De som der delen

Rationele risicoschatting van milieucontaminanten



Prof. dr. A.J. Murk

Inaugurele rede bij de aanvaarding van het ambt
van persoonlijk hoogleraar Milieutoxicologie
aan Wageningen Universiteit op 4 september 2008

WAGENINGEN UNIVERSITEIT
WAGENINGEN UR

De som der delen

Rationele risicoschatting van milieucontaminanten

Prof. dr. A.J. Murk

Inaugurele rede bij de aanvaarding van het ambt van persoonlijk hoogleraar Milieutoxicologie aan Wageningen Universiteit op 4 september 2008

WAGENINGEN UNIVERSITEIT
WAGENINGEN UR

De som der delen

Rationele risicoschatting van milieucontaminanten

Mijnheer de Rector Magnificus, lieve familie en vrienden en waarde collega's.

De komende drie kwartier zal ik het hebben over toxische stoffen, die via het milieu mens en dier kunnen bereiken en daar sluipende effecten kunnen veroorzaken.

Het thema van mijn rede is '*DE SOM DER DELEN*' en dit beperkt zich niet tot de risicoschatting van milieucontaminanten. Dat 'de som der delen' ook meerwaarde oplevert in het onderwijs en onderzoek, wil ik illustreren met voorbeelden uit de praktijk.

Na lang beraad heb ik ervoor gekozen om mijn rede in het Nederlands te houden, met hier en daar een aanvulling in het Engels en de dia's in het Engels te presenteren, zodat de niet-Nederlandse toehoorders het verhaal op hoofdlijnen ook kunnen volgen.

Dear students and colleagues present. As I just explained in Dutch: it was hard to choose in what language to present my inaugural speech. Finally I decided to present English slides and speech in Dutch, because several of you understand Dutch a bit and your background in Toxicology will enable you to understand the message from the slides. And this does not hold the other way round. Every now and then I will give some additional remarks in English to help you understand the contents of the speech.

Geachte aanwezigen, tegenwoordig zijn er in de Westerse wereld nauwelijks nog episodes waarin dieren massaal sterven aan toxische stoffen. Ik herinner mij echter nog uit mijn lagere schoolperiode dat er met enige regelmaat flinke hoeveelheden dode vissen in de rivier de Rijn dreven. Een zeer grote ramp voor de Rijn vond plaats in 1986. De chemicaliënopslag van Sandoz, bij Basel in Zwitserland, was in brand gevlogen en een flink deel van de 1300 ton chemische stoffen, bestaande uit minstens 90 verschillende chemicaliën, waaronder 20 soorten bestrijdingsmiddelen, kwam terecht in de atmosfeer en in de Rijn. Na het ongeluk was het

ecosysyteem in de rivier over honderden kilometers zwaar beschadigd. De dieren in de waterbodem over een afstand van ± 400 km. waren allemaal dood. Naar schatting 220 ton dode paling werd uit de rivier geschept.





Figuur 1 Dode palingen uit de Rijn na de brand bij Sandoz (Bron: Der Rhein rot, die Fische tot - 20 Jahre nach dem Sandoz-Brand; www.wrq.eawag.ch/media/2006/)

In dit soort situaties is voor iedereen het verband tussen de gevonden dode dieren en de gifstoffen duidelijk zichtbaar, hoewel daarmee nog niet bekend is welke stoffen de massale sterfte hebben veroorzaakt. Overigens is het interessant dat bij het milieuonderzoek dat na het ongeluk werd uitgevoerd in de Rijn, ook gifstoffen in het sediment werden aangetroffen die nooit bij Sandoz aanwezig waren geweest. Kennelijk vonden sommige firma's het een uitgelezen moment om van wat chemisch afval af te komen.

Tegenwoordig zijn de effecten van stoffen niet meer zo overduidelijk, met als gevolg dat mensen gemakkelijker denken dat de stoffenproblematiek een 'non-issue' is omdat het probleem over zou zijn.

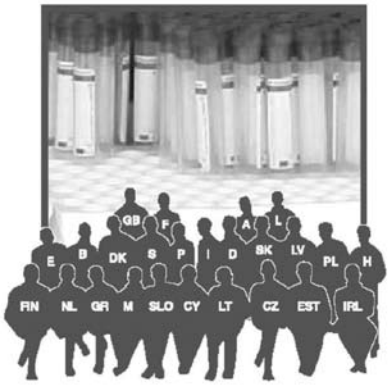
Het zal u niet verbazen dat ik deze mening niet deel.





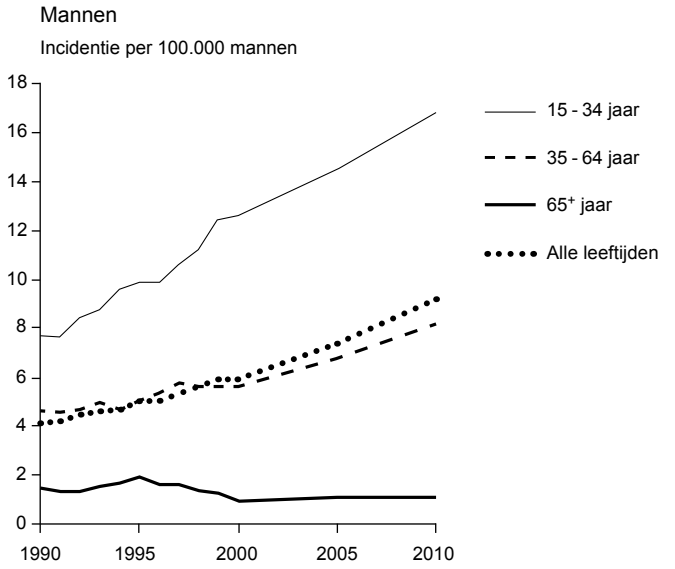
GREENPEACE

WWF DETOX CAMPAIGN



Figuur 2 Onderzoeken naar toxische stoffen in menselijk bloed door Greenpeace en WNF

Vooral stoffen die goed oplosbaar zijn in vet en bovendien slecht afbreekbaar, zijn tegenwoordig nog steeds alom aanwezig in het milieu en in mens en dier. Niet zo lang geleden hebben onderzoeken op initiatief van Greenpeace en het Wereld-natuurfonds weer laten zien dat zowel in het bloed van Europese ministers als in het bloed van gewone Nederlanders toxische stoffen aanwezig zijn. Een flink deel van deze stoffen krijgen wij binnen via onze voedselketen en die begint in het milieu. Maar wat moeten we hier nu van denken? Is het erg dat deze stoffen in ons lichaam voorkomen? En wat te denken van de vaak nog hogere concentraties aanwezig in het lichaam van dieren in het wild, met een gespecialiseerd dieet van bijvoorbeeld alleen vis of alleen zeehonden?



Figuur 3 Toegenomen incidentie teelbalkanker per 100.000 mannen in NL. Bron Nederlandse kankerregistratie 2004 (NKR, 2004)

Zou het zo kunnen zijn dat de sterke toename van het voorkomen van hormoongerelateerde kankers mede het gevolg is van deze stoffen in ons lichaam? In deze figuur ziet u de toename van het aantal gevallen van zaadbalkanker per 100.000 Nederlandse mannen per jaar. Ook het aantal per 100.000 vrouwen met borstkanker blijft toenemen. Een deel van deze toename is toe te schrijven aan de langere overleving, dankzij verbeterde behandelingsmogelijkheden.

Het is zeker dat veranderingen in onze levensstijl bijdragen aan de toegenomen kankerincidenties, maar op basis van de bekende risicofactoren (zoals familiaire kankergenen, alcoholgebruik, een vet dieet en lichamelijke inactiviteit) is de toename in het voorkomen van kanker nog steeds niet volledig te verklaren.

Toxische stoffen worden er ook van verdacht een rol te spelen in de teruglopende aanwas van diverse soorten vis en voorheen is aangetoond dat zeehonden

in de Waddenzee gevoeliger waren geworden voor ziekten door de aanwezigheid van grote hoeveelheden PCB's in hun lichaam. Alle reden dus om de in het lichaam aanwezige stoffen te wantrouwen.



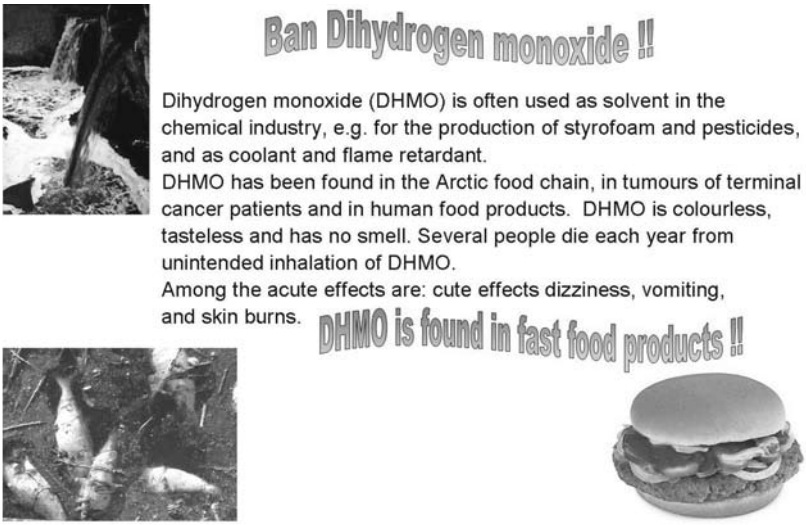
Figuur 4 Voorbeelden van onrustbarende verhalen van giftige stoffen voor de mens

Regelmatig verschijnen er verontrustende berichten in de pers, maar ook via bijvoorbeeld

e-mailberichten, over risico's van stoffen uit ons dagelijks leven. Zo zouden er stoffen in deodorant zitten die borstkanker kunnen veroorzaken; wordt er gewaarschuwd voor zenuwgiffen op Griekse druiven; zijn er kankerverwekkende nitrosamines in de lucht boven kunstgras gevonden; zitten er dioxines - waar ze ook Yushchenko mee hebben proberen te vergiftigen - in zuivelproducten; wordt er

in matrassen, die in zeecontainers uit Azië komen, het zeer giftige methylbromide gevonden; zitten er soms te hoge concentraties van kankerverwekkende schimmeltoxinen in pindakaas of op pistachenootjes en wordt er gewaarschuwd voor hormoonverstorende weekmakers in kinderspeelgoed. En dit zijn nog maar enkele van de vele voorbeelden van melding van de aanwezigheid van toxische stoffen in onze leefomgeving en onze voeding.

Dus dat er meetbare hoeveelheden slecht afbreekbare stoffen in je bloed worden aangetroffen is natuurlijk geen fijn idee, vooral niet als deze in verband worden gebracht met ernstige nadelige gezondheidseffecten zoals kanker, onvruchtbaarheid en leer- en gedragsproblemen.



Figuur 5 Waarschuwingen voor de stof dihydrogen monoxide (DHMO)

Misschien hebben enkelen van u ook recent de e-mail ontvangen waarin wordt gewaarschuwd voor 'dihydrogen monoxide' (afgekort DHMO). In de pers wordt er nog niet veel aandacht aan besteed, maar deze stof wordt veelvuldig gebruikt als oplosmiddel in de chemische industrie, onder andere bij de bereiding van piep-

schuim en bestrijdingsmiddelen. Het wordt gebruikt als koelmiddel en vlamvertrager en is ook al aangetroffen in de Arctische voedselketen, in voedingsmiddelen, in tumorweefsel en in dode vissen. DHMO is kleurloos, geurloos en smaakloos en vele mensen sterven per jaar aan onopzettelijke inademing ervan. Acute effecten bij hoge blootstelling aan DHMO zijn o.a. duizeligheid, overgeven en elektrolytische onbalans. Ook kan het brandwonden veroorzaken. Het is dus niet verwonderlijk dat mensen ongerust worden van dit bericht.



Figuur 6 Waarom deze stoffen in ons, onze voeding en ons milieu zitten

Maar waarom zitten die stoffen eigenlijk allemaal in ons milieu, in onze voeding en in onszelf? Kunnen we ze niet gewoon verbieden?

Maar zo eenvoudig is dat niet. Onze huidige Westerse samenleving is namelijk zeer gesteld op luxe, mooie dingen en gemaksproducten en deze zijn grotendeels gebaseerd op moderne chemische technologie.

