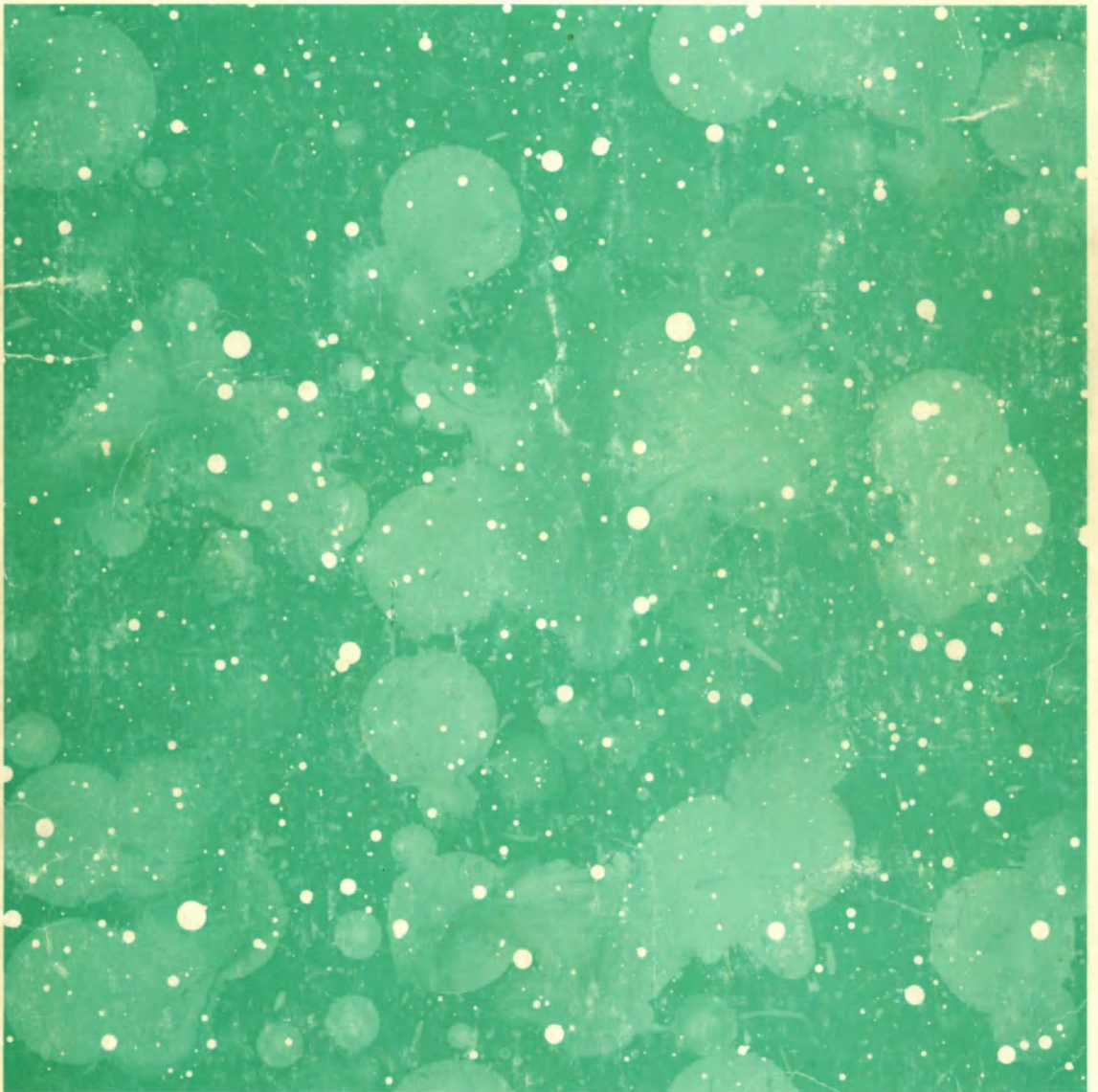


19780

Algemene inleiding in de toxicologie

J. H. Koeman



T O X I C O L O G I S C H E R E E K S

Algemene inleiding in de toxicologie

**BIBLIOTHEEK
DER
LANDBOUWHOGESCHOOL
WAGENINGEN**

CENTRALE LANDBOUWCATALOGUS



0000 0013 8004

In de Toxicologische Reeks verschijnen publikaties over het gedrag van chemicaliën in levende organismen en ecosystemen en over de manier waarop deze chemicaliën schade kunnen toebrengen aan de mens en andere levende organismen. Deze reeks staat onder redactie van: prof.dr. J.H. Koeman, drs. G.J. van Esch, prof.dr. H. van Genderen, dr. A.P. de Groot, prof.dr. P.Th. Henderson en ing. J. Castelein (Pudoc).

EB
Algemene inleiding
in de toxicologie

J.H. Koeman



Pudoc Wageningen 1983

BIBLIOTHEEK
DER
LANDBOUWHOGESCHOOL
WAGENINGEN

101 145-01

Dr. J.H. Koeman is hoogleraar in de toxicologie aan de Landbouwhogeschool te Wageningen.

Deze uitgave kwam tot stand met steun van de Landbouwhogeschool.

CIP-GEGEVENS

Koeman, J.H.

Algemene inleiding in de toxicologie / J.H. Koeman, - Wageningen : Pudoc. - Ill. - (Toxicologische reeks)

Met lit. opg.

ISBN 90-220-0824-X

SISO 612.8 UDC 615.9

Trefw. : toxicologie.

ISBN 90 220 0824 X

© Centrum voor Landbouwpublicaties en Landbouwdocumentatie, Wageningen, 1983.

Niets uit deze uitgave, met uitzondering van referaat, titelbeschrijving en korte citaten ten behoeve van een boekbespreking, mag worden gereproduceerd, opnieuw vastgelegd, vermenigvuldigd of uitgegeven door middel van druk, fotokopie, microfilm, langs elektronische of elektromagnetische weg of op welke andere wijze ook zonder schriftelijke toestemming van de uitgever Pudoc, Postbus 4, 6700 AA Wageningen.

Voor alle kwesties inzake het kopiëren uit deze uitgave: Stichting Reprorrecht, Amsterdam.

Inhoud

Glossarium

1	<i>Inleiding</i>	1
	Vergiftiging als maatschappelijk verschijnsel	1
	Vergiftiging door contact met de natuur	1
	Vergiftiging als gevolg van industriële bedrijvigheid	4
	Intentionele vergiftiging	6
	Toxicologie als vakgebied	8
2	<i>Het lot van toxische stoffen in organismen en het milieu</i>	13
	Buiten het organisme	13
	Omstandigheden aan de bron	13
	Verplaatsing in het milieu	14
	Omzetting in het milieu	16
	Binnen het organisme	17
	De opname van de stof	17
	Verplaatsing in het lichaam	18
	Omzetting in het lichaam	19
	Uitscheiding	21
	Concentratieverloop van stoffen in levende organismen en het milieu	22
3	<i>Kwalitatieve aspecten van de toxische werking</i>	25
	Mechanisme van de vergiftiging	26
	Zenuwstelsel en zenuw-spier functie	26
	Lever en nieren	29
	Cellulaire ademhaling, zuurstoftransport en oxydatieve fosforylering	31
	Chemische carcinogenese	32
	Relatie tussen structuur en werking	34
	Alkylerende stoffen	34
	Radicalen en radicaalvormers	35
	Metaalkationen	36
	Organische fosforesters	36
	Oplosmiddelen en inerte gassen	36
	Stoffen met structuuranalogie met lichaamseigen metaboliëten	37
	Combinatiewerking van toxische stoffen	39

