

Kort verslag van de vergadering van
de Werkgemeenschap Vergelijkende
Stofwisselingsfysiologie bij Dieren

Ir.K.Vreman

Rapport nr. 110

De vergadering werd gehouden op donderdag 1 december 1977 in het J.H.van het Hoff-Instituut, Nieuwe Achtergracht 166 te Amsterdam. De organisatie ervan was in handen van het Milieu- en Toxicologisch chemisch Laboratorium der Universiteit van Amsterdam.

Het programma omvatte 10 lezingen, een rondleiding in het laboratorium en een discussie over de wenselijkheid van een projectgroep Biologische Toxicologie binnen de Werkgemeenschap Vergelijkende Stofwisselingsfysiologie bij Dieren. Aan het einde van de dag werd het secretariaat overgedragen aan dr.ir.J.v.Bruchem, Vakgroep Fysiologie der Dieren, L.H., Haarweg 10, Wageningen.

De vergadering of bijeenkomst werd door naar schatting 40 personen bijgewoond.

Het was een interessante dag, waarop contact mogelijk was met onderzoekers uit verschillende richtingen.

Hieronder volgt een kort verslag van de gehouden inleidingen.

1. Dr.O.Hutzinger gaf een overzicht van de onderzoekingen op het laboratorium voor Milieu- en Toxicologische chemie. De milieuverontreinigende stoffen duidde hij aan als xenobiotische verbindingen (xenos = vreemd). Het betreft vooral organische verbindingen.

De wereldproduktie van dit soort stoffen (pesticiden, detergents, oplosmiddelen, PCB's, Phtalaatesters en dergelijke) omvatte in 1950 7 miljoen ton en in 1970 70 miljoen ton. Men verwacht, dat in 1985 de produktie 250 miljoen ton zal bedragen.

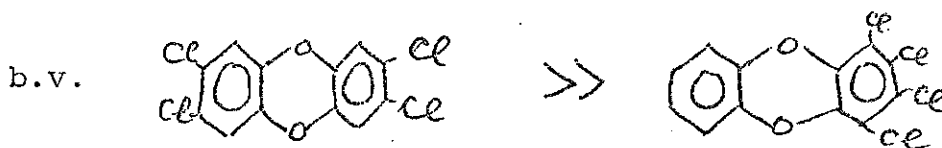
Probleemgebieden van de milieuchemie zijn:

1. Wat gebeurt er met de stoffen in het milieu (distributie, afbraak, transport in bepaalde ketens)?
2. In welke mate worden de stoffen opgenomen door organismen (opname, metabolietenvorming, uitscheiding)?

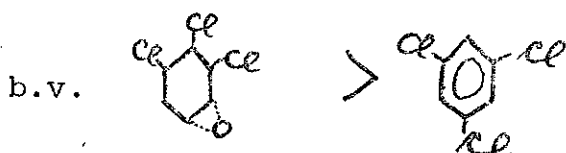
De toxicologie richt zich voornamelijk op toxiciteitsonderzoek. Hierbij gaat het niet alleen om de effecten van bepaalde doses, maar ook om de structuur van de stoffen (structuur-activiteitsrelatie).

Persistente verbindingen (gechloreerde aromaten) verdienen vooral aandacht.

De toxiciteit wordt o.a. bepaald door de structuur van de stof.



Het gemak waarmee metabolieten worden gevormd, hangt ook samen met de structuur



Tenslotte gaf Hutzinger een overzicht van de werkterreinen van zijn medewerkers. Deze terreinen zijn:

1. analyse, structuurbevestiging (gaschromatografie, massaspectrometrie, computer)
 2. opname, transport en accumulatie van organohalogeenvormingen
 3. milieufotochemische ontleding van xenobiotische stoffen, die halogeen bevatten
 4. metabolisme van organohalogeenvormingen
- en
5. testen van mutagene eigenschappen van onderzochte stoffen (Ames-test).

Het bleek, dat chronische expositie van lage doses nog niet in de modelsystemen was ingebouwd. Om "metabolic pathways" te bestuderen, bleken grote hoeveelheden van stoffen nodig te zijn.

2. K.Olie houdt zich bezig met de analyse van persistente organische verbindingen, b.v. PCB's en dibenzofuranen. De combinatie van een gas-vloeistofchromatograaf met een massaspectrometer blijkt een uitstekend hulpmiddel te zijn.

Het GMS systeem is eenvoudig als volgt:

GC - separator (ion source) - massfilter - detector - randapparatuur (o.a. een copieerapparaat).

Een speciaal computerprogramma is ontwikkeld om gechloreerde verbindingen op te sporen.

De analyse is gericht op:

1. chemische produkten (hoofd- en bijprodukten)
2. rookgassen, vlieggas en slakken van diverse verbrandingsinstallaties (gechloreerde benzenen, dibenzofuranen, fenolen en dioxines).