Uiteenlopende soorten chemische stoffen worden toegepast in bekende producten zoals: zonnebrand crème; brandwerende plafonds en stoffering; vrolijke T-shirts met opdruk; kleurrijk speelgoed; veilige auto's; medische hulpmiddelen; geneesmiddelen; persoonlijke verzorgingsproducten; gemakkelijke voedselverpakkingen; insectenwerende middelen; schoonmaakmiddelen; gecoat glas; brandblussers; isolatiemateriaal; verduurzaamd hout, etc. etc. Ons huidige moderne leven is ondenkbaar zonder al die vele duizenden stoffen.

Zeker in de begintijd van de chemische industrie waren mensen vooral enthousiast over de nieuwe verworvenheden. Als ze in de omgeving van een fabriek last van de rook uit de schoorsteen kregen werd de pijp gewoon hoger gemaakt volgens het adagium: '*The solution to pollution is dilution*', oftewel: 'de oplossing voor vervuiling is verdunning'. Het bestrijdingsmiddel DDT werd gezien als een gouden middel. Het was niet merkbaar giftig voor de gebruikers en hun vee, maar wel zeer effectief tegen insecten. Op een gegeven moment werden er vanuit vliegtuigen hele landbouwgebieden mee bespoten en zelfs complete meren, waarin hinderlijke muggenlarven leefden.



Figuur 7 De boeken van Rachel Carson en Theo Colborn maakten ook het grotere publiek bewust van risico's van giftige stoffen

Wat bijna niemand zich destijds realiseerde was dat veel van de bestrijdingsmiddelen en industrieel geproduceerde stoffen slecht afbreekbaar waren, zich ophoopten in voedselketens en daar sluipende effecten veroorzaakten. Pas toen in 1962 het boek 'Silent Spring' (oftewel Stille Lente), geschreven door de biologe en schrijfster Rachel Carson, uitkwam, drong het ook tot het grotere publiek door dat er iets helemaal mis aan het gaan was. De opgehoopte stoffen hadden hormoonverstorende effecten, met als gevolg dat o.a. vogeleieren een te dunne schaal kregen waardoor de broedende ouderdieren er doorheen zakten en de eieren kapot gingen. Het aantal roofvogels was daardoor dramatisch gedaald. Hierna volgde een periode met relatief veel toxicologisch onderzoek en een veel strakker milieubeleid en inmiddels is de eischaaldikte weer terug op de vooroorlogse waarden.

Ruim dertig jaar later, in 1996, was er weer een beroemd boek dat veel invloed had op de publieke bewustwording. Ook dit keer was het boek afkomstig van een schrijfster met een wetenschappelijke achtergrond: Theo Colborn. In haar boek 'Our Stolen Future' (Onze Gestolen Toekomst) beschrijft ze hoe hormoonverstorende stoffen kunnen leiden tot sluipende effecten zoals intersex bij vissen, vervrouwelijking bij mannelijke alligators, genitale afwijkingen bij jongetjes, verminderde spermakwaliteit bij mannen, enzovoort.

De erop volgende maatschappelijke onrust over deze zogenoemde 'Endocrine disruption' (endocriene verstoring) leidde o.a. in Amerika tot bijna paniekerige wetgeving en de verplichting tot het binnen een paar jaar onderzoeken van bijna 58.000 stoffen op hun hormoonverstorende werking. Hoewel ook wereldwijd veel geld is geïnvesteerd in onderzoek naar endocriene verstoring, blijft het nog steeds moeilijk om te zeggen wat nu precies het risico is van de huidige blootstelling aan hormoonverstorende stoffen.

Meestal is de berichtgeving in de media over risico's vanuit verschillende invalshoeken zeer verschillend, wat tot onzekerheid en bezorgdheid leidt bij mensen die niet bekend zijn met de principes van de risicobeoordeling van toxische stoffen. Bij sommige mensen leidt dit ertoe dat ze bang worden voor alles wat met chemische stoffen te maken heeft, anderen besluiten zich nergens meer wat van aan te trekken want 'het is toch allemaal ongezond'. Beide houdingen zijn onterecht en dus ongewenst. Beter is het een rationele risicoschatting te maken en op basis van de uitkomsten daarvan te handelen.

Hoe werkt die risicoschatting voor stoffen?

Risicoschatting is gebaseerd op 2 onderdelen: het bepalen van de mate van blootstelling en van de grens waarboven bepaalde effecten kunnen optreden.

Stoffen die in principe ernstige effecten kunnen geven, vormen geen risico als de blootstelling te gering is voor het veroorzaken van deze effecten.

Je kunt het vergelijken met het drinken van alcohol. Van alcohol kun je in coma raken, maar dan moet je wel 2 flessen wijn achter elkaar opdrinken. Dat staat gelijk aan ruim 150 g. pure alcohol. Drink je 5 glazen achter elkaar, dan kun je een alcohol vergiftiging oplopen en na 2 glazen wijn is je reactiesnelheid merkbaar verminderd. Dus het is terecht om te stellen dat je van alcohol in coma kunt raken, maar het gebeurt in de praktijk vrijwel nooit.

Overigens is dit niet bepaald iets nieuws, want al in de 16e eeuw heeft de arts Paracelsus bedacht dat eigenlijk alle stoffen in principe gif zijn, maar dat het alleen de dosis is die bepaalt of het ook een giftige uitwerking heeft. Paracelsus wordt dan ook gezien als de grondlegger van de moderne Toxicologie.



Figuur 8 Basis principe van risicoschatting

In het Engels bestaan er 2 woorden voor risico, namelijk *hazard* en *risk*. 'Hazard' is het theoretische risico dat een stof zou kunnen vormen, zonder dat bepaald wordt hoe waarschijnlijk het is dat dit effect optreedt. Dus hazards van alcohol zijn onder andere: verminderd reactievermogen, alcoholvergiftiging en coma.

'Risk' is het risico op een bepaald effect. En de Risk wordt bepaald op basis van het vergelijken van de werkelijke blootstelling aan een stof met de hoeveelheid die nodig is voor het veroorzaken van een bepaald effect. Als iemand dus 1 glas wijn drinkt, levert dat slechts een zeer gering risico op om in coma te raken.

In dit schema wordt dit basisprincipe van de risicoschatting uiteengezet. Wanneer een toxicoloog het risico van een stof wil bepalen is de eerste stap: het verzamelen van informatie over de stof. Dit onderdeel heet de 'hazard assessment' en betreft informatie over het gebruik van de stof, de routes waarlangs mens en milieu kunnen worden blootgesteld, de fysische en chemische eigenschappen en de nadelige effecten, die de stof zou kunnen hebben bij zeer hoge, maar ook bij lagere doses.

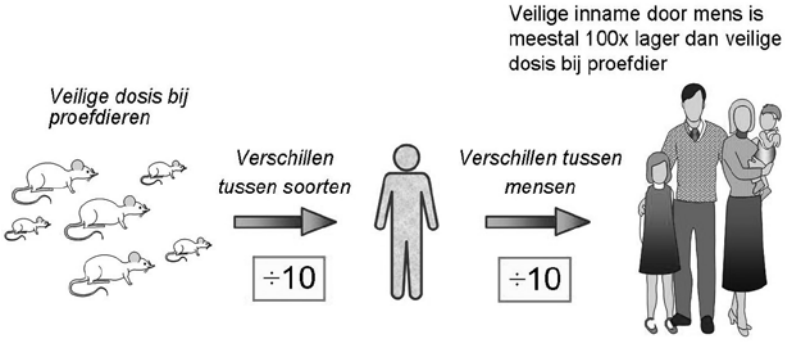
Vervolgens wordt de blootstelling bepaald. Dat gebeurt op basis van chemische analyses of de concentraties worden voorspeld met computermodellen. Kennis over de aanwezigheid van de stof is niet genoeg om te kunnen inschatten of een toxisch effect waarschijnlijk is. Daarvoor moet eerst bekend zijn hoeveel blootstelling nodig is om de effecten te krijgen die in de 'hazard assessment' al op een rij zijn gezet.

Uiteindelijk wordt bekeken in hoeverre de blootstelling hoger is dan de veilig geachte waarde. Als deze blootstelling bijvoorbeeld 100 keer of meer onder de veilige waarde ligt dan wordt er aangenomen dat er geen gezondheidsrisico van die stof is.

Maar hoe wordt de veilige waarde eigenlijk bepaald?

Het afleiden van een veilige grenswaarde gebeurt voor de mens op basis van proefdieronderzoek. Proefdieren worden in groepen ingedeeld die een hogere of lagere dosis van de stof toegediend krijgen. De hoogste dosis per kg. lichaamsgewicht die bij de proefdieren net geen effect geeft wordt vervolgens gedeeld door een factor 10 voor de vertaling van proefdier, bijvoorbeeld de rat, naar de mens en nog een keer gedeeld door 10 om rekening te houden met de verschillen tussen mensen.

Bij de risicoschatting wordt in principe altijd uitgegaan van de meest ongunstige situatie, dus de hoogst denkbare blootstelling en het eerst optredende effect, want als het dan nog veilig is loopt in principe niemand een risico.



Figuur 9 De veilige dosis voor mensen wordt bepaald op basis van proefdieronderzoek

Hoe bang moeten we nu zijn voor die stoffen die ik net noemde in de voorbeelden?

Terug naar de blootstellingen aan de stoffen waar ik eerder over sprak.

Stoffen in deodorant veroorzaken borstkanker!

De waarschuwing voor stoffen in deodorant die borstkanker kunnen veroorzaken is een HOAX of 'nepbericht'. Het is een typisch voorbeeld van de verwarring tussen hazard en risk van parabenen (ingrediënten die als conserveringsmiddelen aan veel cosmetica worden toegevoegd). Deze parabenen kunnen op cellen die in een fles gekweekt worden, een uitwerking hebben die vergelijkbaar is met oestrogenen en van oestrogenen is een verband met borstkanker bekend. De hoeveelheid parabenen in deodorant is echter veel te gering om in borstweefsel door te kunnen dringen en daar een effect te hebben, ook bij onthaarde oksels (KWF, 2008).

Dan de zenuwgiffen op Griekse druiven

Vooral in de jaren 2002-2004 werden residuen op druiven aangetroffen, die de maximale residu limiet (MRL) overschreden. De MRL komt tot stand op basis van

twee overwegingen: de bescherming van de volksgezondheid en goed landbouwkundig gebruik. In de praktijk betekent dit dat vele residulimieten op een lager niveau liggen dan op basis van toxicologische overwegingen nodig zou zijn. Bij de eerder geconstateerde overschrijdingen van een MRL, werd de toxicologisch acceptabele dagelijkse inname dan ook niet vaak overschreden. Sinds 2005 is het aantal overschrijdingen sterk afgenomen, vooral bij druiven uit Griekenland. De huidige overschrijdingen betreffen vooral bestrijdingsmiddelen die in Italië en Turkije zijn toegestaan, maar die in Nederland niet gebruikt of beoordeeld zijn, waardoor de norm in Nederland op 0 is gesteld. Wanneer het middel wordt aangetroffen is het dus altijd een overschrijding zonder dat het onveilig hoeft te zijn (VWA, 2008).

Toch wil ik op dit punt wel een kanttekening maken. De regelgeving kijkt naar individuele stoffen, terwijl ook bestrijdingsmiddelen vaak in combinaties voorkomen. We weten echter nog erg weinig over de mogelijke effecten van combinaties van bestrijdingsmiddelen. Verder onderzoek is dus zeker nog nodig voordat we met zekerheid kunnen zeggen dat blootstelling aan de mengsels niet tot extra gezondheidsrisico's zal leiden.

Is er een risico op kanker door het sporten op kunstgras met nitrosamines?

Het toeval wilde dat toen, naar aanleiding van een verontrustend krantenbericht, de vraag hierover bij mij binnenkwam, mijn zoontje de zaterdag erna op het bewuste sportveld moest voetballen. Met iets meer dan gemiddelde belangstelling heb ik mij toen in dit onderwerp verdiept. De kunstgrasvelden zijn ingestrooid met rubbergranulaat, dat gemaakt is van vermalen autobanden. Deze rubberkorreltjes beschermen de huid tegen verbranding bij 'sliden'. Nitrosamines kunnen inderdaad kankerverwekkend zijn. De eerste meting van nitrosamines in de lucht boven het kunstgras, in de kleine steekproef waar het krantenbericht op was gebaseerd, bleek echter fout. Later heeft het RIVM een uitgebreid onderzoek gedaan en geen nitrosamines aangetroffen. Zelfs in het laboratorium konden ze nauwelijks nitrosamines uit het materiaal vrijmaken (RIVM, 2007). Maar zelfs als de eerder genoemde concentraties aanwezig waren geweest, dan zouden deze niet tot een schadelijke blootstelling hebben geleid bij de sporters op het veld. Gebruik in zalen zou ik echter wel afraden, uit voorzorg voor de gezondheid van de mensen die elke dag in een dergelijk ruimte werken.