4	<i>Kwantitatieve aspecten van de toxische werking</i>	42
	Het dosisbegrip	42
	De factor tijd	46
	Acute vergiftiging	46
	Chronische vergiftiging	48
	Latentietijd	49
5	<i>Verschillen in gevoeligheid voor toxische stoffen</i>	50
	Verschillen tussen soorten	50
	Anatomie	50
	Fysiologie	51
	Verschillen binnen de soort	53
	Erfelijkheid	53
	Leeftijd	55
	Voedings- en leefgewoonten en gezondheid	56
6	<i>Toxicologisch onderzoek en normstelling</i>	58
	Onderzoek	58
	Toxiciteitsonderzoek	58
	Epidemiologisch-toxicologisch onderzoek	61
	Fundamenteel toxicologisch onderzoek	62
	Onderzoek naar het lot van stoffen in het milieu	62
	Normstelling	63
	Bijlage 1. Overzicht van Nederlandse proefschriften op het terrein van de toxicologie verschenen na 1955	66
	Bijlage 2. Overzicht van deeldisciplines in de toxicologie en de belangrijkste instellingen in Nederland waar deze disciplines worden toegepast	68
	Geraadpleegde en algemene literatuur	70

Glossarium

activatie	proces waarbij een chemische stof via een biochemisch of ander mechanisme wordt getransformeerd tot een metaboliet die giftiger is dan de stof zelf
additie	combinatiewerking van twee of meerdere giftige stoffen waarbij de werking gelijk is aan de som van de werking die de stoffen afzonderlijk uitoefenen
antagonisme	combinatiewerking van twee of meer giftige stoffen waarbij de werking geringer is dan de som van de werking die de stoffen afzonderlijk uitoefenen
biotransformatie	de biochemische omzetting van toxische stoffen
carcinogeen	kankerverwekkend of kankerverwekkende stof
dermale toxiciteit	giftigheid van een stof na opname via de huid
detoxicatie	proces waarbij een giftige stof langs biochemische of andere weg zijn giftigheid verliest
hepatotoxisch	giftig voor de lever
initiator	term die in het kader van de chemische carcinogenese wordt gebruikt voor de aanduiding van stoffen die genetische mutaties induceren in lichaamscellen waardoor deze transformeren tot pre-neoplastische celtypen
intoxicatie	vergiftiging
letaal	dodelijk
mutageen	stof die genetische mutaties veroorzaakt; mutatieverwekkend
nefrotoxisch	giftig voor de nieren
neurotoxisch	giftig voor het zenuwstelsel
orale toxiciteit	giftigheid van een stof na opname via de mond
parenterale toxiciteit	giftigheid van een stof na toediening door de lichaamswand (b.v. via een injectienaald of giftand)

potentiëring	combinatiewerking van één of meerdere stoffen waarbij de werking groter is dan de som van de werking die de stoffen afzonderlijk uitoefenen; volgens sommigen is potentiëring identiek met synergisme; volgens anderen mag het begrip potentiëring alleen worden gebruikt voor de aanduiding van stoffen die zelf niet werkzaam zijn maar wel de werking van andere stoffen versterken
promotor	stof die een pre-neoplastische cel transformeert tot kankercel
receptor	moleculaire structuur (b.v. enzym of membraan) die het aangrijpingspunt vormt voor giftige stoffen in een organisme
sub-letaal	toxische werking die niet dodelijk is
synergisme	combinatiewerking van twee of meerdere stoffen waarbij de werking groter is dan de som van de werking die de stoffen afzonderlijk uitoefenen (zie ook potentiëring)
teratogeen	stof die tijdens de ontwikkeling blijvende schade veroorzaakt aan het embryo; een dergelijke werking
toxine	giftige stof van natuurlijke herkomst
toxiciteit	giftigheid; vermogen van een stof een vergiftiging te veroorzaken
toxicologie	letterlijk leer der vergiften; wetenschapsgebied dat zich richt op vergiften en hun werking
toxicologisch	betrekking hebbend op de toxicologie
toxicon	vergift (Gr.), term die gewoonlijk weinig wordt gebezigd in onze taal
toxisch	giftig
'venom'	Engels woord voor toxine dat door dieren via gif-tanden, angels e.d. in het lichaam wordt gebracht ('venomous animals'); de Nederlandse taal gebruikt hiervoor geen apart woord, ofschoon het woord venijn zeer waarschijnlijk verwant is aan 'venom'

1 Inleiding

De kans vergiftigd te worden vormt één van de bedreigingen waarmee de mens en andere organismen tijdens hun leven worden geconfronteerd. Vergiftigd worden houdt in, dat een chemische stof de fysiologische processen zodanig verstoort, dat de lichamelijke conditie van het betreffende organisme niet langer als gezond kan worden gekwalificeerd, met andere woorden het wordt ziek. De aard en intensiteit van de ziekteverschijnselen is afhankelijk van onder andere het soort vergif, de hoeveelheid die in het lichaam wordt opgenomen, de duur van de blootstelling, de lichamelijke conditie van de blootgestelde individuen, alsmede hun levensomstandigheden en -gewoonten.

Alle lichamelijke functies zijn in principe kwetsbaar voor de werking van vergiften. Vandaar ook dat het onderzoek naar de werking van giftige stoffen een bij uitstek multidisciplinair vakgebied vormt. De wetenschap die zich met alle aspecten van vergiften en hun werking bezig houdt, is de toxicologie, letterlijk leer der vergiften (gr. toxicon = vergift). De beoefenaren van dit vak noemt men toxicologen.

VERGIFTIGING ALS MAATSCHAPPELIJK VERSCHIJNSEL

Vergiftiging door contact met de natuur

Mensen en dieren kunnen het slachtoffer worden van vergiften die spontaan aanwezig zijn in het natuurlijke leefmilieu, zoals giftige planten en dieren en giftige mineralen in de bodem. Vergiftigingen door planten, bijvoorbeeld door het eten van paddestoelen, komen regelmatig voor, ofschoon de meeste giftige planten, zeker in Nederland, bekend en herkenbaar zijn. Niet iedereen beschikt echter over de kennis die nodig is om dit gevaar te vermijden of anderen ertegen te beschermen, zoals kinderen.

Ook sommige landbouwgewassen kunnen aanleiding geven tot vergiftigingen, zoals de zaailathyrus, die hier en daar in Azië wordt geconsumeerd en bij ruime consumptie het zenuwstelsel op ernstige wijze aantast. Een ander voorbeeld is cassave, die op grote schaal wordt verbouwd in de tropische delen van Amerika, Afrika en Azië. Indien de voedselbereiding onvoldoende aandacht krijgt, loopt de consument het risico acuut of chronisch door in de plant voorkomende cyaniden te worden vergiftigd. De meeste peulvruchten bevatten giftige eiwitten die ernstige stoornissen teweeg kunnen brengen in de darmfunctie. Deze giftige werking verdwijnt wanneer peulvruchten gedurende enige tijd worden verhit. Veel andere gangbare voedingsgewassen bevatten eveneens

stoffen die in principe giftig kunnen zijn, bijvoorbeeld de thioglycosiden in kool, radijs, mosterd en andere planten, het alkaloïde solanine in de aardappel, oxaalzuur in spinazie en carotatoxine in de peen.

Deze stoffen zullen echter bij normale consumptie geen aanleiding geven tot problemen, daar de opgenomen hoeveelheden te klein zijn om gezondheidsschade te veroorzaken. Toch staan de voedselplanten de laatste tijd sterk in de belangstelling nu bekend is dat de keuze en samenstelling van het voedingsmiddelenpakket van grote betekenis is voor het ontstaan van kanker. Het gaat daarbij zowel om de nutriëntensamenstelling (eiwitten, vitamines, spooreslementen, ruwvezelgehalte e.d.) als het voorkomen van stoffen met een kankerbevorderende of kankerremmende invloed.

De mogelijke betekenis voor de gezondheid op de lange termijn heeft zich tot dusver in de culturele evolutie van de mens aan de waarneming onttrokken. Men koos voedselplanten waarvan men niet meteen ziek werd, die qua smaak aanvaardbaar waren en waarmee men zich van generatie tot generatie in stand kon houden. Wetenschappelijk onderzoek stelt ons nu in staat een inzicht te verwerven in de relatie tussen voeding en gezondheid. De resultaten van dit onderzoek zullen waarschijnlijk uitmonden in voedings- en voedselbeleidsgewoonten die hier en daar aanzienlijk afwijken van de huidige.

