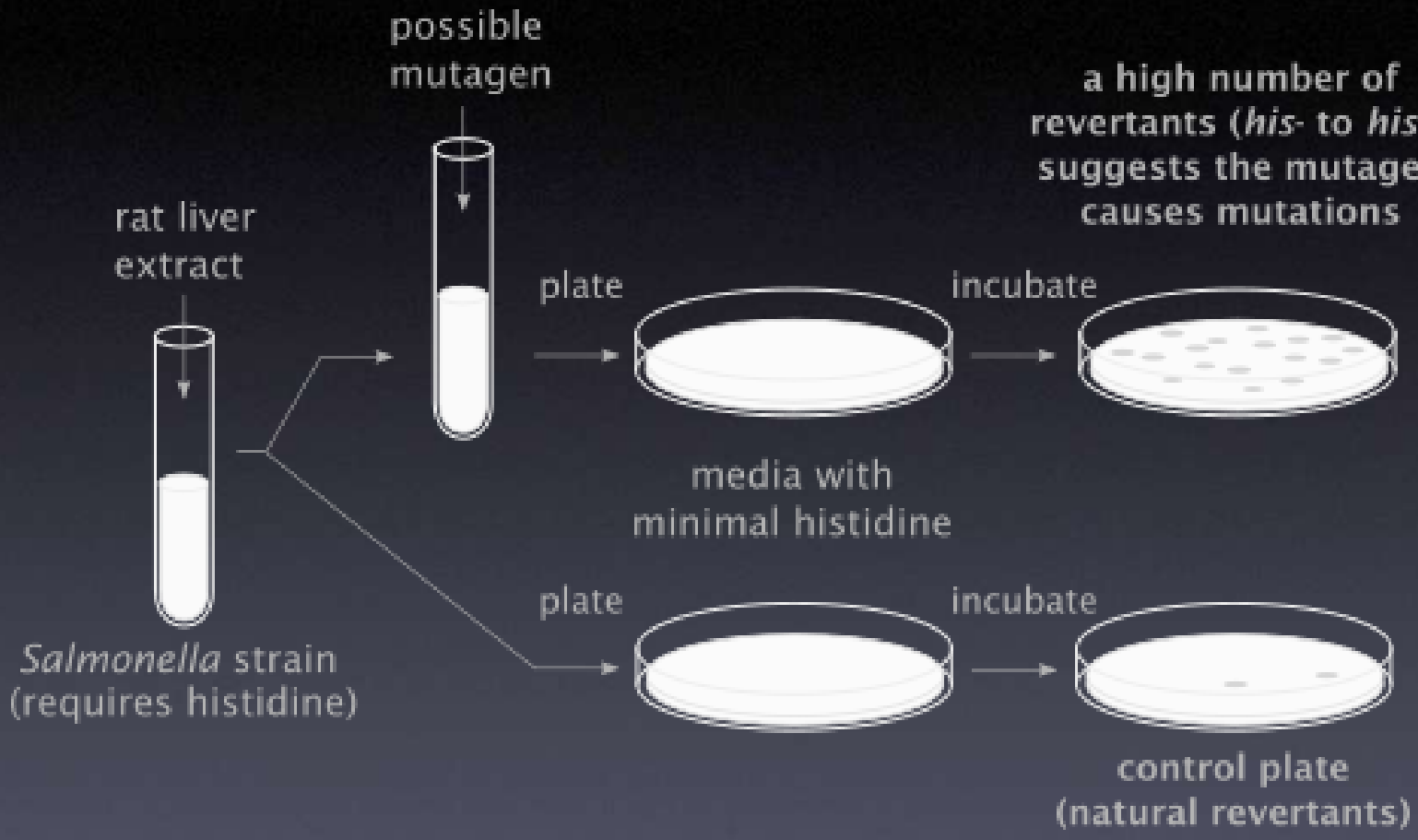
- Since bacteria have only one chromosome and their reproduction is not a real mitosis, they can't be used to detect the mutagenic activity due to compounds that cause chromosomal rearrangement (i.e. translocation or insertion) but only for point gene mutation.

