

# Een ingrijpende herziening van de risico analyse van chemische producten is dringend noodzakelijk

**Henk A. Tennekes**

Experimental Toxicology Services (ETS) Nederland BV, Frankensteeg 4, 7201 KN Zutphen

Het Paracelsus paradigma *dosis sola facit venenum* (alleen de hoeveelheid maakt het vergif) vormt nog steeds de basis voor de beoordeling van risico's van chemische producten. De risico analyse gaat er van uit dat - met uitzondering van genotoxiciteit - voor vrijwel alle potentiële risico's van chemische producten drempelwaarden kunnen worden bepaald waar beneden geen giftige werking meer optreedt. Deze benadering zal naar mijn overtuiging ooit te boek staan als één van de grootste dwalingen in de toxicologie omdat onvoldoende rekening wordt gehouden met de cumulatieve toxiciteit van sommige giftige stoffen.

Al in de jaren 1940 kwamen de farmacoloog Hermann Druckrey en de wiskundige Karl Küpfmüller met theoretische benaderingen van dosis-werkingsrelaties tot de conclusie dat de factor tijd een bepalende rol bij de werking van giftige stoffen kan spelen [1]. Hun uitgangspunt was de nu algemeen geaccepteerde visie dat de farmacologische of toxische werking van een stof tot stand komt door interactie met (binding aan) een specifieke receptor. Navolgend wordt beschreven hoe zij konden aantonen dat onomkeerbare interacties leiden tot een werking die zowel van de dosis als ook van de tijd afhankelijk is:

Noem de concentratie van de stof op de plek van interactie met de specifieke receptor  $C$ , de beginconcentratie van vrije specifieke receptoren  $R_0$ , en de concentratie van gebonden receptoren  $C_R$ , dan wordt de snelheid van de receptorbinding (associatie) beschreven door

$$K (R_0 - C_R) C \quad (1)$$

waarbij  $K$  een reactieconstante is. De snelheid van dissociatie van gebonden receptoren wordt beschreven door

$$C_R / T_R \quad (2)$$

waarbij  $T_R$  een tijdsconstante is. De snelheid waarmee de concentratie van gebonden receptoren verandert wordt beschreven door het verschil van de snelheid van associatie en dissociatie

$$dC_R / dt = K (R_0 - C_R) C - C_R / T_R \quad (3)$$

Neem nu aan dat de receptorbinding onomkeerbaar is en  $T_R \rightarrow \infty$ , dan wordt vergelijking (3) vereenvoudigd tot

$$dC_R / dt = K (R_0 - C_R) C \quad (4)$$

Neem verder aan dat tot het moment waarop de werking optreedt  $C_R \ll R_0$ , en  $R_0$  dus praktisch constant blijft, dan kunnen we verder vereenvoudigen tot

$$dC_R / dt = K R_0 C \quad (5)$$

Neem nu aan dat tijdens de studie met een constante dosis werd gewerkt en diengevolge  $C$  ook zo goed als constant bleef, dan levert integratie de volgende vergelijking op

$$C_R = K R_0 C t \quad (6)$$

Vergelijking (6) geeft aan dat bij een onomkeerbare receptorbinding de concentratie van gebonden receptoren  $C_R$  bepaald wordt door het product van de concentratie van het gif  $C$  en de blootstellingsduur  $t$ . Deze dosis-werkingsrelatie staat bekend als de regel van Haber [2], genoemd naar de Duitse chemicus en Nobelprijswinnaar Fritz Haber, die een belangrijke rol heeft gespeeld bij de inzet van gifgas in de Eerste Wereldoorlog. Haber gebruikte het  $c.t$

**product** om de giftigheid van de stof te bepalen: hoe kleiner het c.t product, hoe giftiger de stof.

De regel van Haber voert het Paracelsus paradigma *ad absurdum*. Bij vrijwel onomkeerbare receptorbindingen wordt de giftigheid van een stof niet alleen bepaald door de dosis, maar ook door de tijd. Er is dan sprake van cumulatieve toxiciteit. Mens en milieu staan voortdurend bloot aan lage concentraties van talloze gifstoffen, en wie zegt dat cumulatieve toxiciteit en stapelingseffecten kunnen worden uitgesloten?