Bij giftige dieren denkt men in de eerste plaats aan gifslangen, schorpioenen, spinnen en sommige kwallen, waardoor over de gehele wereld genomen jaarlijks duizenden mensen worden vergiftigd en niet zelden met een fatale afloop. Naast deze dieren, waarbij het gif via tanden, angels of netelcellen in het slachtoffer terecht komt, zijn er dieren waarvan de giftigheid tot uiting komt als men ze consumeert. Bekend en zeer gevaarlijk zijn de kogelvissen, die in de Grote Oceaan voorkomen. De opname van slechts enkele grammen van zo'n vis kan dodelijk zijn. Sommige vissen en weekdieren zijn soms toxisch, afhankelijk van incidenteel optredende massale groei van bepaalde giftige algen waarmee deze dieren zich voeden, zonder er zelf hinder van te ondervinden. De mens en visetende dieren worden echter wel vergiftigd wanneer ze deze vissen en weekdieren eten.

Ook de Nederlandse consument kan hiermee te maken krijgen als in de Noordzee een massale ontwikkeling optreedt van zogenaamde dinoflagellaten. Deze algen komen dan in grote hoeveelheden terecht in mossels via welke het betreffende vergif, saxitoxine, naar de menselijke consument kan worden overgedragen. Dit is een voorbeeld van vergiftiging via een zogenaamde voedselketen. Gelukkig leven we in een land waar overwegend goed wordt gelet op de kwaliteit van het voedsel. Wanneer zich aan de kust een bloei van dinoflagellaten voordoet, wordt dit door de visserijdeskundigen geregistreerd en worden mosselen en andere weekdieren tijdelijk aan de consumptie onttrokken.

De normale consumptie van dierlijke voedingsmiddelen heeft eveneens haar toxicologische kanten. In vlees en vis komen bijvoorbeeld amines voor die samen met het uit de plantaardige voeding afkomstige nitriet nitrosamines kunnen vormen. Deze stoffen hebben kankerverwekkende eigenschappen. De reac-

tie vindt plaats in de maag, waarbij de mate van nitrosaminevorming sterk afhankelijk is van de overige samenstelling van de voeding.

Het verhitten van vlees en vis, zoals bij het braden, grillen en barbecuen, leidt tot de vorming van stoffen met kankerverwekkende eigenschappen. Tot voor kort dacht men dat het hierbij vooral ging om de zogenaamde polycyclische koolwaterstoffen, waaronder het benzpyreen. In recente jaren is echter ontdekt, dat pyrolyseprodukten van normaal aanwezige aminozuren belangrijker kunnen zijn, gezien hun werking en de hoeveelheden waarin ze ontstaan. Ook deze ontdekking kan een aanleiding zijn voor toekomstige veranderingen in de voedings- en voedselbereidingsgewoonten.

Plant aardige en dierlijke voedingsmiddelen kunnen worden besmet met toxische neevormende schimmels en bacteriën. In de jaren zestig werd de zeer giftige schimmel *Aspergillus flavus* ontdekt op onder andere aardnoten en sojabonen. Deze schimmel produceert de zogenaamde aflatoxinen, die ernstige schade kunnen toebrengen aan de lever, terwijl enkele ervan bovendien kankerverwekkend zijn. De schimmel ontwikkelt zich vooral onder tropische omstandigheden en er zijn aanwijzingen dat het verhoogde vóórkomen van leverziekten waaronder leverkanker, in sommige delen van Azië en Afrika het gevolg is van de besmetting van het voedsel met deze toxinen.

Een *Aspergillus*-soort die ook in de gematigde streken goed groeit, is *Aspergillus ochraceus*, waarin ochratoxine voorkomt, dat nierafwijkingen kan veroorzaken. Dit toxine is aangetoond in maïs en de vergiftigingsverschijnselen zijn vooral waargenomen bij varkens gevoerd met maïsbevattend voer in onder andere Denemarken en enkele Balkanlanden. Inmiddels kent men enkele tientallen toxineproducerende schimmelsoorten die via besmet voedsel zogenaamde mycotoxicosen (schimmelvergiftigingen) kunnen veroorzaken.

Vleeswaren gaven vroeger veelvuldig aanleiding tot botulisme (lat. botulus = worst), een dikwijls fataal aflopende vergiftiging bij de mens, die wordt veroorzaakt door een toxine uit de bacterie *Clostridium botulinum*. Het botulinetoxine is een eiwit en de meest giftige stof die thans bekend is. De toepassing van conserveermiddelen, in het bijzonder van nitriet, heeft het vóórkomen van botulisme sterk teruggedrongen. Een bepaalde stam van de bacterie is voornamelijk infectueus en toxisch voor vogels. Tijdens de laatste decennia zijn in ons land en elders vooral onder watervogels verscheidene malen massasterftes door botulisme opgetreden.

De natuurlijke elementen en mineralen zijn niet homogeen over de aardkost verdeeld. Er zijn plaatsen waar bepaalde mineralen in hoge concentraties voorkomen, terwijl ze elders vrijwel ontbreken. Fluorhoudende mineralen komen bijvoorbeeld in relatief hoge concentraties voor in vulkanische gebieden en gebieden met een vulkanisch verleden. In bepaalde delen van de wereld, onder andere in Ethiopië en Noord-Afrika, leidt dit tot zodanige hoge concentraties van fluor in grond- en drinkwater, dat hierdoor vergiftigingsverschijnselen ontstaan bij mens en dier, zoals verstoringen in de ontwikkeling van het gebit en het beendergestel. In dit soort gebieden wordt het grondwa-

ter gedefluorideerd voordat het als drinkwater beschikbaar komt.

In IJsland weet men al sedert eeuwen, dat in periodes volgend op uitbarstingen van de vulkaan Hekla opvallende skeletafwijkingen optreden bij schapen. Dit houdt verband met de ruime aanwezigheid van fluor in het vulkanisch materiaal.

Nederland bevindt zich juist in een regio met een relatief tekort aan fluor. Fluor is een element met een dualistisch karakter. Kleine hoeveelheden zijn essentieel voor de ontwikkeling van het skelet, grotere hoeveelheden zijn schadelijk; bovendien is de veiligheidsmarge smal.

Iets dergelijks geldt ook voor het element selenium, dat overigens een ander soort werking heeft. In Nederland is eerder sprake van een relatief tekort, dan van een overmaat van dit element. In de Verenigde Staten, Centraal-Azië en Australië kent men zogenaamde 'seleniferous soils', waarin relatief hoge seleniumconcentraties aanwezig zijn. Via de opname door planten kunnen in die gebieden ernstige vergiftigingen optreden bij paarden, koeien en andere herbivore dieren.

Als laatste voorbeeld van een natuurlijke geochemische gifbron kunnen sommige delen van Argentinië, Chili, Jamaica en Canada worden genoemd. Hier komt arseen in hoge concentraties voor in bronwater. Er zijn sterke aanwijzingen, dat de hoge mate van huidafwijkingen bij de lokale bevolking in het grensgebied van Chili en Argentinië een gevolg is van de hoge arseenbelasting van het drinkwater.

De vergiftigingen via de natuur hebben dikwijls een acccidenteel karakter, dat wil zeggen ze worden bepaald door toevallige omstandigheden of ongevals-situaties.

Vergiftiging als gevolg van industriële bedrijvigheid

De belangrijkste bron van vergiften voor de mens en zijn milieu wordt op dit moment ongetwijfeld gevormd door manipulaties met minerale grondstoffen, inclusief alle handelingen die daarmee in industrieel verband en in culturele zin samenhangen. Ook dit is een gevolg van ongelijkmatige verdeling van mineralen, zoals metaalertsen en olie over de aardkorst. Het is nauwelijks denkbaar dat van enige chemische-industriële ontwikkeling sprake had kunnen zijn, wanneer de minerale grondstoffen homogeen over de aardkorst waren verdeeld. De exploitatie van deze grondstoffen is immers volkomen afhankelijk van de aanwezigheid van geologische formaties waarin ze in geconcentreerde vorm voorkomen.