Met behulp van een massaspectrometer is een betere identificatie mogelijk dan met een electron capture detector, omdat MS een aantal massa's en retentietijden geeft.

De monstervoorbereiding blijkt eenvoudig te zijn. Bewerkelijke scheidings- en zuiveringstechnieken zijn bij GMS niet nodig.

Bij complexe monsters (veel verwante metaboliëten erin) is echter soms een dunne laag chromatografische scheiding nodig.

3. M.Th.M.Tulp sprak over het metabolisme van organohalogeënvormingen zoals PCB's, PBB's, alkylbiphenylen, PCDE (fenylethers), chloralkylene, dibenzofuranen en dergelijke.

Om verschillende massafragmentatiepatronen te krijgen worden derivatiseringsmethoden toegepast, b.v. methylering, ethylering en acetylering.

Soms ontstaan gelijke fragmentatiepatronen; dan probleem oplossen door vorming van cyclische butylboronaten. Van verschillende stoffen (o.a. 4,4'-dichlorbiphenyl) werden metaboliëten getoond. Als proefdier wordt de rat gebruikt.

4. A.A.M.Roof hield een inleiding over fotochemische ontleding van halogeënvormingen.

De fotochemie bestudeert chemische processen, die optreden na electromagnetische aanslag van een molekule met behulp van straling. Het milieufotochemisch onderzoek laat zich door een aantal parameters kenmerken:

golflengte	≥	300 μm
fase		gas, damp, waterige oplossing en protische oplosmiddelen
concentratie	<	10 ⁻⁴ M
opgeloste gassen		O ₂ + N ₂ + ?
aantal substraten in één bestraling		mengsel van verwante of uiteenlopende soort

De chemische processen vinden plaats vanuit de laagste aangeslagen toestand. Een te grote golflengte levert niet genoeg energie om bindingen te verbreken (b.v. > 500 μm).

Bestudering van chemische processen is van belang voor:

1. fotochemische smogvorming (NO_x , SO_2 , O_3 met o.a. terpenen)
- en 2. fotochemische ontleding (b.v. dieldrin \rightarrow fotodieldrin)

Bij het opzetten van modelsystemen onder laboratoriumomstandigheden moet rekening worden gehouden met vóórkomen van verbindingen in milieu (gas, damp, oplossing, adsorptie) en de omstandigheden in het milieu (b.v. lichtfiltering door medium en kenmerken van spectrum van de zon op aarde.

De fotodechlorering van difenylethers en dibenzofuranen werd kort aan de orde gesteld. Bij laatstgenoemde stoffen ontstaan soms minder toxische produkten.

5. Mevrouw Engel-van 't Hof sprak over testen van mutagene eigenschappen van in het laboratorium gebruikte verbindingen. De mutageniteitsproef (Ames-test) werd gedaan met *Salmonella typhimurium*-stammen, die histidine-behoefstig zijn. Deze stammen zijn speciaal gekweekt door meneer B.N.Ames. Het principe en de methode werden aan de orde gesteld.

Naast de Ames-test kan ook de fluctuatietest worden gebruikt. Hierbij gebruikt men tryptofaan-behoefstige *Escherichia coli*-stammen van B.A.Bridges.

Met deze testen kan men screenen; de langdurige experimenten met ratten kunnen ze niet vervangen. Uit een negatieve Ames-test durft men geen conclusies te trekken.

Onderzochte stoffen waren b.v. Tris BP (broomphenyl) en vliegias en slakken, afkomstig van de vuilverbranding.

6. W.A.Bruggeman stelde zijn onderzoek over accumulatie van organohalogeenvbindingen in het aquatisch milieu aan de orde. Hij staat nog aan het begin van dit werk.

Voorbeelden van te onderzoeken verbindingen waren DDT, DDE, HCB en PCB's, alle gekenmerkt door lipofiliteit en stabiliteit.

Wat is het lot van deze stoffen in het aquatisch milieu en bestaat er een samenhang tussen accumulatie en structuur? Hoe neemt het phyto-plankton de stoffen op uit het water?

In eerste instantie zullen gegevens over accumulatiefactor (concentratie in vis gedeeld door concentratie in water) en partiticoëfficiënt (concentratie in octanol gedeeld door concentratie in water) verzameld worden. Ook zal de vorming van afbraakprodukten (metabolieten) in het organisme aandacht krijgen. De werkwijze komt neer op het ontwerpen van eenvoudige model-systemen, waaraan verwante series PCB's en andere persistente stoffen worden toegediend. Snelheid van opname, evenwicht en dergelijke parameters zullen dan eerst onderscheiden moeten worden.

Een doelstelling is om relevante testsystemen met interne standaard te ontwerpen teneinde het gedrag van nieuwe stoffen te kunnen voorspellen.