Tester strains

histidine mutation	kind of mutation	strain	other mutations
hisG46	base-pair subst.	TA100 TA1535	rfa, uvrB, R+ rfa, uvrB, R-
hisD3052	frameshift	TA98 TA1538	rfa, uvrB, R+ rfa, uvrB, R-
hisD6610	frameshift	TA97	rfa, uvrB, R+
hisG428	base-pair subst.	TA102	rfa, R+



“… contrarian in the hysteria over tiny traces of chemicals that may or may not cause cancer…
… if you have thousands of hypothetical risks that you are supposed to pay attention to, that completely drives out the major risks you should be aware of”


possible
mutagen
a high number of
revertants (*his-* to *his+*)
suggests the mutagen
causes mutations
rat liver
extract
plate
incubate
media with
minimal histidine
plate
incubate
Salmonella strain
(requires histidine)
control plate
(natural revertants)

The mechanism

- With this aberration, the strains cannot survive on minimal media without histidine supplementation. Restoration of the deletion by a (+1) insertion (reverse mutation or back mutation) will restore growth potential.

- In a bacterial population a small number of bacteria can, by mutation, recover the ability of growing in the absence of histidine. The number of revertants (bacteria that have recovered the ability of growing in the absence of histidine) is increased by a treatment with mutagenic compounds.

The test

- For the assay, the compound to be tested, the bacterial tester strain, and, when required, the metabolizing system, are combined directly onto a petri dish containing minimal media. Between 10^8-10^9 log-phase bacteria cells are applied per dish and the number of bacteria reverted back to histidine independence is measured by counting the colonies on the plate after incubation at 37° C for 48 hr.

Tester strains

histidine mutation	kind of mutation	strain	other mutations
hisG46	base-pair subst.	TA100 TA1535	rfa, uvrB, R+ rfa, uvrB, R-
hisD3052	frameshift	TA98 TA1538	rfa, uvrB, R+ rfa, uvrB, R-
hisD6610	frameshift	TA97	rfa, uvrB, R+
hisG428	base-pair subst.	TA102	rfa, R+

- TA 1535 (TA100 r+): **nitrosamines**, epoxides, alchilaluri, alchilating agents
- TA1538 (TA98 r+): aromatic amines, policyclic hydrocarbons, mutagens such as 2-nitrosofluorene and daunomycin
- TA1537 (TA97): acridinic derivatives
- TA102: formaldehyde, glyoxal, various hydroperoxides, bleomycin, phenylhydrazine, X rays, UV lights, streptonigrin, and cross-linking agents such as psoralens and mitomycin C

- **The intake of mutagens in the regular diet may exceed by far the amount taken in from industrial sources**. Man consumes about 10 tons (dry weight) of food by the age of 50. It is claimed that today's market may offer 10,000 food products that are subjected to heating and cooking processes, pH changes and the addition (intentional or incidental) of food additives, any of which could enhance or reduce mutagenic activity. Food-related genotoxins are important because of the population exposed and because habit or custom lead to the frequent intake of certain foods.

- Food systems are complex colloidal mixtures of low-molecular-weight compounds, polymers such as proteins, protein-lipid complexes and cell fragments. Mutagens in the food system may be absorbed on the polymers or trapped in the particulate matter. This presents problems in the testing of food products for mutagenic activity, notably in administering the food component to the test system, particularly in in-vitro assay systems

- However, in vitro short-term mutagenicity assays have revealed that a number of naturally occurring constituents of foods and of compounds formed during processing are mutagenic. Flavonoids, furans and some mycotoxins are among the naturally occurring constituents that have been shown to be mutagenic. Mutagens have also been found in certain classes of food contaminants (e.g. pesticides, packaging components, solvents).

- Ideally, testing for possible mutagenic effects requires in vivo studies, but at the present time, in vitro tests provide the only practical means of screening for mutagens in the large variety of food consumed and of studying factors that modify the mutagenic activity of food constituents. Such tests may also be used to assess how food processing methods may be modified to reduce the generation of mutagens and how a specific environmental contaminant can be traced.

- Il rischio collegato all'assunzione di sostanze mutagene va valutato in rapporto ai benefici derivanti dal consumo di alimenti in cui essi sono contenuti. Per fare ciò devono essere condotte indagini di routine qualitative e quantitative per ottenere stime realistiche dell'esposizione alle sostanze genotossiche. Inoltre, le valutazioni tossicologiche vanno intensificate per l'esatta valutazione della tossicità. Questi due fattori (esposizione e grado di tossicità) possono quindi essere utilizzati per determinare i rischi reali

- C'è, però un aspetto importante: il cibo non è solamente un *carburante metabolico*, ma considerazioni fisiologiche, psicologiche, sociali, culturali ed estetiche ne determinano scelta e creano abitudini. A volte, pertanto, il beneficio di consumare alcuni alimenti può essere più importante della valutazione del rischio.