Dit verklaart ook dat toen enkele tienduizenden jaren geleden het vuur werd ontdekt als cultureel hulpmiddel, de mens er spoedig in slaagde metalen zoals ijzer, koper en lood uit bepaalde ertsen vrij te maken en deze aan te wenden voor de vervaardiging van nuttige gebruiksvoorwerpen. Toen zich daarna aan het eind van de Renaissance de revolutionaire verandering voltrok in het menselijk denken over de natuur en de materie die het uitgangspunt vorm-

de voor de ontwikkeling van de moderne wetenschappen en bovendien naast de steenkool de fossiele grondstoffen olie en gas werden ontdekt, waren alle ingrediënten aanwezig voor de industriële ontplooiing die het huidige wereldbeeld bepaalt.

Het aantal mensen dat beroepshalve een plaats vond in de industrie nam snel toe en daarmee tevens het risico van vergiftiging door het beroep. Tot op de huidige dag vormt dit een belangrijk maatschappelijk vraagstuk en talloos zijn de rapporten en wetenschappelijke publikaties die getuigen van de soms zeer ernstige vergiftigingen (waaronder kanker) die sedert het einde van de 18e eeuw zijn opgetreden. De risico's bleven echter niet beperkt tot de beroepssfeer, daar de industriële produkten, waaronder chemische bestrijdingsmiddelen, geneesmiddelen, voedingsmiddelhulpstoffen, oplosmiddelen en huishoudchemicaliën hun weg vonden naar de maatschappij waardoor ook de rest van de bevolking te maken kreeg met nieuwe gevaren van vergiftiging. De gevolgen zijn niet uitgebleven. Vaak zijn deze vergiftigingen het gevolg van onbekendheid met de gevaarlijke eigenschappen van de stoffen bij de producent of de gebruiker of bij beiden.

Een klassiek voorbeeld vormen de loodvergiftigingen die in de 18e eeuw optraden in Engeland ('Devonshire colic') en die het gevolg waren van het gebruik van lood bij de constructie van persen en de bekleding van vaten die werden gebruikt in de ciderindustrie.

Een meer recent voorbeeld vormt het thalidomide, een geneesmiddel dat in het begin van de jaren zestig de oorzaak bleek te zijn van ernstige geboortefouten die plotseling op tal van plaatsen in Europa werden geconstateerd. Ondanks het feit dat de stof conform de toen geldende normen op de gebruikelijke wijze op zijn toxische eigenschappen was onderzocht, had men daarbij de zogenaamde teratogene eigenschappen niet ontdekt.

Ook technische onvolkomenheden en vergissingen bij de produktie kunnen de gebruiker van industriële produkten in gevaar brengen. In de periode 1968-1972 trad in Japan de zogenaamde Kanemi-rijstolieziekte op. Deze werd veroorzaakt door polychloorbifenyilverbindingen (PCB's) die als hittetransportmedium worden gebruikt bij de produktie van rijstolie. De stof kwam abusievelijk door een breuk in een leiding in de rijstolie terecht en eiste duizenden slachtoffers.

Een ernstige vergissing werd in 1973 gemaakt bij een veevoederproducerend bedrijf in Michigan in de Verenigde Staten waar een verwisseling plaats vond van zakken met polybroombifenyilverbindingen (PBB's) en zakken magnesiumoxide. Als gevolg daarvan traden massaal vergiftigingsverschijnselen op bij vee en bij mensen die vlees van de vergiftigde dieren consumeerden.

Voorts is er het abusievelijk gebruik van chemicaliën of hiermee behandelde produkten waardoor veelvuldig massavergiftigingen zijn opgetreden. In 1959 brachten handelaren in Marokko minerale olieprodukten als spijsolie op de markt. Bepaalde daarin voorkomende stoffen veroorzaakten ernstige afwijkingen aan het zenuwstelsel bij duizenden gebruikers van dit vervalste produkt.

Er hebben zich ook meerdere malen calamiteiten voorgedaan, nadat met fungiciden behandeld zaaizaad abusievelijk werd gebruikt als voedsel voor mensen of dieren. In Irak werden op deze wijze in 1971 en 1972 6000 mensen vergiftigd waarbij 459 personen aan de vergiftiging bezweken.

Het is niet steeds aantoonbaar of het bij abusievelijk gebruik gaat om naïviteit of malafide handelingen van degenen die verantwoordelijk zijn. Naarmate in onze maatschappij de kennis over de mogelijke gevaren van chemicaliën groter wordt en het gebruik in wettelijke kaders wordt geregeld, zullen degenen die verantwoordelijk zijn voor de zogenaamde gifschandalen zich niet meer achter enige vorm van naïviteit kunnen verschuilen. Deze overweging heeft belangrijke consequenties voor bedrijven, overheden en individuele personen die verantwoordelijkheid dragen voor de behandeling van chemisch afval, een probleem dat inherent is aan het industriële productieproces.

Tot in het begin van de jaren zestig werd er gewoonlijk van uitgegaan dat het milieu, de bodem, het water en de lucht samen, in staat was het chemisch afval te verwerken. Ernstige calamiteiten zoals de Minamataziekte in Japan, waarbij honderden mensen de dood vonden als gevolg van verontreiniging van het kustmilieu met kwikverbindingen, de vele gevallen van vergiftiging bij in het wild levende dieren als gevolg van afvallozingen, de verzuuring van de Noordepartse en Noordamerikaanse meren door luchtverontreiniging en de vele gevallen van bodemverontreiniging in ons land, zoals in Lekkerkerk en Dordrecht, hebben deze veronderstelling op ondubbelzinnige wijze aan de kaak gesteld. Deze periode is echter nog niet afgesloten, zoals mag worden afgeleid uit de nog steeds voortgaande lozing van chemicaliën in de rivieren, de zeeën en de lucht. Het chemisch afval blijft voorlopig een belangrijke bron van vergiftiging in onze maatschappij.

Intentionele vergiftiging

Bij intentionele vergiftigingen ligt de vergiftiging als doel in het gebruik van de stoffen besloten. Wederom gaat de geschiedenis terug tot de verre oudheid. Op grond van de kennis over de leefgewoonten van de natuurvolkeren, waarvan de laatste vertegenwoordigers op het ogenblik het einde van hun cultuur onder ogen zien, mogen we aannemen dat de mens al vroeg van de nood een deugd heeft gemaakt en vergiften is gaan gebruiken voor bepaalde doeleinden. Behalve traditionele gebruiken is er het gebruik van extracten van giftige planten als pijl- of vosvergif, zoals curare en rotenon. De laatste stof wordt nu nog toegepast als middel tegen huidparasieten bij huisdieren.

De geschiedenis kent tot op de huidige dag talloze voorbeelden van het gebruik, of misbruik zo men wil, van vergiftiging tegen medemensen. In de Griekse en Romeinse tijd werden veroordeelden gewoonlijk door middel van vergiftiging geëxecuteerd. Langs slinkse wegen werd toen, en ook in latere tijden, afgerekend met politieke opposanten.

Intentionele zelfvergiftiging komt voor als ernstige symptoom van de psychosociale nood bij mensen. Deze vorm van vergiftiging, waarbij men zich gewoonlijk bedient van overmatige doseringen van geneesmiddelen of chemische bestrijdingsmiddelen, is in onze maatschappij geen zeldzaamheid.

Tal van natuurlijke produkten zijn in het verleden en worden ook nu nog gebruikt als geestverruimende of psychedelische middelen (al dan niet in relatie met bepaalde magische handelingen), als stimulerende middelen, of als medicijnen. Vrijwel alle volkeren hebben hun weg gevonden naar één of ander genotmiddel, bijvoorbeeld cocaïne, tabak, hallucinogene cactussen en paddestoelen in Amerika, cannabis- en opiumprodukten in Azië, koffie en colanoten in Afrika en de extracten van bilzenkruid, wolfskers en doornappel in Europa. Alcoholische dranken hebben al vroeg een cosmopolitische reputatie.