Deze 6 inleidingen werden verzorgd door medewerkers van het Milieuchemisch laboratorium van de Universiteit van Amsterdam.

De volgende inleidingen werden gehouden door medewerkers van de vakgroep Veterinaire Farmacologie en Toxicologie, afdeling Biologische Toxicologie te Utrecht.

7. P.Leeuwangh gaf een meer algemeen overzicht van het werk van de afdeling.

In de chemische toxicologie is de aandacht vooral gericht op de fysische en chemische lotgevallen van de stof in het milieu. De biologische toxicologie daarentegen bestudeert de wisselwerking tussen stof en organisme.

De toxicologie van de chemische waterverontreiniging voor vissen en andere waterdieren staat centraal. Naast laboratorium-onderzoek wordt veldonderzoek verricht.

Het onderzoek is gericht op akute toxiciteit (sterfte als criterium) en chronische toxiciteit (sublethale effecten als criterium). Het detailonderzoek is o.a. gericht op opheldering van het werkingsmechanisme van de stof. Benodigde vakgebieden zijn onder meer: pathologie, histopathologie, biochemie, klinische chemie en fysiologie.

8. Köneman was de volgende spreker. Hij sprak over de toxiciteit van chloorbenzenen voor de gup. Hij liet een hele lijst met LC_{50} waarden zien. Met 1 stof hiervan, t.w. HCB, was gup niet dood te krijgen.

Voor hoog gechloreerde verbindingen had hij oplosbaarheidsbepalingen in water gedaan en partiticoëfficiënten bepaald (P-Octanol). In het milieu heeft men vaak niet met 1 verontreinigende stof te maken, maar met meerdere.

Daarom is ook de toxiciteit bepaald van een combinatie van 10 CB's (chloorbenzenen) voor guppen.

De stoffen waren in het mengsel aanwezig in gelijke verhouding tot hun LC_{50} waarden. Het bleek, dat in zo'n geval de effecten additief zijn, dus gewoon optellen!

9. A.Musch sprak over proeven met TPT (triphenyltinchloride) bij goudvissen.

Enkele LC_{50} waarden waren:

LC_{50} 4 dagen 40 ppb

LC_{50} 30 dagen 6 ppb

Hij keek vooral naar de geconditioneerde vluchtreactie (opstelling met drempel of schotje). Een vluchtreactie kan worden opgeroepen met lichtsignalen en elektrische spanning.

Een centrale conclusie was, dat het "gedrag" van de vissen wel gestoord kon worden door de tinverbinding als de vissen het moeilijk wordt gemaakt.

Naast gedrag werd ook aandacht besteed aan ademhaling (ademhalingsfrequentie en O_2 -consumptie) en werking van het hart (cardiogram, QRS complex).

10. Tenslotte hield B.J.Blaauboer van de sectie Biochemie van de veterinaire Vakgroep een uiteenzetting over de vorming van ferrihaemoglobine door aromatische amines. Als modelstof was aniline gekozen. Door de vorming van ferrihaemoglobine is het zuurstoftransport verstoord.

Het ontstaan van dit haemoglobine hangt samen met een oxidatie-reductiecyclus in de rode cel.

Er is in de rode cel een enzymstelsel aanwezig om nitrosobenzeen te reduceren, dat samengaat met een ophoping van ferri-Hb.

De oxidatie-reductieprocessen zijn gekoppeld aan het glucose-metabolisme van de rode cel.

Over de glucoseutilisatie in het algemeen en metabolisme via de HMPS (hexosemonophosphaatshunt, via pentose cyclus dus) in de intacte cel werden proefuitkomsten getoond.

De heer Strik van de Vakgroep Toxicologie van de Landbouwhogeschool te Wageningen gaf nog een korte uiteenzetting over het werk op de afdeling Toxicologie.

Het onderwijs omvat de volgende deel terreinen:

1. algemene toxicologie
2. milieu toxicologie
3. industriële toxicologie
4. voedingsmiddelen toxicologie
- en 5. post-doctorale cursussen.

Het onderzoek omvat momenteel 5 thema's:

1. Vistoxicologisch onderzoek (effecten van verschillende contaminanten op vissen)
2. De porfyriogene en hepatotoxische werking van chemische stoffen bij mens en dier (een groot aantal actuele stoffen blijkt zo'n werking te hebben; daarom vroege diagnose van schadelijke effecten gewenst)
3. Cel- en genetische toxicologie (in vitro-onderzoek, mutageniteitsonderzoek)
4. Milieutoxicologisch onderzoek aan natuurlijke en agrarische oecosystemen (risico's van contaminanten voor het natuurlijke en agrarische milieu)
- en 5. De maatschappelijke positie van de toxicologie in het heden en recente verleden (hoe wordt toxicologische informatie over contaminanten, hulpstoffen e.d. door verschillende instanties, groepen en personen beoordeeld?)