Druckrey en Küpfmüller gingen bij hun theoretische benaderingen van dosis-werkingsrelaties nog een stap verder. Bij onomkeerbare receptor bindingen wordt de concentratie van gebonden receptoren, zoals gezien, bepaald door de integraal van gifconcentratie over de tijd

$$C_R \sim \int C dt \quad (7)$$

Als nu ook het effect **E** van de receptorbinding onomkeerbaar is wordt de werking afhankelijk van de integraal van de concentratie van gebonden receptoren over de tijd

$$E \sim \int C_R dt \quad (8)$$

Als vergelijkingen (7) en (8) worden gecombineerd wordt duidelijk dat onder bepaalde voorwaarden (onomkeerbare receptorbinding en een onomkeerbaar effect) het effect bepaald wordt door de dubbele integraal van gifconcentratie over de tijd waardoor de tijd de werking gaat versterken.

$$E \sim \iint C dt \quad (9)$$

Deze verschillende vormen van dosis-werkingsrelaties worden geïllustreerd in figuur 1.

Alleen als de receptorbinding snel reversibel is wordt de werking enkel en alleen bepaald door de gifconcentratie en gaat het Paracelsus paradigma op. Bij langzaam reversibele

receptorbindingen wordt de werking echter afhankelijk van de tijd en in extreme gevallen versterkt de tijd zelfs de werking van een gif .

Druckrey en zijn medewerkers hebben in de daaropvolgende jaren deze theoretische benaderingen van dosis-werkingsrelaties gevalideerd met kankerverwekkende stoffen zoals diethylnitrosamine [3] en 4-dimethylaminostilbeen [4] . Zij toonden aan dat de werking van deze stoffen versterkt wordt door de tijd, d.w.z. dat de voor de werking noodzakelijke hoeveelheid gif met de tijd steeds geringer wordt. De dosis-werkingsrelatie van zulke stoffen wordt beschreven door wat nu bekend staat als de Druckrey-Küpfmüller vergelijking:

$$c \cdot t^n = \text{constant} \quad (10)$$

waarbij  $t$  de gemiddelde tumor inductietijd en de exponent  $n \geq 1$  de versterkende werking van de tijd aangeeft.

De moleculaire biologie heeft de theoretische benaderingen van Druckrey en Küpfmüller volledig bevestigd. Carcinogene stoffen of hun afbraakproducten binden zich covalent aan het DNA die kunnen leiden tot gen mutaties die de integriteit van het genoom aantasten [5]. Zowel receptor binding als het effect van de receptorbinding zijn onomkeerbaar. Voor dergelijke werkingen bestaat in principe geen drempelwaarde en blootstelling dient zo mogelijk te worden vermeden.

Alleen rijst de vraag of alle andere risico's van chemische producten met het Paracelsus paradigma en de benoeming van drempelwaarden mogen worden benaderd. De theoretische benaderingen van dosis-werkingsrelaties van Druckrey en Küpfmüller zijn niet alleen van toepassing op genotoxische carcinogenen, maar op *alle stoffen die onomkeerbare interacties met specifieke receptoren aangaan*. En die blijken er wel degelijk te zijn. De toxiciteit van een groot aantal stoffen, waaronder organofosfaten en neonicotinoïde insecticiden, wordt in verschillende testmodellen ook beschreven door de regel van Haber (6) of de Druckrey-

Küpfmüller vergelijking (10) [6-8]. Ook hier is er sprake van vrijwel onomkeerbare binding aan specifieke receptoren, zoals geïllustreerd in figuur 2. Als dergelijke stoffen worden benaderd met het Paracelsus paradigma komt het tot onderschatting van risico's omdat de werking afhankelijk is van de tijd en drempelwaarden niet definieerbaar zijn.

Dergelijke onderschattingen van risico's kunnen ernstige gevolgen hebben voor mens en milieu. Bij het gebruik van het neonicotinoïde insecticide imidacloprid bestaat een hoog uit- en afspoelingsgevaar en sinds 2004 worden hoge imidacloprid concentraties gemeten in het oppervlaktewater van gebieden met intensieve landbouw. De imidacloprid concentraties in het oppervlaktewater correleren met achteruitgang van ongewervelde dieren en insectivore vogelsoorten [9-11]. Dit zijn duidelijke aanwijzingen dat neonicotinoïden een breuk in de voedselketen kunnen veroorzaken. Maar de bezorgdheid neemt ook toe over potentiële effecten van bestrijdingsmiddelen op de gezondheid van de mens. Er zijn aanwijzingen dat neurologische afwijkingen bij jonge kinderen het gevolg kunnen zijn van prenatale blootstelling van de zich ontwikkelende hersenen aan organofosfaten [12-15]. Het is dus hoog tijd stoffen met tijdsafhankelijke werking te identificeren en veel strenger te beoordelen dan tot nu het geval is geweest.