Inmiddels hebben vrijwel alle bekende genotmiddelen in het kader van de huidige maatschappelijke ontwikkelingen een min of meer wereldwijde toepassing gevonden met tal van toxicologische gevolgen. Ofschoon hier in principe sprake kan zijn van zelfvergiftiging, mag niet steeds klakkeloos voorbij worden gegaan aan de socioculturele functies die met het genotmiddelgebruik zijn geassocieerd. Het is ook op toxicologische gronden niet realistisch alle vormen van genotmiddelgebruik als intentionele vergiftiging te beschouwen.

De toepassing van vergiften tegen mensen heeft zich ook een plaats verworven in het arsenaal van oorlogsinstrumenten. In de Eerste Wereldoorlog zijn aan het Belgische front verscheidene vergiften, waaronder het beruchte mosterdgas, in de strijd toegepast. Ook in recentere tijden zijn strijdgassen ontwikkeld, zoals de zenuwgassen sarin en tabun, beide organische fosforesters die verwant zijn met het chemische bestrijdingsmiddel parathion. Bij rellen wordt heden ten dage regelmatig gebruik gemaakt van diverse traangassen, zoals het zogenaamde CS-gas. De werking van dit soort stoffen is zeer waarschijnlijk reversibel waardoor de kans op blijvende gezondheidsschade gering is. Het is desondanks een voorbeeld van doelbewuste toepassing van een gif.

Tenslotte worden giftige stoffen toegepast bij de bestrijding van planten en dieren waarvan de aanwezigheid als schadelijk wordt ervaren: insecticiden tegen insecten, herbiciden tegen onkruiden, fungiciden tegen schimmels, acariciden tegen mijten, enz. Het gebruik van chemische bestrijdingsmiddelen kan gepaard gaan met vergiftigingsrisico's voor organismen die niet het doelwit vormen van het gebruik van de stoffen. Een ernstige vorm van misbruik is de toepassing van chemische bestrijdingsmiddelen bij de visvangst, een gewoonte die helaas nogal opgang heeft gemaakt in sommige ontwikkelingslanden.

Chemische bestrijdingsmiddelen zijn ook toegepast bij oorlogshandelingen; men denke aan de in Vietnam toegepaste ontbladeringsmiddelen.

Men kan de primaire taken van de toxicologie als volgt omschrijven:

- het beheer over de reeds verworven kennis en inzichten betreffende de giftige eigenschappen van chemicaliën,
- het doen van onderzoek met het oogmerk deze kennis te vermeerderen,
- de verworven toxicologische kennis zodanig dienstbaar stellen aan de maatschappij dat de kans op ongewenste vergiftiging zoveel mogelijk wordt beperkt.

De toxicologie richt zich daarbij vooral op de mens en de dieren. De mogelijke schadelijke effecten van chemische stoffen op planten worden gewoonlijk bestudeerd door fytopathologen (plantenziektekundigen).

Het zal geen verwondering wekken dat de toxicologie zich gezien de pluriformiteit van de problematiek in toenemende mate heeft ontwikkeld tot een bij uitstek multidisciplinair vakgebied. In vroeger eeuwen droegen vooral de kruidendokters met hun kennis van de giftige en geneeskrachtige eigenschappen van planten en mineralen de gifkennis van generatie op generatie over. Specialisten in de gifkunde kende men in de meeste oudere culturen en in Europa tot ver na de middeleeuwen. Zij waren de voorlopers van de apothekers, die tot op de huidige dag als gifkundigen moeten worden aangemerkt en die dankzij hun kennis van de analytisch-chemische identificatie van vergiften in ziekenhuizen vaak een leidende positie innemen bij de diagnostiek en behandeling van vergiftigingen.

Toen na de opkomst van de moderne wetenschappen tijdens de Renaissance de geneeskunde zich meer en meer als afzonderlijke discipline manifesteerde, werd dit een belangrijke steunpunt voor de toxicologie. De combinatie van apotheker en arts treft men nu vooral aan in het deelgebied van de toxicologie, dat men aanduidt als klinische toxicologie. De klinische toxicologen nemen de slachtoffers van vergiftigingen in behandeling, sporen de oorzaak ervan op en treffen vervolgens therapeutische maatregelen om de patiënt te genezen. In geval van vergiftigingen bij dieren ontfermt de dierenarts zich uiteraard over de diagnose en therapie.

Vergiftigingen door het beroep zijn vermoedelijk vanaf de oudste tijden bij de mens voorgekomen, getuige onder andere de hoge loodgehalten die in de botten van prehistorische mensen zijn aangetoond. De eersten die in geschrifte melding maakten van beroepsvergiftigingen bij onder andere werkers in de metaalindustrie waren de 16e-eeuwers Georgius Bauer (Agricola), die één en ander beschreef in zijn lijvige, uitgebreid geïllustreerde boek 'De Re Metallica', en Paracelsus wiens bevindingen op dit gebied in boekvorm zijn samengevat onder de naam 'Von der Bergsucht und andere Bergkrankheiten'.

Ook in latere eeuwen hebben verscheidene wetenschapsbeoefenaren gewezen op het risico van de beroepsmatige vergiftiging, waaronder in de 17e eeuw Bernardo Ramazzini, en later in de 19e eeuw en het begin van deze eeuw de Engelsman Charles Thackrah, de Amerikaanse Alice Hamilton en onze landgenoot

Samuel Senior Coronel. Deze pioniers in de arbeidshygiëne waren aanvankelijk roependen in de woestijn, daar pogingen tot een adequate verbetering van de kwaliteit van het arbeidsmilieu eerst in de loop van deze eeuw op serieuze wijze zijn ondernomen. De sociale revolutie tijdens de 19e eeuw en de eerste helft van deze eeuw heeft een belangrijke invloed gehad op de verbetering van de arbeidsomstandigheden. Men kan de Arbeidsomstandighedenwet die in 1981 door het parlement werd aangenomen, als een officieel eindpunt van deze ontwikkeling beschouwen. Een belangrijke taak is nu nog op zodanige wijze uitvoering te geven aan deze wetgeving, dat voor alle werknemers inderdaad arbeidsomstandigheden ontstaan die in toxicologisch opzicht en ook anderszins aanvaardbaar zijn.

Inmiddels is geleidelijk als deelgebied van de toxicologie de industriële toxicologie ontstaan. De industrieel toxicoloog beoordeelt, gewoonlijk samen met de bedrijfsarts, de toxicologische risico's binnen de bedrijven door het meten van de blootstelling van de arbeiders aan de onderscheiden stoffen in combinatie met een regelmatige controle op geselecteerde gezondheidsparameters. De industrieel toxicoloog krijgt daarnaast in toenemende mate te maken met dierexperimenteel onderzoek, daar het beleid er steeds meer op is gericht de toxische eigenschappen van industriële chemicaliën te leren kennen voordat de stof in de praktijk wordt toegepast. Tot op de huidige dag is het nog dikwijls andersom. Men ervaart de ongewenste eigenschappen bij mensen in de bedrijven en verifieert daarna de mogelijke oorzakelijke relatie tussen de stof en de bepaalde werking met behulp van dierexperimenteel en epidemiologisch onderzoek. Op grond van de bevindingen van dit soort onderzoek stelt de industrieel toxicoloog een advies op aan de hand waarvan de toelaatbaarheid van de stoffen kan worden beoordeeld.