Dioxines in zuivelproducten

'Dioxines' is een verzamelterm voor een groep gevaarlijke stoffen die nooit bewust geproduceerd zijn, maar die ontstaan bij allerlei verbrandingsprocessen. Al bij een dosis van 0.1 nanogram dioxine per kg. lichaamsgewicht per dag zijn er bij apen effecten op de voortplanting, het leervermogen en het immuunsysteem geconstateerd. Een nanogram is een duizendste van een miljoenste gram, oftewel 10^{-9} gram. Op basis van deze resultaten en gebruik makend van extrapolatiefactoren, heeft de Gezondheidsraad een veilige waarde afgeleid van 1 picogram per kg. lichaamsgewicht per dag (Gezondheidsraad, 1996). Een picogram is zelfs maar een miljoenste van een miljoenste gram, oftewel 10^{-12} gram. Ondanks het verminderen van dioxinegehaltes in het milieu, en intensieve controles door de Voedsel en Waren Autoriteit (VWA), zitten mensen, afhankelijk van hun voedingspatroon, maar nauwelijks onder de veilige innamenorm. Belangrijk punt daarbij is dat de bijdragen van andere stoffen, zoals bepaalde PCB's, aan de dioxine-toxiciteit, nog steeds niet allemaal worden meegerekend.

Hoe gevaarlijk zijn nieuwe matrassen die in zeecontainers met methylbromide zijn behandeld?

Methylbromide is een zeer giftig gas, dat onder andere als bestrijdingsmiddel wordt gebruikt tegen insecten, die anders in zeecontainers uit andere werelddelen het land binnen zouden komen. Methylbromide en andere toegepaste gassen worden geabsorbeerd door diverse producten en dampen slechts langzaam uit, vooral uit schuimrubber. Een onderzoek uit 2005 van het RIVM wees bijvoorbeeld uit dat het maanden duurde voordat de helft van het methylbromide uit een matras uitgedampt was. Dat betekent dan ook dat de concentratie, afgezien van de eerste dagen, relatief laag zal zijn. Overigens zullen ook stoffen die tijdens het productieproces als bestanddeel of oplosmiddel worden gebruikt, zoals benzeen en tolueen, na het openen van de verpakking, binnenshuis uitdampen. Dit betekent dat het verstandig is om nieuwe matrassen en kussens eerst uit de verpakking te halen en goed te laten uitluchten vóór ingebruikname. Zeker als het gaat om matrassen van kleine kinderen, omdat zij een veel groter deel van een etmaal op hun matrasjes liggen. Het grootste gezondheidsrisico lopen overigens de mensen die aanwezig zijn bij het openen van de containers.

Er zitten inderdaad soms te hoge concentraties kankerverwekkende schimmeltoxinen in pindakaas of op pistachenootjes

De oorzaak ligt bij de veel voorkomende schimmel *Aspergillus flavus*, die zeer giftige aflatoxinen produceert, waar mensen en dieren al bij lage concentraties leverkanker van kunnen krijgen. Dankzij zeer strenge controle door de Voedsel en Waren Autoriteit van alle officieel geïmporteerde partijen noten en graanproducten, lopen Nederlandse consumenten geen gevaar. Vooral in landen met een warm en vochtig klimaat en een minder goede controle, zijn gezondheidsrisico's door aflatoxinen echter zeer reëel.



Figuur 10 Ftalaten kunnen irriterend zijn voor huid en slijmvliezen

Hoe gevaarlijk zijn hormoonverstorende weekmakers in kinderspeelgoed - en overigens ook in 'volwassen speelgoed' - gemaakt van zacht plastic?

De weekmakers, waar zo'n ophef over gemaakt is bij kinderspeelgoed, zoals scoubidou touwtjes, heten ftalaten. Deze stoffen zitten in veel zachte plastics, zoals vinyl, voedselverpakkingen en medische plastics. Zacht plastic kan gemakkelijk voor 30% uit ftalaten bestaan, maar deze stoffen kunnen alleen uit het buitenste

deel van het plastic vrijkomen. De opname van ftalaten is bij urenlang sabbelen op scoubidou touwtjes door schoolkinderen nog maar maximaal 10% van de acceptabele dagelijkse dosis. Voor zeer jonge kinderen is dat relatief meer omdat ze kleiner zijn en langer sabbelen. Daarom zijn ftalaten in hun speelgoed verboden. Ftalaten zijn overigens wel irriterend, zoals je aan de opdruk van ongewassen T-shirts kunt proeven en aan de voeten op deze foto kunt zien. Wanneer zacht plastic eerst goed met sop wordt afgewassen kan er echter veel minder vrijkomen.

En dan is daar nog de nieuwe waarschuwing voor de risico's van DHMO

In hoeverre verdient de stof DHMO prioriteit in het onderzoek en beleid? Ik zal u nu nog wat meer vertellen over dihydrogen monoxide.

Het staat ook bekend als.... water! En ja, ondanks het feit dat het een ingrediënt is van zure regen, wordt het nog steeds gedumpt in rivieren en oceanen.

Ik gaf dit voorbeeld om te laten zien hoe eenvoudig het is om zelfs een onschuldige stof als water af te schilderen als een serieuze bedreiging voor de gezondheid (Snopes, 2008).

This example was to demonstrate how easy it is to present even an innocent compound, such as water, as a serious health threat.

Om na te gaan wat er wel of niet waar is van de paniekerige waarschuwingen die ons regelmatig bereiken, zijn er eenvoudig, bijvoorbeeld via Internet, diverse betrouwbare bronnen te raadplegen (bijvoorbeeld ATSDR, 2008). De echt wetenschappelijke stukken zijn niet voor iedereen goed te begrijpen, maar vaak wordt er ook een uitleg gegeven voor mensen zonder toxicologische of medische achtergrond.

Het belangrijkst is om te beseffen dat er een groot verschil is tussen hazard en risk - in het Nederlands helaas allebei 'risico' genoemd. Naar mijn mening hoort basiskennis van de principes van de risicoschatting van stoffen thuis in het lespakket van iedere middelbare schoolleerling. Dit om mensen minder angstig en kwetsbaar te maken voor manipulaties door anderen met een verborgen agenda. Ik heb daarom het initiatief genomen om, samen met een doctoraalstudente, 2 middelbare schoolleraren en gesteund vanuit het VWO-sprint programma van Wageningen Universiteit, een dergelijke middelbare school module te ontwikkelen.

Internationale samenwerking/REACH

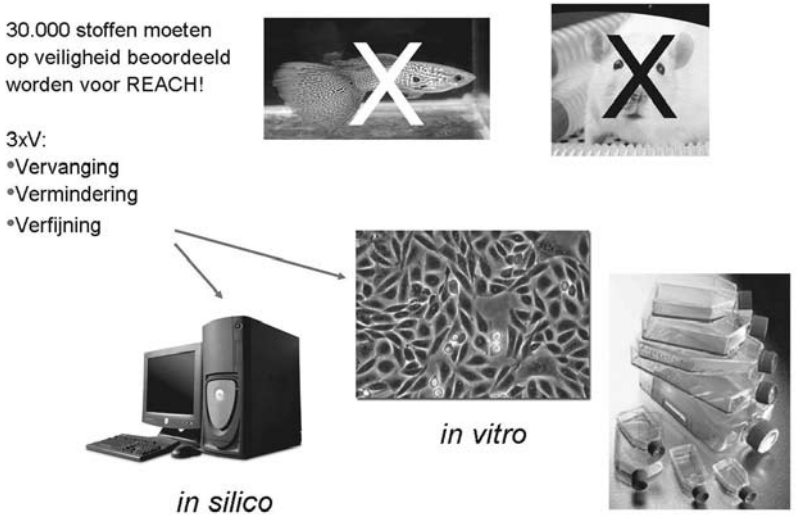
Omdat het ondoenlijk is om alle stoffen per land te laten testen op hun toxiciteit, omdat veel stoffen zich wereldwijd verspreiden en omdat er sprake is van een gemeenschappelijke markt, wordt er internationaal samengewerkt bij het beoordelen van hun toxicologische risico. Het goed testen van een stof is heel veel werk en kost proefdieren en geld. Daarom is het aantal stoffen dat jaarlijks getest kan worden, slechts beperkt.

Tot een jaar geleden was er in Europa een wetgeving van kracht die onderscheid maakte tussen 'oude' en 'nieuwe' stoffen. De 'oude' stoffen waren de meer dan 100.000 stoffen die vóór september 1981 al op de Europese markt waren. Die stoffen waren geregistreerd in de EINECS lijst, de Europese Inventarisatie van bestaande (Existing) commerciële Chemische Stoffen. De stoffen die na 1981 op de Europese markt kwamen, werden 'nieuwe' stoffen genoemd. Alleen deze ruim 3800 stoffen zijn volgens strikte voorschriften getest op hun toxicologische veiligheid voordat ze werden toegelaten voor gebruik.

De ruim 100.000 'oude' stoffen waren vrijwel niet getest en alleen van de stoffen die een opvallend risico betekenden, de zogenaamde 'prioritaire stoffen', werden er enkele per jaar getest. Daardoor zijn er in de huidige situatie stoffen op de markt die in grote volumina worden geproduceerd, maar nog nooit zijn beoordeeld op hun toxiciteit. Het was bovendien onaantrekkelijk voor fabrikanten om te zoeken naar veiliger alternatieven omdat deze wel het hele beoordelingsproces zouden moeten doorlopen. En dat is niet aantrekkelijk ter vervanging van oude stoffen, waar geen kosten voor hoeven te worden gemaakt.

Sinds 1 juni 2007 is er in de Europese Unie een nieuwe wetgeving van kracht, namelijk REACH (REACH, 2008). Deze afkorting staat voor Registratie, Evaluatie en Autorisatie van Chemicaliën. In deze wet wordt er geen verschil meer gemaakt tussen stoffen op basis van het moment van marktintroductie. Alle stoffen die in Europa worden geproduceerd of verhandeld, moeten worden aangemeld en vervolgens bepaalt het productievolume de urgentie voor risicobeoordeling. Dit is een logische keuze, want het productievolume bepaalt immers vooral de kans op blootstelling aan de stof.

Een belangrijke verbetering is dat 'oude' schadelijke stoffen nu veel eerder vervangen worden, want het testen van oude stoffen is nu net zo duur als het testen van nieuwe stoffen met gunstiger eigenschappen.



Figuur 11 Zoeken naar alternatieven voor proefdieronderzoek binnen REACH

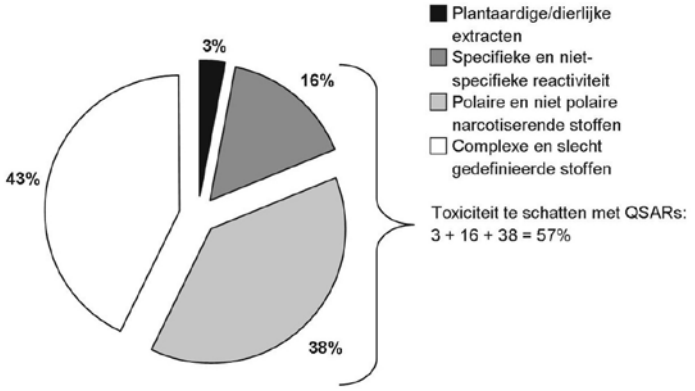
Binnen REACH moeten op korte termijn 30.000 stoffen worden beoordeeld op hun toxicologische risico. Wanneer dit allemaal op basis van proefdieronderzoek zou moeten gebeuren, zou het een ware slachting betekenen en bovendien kostbaar zijn en zeer tijdrovend. Daarom is het de bedoeling dat dierproeven, ook wel '*in vivo* onderzoek' genoemd, zoveel mogelijk worden vermeden. Europese landen gaan intensief samenwerken en al bestaande wetenschappelijke kennis mag nu wel worden gebruikt, zelf als het niet volgens standaard protocollen is verkregen.

Actief wordt gezocht naar alternatieven voor dierproeven, bijvoorbeeld met '*read across*', waarbij eigenschappen van de ene stof ingeschat worden op basis van bekende eigenschappen van een chemisch verwante stof; met kwantitatieve structuur activiteitsrelaties, de zogenaamde 'QSAR's' en met '*in vitro* assays'. Dat zijn tests uitgevoerd in reageerbuizen of celkweekbakjes, dus zonder levende dieren.

Dit zijn ook belangrijke onderwerpen van onderzoek bij de leerstoelgroep Toxicologie in Wageningen.