## Bronvermeldingen

1. Druckrey, H., Kupfmüller, K. (1949). Dosis und Wirkung. Beiträge zur theoretischen Pharmakologie. Editio Cantor GmbH, Freiburg im Breisgau.
2. Haber, F. (1924). Zur Geschichte des Gaskrieges. In Fünf Vorträge aus den Jahren 1920-1923, pp. 76-92. Julius Springer, Berlin
3. Druckrey, H., Schildbach, A., Schmaehl, D., Preussmann, R., Ivankovic, S. (1963). Quantitative Analysis of the Carcinogenic Effect of Diethylnitrosamine. *Arzneimittelforschung* 13, 841-51
4. Druckrey, H., Dischler, W. (1963). Dosis-Wirkungsbeziehungen bei der Krebserzeugung durch 4-dimethylaminostilben bei Ratten. *Z Krebsforsch* 65, 272
5. Magee, P. N., Farber, E. (1962). Toxic liver injury and carcinogenesis. Methylation of rat-liver nucleic acids by dimethylnitrosamine in vivo. *Biochem J* 83, 114-24
6. Sánchez-Bayo, F. (2009). From simple toxicological models to prediction of toxic effects in time. *Ecotoxicology* 18, 343-354
7. Tennekes, H. A. (2010a). The significance of the Druckrey-Küpfmüller equation for risk assessment - The toxicity of neonicotinoid insecticides to arthropods is reinforced by exposure time. *Toxicology* 276:1-4.
8. Tennekes, H. A., Sánchez-Bayo, F. (2013) The molecular basis of simple relationships between exposure concentration and toxic effects with time. *Toxicology* 309:39-51.
9. Tennekes, H.A., 2010b. The Systemic Insecticides: A Disaster in the Making, ETS Nederland BV, Zutphen. <http://www.disasterinthemaking.com/>.
10. Van Dijk, T. C., Van Staaldouin, M. A., Van der Sluijs, J. P. (2013) Macro-Invertebrate Decline in Surface Water Polluted with Imidacloprid. *PLoS ONE* 8(5): e62374. doi:10.1371/journal.pone.0062374

11. Hallmann C.A., Foppen, R.P.B., van Turnhout, C. A. M., de Kroon, H., Jongejans, E. (2014) Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations. *Nature* 511:341-3.
12. Bouchard, M.F., Chevrier, J., Harley, K.G. , Kogut, K. et al. (2011) Prenatal Exposure to Organophosphate Pesticides and IQ in 7-Year-Old Children *Environ Health Perspect.* 119(8): 1189–1195
13. Rauh, V., Arunajadai, S., Horton, M., Perera, F. et al. (2011) Seven-Year Neurodevelopmental Scores and Prenatal Exposure to Chlorpyrifos, a Common Agricultural Pesticide. *Environ Health Perspect.* 119(8): 1196–1201
14. Engel, S. M., Wetmur, J., Chen, J., Zhu, C. et al. (2011) Prenatal Exposure to Organophosphates, Paraoxonase 1, and Cognitive Development in Childhood. *Environ Health Perspect.* 119(8): 1182–1188
15. Rauh, V.A., Garfinkel, R., Perera, F.P., Andrews, H.F., Hoepner, L., Barr, D.B., Whitehead, R., Tang, D., Whyatt, R.W. (2006) Impact of Prenatal Chlorpyrifos Exposure on Neurodevelopment in the First 3 Years of Life Among Inner-City Children. *Pediatrics* 118, 1845 -1859

## **Legenda**

### **Figuur 1**

Dosis-werkingsrelaties volgens de theoretische benaderingen van Druckrey en Küpfmüller

(zie tekst).  $C$  = gif concentratie op de plek van interactie met specifieke receptoren,

$C_R$  = concentratie van gebonden receptoren bij langzaam reversibele receptorbinding,

waardoor de werking afhankelijk wordt van de tijd en een cumulatieve toxiciteit ontstaat,  $E$  = effect

### **Figuur 2.**

Nicotinerge neurotransmissie door acetylcholine producerende zenuwcellen. De

prikkeloverdracht vindt plaats door afgifte van acetylcholine dat zich vervolgens bindt aan de

acetylcholine receptor van een ander neuron. Deze receptorbinding leidt tot prikkeloverdracht,

waarna het enzym acetylcholinesterase het gebonden acetylcholine hydrolyseert tot choline en

azijnzuur dat door de zenuwcel weer wordt opgenomen om opnieuw acetylcholine voor de

volgende prikkeloverdracht te produceren. Deze acetylcholine kringloop kan worden

onderbroken door onomkeerbare binding aan (en inactivatie van) acetylcholinesterase van

organofosfaten of door vrijwel onomkeerbare binding aan de acetylcholine receptor van

neonicotinoïde insecticiden.