Tijdens de laatste eeuwwisseling begon men zich in verscheidene landen bezorgd te maken over de kwaliteit van de voedingsmiddelen. De industriële ontwikkelingen hadden ertoe geleid dat het deel van de bevolking dat betrokken was bij de voedselproductie proportioneel gezien steeds kleiner werd. De afstand tussen de voedselbron en de consument was daardoor groter geworden, alsmede de kans dat de kwaliteit van het voedsel tijdens langere en niet zo overzichtelijke transportroutes ongunstig zou worden beïnvloed. Hier kan men denken aan bederf en aan malversaties, zoals toevoeging van water aan melk en kalk aan meel. Bovendien werd in die tijd het gebruik van hulpstoffen, waaronder conserveermiddelen en kleurstoffen, voortdurend belangrijker. Dit leidde tot wettelijke maatregelen, waaronder de in 1919 in Nederland afgekondigde Warenwet. Tengevolge van deze wet zijn tal van besluiten opgesteld, waaronder het Conserveermiddel- en Kleurstoffenbesluit, waarin de toelating van de betreffende hulpstoffen is geregeld.

Toen na de Tweede Wereldoorlog het gebruik van chemische bestrijdingsmiddelen in de land- en tuinbouw een grote vlucht nam, gaf dit aanleiding tot de instelling van een bestrijdingsmiddelenwetgeving (de eerste Bestrijdingsmiddelenwet kwam in 1962 tot stand), die, waar het de zorg om de kwaliteit

van voedingsmiddelen betreft, aansluit op de Warenwet.

Voor de uitvoering van dit soort wetten en de daaruit voortvloeiende besluiten en beschikkingen diende men in toenemende mate een beroep te doen op toxicologen, teneinde vast te stellen of en zo ja tot welke (grens)concentratie chemische hulpstoffen in voedingsmiddelen zouden mogen voorkomen. Het beleid was nadrukkelijk op de preventie van gezondheidsschade gericht, als gevolg waarvan de toxicologen onderzoeksmethoden moesten gaan ontwikkelen met een grote voorspellende waarde. Dit heeft geleid tot het model van het toxiciteitsonderzoek zoals dat op dit moment wordt toegepast en waarbij dierexperimenten een belangrijke plaats innemen. Deze voedingsmiddelentoxicologen zijn, ofschoon hun aandacht op de mens gericht is, disciplinair gezien niet meer zo strikt gebonden aan de medische professie, zoals bij de klinische- en industriële toxicologie het geval is.

Behalve medici en veterinairen zijn ook biologen, biochemici en speciaal opgeleide voedings- en levensmiddelenskundigen werkzaam binnen dit deelgebied van de toxicologie. Hun voornaamste taak is de toxische eigenschappen van chemische stoffen die van nature in de voeding aanwezig zijn, als verontreiniging voorkomen of daaraan worden toegevoegd te beoordelen en op grond daarvan te adviseren over de toelaatbaarheid.

De risico's van chemicaliën voor het milieu zijn pas recent ontdekt. Men mag wellicht stellen dat men in het algemeen voor 1960 noch in Nederland, noch elders aandacht had voor de gevaren die gepaard gaan met het gebruik en de lozing van chemicaliën in het milieu. Nadien is men via tal van calamiteiten van de ernst van het probleem overtuigd geraakt. De eerste wet waarin het aspect van mogelijke schade aan dieren en planten in het milieu aandacht kreeg, was de Bestrijdingsmiddelenwet van 1962. Daarna zijn veel andere wetten gevolgd die beogen ertoe bij te dragen de kwaliteit van bodem, water en lucht op een aanvaardbaar niveau te handhaven. Het gaat hierbij om mogelijke risico's van milieuverontreiniging voor de mens en om risico's voor de natuurlijke en semi-natuurlijke levensgemeenschappen.

Ook hier heeft zich in de toxicologie een nieuw deelgebied ontwikkeld, namelijk dat van de milieutoxicologie, ook wel aangeduid als ecotoxicologie. De milieutoxicoloog integreert inzicht in de mogelijke giftige werking op organismen met inzicht in het gedrag van de stoffen in het milieu, alsmede met inzicht in de gevolgen die een bepaald effect van een stof op één of meerdere soorten organismen kunnen hebben op het integraal functioneren van een levensgemeenschap. Er is dus een samenspel van de toxicologie met de chemie (milieuchemie) en de ecologie.

De milieutoxicologen hebben de taak risico's te beoordelen en te voorspellen in uiterst complexe systemen; het gedrag van de stoffen in het milieu is dikwijls onoverzichtelijk en men heeft te maken met tal van levensvormen en ingewikkelde kringloopprocessen. De milieutoxicologie kan in belangrijke mate steunen op de resultaten van onderzoek verkregen in het kader van de industriële en voedingskundige risicoschatting, maar heeft daarnaast

behoefte aan eigen onderzoeksmodellen, zoals experimenten met vissen en lagere organismen. Ook in de milieutoxicologie monden de werkzaamheden uit in adviezen aan de hand waarvan de toelaatbaarheid van chemicaliën kan worden beoordeeld.

Een aparte plaats dient ook te worden ingeruimd voor de geneesmiddelt toxicologie. Ook de toelating van geneesmiddelen vindt plaats mede op grond van de kennis over de toxische werking van deze stoffen. Geneesmiddelen worden min of meer conform de onderzoeksmodellen getoetst, zoals die ook elders in de toxicologie worden toegepast. In het bijzonder bij de ontwikkeling van veterinaire geneesmiddelen ontstaan raakpunten met de voedingsmiddel- en milieutoxicologie, daar die stoffen in de eetbare delen van de dieren terecht kunnen komen en in het milieu, al dan niet in de vorm van omzettingsproducten na de stofwisseling. Het onderzoek naar de geneeskrachtige werking van chemische stoffen, het eigenlijke geneesmiddelenonderzoek, is de voornaamste doelstelling van de farmacologie. Bij het onderzoek naar de toxische eigenschappen van geneesmiddelen leveren farmacologen gewoonlijk belangrijke bijdragen.

Tenslotte is het van belang de aandacht te vestigen op een aantal recente ontwikkelingen in het toxicologisch onderzoek. Steeds meer wordt de behoefte gevoeld aan fundamenteel inzicht in de moleculaire werkingsmechanismen van toxische chemicaliën. Kennis van deze mechanismen kan een uiterst belangrijke ondersteuning vormen voor de risicoschatting en verschaft bovendien informatie over de relaties tussen de chemische structuur en bepaalde toxische werkingsmechanismen. Het is tegenwoordig al mogelijk voor een beperkt aantal typen chemische structuren een voorspellende uitspraak te doen over het aangrijpingsmechanisme in bepaalde fysiologische processen. De kennis voor deze ontwikkeling wordt uit alle sectoren van de natuurwetenschappen aangedragen. Wanneer men de oorzakelijke achtergronden van vergiftigingsprocessen tot aan de basis wil verklaren, zullen ook de moleculaire biologie, fysica en genetica alsmede organische chemie onder de noemer van de toxicologie moeten worden gebracht.

Ter illustratie van het fundamenteel toxicologisch onderzoek in Nederland geeft bijlage 1 een overzicht van universitaire proefschriften op het terrein van de toxicologie.

De positie van de toxicologie in relatie tot de basiswetenschappen en complementaire wetenschapsgebieden is schematisch weergegeven in figuur 1. Hieruit kan men afleiden dat de toxicoloog zich, ongeacht zijn verdere oriëntatie in één der deeldisciplines, primair kenmerkt als een pathofysioloog.

De toxicologen in Nederland zijn georganiseerd in de Nederlandse Vereniging voor Toxicologie. De vereniging kent secties op diverse deelgebieden waaronder de secties Genetische Toxicologie, Chemische Carcinogenese en Milieutoxicologie.

Bijlage 2 geeft een overzicht van de belangrijkste instellingen in Nederland waar toxicologen werkzaam zijn.