QSAR's

Een QSAR, dus de kwantitatieve structuur activiteitsrelatie, is gebaseerd op de chemische structuur en eigenschappen van stoffen. Je hebt er, naast chemische kennis, een goede computer, de juiste software en een internetverbinding voor nodig. Hier ziet u een recent voorbeeld van een eenvoudige structuur-activiteits-relatie voor gechloreerde alkanen, gemaakt door promovendus Elton Zvinavashe (Zvinavashe, 2008). Gechloreerde alkanen vormen een grote groep van in zeer grote hoeveelheid geproduceerde stoffen. Hierdoor en omdat ze slecht afbreekbaar zijn, heeft het bepalen van hun toxiciteit prioriteit binnen de EU. De giftigheid is gemeten '*in vitro*' met ovarium cellen, die vroeger ooit geïsoleerd zijn uit een hamster en nu altijd maar door kunnen worden gekweekt in een soort kunstbloed. Zoals u kunt zien neemt de toxiciteit van de chlooralkanen toe met toenemende vetminnendheid van de stof. De verwachte giftigheid van niet gemeten stoffen kan uit de grafiek worden afgelezen. Ook wordt gewerkt aan de vertaling van QSAR's voor *in vitro* toxiciteit naar QSAR's voor *in vivo* toxiciteit. Voor meer reactieve stoffen zijn overigens wat ingewikkelder moleculaire berekeningen nodig.

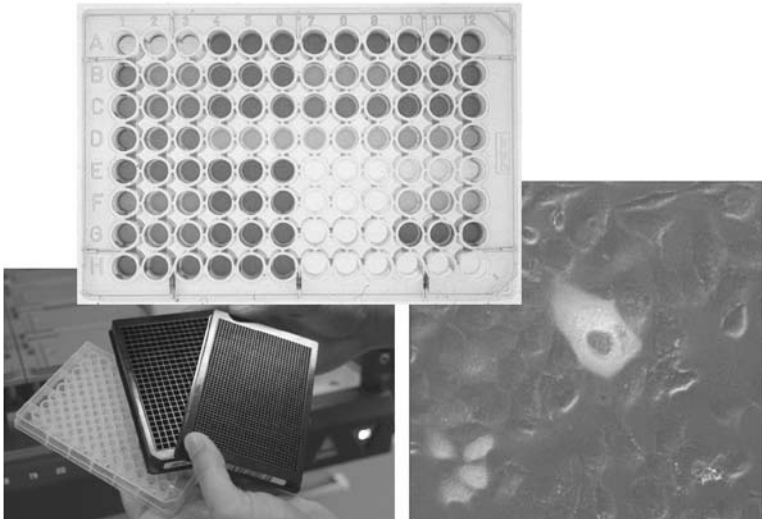


Figuur 12 Percentage van EINECS lijst stoffen waarvoor naar verwachting de giftigheid voorspeld kan worden met QSAR's; Bron: Zvinavashe et al, accepted

Elton heeft uitgerekend dat voor ongeveer 57% van de hele EINECS-lijst de acute toxiciteit geschat zal kunnen worden op basis van dergelijke QSAR-benaderingen (Zvinavashe, subm.). Dat zou dan dus een aanzienlijke vermindering van het proefdiergebruik betekenen. Van de overige stoffen is niet genoeg bekend over de samenstelling; het betreft ingewikkelde mengsels of de structuur van de moleculen is zó complex dat ze niet in een duidelijke QSAR-groep ingedeeld kunnen worden.

***In vitro* onderzoek**

In vitro onderzoek is geschikt om de *algemene* giftigheid voor cellen, maar ook de meer specifieke giftige eigenschappen van stoffen te onderzoeken. Op basis van kennis van het lichaam worden belangrijke processen bestudeerd, geïsoleerd van de complexe omgeving van een lichaam. Zo kunnen bijvoorbeeld de remming door een stof van de werking van geïsoleerde enzymen of de binding aan geïsoleerde receptoren, worden gemeten in zeer kleine hoeveelheden. Dat maakt *in vitro* methoden bij uitstek geschikt voor het screenen van grote hoeveelheden stoffen.



Figuur 13 In vitro methoden, snel, specifiek en in zeer kleine volumina

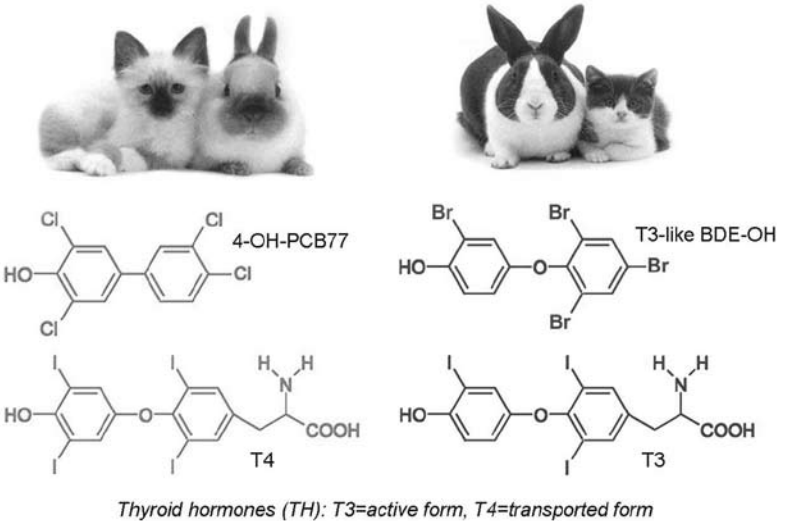
In de figuur ziet u een zogenoemde '96-wells plaat', een soort rekje met 96 kleine bakjes met elk een inhoud van enkele druppels. In deze bakjes kunnen een paar duizend cellen worden gekweekt, waar dan proeven mee worden gedaan. Ook worden er door moleculair-biologen steeds meer speciale cellijnen gemaakt, zodat ze bijvoorbeeld licht gaan geven, of zoals op deze foto, gaan fluoresceren, als een bepaald mechanisme wordt geactiveerd. Dit kan onder andere gebeuren als stoffen de werking van een hormoon nabootsen. Hier wil ik het voorbeeld uitwerken van stoffen die de schildklier- hormoonwerking kunnen verstoren.

Het schildklierhormoon speelt een belangrijke rol bij de ontwikkeling en metamorfose van kikkervisjes. Dit hormoon moet op het juiste moment bepaalde processen activeren en dat gaat onder andere via één van de 2 receptoren voor het schildklier- of thyroidhormoon: de thyroidhormoon receptor (TR)α en de TRβ. Via de TRα wordt de embryonale ontwikkeling van ei tot larve gereguleerd; de TRβ regelt de timing van alle processen die het kikkervisje ombouwen tot kikker. Tot dusver werden vooral proeven gedaan met kikkers, om te kijken of stoffen een schildklierhormoon verstorende werking hebben. Zoiets kan echter ook, en soms zelfs beter, getest worden in een '*in vitro*' systeem.

Een goed voorbeeld is de reporter gen assay, gemaakt door promovendus Jaime Freitas. Het is een schildklierhormoongevoelige cellijn, die meer van het vuurvliegjesenzym '*luciferase*' gaat produceren wanneer er meer schildklier-hormoon in het groeimedium aanwezig is. Met deze cellijn kunnen we ook bepalen of een chemische stof in staat is de schildklierhormoon receptor te activeren. Het blijkt namelijk steeds meer dat vooral gehydroxyleerde afbraakproducten van stoffen erg op hormonen kunnen lijken en in het lichaam endocriene processen op een sluipende manier kunnen verstoren.

In het volgende figuur ziet u een voorbeeld van de sterke gelijkenis tussen de structuur van een gehydroxyleerde PCB en T4, de getransporteerde vorm van schildklierhormoon En hier ziet u de gelijkenis tussen een gehydroxyleerde gebromeerde diphenylether, een gebromeerde vlamvertrager, en T3, de actieve vorm van schildklierhormoon. Wanneer, op basis van een set van *in vitro* tests,

het toxicologische profiel van een stof blijkt aan te geven dat deze bijvoorbeeld vooral de werking van schildklierhormoon nabootst, dan kan vervolgens de specifieke toxische potentie verder worden bepaald.

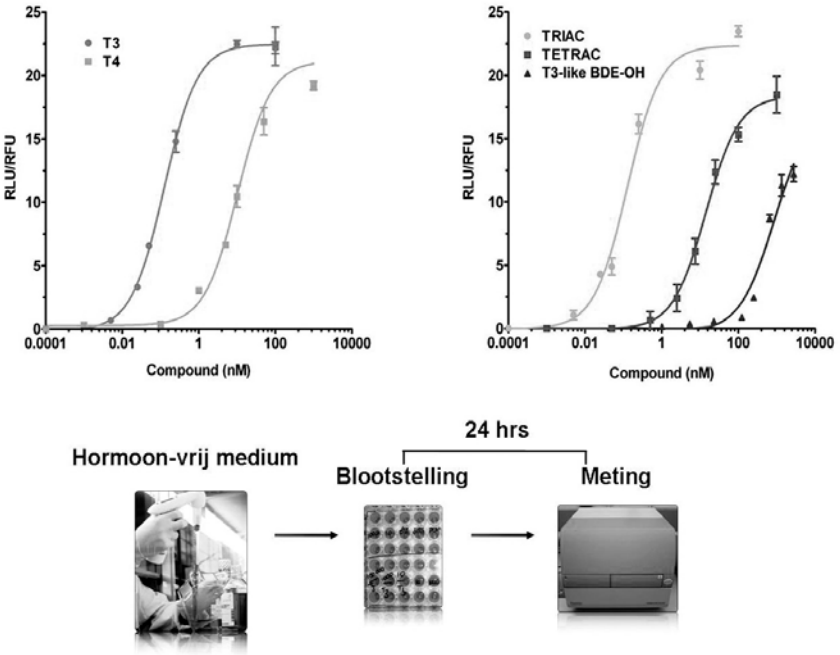


Figuur 14 Sommige stoffen lijken bedrieglijk veel op hormonen

Wanneer T3 en T4 in de reportergen assay getest worden (Schriks et al., 2007), dan blijkt hoe gevoelig deze is voor hormonen. Dit is in overeenstemming met de situatie in het lichaam, want hormonen zijn al werkzaam in zeer lage concentraties, namelijk in pico- tot nanomolaire concentraties. Van hormoonverstorende stoffen is meestal flink wat meer nodig voor dezelfde werking, zoals van de hiervoor genoemde T3-achtige gehydroxyleerde vlamvertrager. Maar vergeleken met veel andere werkingsmechanismen, is het ook weer niet echt veel: vanaf een concentratie van ongeveer 100 nM (0.1 μM) activeert de stof de schildklierhormoonreceptor al.

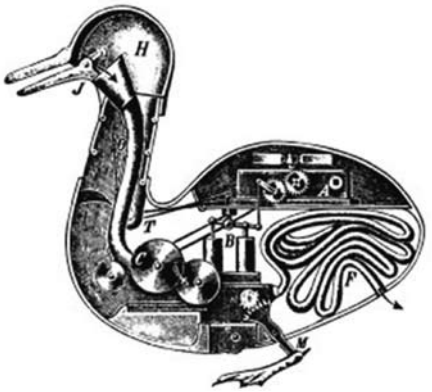
Het is belangrijk om te beseffen dat hormoonverstorende stoffen in een lichaam meestal op meerdere plaatsen tegelijk meerdere mechanismen verstoren. Dus als in

een *in vitro* assay pas effecten optreden bij een concentratie in het kunstbloed, die flink hoger ligt dan die in het lichaam wordt aangetroffen, dan kan men nog niet concluderen dat er in de praktijk geen hormoonverstorende effecten zullen optreden. Belangrijk is ook om niet alleen de uitgangsstoffen te testen, maar vooral ook de omzettingsproducten of metabolieten van de stoffen. Uit onderzoek met de vlamvertragers PCB's en PBDE's is al gebleken dat deze vaak juist pas na omzetting actief worden. Het alleen testen van de moederstof zou dus een onderschatting van het risico zijn. Jaime maakt daarom niet alleen TRα en TRβ-specifieke reporter cellijnen, maar voegt daar ook omzettingsenzymen aan toe, zodat activering in de lever in vitro nagebootst kan worden.



Figuur 15 Gevoelige reportergen assays voor TR-activatie; Bron: Freitas et al., in prep.

Naast onderschatting is er ook kans op overschatting van effecten op basis van *in vitro* onderzoek. Dat vonden wij bijvoorbeeld in een andere reporter gen assay, deze keer voor activatie van de oestrogeenreceptor alpha (ERα). Bij *in vitro* tests blijken stoffen uit voedselverpakkingen zoals bisphenol A en nonylphenol, een duidelijke hormoongelijkende werking te hebben, hoewel alleen bij flink hogere concentraties dan nodig is van het natuurlijke vrouwelijke hormoon estradiol (E2). Deze resultaten zijn gepubliceerd door promovendus Marcel ter Veld (Ter Veld, 2006), die vervolgens de effecten van de stoffen onderzocht in reporter gen muizen, die via het voer gedoseerd werden. Het bleek dat alleen in de lever, waarlangs de stof het lichaam binnenkomt, een activering is van het luciferase gen, maar verder in het lichaam niet. Dat komt doordat in de lever veel stoffen worden afgebroken tot onschuldige afbraakproducten, die vervolgens weer uitgescheiden worden. Toch was er van bisfenol A nog wel een opmerkelijk effect te zien: het verlaagde namelijk de oestrogene activiteit in de placenta van drachtige vrouwtjes (Ter Veld, subm.). Het is nog niet uitgezocht wat dit betekent voor de ontwikkeling van de ongeboren muisjes, maar dat een goed werkende placenta noodzakelijk is moge duidelijk zijn. Ook moet nog worden uitgezocht of de hoeveelheid die mensen binnen krijgen via hun voedsel, genoeg is om ook dit soort effecten te veroorzaken.



Figuur 16 Een lichaam is meer dan de som der delen; de 'Canard Digérateur' van Jacques de Vaucanson, uit 1739
Bron: upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/75/Duck_of_Vaucanson.jpg

Bij de vertaling van *in vitro* naar *in vivo* effecten blijkt telkens weer dat een lichaam met alle interacties en terugkoppelingsreacties *meer is dan de som der delen*. Goede kennis van het biologische systeem is dus cruciaal om geen totaal foute inschattingen te maken.

Mengseleffecten

Kunnen we door de verbeterde Europese wetgeving er nu zeker van zijn dat er in de toekomst geen nadelige effecten van toxische stoffen zullen zijn?
Het is moeilijk om daar met zekerheid antwoord op te geven.

Om te beginnen zullen inmiddels verboden oude, slecht afbreekbare stoffen nog decennia lang in ons milieu en in ons lichaam te vinden zijn, gecombineerd met nieuwere stoffen en omzettingsproducten.

Steeds meer voorbeelden worden bekend van mengselinteracties tussen stoffen, die men niet op kan sporen door de stoffen alleen te testen. Zo blijkt bijvoorbeeld de veelgebruikte vlamvertrager HBCD de werking van het schildklierhormoon te versterken. In dit voorbeeld van onderzoek van voormalig promovendus Merijn Schriks ziet u het geprogrammeerde slinken van de staartjes van kikkervisjes tijdens de metamorfose. Zoals eerder gezegd is dit mechanisme schildklierhormoon afhankelijk en wanneer er geen schildklierhormoon, maar alleen het oplosmiddel DMSO of HBCD wordt toegevoegd, krimpen de staartjes maar 10 mm in 3 dagen. Na toevoeging van een beetje schildklierhormoon (T_3) gaat dit sneller en bij toevoeging van zowel schildklierhormoon als HBCD wordt dit significant verder versterkt. Het mechanisme waarlangs dat gebeurt is nog niet opgehelderd, maar daar wordt in samenwerking met o.a. Timo Hamers van het IVM verder aan gewerkt.

Recent hebben we een nieuwe test ontwikkeld waarmee eenvoudig en snel kan worden gemeten in hoeverre stoffen cellulaire '*efflux* pompen' remmen. Vooral cellen in een lichaam op het grensvlak van de binnen- en buitenwereld bezitten een belangrijk mechanisme om giftige stoffen weer terug naar buiten te pompen. Je vindt ze in longen, darmen, kieuwen van mosselen en vissen, in vislarven, enz. Uit wat we hebben gemeten blijkt dat diverse bekende milieucontaminanten de werking van deze pompen sterk remmen, waardoor de concentratie van deze en ook van andere in de lichaamscellen aanwezige stoffen sterk kunnen toenemen.

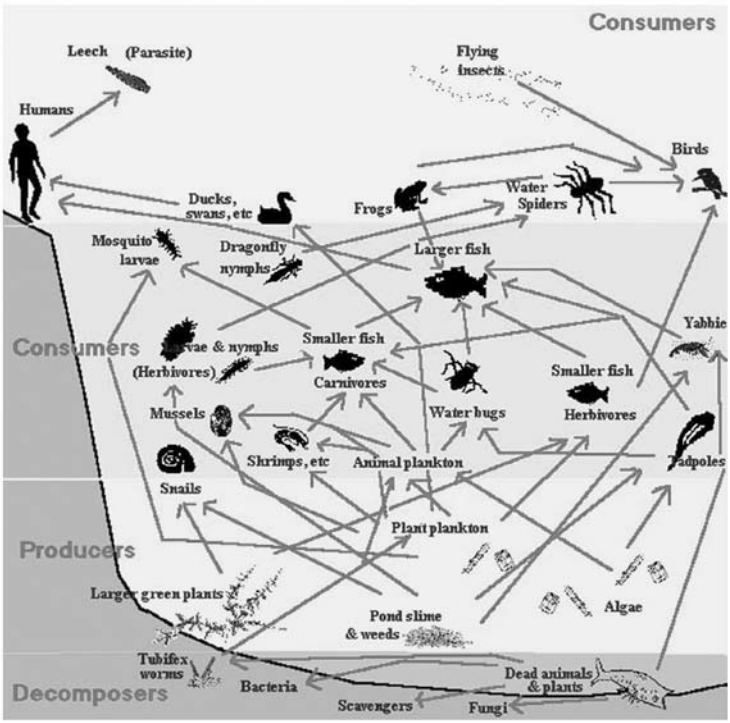
En daardoor kunnen ook de toxische effecten sterker worden.

Wanneer dergelijke stoffen in mengsels aanwezig zijn is de totale toxische potentie van het mengsel dus *meer dan de som* van de werking van de individuele stoffen.

Ecotoxicologische effecten

Als we nu rekening houden met mengseleffecten en verschillende mechanismen, kunnen we dan met zekerheid voorspellen of er toxische effecten in ecosystemen zullen optreden?

Nou, eerlijk gezegd is dat niet zo eenvoudig.



Figuur 17 Een ecosysteem is meer dan de som der delen

Risicoschattingen worden vooral gebaseerd op in hoge mate gestandaardiseerde tests, met een beperkte selectie aan diersoorten van meestal dezelfde leeftijd en sekse en onder gestandaardiseerde, eenvoudige omstandigheden. Bijvoorbeeld een vistest met 10 mannelijke zebravissen per aquarium, zonder zand of planten en bij een temperatuur van 21°C. Dit is van belang om de onderzoeksresultaten zo vergelijkbaar mogelijk te krijgen, onafhankelijk van waar de tests worden uitgevoerd.
Maar hoe zit het in een ecosysteem?

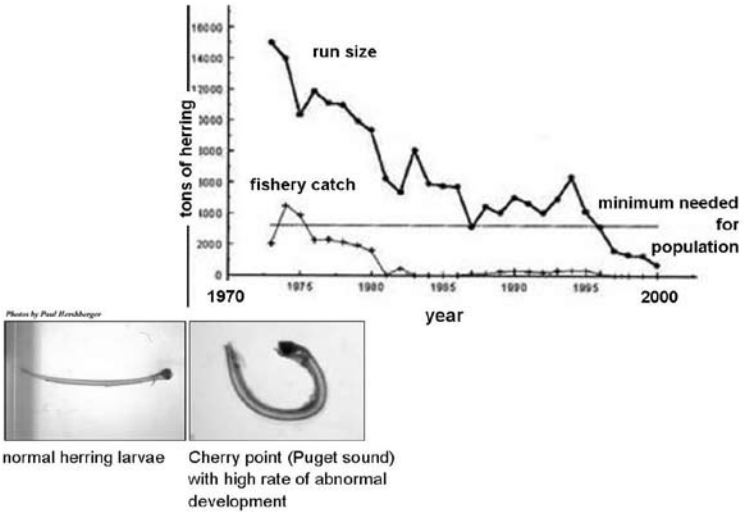
Zoals u in deze figuur kunt zien is er sprake van een wirwar van soorten planten en dieren, die ook weer elkaar sterk beïnvloeden en bovendien onder invloed staan van allerlei wisselende omgevingsfactoren. Van acuut toxische effecten, zoals drijvende dode vissen, kun je nog wel uitzoeken of het door giftige stoffen of door andere factoren zoals zuurstoftekort is veroorzaakt. Maar hoe zit het met minder opvallende effecten van mengsels van slecht afbreekbare stoffen, die sluipende neveneffecten hebben op bijvoorbeeld het hormoonsysteem?

Spelen stoffen, zoals gesuggereerd, nu wel of geen rol in de achteruitgang van de aanwas (de 'recruitment') van de thans zo geplaagde haringpopulaties, zoals u in de volgende figuur kunt zien voor Puget Sound (Bargman, G. (2001), een verontreinigd gebied in de Verenigde Staten?

De volwassen dieren sterven jonger dan vroeger en bij de larven worden ongebruikelijke afwijkingen gevonden. Ondanks het feit dat er daar sinds 1980 niet meer op haring gevist wordt gaat de haringstand nog steeds snel achteruit.

Ook met de palingstand gaat het dramatisch slecht. Steeds minder glasaal keert terug van de Saragossa zee. Ligt dat aan veranderende zeestromingen, komt het door verminderde voedselbeschikbaarheid of zijn de toegenomen aantallen kwallen die ook wel van visjes houden hiervoor verantwoordelijk?

Is het dan onmogelijk om erachter te komen wat er in die grote oceanen gebeurt? Moeten we dan maar zo veel mogelijk stoffen in modelecosystemen gaan testen, of is er eigenlijk geen beginnen aan....?!



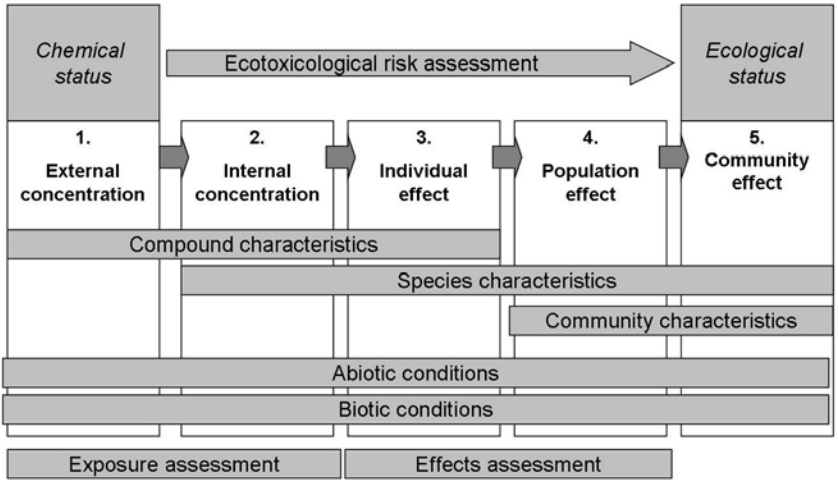
Figuur 18 Verminderde aanwas van haring in Puget Sound; Bron: Bargman, 2001

Ik ben daar niet zo pessimistisch over. Vooral omdat ook hier geldt dat met logisch nadenken de belangrijkste factoren te isoleren en te testen zijn. Ook hier is een soort 'read across' mogelijk, maar dan op een ander integratieniveau.

Modelecosystemen zijn erg belangrijk bij het achterhalen van mechanismen. Dit blijkt bijvoorbeeld uit het jarenlange werk met proefsloten van mijn collega's bij Wageningen-Alterra. Er wordt niet gewerkt aan uitbreiding van een postzegelverzameling aan effecten, maar er wordt gezocht naar algemener geldende principes. Vooral de belangrijke indirecte effecten kunnen alleen in modelecosystemen worden opgespoord. Met vissen of nog grotere dieren werken in modelecosystemen is echter helaas nog niet goed mogelijk, terwijl deze dieren wel een grote invloed hebben op de ecosystemen.