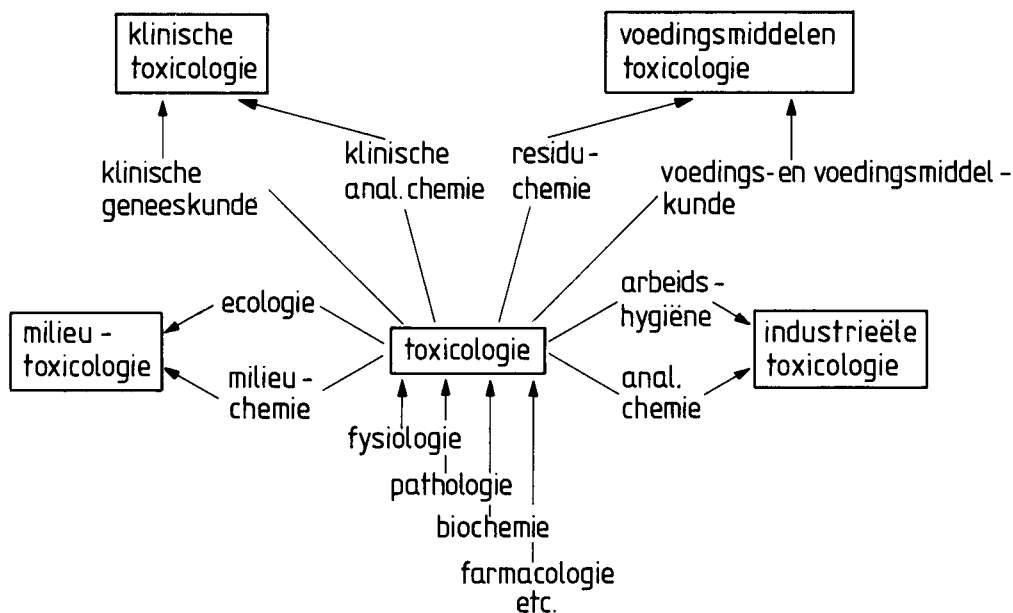


Fig. 1. De positie van de toxicologie in relatie tot de basiswetenschappen en complementaire wetenschapsgebieden.

2 Het lot van toxische stoffen in organismen en het milieu

Het optreden van een toxisch effect in een organisme onder invloed van een stof is afhankelijk van de hoeveelheid van de stof die op een kwetsbare plaats in het lichaam terecht komt. Voor de beoordeling van een vergiftigingsgevaar (toxicologisch risico) is het van essentieel belang te weten hoe deze hoeveelheid zich verhoudt tot de hoeveelheid van de stof waaraan het organisme uitwendig wordt blootgesteld alsmede hoe deze zich verhoudt tot de hoeveelheid die in ruimere zin in het milieu voorkomt. Een vergiftiging sluit steeds aan op een verplaatsingsproces van een stof. Ten eerste van een bepaalde bron in het milieu tot in de onmiddellijke omgeving van het organisme en ten tweede vanaf die onmiddellijke omgeving tot op de plaats van werking in het organisme.

Dit verplaatsingsproces wordt gewoonlijk aangeduid als het lot van de stof. De aanduiding is begrijpelijk als men bedenkt dat er tal van omstandigheden zijn die de verplaatsing kunnen beïnvloeden. Inzicht in het lot vormt voor de toxicologie een basisgegeven op grond waarvan in een bepaalde situatie uitspraken kunnen worden gedaan over de waarschijnlijkheid van het optreden van een toxisch effect. Ook kunnen aan de hand van dit inzicht richtlijnen worden geformuleerd voor een zodanig ingrijpen in de omstandigheden dat een toxisch effect kan worden voorkomen.

BUITEN HET ORGANISME

Omstandigheden aan de bron

Van betekenis zijn hier vooral de volgende aspecten: de plaats of plaatsen waar de introductie van de stof plaatsvindt, de duur van de introductie en de vorm en hoeveelheid waarin de stof in het milieu terecht komt.

Men onderscheidt zogenaamde distributieve en niet-distributieve bronnen. In het eerste geval komen stoffen gelijktijdig op meerdere plaatsen in het milieu terecht. Chemische bestrijdingsmiddelen in de landbouw, huishoudchemicaliën en uitlaatgassen van auto's zijn hiervan goede voorbeelden. Niet-distributieve bronnen worden ook wel aangeduid als puntbronnen, hetgeen duidelijk maakt dat de introductie van de stoffen in dit geval plaatsvindt op een nauwkeurig omschreven locatie. Voorbeelden hiervan zijn fabrieken, vuilnisstortplaatsen en vulkanen. Het is gewoonlijk gemakkelijker bij niet-distributieve bronnen een beeld te verkrijgen van de uiteindelijke verspreiding van een stof in het milieu dan bij distributieve bronnen.

De duur van de introductie kan onderscheiden worden in enkelvoudige, meer-voudige en continue introductie. Bij enkelvoudig kan men denken aan incidentele dumpingen, een ongeval met een tankauto of een eenmalige toepassing van een bestrijdingsmiddel. Het andere uiterste is de continue introductie, zoals lood door het verkeer, zwaveldioxyde door tal van verbrandingsprocessen, detergenten door huishoudens en diverse stoffen door zogenaamde 'gifbelten'.

In de meeste gevallen komen chemicaliën niet in technisch zuivere vorm in het milieu terecht, maar in onzuivere vorm, dat wil zeggen, gemengd met andere stoffen en materialen. Dit kan van grote invloed zijn op de mate en snelheid waarmee de chemische stoffen ter plaatse in vrije vorm beschikbaar komen. Wanneer pesticiden bijvoorbeeld als waterige emulsies worden toegepast, komen de bestanddelen gemakkelijk vrij; wanneer ze daarentegen in de vorm van granulaten in combinatie met inerte dragerstoffen of in gecapsuleerde vorm worden toegepast, komen ze langzaam vrij. Het maakt ook een groot verschil of bepaalde stoffen, bijvoorbeeld polychloorbifenyilverbindingen (PCB's) via de schoorsteen uit een vuilverbrandingsinstallatie in de lucht terecht komen of via de uitlaat van een waterzuiveringsinstallatie in het water. In het eerste geval zal een veel diffusere verspreiding optreden dan in de laatstgenoemde situatie. De hoeveelheid stof die uiteindelijk in het milieu terecht komt, is steeds de belangrijkste factor voor het eventueel optreden van schadelijke effecten. De beschikbaarheid van goede kwantitatieve emissiegegevens vormt dan ook een voorwaarde voor een succesvolle evaluatie van de milieurisico's die met het gebruik en de lozing van chemicaliën gepaard kunnen gaan.

Verplaatsing in het milieu

Wat er met een chemische stof gebeurt vanaf het moment waarop deze in het milieu terecht is gekomen, hangt niet alleen af van de eigenschappen van de stof, maar ook van de eigenschappen van het milieu zelf. In figuur 2 zijn de belangrijkste factoren in een eenvoudig schema aangegeven. Punt A is de plaats van introductie van de stof, punt B een punt op willekeurige afstand van A waar zich mensen of andere organismen bevinden waarvan men wil weten in welke mate ze aan de stof zullen worden blootgesteld. De hoeveelheid van de stof die in het milieu binnenkomt, de emissie, is in de vorm van een willekeurige kolom aangeduid bij A. De kolom bij B geeft de immissie weer (de beschikbare hoeveelheid) op het punt van de blootstelling. De lijn tussen A en B geeft de imaginaire transportroute van de stof aan zoals deze door stromingsverschijnselen in het medium lucht of water wordt bepaald. De hoeveelheid die bij A wordt geëmitteerd, zal slechts bij uitzondering in zijn geheel bij punt B terechtkomen. Een voorbeeld van zo'n uitzondering vormt de verontreiniging van drinkwater in een gesloten leidingnet. Meestal is de immissie aanzienlijk lager dan de emissie. In het milieu vinden pro-

emissie

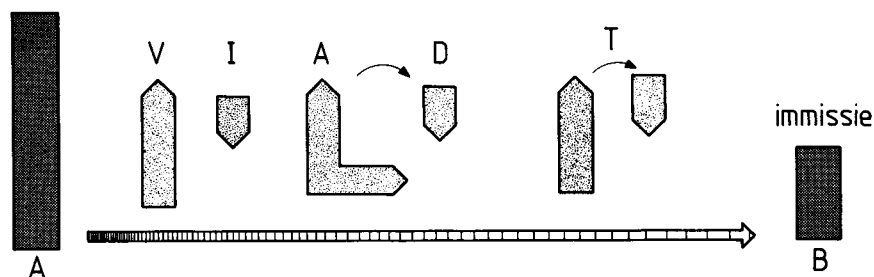


Fig. 2. Schematisch overzicht van de belangrijkste factoren die van invloed zijn op het lot van de stof in het milieu;

V = 'verspreidingsverlies', I = influx, A = adsorptie, D = desorptie, T = transformatie (voor de verklaring zie de tekst).

cessen plaats die interfereren met de mate van transport van A naar B.