Allesbepalend voor het succes van ook ecotoxicologisch onderzoek is het bestuderen van de toxicologisch en ecologisch relevante eindpunten onder voor de veldsituatie relevante condities. Als een stof als paraffine beneden de 15°C stolt

betekenen de resultaten van onderzoek bij 21°C niet zo veel voor koude wateren. Als bekend is dat stoffen zoals PCB's pas na chronische blootstelling via het voedsel of sediment effecten hebben op gewervelde dieren, heeft het weinig zin om ze te testen in een experiment dat vooral geschikt is voor het bepalen van acute effecten van bestrijdingsmiddelen. Er kan dan vervolgens ook echt niet geconcludeerd worden dat er geen probleem is omdat er geen sterfte gevonden wordt bij ongewervelden na blootstelling aan PCB's via het water, gedurende 48 uur. Ook mag in zo'n situatie niet geconcludeerd worden dat tests in het laboratorium ongeschikt zijn om beter te leren begrijpen wat er in het veld gebeurt.



Figuur 19 Alleen op basis van kennis van de abiotische en biotische factoren die het uiteindelijke effect van een stof sterk zullen beïnvloeden, kan de juiste proefopzet worden gekozen

In de praktijk worden dieren in een ecosysteem veelal gedurende hun hele leven of een groot deel van hun levenscyclus blootgesteld aan stoffen. Hoewel in principe elk levensstadium specifiek gevoelig kan zijn voor bepaalde stoffen en de soort blootstelling kan verschillen, zijn het vooral de levensfasen waarbij er veel ontwikkeling is of waarin gereageerd moet worden op veranderende milieuomstandig-

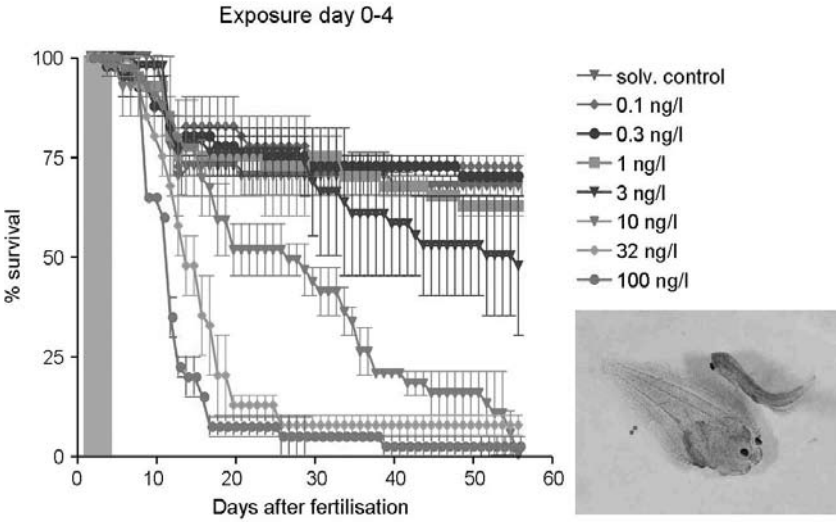
heden, waarin relatief veel mis kan gaan. Bijvoorbeeld bij de ontwikkeling van ei naar jong volwassene of tijdens de voortplantingsmigratie.

Wanneer de effecten van toxische stoffen tijdens dergelijke levensfasen getest worden, is het goed om ook de omstandigheden zo correct mogelijk na te bootsen. Zo bleek bijvoorbeeld uit een samenwerkingsproject met Leidse biologen, dat PCB-effecten op de energiehuishouding en de fysiologie duidelijk verschilden tussen zwemmende en rustende dieren. Ook blijkt het voor de overleving van rustende palingen niet uit te maken of ze in zoet of in zout water liggen, maar als ze moeten zwemmen kost dat in zout water duidelijk meer energie (Van Ginneken et al., subm.).

Bij wulken, een soort roof-zeeslak die wel 25 jaar oud kan worden, werd in het veld imposex gevonden. Dit is een aandoening waarbij vrouwelijke dieren penissen ontwikkelen en wat in verband werd gebracht met TBT, een stofje dat aan scheepsverf werd toegevoegd om aangroei aan de scheepsromp te voorkomen. Bij laboratoriumonderzoek door voormalig promovendus Berend Mensink (Mensink et al., 2002) naar dit fenomeen, werden lange tijd geen effecten gevonden van TBT, totdat niet langer jong volwassen dieren maar de eieren en zeer jonge larven werden blootgesteld. Toen werd ineens duidelijke imposex geïnduceerd zoals ook bij volwassen dieren in zee was waargenomen. Pas toen de juiste experimenten werden uitgevoerd, konden ook critici worden overtuigd van dit mechanisme. Sinds enige tijd is het gebruik van TBT zeer sterk teruggebracht, maar nog steeds worden effecten hiervan ook in het veld waargenomen. Bijvoorbeeld op de purperslak zoals recent gepubliceerd door Cor Schipper.

Omdat in mens en milieu stoffen vooral in mengsels voorkomen, blijkt het steeds handiger om de aanwezigheid van deze toxische mengsels uit te zoeken met *in vitro* bioassays. Het is al langer bekend dat met *in vitro* bioassays vaak meer toxiciteit wordt gemeten dan verklaard kan worden uit de chemisch gemeten gehalten. Dat vond voormalig promovendus - en thans collega bij het IVM - Timo Hamers en dat vindt Ewa Stoscynska - promovenda werkzaam bij IMARES - nu ook weer in verontreinigde sedimentmonsters. Deze discrepantie wordt niet alleen veroorzaakt door de eerder genoemde mengselinteracties, maar ook doordat een flink deel van de stoffen niet chemisch gedetecteerd kunnen worden. Namelijk de

onbekende stoffen, stoffen die in zeer lage concentraties, onder de detectielimiet, aanwezig zijn en stoffen die tijdens de gangbare chemische opzuivering verloren gaan, zoals Ewa momenteel ontdekt. In een goede samenwerking tussen chemici en toxicologen kunnen de oorzaken van deze onderschatting achterhaald worden.



Figuur 20 Uitgestelde toxische effecten in tonglarven bij langere observatieperiode na vroege blootstelling aan PCB-126 die geen onderdeel is van de standaard OECD test voor jonge vis. Paarse balk geeft blootstellingsperiode aan; Bron: Foekema et al., 2008

Nog een voorbeeld met vissen. Het is belangrijk om te weten dat vrijwel altijd 'early life stage' (ELS) onderzoek, dus onderzoek tijdens de vroegste levensfase, met vissen en amfibieën beëindigd wordt op het moment dat de dooierzak is opgebruikt en de dieren zelfstandig moeten gaan eten. Van het amfibieënonderzoek van voormalig promovendus Arno Gutleb weten we inmiddels dat er met niet acuut toxische stoffen, zoals PCB's, in die periode geen effecten worden waargenomen, zelfs als ze zo intensief worden blootgesteld dat het water waarin de dieren leven, melkachtig wit wordt. Geef je ze vervolgens na afloop schoon voer en water, dan

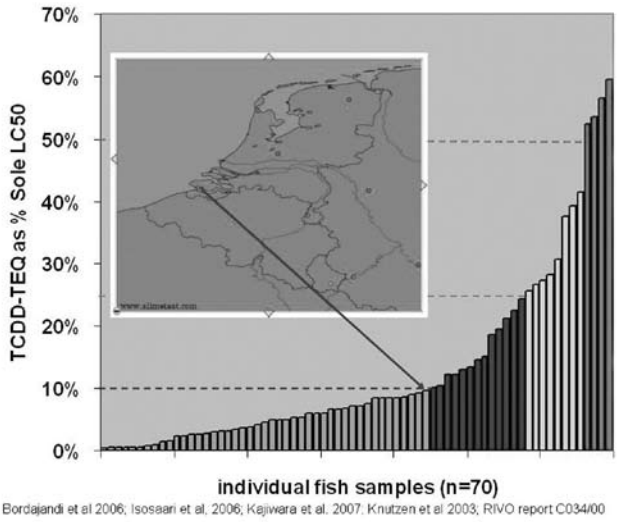
blijken ze dagen tot weken later alsnog allerlei toxische effecten te ondervinden, inclusief sterfte en verlaatte en verlengde metamorfose (Gutleb et al., 1999, 2000, 2007a,b). In plaats van onderzoek met 1 jaar oude visjes of een ELS test volgens een OECD protocol heeft collega Edwin Foekema van Imares daarom dezelfde aanpak gekozen als Arno Gutleb. Het gevolg kunt u in deze figuur zien, waar de dieren als eitjes gedurende 4 dagen zijn blootgesteld aan de dioxine-achtige PCB-126 (Foekema et al., 2008). Dit bootst enigszins de blootstelling na via het moederdier, hoewel de PCB-belasting in dit experiment natuurlijk pas na vele uren echt op gang komt. Zelfs wanneer direct na uitkomen alleen nog schoon water en schoon voer wordt gegeven, treedt er dagen later alsnog een dosis-afhankelijke sterfte op. Bij een verlengde observatieperiode ligt de veilige waarde ruim 40 maal lager dan uit het experiment volgens het OECD-protocol zou zijn gekomen.

Belangrijk in dit onderzoek was dat ook de interne concentratie in de dieren net na het uitkomen was bepaald. Hierdoor kon de effectconcentratie vergeleken worden met die in vissen uit het wild. Het zijn immers de moederdieren die de eitjes voeding meegeven en daarmee de in hun vetweefsel opgeloste toxische stoffen.

Deze proefopzet is zeer geschikt om de werking van in de vissen aanwezige stoffen op de ontwikkeling van de larfjes te testen, geïsoleerd van andere milieufactoren. Dit is dan ook goed mogelijk voor vissen waarvan de vroege ontwikkeling in het lab niet of nauwelijks te onderzoeken is, zoals van de haring en de paling.

In deze figuur ziet u de gehalten aan dioxine-achtige stoffen, zoals deze zijn aangetroffen in het vet van diverse vissoorten uit het wild. Omdat in de toxicologie vaak wordt gerekend met 50% effectwaarden, zijn de dioxine-equivalenten uitgedrukt als percentages van de hoeveelheid waarbij 50% van de tonglarven dood gaan (de LC50) in Edwin's experimenten. De metingen zijn gesorteerd naar oplopende contaminatie en de pijl geeft de gemiddelde waarde aan voor de vissen uit de Westerschelde. Zoals u kunt zien zijn de gehaltes aan alleen al de dioxine-achtige stoffen in deze vissen hoog genoeg om in meer of mindere mate de aanwas van jonge visjes te reduceren. Hierbij is nog geen rekening gehouden met de andere verontreinigingen in deze vissen en de mogelijke invloed van de stoffen op de vrouwtjes, waardoor ze slechtere kwaliteit eitjes kunnen gaan leggen. Bovendien

zijn in het veld de stoffen vanaf moment 0 al in de hoge concentratie in het ei en niet pas na uren blootstelling, als het embryo zich al voor een deel goed heeft kunnen ontwikkelen.

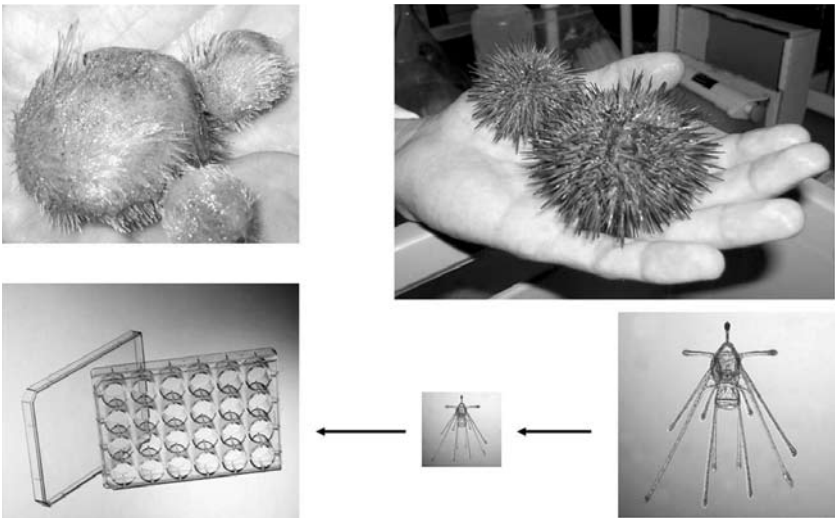


Figuur 21 Vissen op verontreinigde locaties hebben interne gehaltes op effectniveau. Bron: Foekema et al., in press.

Momenteel is het onderzoek met de platvis tong verder uitgebreid zodat effecten op de metamorfose van gewoon larfje naar platvisje onderzocht kan worden. Net zoals bij het onderzoek naar de effecten van schildklierhormoon - verstorende stoffen op de metamorfose van kikkers van Arno Gutleb en Merijn Schriks (Gutleb et al., 2000, 2007b; Schriks et al., 2006), verwacht ik effecten op de schildklierhormoon - afhankelijke metamorfose van de tong.

Hoewel de metamorfose het bekendst is bij dieren met een volledige gedaantewisseling zoals kikkers en platvissen, vindt deze ook plaats bij vele andere diersoorten. Zelfs bij mensen is de overgang van een meer aquatische levenswijze in de

baarmoeder naar een terrestrische levenswijze na de geboorte, afhankelijk van een schildklierhormoon piek. Omdat experimenten met gewervelden waar mogelijk vermeden moeten worden, is het interessant om te weten dat bijvoorbeeld ook zee-egels en zeeklitten een schildklierhormoon-afhankelijke, volledige metamorfose kennen. Het is verbazingwekkend om te zien hoe sterk de gelijkenis is van het hormoonsysteem van dergelijke simpel ogende 'prikballen' met dat van gewervelde dieren, inclusief de mens. Daarom onderzoekt promovendus Henrique Anselmo momenteel de effecten van hormoonverstorende stoffen op de vroege ontwikkeling en metamorfose van inheemse zeeklitten en zeeappels. Overigens is het goed mogelijk dat er ook fundamentele verschillen zullen blijken te bestaan tussen effecten van stoffen op deze dieren, vergeleken met die op vissen, kikkers en zoogdieren. Bijvoorbeeld als ze minder biotransformatie capaciteit blijken te bezitten, waardoor stoffen in het lichaam niet kunnen worden omgezet in op hormonen lijkende stoffen.



Figuur 22 Onderzoek naar hormoonverstoring door stoffen met zeeklit en zee-egel larven in 24 wells platen; Bron: Anselmo et al. in prep.

Deze prachtige larven zijn overigens maar 1/10 millimeter groot. Hoe klein dat eigenlijk is, realiseerde ik mij pas toen Henrique de experimenten ging uitvoeren. Inmiddels is het nadeel in een voordeel omgebogen. De larven worden gekweekt in een dichtheid van 3 per ml. en de experimenten worden uitgevoerd met 4 dieren per 2 ml. in 24-wells platen.

Bij de vertaling van de resultaten van labonderzoek naar veldeffecten blijkt telkens weer dat een ecosysteem met alle interacties en terugkoppelingsreacties *meer is dan de som der delen*. Goede kennis van het biologische systeem is dus cruciaal om geen totaal onterechte risicoschattingen te maken.

Samenvattend wil ik concluderen dat:

Mits men voor ogen houdt dat het uiteindelijke effect gebaseerd is op *meer dan de som der delen*, een *rationele risicoschatting*, gebaseerd op de toxicologische kerneffecten, onderzocht in goed ontworpen experimenten, zeer wel mogelijk is.

Hoe nu verder?

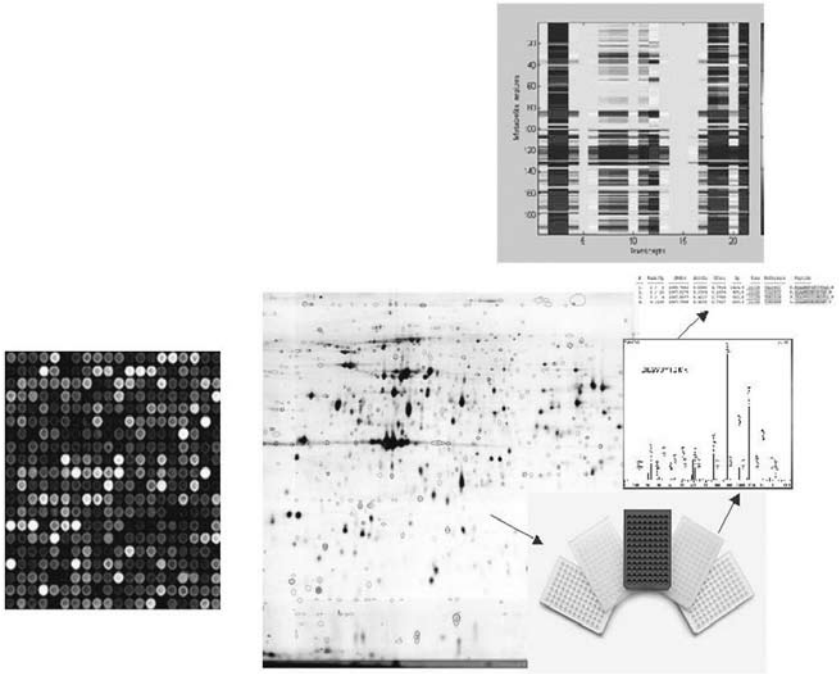
Gezondheidseffecten op cellen, mensen, dieren, populaties en levensgemeenschappen zijn altijd multifactorieel, dus door meerdere factoren veroorzaakt.

In een ecosysteem kun je denken aan: de invloed van temperatuur, zoutgehalte, voedselbeschikbaarheid, zuurgraad, zeestromen, visserijdruk, invasieve soorten, habitatvernietiging enzovoort. Bij mensen kun je denken aan: speciale genetische achtergrond, voedingstoestand, levensstijl, stress, etc.

De kern van mijn betoog is dat het vooral belangrijk is om, gebaseerd op kennis van de stoffen en de biologische systemen, logische experimenten te ontwerpen die gericht zijn op het vinden van meer algemeen geldende principes.

Zowel voor het lot van stoffen in het milieu als voor effecten van individuele stoffen of mengsels, gelden algemene principes, die niet voor alle stoffen individueel bepaald hoeven te worden.

Daarnaast is het noodzakelijk om in de praktijk met biomarkers en bioanalyse te onderzoeken in hoeverre de milieutoxicologische praktijk in overeenstemming is met de verwachte effecten en om eventuele onverwachte nieuwe stoffen en risico's op het spoor te komen.



Figuur 23 Nieuwe onderzoekstechnieken zijn ook zeer bruikbaar in de toxicologie

Hierbij kan gelukkig steeds meer gebruik gemaakt worden van moderne moleculaire technieken, zoals de eerder genoemde *in vivo* en *in vitro* reportergen assays, genomics en proteomics technieken zoals promovenda Ana Sotoca gebruikt om de specifieke effecten van activering van de ERα en ERβ te achterhalen (Sotoca 2008, subm.), metabolomics, om meer inzicht te krijgen in de fysiologische gevolgen van subtiele toxicologische effecten en nanoSIMS technologie om de exacte locatie van stoffen in weefsels en cellen te kunnen achterhalen. Dankzij goede samenwerking met experts zoals Jacques Vervoort van de leerstoelgroep Biochemie in Wageningen en onderzoekers van het Gabriel Lippmann Instituut in Luxemburg zijn dit soort technieken haalbaar voor een toxicoloog.

En zo heb je als (milieu)toxicoloog steeds met verschillende specialistische vakgebieden te maken waar je zelf soms niet zo heel veel verstand van hebt. Nu is het wel zo dat, zoals mijn illustere voorganger Jan Koeman zei: 'een bioloog weet eigenlijk niets specifieks maar kan alles leren'. En niets is leuker dan blijven leren. Maar het is vooral belangrijk om daarbij samen te werken met experts van andere vakgebieden. Ook hiervoor geldt dat de uitkomst dan *meer wordt dan de som der delen*.

Wageningen-IMARES

Ook de goede samenwerking met Wageningen-IMARES is hier een voorbeeld van. Van hun faciliteiten op het gebied van bijvoorbeeld aquacultuur, chemische analyse, modellering en modelecosystemen, kon ik als toxicoloog voorheen alleen maar dromen. Het is inspirerend om met mijn collega's daar van gedachten te wisselen over concrete milieutoxicologische vraagstukken, waardoor er kruisbestuiving plaatsvindt tussen een meer praktijkgerichte invalshoek en een meer wetenschappelijke. Wat daar uit voortkomt, is duidelijk ook *meer dan de som der delen* en in het voorgaande hebt u daar al een aantal voorbeelden van gezien.

De samenwerking met IMARES speelt ook een belangrijke rol in de invulling van de net gestarte nieuwe doctoraalopleiding bij Wageningen Universiteit: 'Management of Marine Ecosystems'. Deze opleiding is bij uitstek multidisciplinair en omvat naast zeer praktische zaken ook beta-gamma interacties. Ook daar leer ik zelf weer veel van en dat is zeer motiverend.

Spannend vind ik het ook altijd om te kijken of nieuwe ICT-technieken en internet-ontwikkelingen kunnen bijdragen aan het onderwijs. Niet zozeer om daarmee de docent te vervangen, maar om studenten met verschillende achtergronden de mogelijkheid te geven om dingen in hun eigen tempo te leren en om ondertussen zelf meer tijd te kunnen besteden aan persoonlijke begeleiding.

Dan nog iets heel anders:

Enige tijd geleden stond er in ons WUR-blad een artikel met als kop: 'Liever gelukkig dan hoogleraar'. Inmiddels ben ik nu 9 maanden hoogleraar en eerlijk gezegd ben ik er niet ongelukkiger van geworden. Ik voel mij nog steeds vooral

onderzoeker, gedreven door nieuwsgierigheid en niet door status of geld. Die zou ik overigens ook elders gemakkelijker kunnen halen. De wens tot begrijpen, snappen hoe het zit, maakt mijn werk deels ook een uit de hand gelopen hobby, een passie die niet in een 9-5 werkdag past. Des te zuurder vind ik het dat de bureaucratie en het grote commerciële denken, steeds centraler in onze organisatie komen te staan. Elk uur moet worden inverdiend voor alle medewerkers, inclusief fikse overheadkosten en verantwoord in een tijdschrijfsysteem. Daarin mag overigens niet meer dan 40 uur per week ingezet worden, anders wordt alles door een factor gedeeld, zodat de werkweek weer 40 uur lijkt. Gevolg daarvan is dat het werkelijk voor een project gewerkte aantal uren op papier plotseling gereduceerd wordt tot een te klein aantal uren. Ook jammer is dat door ons huidige financiële afrekensysteem de tijd die gaat zitten in het schrijven van overzichtsartikelen op basis van kennis van een heel vakgebied, de zogenaamde 'reviews', en het voorbereiden en geven van interviews per definitie in 'eigen tijd' moeten worden gedaan omdat ze geen geld opleveren. En dat terwijl ze wel erg belangrijk zijn voor een universiteit of kennisinstituut. Gelukkig voor de WUR zijn onderzoekers bovenmate gedreven, dus het gebeurt meestal tóch nog wel. Het is overigens niet zo dat ik er tegen ben onderzoekers en docenten verantwoording af te laten leggen voor hun werk. Maar dat gebeurde toch al in de vorm van citatie-indexen, visitatiecommissies, door studenten ingevulde enquêtes na ieder vak, enzovoort. De pijn zit in het feit dat steeds meer de behoefte lijkt te bestaan om van bovenaf te bepalen hoe en waaraan gewerkt moet worden. De beste manier om onderzoekers gedemotiveerd te maken is door enthousiast te proberen ze in het keurslijf van een strak bedrijfsvoeringssysteem te wringen opdat alles dan zo overzichtelijk te beheren en te beheersen zou zijn. Een voorbeeld van in mijn ogen onzinnig papierwerk dat slechts leidt tot schijnzekerheid, is de kwartaalrapportage, waarin de promotor steeds weer aan moet geven hoeveel procent een 4-jarig promotieonderzoek gevorderd is. Dit soort dingen leidt vooral tot tijdrovende bureaucratie, die per definitie funest is voor mensen met het karakter van de creatieve coachende professional en wekt bij hen de indruk gewantrouwd te worden. Bij een toenemende bureaucratie levert de som der delen geen meerwaarde en maakt het zeker niet gelukkig, of je nu hoogleraar bent of niet.



Figuur 24 Liever gelukkig dan hoogleraar?

En dan last but not least: mijn dankwoord!

Het klinkt als een cliché, maar is daarom niet minder waar, dat je niets kunt bereiken zonder steun van en samenwerking met anderen. Ik had het niet eens gewild als het al gekund had zonder die samenwerking. Toen ik zo die adreslijsten aan het samenstellen was van mensen die ik uit wilde nodigen, realiseerde ik mij wat een rijkdom het is om met zoveel lieve, verstandige, en leuke mensen om te kunnen gaan.

Allereerst wil ik graag Ivonne bedanken voor het initiatief om mij voor te dragen voor de positie van persoonlijk hoogleraar. Jij bent zelf echt een hoogleraar uit de buitencategorie. Ik ken niemand die de snelheid waarmee jij stukken kritisch doorneemt kan evenaren, zelfs zonder ondertussen een vergadering actief bij te wonen. Ik heb er bewondering voor hoe je heel snel inhoud kon geven aan het promotor zijn voor milieutoxicologische promotieonderwerpen over dieren en mechanismen waarvan je voorheen het bestaan echt niet had vermoed. Omdat we op een aantal punten duidelijk van elkaar verschillen, kunnen we elkaar aanvullen en heb ik een groot aantal dingen van je kunnen leren. Ook daarvoor bedankt!

Bedankt, collega's van Tox, voor jullie inzet en ideeën. Wat er op het lab gebeurt en hoe het allemaal geregeld is, is toch de basis van al onze output. Speciaal wil ik graag Hans noemen, mijn maatje sinds ik bij Tox werk. Wij delen de liefde voor de natuur en kunnen soms merkwaardig melig worden als het laat wordt maar het werk toch af moet. En ook niet te vergeten Bert, die nogal een ferme hand van koffie zetten heeft en elke keer weer interessante artikelen boven water haalt, die ik dan op zaterdagavond ge-e-maild krijg.

Imares, wat mooi om de ontwikkeling mee te maken van een rapport producerend contractlab tot een prachtig kennisinstituut. Martin, ik heb er bewondering voor hoe je slagvaardige beslissingen neemt en lef waardeert boven een veilige bureaucratische handtekeningencultuur. In plaats van je medewerkers te verkleuteren geef je ze de ruimte om verantwoordelijkheid te nemen en dat is duidelijk succesvol. Collega's van Imares, jammer dat ik niet full time op 2 plaatsen tegelijk kan zijn, want ik ben onder de indruk van wat jullie kunnen en bedenken en vind het leuk om te helpen deze ideeën aan de man (en vrouw!) te brengen.

Dear former and current students and PhD-students. It is a great privilege for me to accompany you in your quest for knowledge and understanding. It is not just you who learns. I enjoy our discussions about unexpected results and new theories, your ideals and technological novelties. You already are, or will be, my future colleagues and the future of science. I am looking forward to the day that my first PhD student will be a professor herself....

Familie en vrienden buiten het werk, wat fijn dat jullie er zijn om samen heel andere dingen te doen dan werken, Want hoewel ik mijn werk belangrijk vind is het erg fijn om energie en inspiratie ook daarbuiten op te doen en in een heel andere rol bezig te zijn: of dat nu jeugd snorkelen of duiken leren met andere Heiduikers is, buikdansen (uitstekend tegen RSI en een vol hoofd), een speurtocht uitzetten of even flink te zweten met *skiken* of bijkletsen met dierbaren.

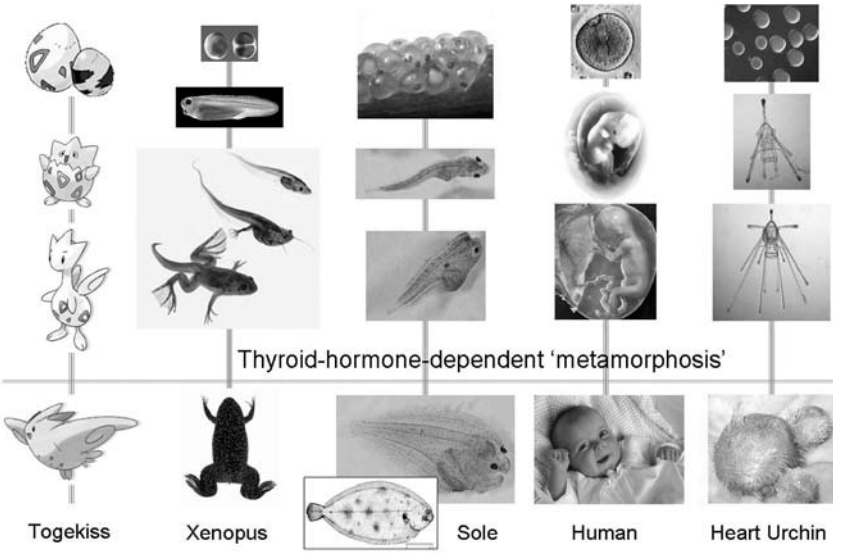
Mijn familie, ook mijn langbenige hippe schoonfamilie, wil ik graag bedanken voor hun warme belangstelling en gezelligheid.

Het is erg plezierig om als steun en toeverlaat twee reserveoma's als achtervang voor zoontje Loek te hebben, als mama weer eens naar een congres moet of om een andere reden niet op tijd thuis kan zijn. Tante Nel en Leida, bedankt dat we, als het nodig is, steeds weer op jullie kunnen terugvallen.

Een heel groot dankjewel wil ik richten aan mijn ouders: Betty en Co. Ik las eens ergens: 'Hoogleraar worden doe je voor je ouders'. En ik moet zeggen dat daar wel wat in zit. Het is voor mij veel waard dat jullie er ook vandaag weer bij zijn. Allebei fit, hoewel Betty nog herstellend is van een stevige klap door de ziekte van Lyme. Jullie vormden de basis van wie ik nu ben. Ik heb van jullie geleerd doelen te stellen en daar naar toe te werken, niet te snel op te geven maar ook tevreden of trots te zijn als er iets lastigs gelukt is. Jullie hebben mij toen ik jong was, de ruimte gegeven maar ook gesteund, gekke biologenfratsen geaccepteerd en belangstelling getoond. Heel erg bedankt voor alles en dat jullie nog maar lang trots op mij mogen blijven!

Mijn laatste woorden van dank gaan uit naar mijn 2 mannen, die allebei echt niet in het centrum van de belangstelling willen staan: Dick, fijn dat je er bent met je kritische blik en relativerende opmerkingen, dat je er bent als het nodig is en dat ik altijd op je kan rekenen.

Loek, wat ben jij een geweldig kereltje. Je bent slim, lief, hoewel soms iets té bijdehand..., en kunt al veel beter voetballen dan je vader en moeder samen. Het is geweldig voor ons om de wereld met jou samen weer te herontdekken Speciaal voor jou heb ik de mooiste dia uit mijn rede nog iets mooier gemaakt!



Figuur 25 Het leven kent zoveel prachtige verschijningsvormen

Ik heb gezegd.

Referenties

ATSDR (2008) The Agency for Toxic Substances and Disease Registry (www.atsdr.cdc.gov).

Bargman, G. (2001) Causes of Cherry Point herring decline Fish and wildlife science, online magazine. http://wdfw.wa.gov/science/articles/herring/ doi?

Foekema, E.M., C. Deerenberg, A.J. Murk Prolonged ELS test with the marine flatfish sole (*Solea solea*) shows delayed toxic effects of previous exposure to PCB 126, *Aquatic Toxicology in press*.

Gezondheidsraad (1996) Dioxinen: Polychloreerde dibenzo-p-dioxinen, dibenzofuranen en dioxine-achtige polychloreerde biphenyls. Report 1996/10. Gezondheidsraad, Rijswijk, NL.

Gutleb A.C., Appelman J., Bronkhorst M., van den Berg J.H.J., Spenkelink A., Brouwer A., Murk A.J. (1999): Delayed effects of pre- and early-life time exposure to polychlorinated biphenyls (PCB's) on tadpoles of two amphibian species (Xenopus laevis and Rana temporaria). Environ. Toxicol. Pharmacol. 8, 1-14.

Gutleb A.C., Appelman J., Bronkhorst M., van den Berg J.H.J., Murk A.J. (2000): Effects of oral exposure to polychlorinated biphenyls (PCB's) on the development and metamorphosis of tadpoles from two amphibian species (Xenopus laevis and Rana temporaria). Sci. Total Environ. 262, 147-157.

Gutleb A.C., I. Mossink, M. Schriks, J.H.J. van den Berg, Murk A.J., (2007a) Delayed effects of environmentally relevant concentrations of 3,3',4,4'-tetrachloro-biphenyl (PCB-77) and non-polar sediment extracts detected in the prolonged-FETAX. Science Tot. Environ. 381, 307-315.

Gutleb A.C., L. Mossink, H.J.H. van den Berg, Murk A.J. (2007b) Amphibian metamorphosis assay using synchronized larvae of *Xenopus laevis*. *Chemosphere 70: 93–100*.

KWF (2008) Geen relatie tussen gebruik deodorant en borstkanker, kwfkanker-bestrijding.nl/index.jsp?objectid=kwfredactie:6735.

Mensink, B.P., H. Kralt, A.D. Vethaak, C.C. Ten Hallers-Tjabbes, J.H. Koeman, B. van Hattum and J.P. Boon (2002). Imposex induction in laboratory reared juvenile Buccinum undatum by tributyltin (TBT) Environmental Toxicology and Pharmacology Volume 11, Issue 1, p 49-65.

NKR (2004) Nederlandse kankerregistratie 2004 (www.ikcnet.nl).

REACH (2008) Wat is REACH europa.eu.int/comm/environment/chemicals/reach.htm.

RIVM (2007) Nitrosamines uit het materiaal vrijmaken RIVM-rapport 609300002 (www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/609300002.html).

Schriks M., Zvinavashe E, J.D. Furlow, Murk A.J. (2006). Disruption of thyroid hormone-mediated Xenopus laevis tadpole tail tip regression by hexabromocyclododecane (HBCD) and 2,20,3,30,4,40,5,50,6-nona brominated diphenyl ether (BDE206). Chemosphere 65 1904–1908.

Schriks M., Roessig J.M., Murk A.J., Furlow J.D. (2007). Thyroid hormone receptor isoform selectivity of thyroid hormone disruptingcompounds quantified with an *in vitro* reporter gene assay. *ETAP*, 23: 3, 302-307.

Snopes (2008). Dyhydrogen monoxide (www.snopes.com/science/dhmo.asp).

Sotoca Covaleda AM, J.H.J. van den Berg, J.J.M. Vervoort, P. van der Saag, A. Ström, J.A. Gustafsson, I.M.C.M. Rietjens and A.J. Murk (2008). Influence of ERα/ERβ ratio on ERalpha-agonsit induced proliferation of human T47D breast cancer cells. Toxicol Sci. 105(2): 303–311.

Sotoca Covaleda A.M., Ratman D, Saag P. van der, Ström A., Gustafsson J.A., Vervoort J.J.M., I.M.C.M. Rietjens and A.J. Murk. Phytoestrogen-mediated inhibition of proliferation of the human T47D breast cancer cells depends on the ERα/ERβ ratio. *Submitted*.

Ter Veld M., Schouten, B., Rietjens, I and A.J. Murk (*2006*). Different responses in an ERa and ERb reporter cell line by intentional and unintentional estrogenic food additives. J. Agric. Food Chem. 2006, 54, 4407-4416.

Ter Veld, M.G.R., E. Zawadska, P.T. van der Saag, Rietjens, I.M.C.M. and A.J. Murk. Can food associated estrogenic compounds induce ER-dependent luciferase activity in fetuses after oral or IP exposure of transgenic estrogen receptor reporter gene mice? *Submitted*.

Van Ginneken V., A. Palstra, M. Nieveen, H. van den Berg, G. Flik, T. Spanings, P. Niemantsverdriet, G. van den Thillart, A.J. Murk. Effects of PCB's on the energy cost of migration and blood parameters of European silver eel (Anguilla anguilla). Submitted to Aquatic toxicology.

VWA (2008). Voedsel en Waren Autoriteit, dossier bestrijdingsmiddelen (www.vwa.nl).

Zvinavashe E., J.H.J. van den Berg, A.E.M.F. Soffers, J. Vervoort, A. Freidig, A.J. Murk, I.M.C.M. Rietjens (2008). QSAR Models for Predicting in Vivo Aquatic Toxicity of Chlorinated Alkanes to Fish. *Chem. Res. Toxicol*. 21, 739–745.

Zvinavashe E, A.J. Murk, Ivonne M.C.M. Rietjens. On the number of EINECS compounds that can be covered by (Q)SAR models for acute toxicity. *Toxicology letters, accepted*.



Na haar studie Milieubiologie en Moleculaire biologie in Leiden, werkte Tinka Murk achtereenvolgens bij het Centrum voor Milieustudies, het RIZA en de Gezondheidsraad. In 1989 werd ze universitair docent bij de vakgroep Toxicologie. Ze promoveerde op biomarkers voor de detectie van sluipende effecten van milieuverontreinigingen. In 2002 werd Tinka hoofddocent op een Aspasia beurs. Vanaf eind 2006 is ze daarnaast in deeltijd werkzaam bij de afdeling milieu van Wageningen IMARES en sinds 2008 is ze persoonlijk hoogleraar Milieutoxicologie.

ISBN 978-90-8585-268-1