De stromingseigenschappen van het medium bepalen of het bij A verontreinigde medium zich globaal volgens de lijnen AB zal bewegen of dat vanaf punt A een min of meer grillige verdeling zal optreden. Situaties waarin verontreinigingen globaal plaatsvinden langs de lijn AB zijn verontreinigingen van rivieren en kuststromen, zoals die langs de kust van Zuid- en Noord-Holland, alsmede verontreiniging van de lucht tijdens stabiele weersomstandigheden. Ook organismen kunnen een rol spelen bij het transport. Gesteld dat de stof bij A terecht komt in vissen of vogels, dan wordt de migratie van deze dieren een belangrijke verspreidingsvariabele. Men denke bijvoorbeeld aan organismen die massaal bepaalde migratieroutes volgen, zoals zalmen en trekvogels. Er moet ook rekening worden gehouden met een mogelijke uitwisseling tussen de media. Vanuit de watermilieu kunnen stoffen verdwijnen omdat ze aan het wateroppervlak vervluchtigen, eventueel samen met verdampende watermoleculen (co-distillatie). Omgekeerd kunnen via regen en andere vormen van neerslag stoffen vanuit de lucht terechtkomen in het watermilieu. Een treffend voorbeeld hiervan vormt de zure regen die veroorzaakt wordt door verontreiniging van de lucht met zwaveldioxide waardoor onder andere in Zweden de zuurgraad van de meren tot een schadelijk niveau is gedaald. Het 'verspreidingsverlies' V is in fig. 2 met een pijl aangegeven. Pijl I symboliseert een mogelijke influx van de stof van elders.

Sommige stoffen kunnen in de bodem, in het sediment of in zwevende deeltjes (stof, organisch materiaal, kleideeltjes, enz.) worden vastgelegd (adsorptie, pijl A), hetgeen eveneens van invloed is op het transport van A naar B. Stoffen in de vorm van kationen worden door hun positieve lading gewoonlijk gemakkelijk geadsorbeerd aan kleimineralen en humuszuren die overwegend negatief geladen zijn. Dit geldt bijvoorbeeld voor cadmium-, koper- en kwikionen en bepaalde organische stoffen. Een voorbeeld van de laatste categorie vormt het herbicide paraquat. Deze stof wordt zodanig efficiënt geadsorbeerd aan bodem en sediment, dat de toxische eigenschappen in het mi-

lieu snel verdwijnen en er weinig transport optreedt. Organische moleculen worden ook geadsorbeerd door colloïdale klei- en humusdelen, wanneer ze ongeladen zijn. Dit geldt in het bijzonder voor organische stoffen met een lage oplosbaarheid in water. Puur zand heeft nauwelijks adsorptievermogen, vandaar dat via percolatie van water in zandige bodemtypen chemische stoffen relatief gemakkelijk naar elders kunnen worden getransporteerd. De binding aan minerale partikels kan voor sommige organismen betekenen dat de stof juist gemakkelijk in hun bereik komt. Dit geldt in het bijzonder voor dieren die deze partikels opnemen, zoals mollusken. In figuur 2 is dit weergegeven door aan de adsorptiepijl een tweede richting te geven, namelijk in de richting van de transportroute AB. Pijl D refereert aan het proces van de desorptie, daar het in de meeste gevallen gaat om een evenwicht tussen adsorptie en desorptie.

Omzetting in het milieu

Veel stoffen worden aangetast in hun chemische structuur onder de invloed van biotische en abiotische factoren. Sommige chemicaliën bezitten in het aquatisch milieu slechts een geringe stabiliteit en hydrolyseren, waardoor de toxische eigenschappen vrijwel altijd verloren gaan. Dit gebeurt bijvoorbeeld gemakkelijk met parathion en andere insecticiden van het organische fosfortype, in het bijzonder wanneer het watermilieu sterk zuur of basisch is. Abiotische oxydatieprocessen kunnen eveneens een rol spelen bij de omzetting van chemicaliën. Het insecticide aldrin, dat gezien zijn persistentie vrijwel niet meer wordt toegepast, wordt aan het grondoppervlak geoxydeerd tot dieldrin, eveneens een insecticide met toxische eigenschappen. Van een verlies van giftigheid is bij deze omzetting dus geen sprake.

Ook onder invloed van licht kunnen stoffen worden getransformeerd (fotodegradatie en foto-isomerisatie). Dit heeft soms afbraak tot gevolg, maar er kunnen ook produkten ontstaan die even toxisch zijn als het uitgangsprodukt of zelfs meer toxisch. Zowel onder anaërobe als aërobe omstandigheden kunnen stoffen worden getransformeerd door micro-organismen, zoals bacteriën en schimmels. In veel gevallen gaat dit gepaard met een partiële of volledige afbraak van de stoffen. De microbiële afbraak is ongetwijfeld één der meest vitale beschermingsmechanismen tegen verontreiniging van het milieu. Een enkele maal ontstaan bij de microbiële transformatie produkten met toxische eigenschappen. Langzamerhand klassiek geworden is het voorbeeld van anorganisch kwik, dat door microbiële omzetting wordt omgezet in methylkwikverbindingen. Deze zijn eveneens toxisch en worden bovendien gemakkelijker door levende organismen opgenomen dan de anorganische kwikverbindingen. In figuur 2 zijn twee transformatiepijlen T opgenomen, één voor de afbraak en één voor processen waarbij de omzettingsprodukten een toxicologisch risico kunnen opleveren.

Er is dus een complex van processen werkzaam dat bepaalt hoeveel van de

moleculen die bij A in het milieu kwamen, uiteindelijk bij B terecht zullen komen. Eén en ander zal ook in sterke mate afhangen van het soort milieu waarin de punten A en B gelegen zijn. De verspreidings-, adsorptie- en transformatie-eigenschappen kunnen van plaats tot plaats in de wereld grote verschillen vertonen. Sommige milieutypen zijn bijvoorbeeld rijk aan microbieel leven, terwijl dat in andere milieus slechts in beperkte mate tot ontwikkeling komt. Overheersend over alle genoemde processen moet aan het klimaat een grote invloed worden toegekend, bij hoge temperatuur verdwijnen stoffen gewoonlijk veel sneller uit het milieu dan bij lage temperatuur.

BINNEN HET ORGANISME

De opname van de stof

Organismen zijn in het algemeen tegen invloeden vanuit het milieu beschermd door barrières, zoals de uit verscheidene cellagen opgebouwde huid en slijmvliezen van het maag-darmkanaal, de één cellaag dikke epitheelagen in de longblaasjes en de secundaire lamellen van de vissekieuw en een groot aantal typen membranen rondom organen en cellen. Een kenmerkende eigenschap van de lichaamsbarrière is, dat ze primair bestaan uit membranen die samengesteld zijn uit vetten of vetachtige stoffen, waardoor in het algemeen vetoplosbare stoffen de barrières gemakkelijker passeren dan stoffen die niet of in mindere mate lipofiel zijn. Dit geldt bijvoorbeeld voor stoffen die in geïoniseerde vorm voorkomen.

De opnameroute heeft grote invloed op de waarschijnlijkheid van vergiftiging. De opname via de mond (orale opname) van metallisch kwik geeft meestal geen aanleiding tot vergiftigingsverschijnselen, omdat nauwelijke resorptie optreedt. Bij inhalatie in dampvorm is het risico van vergiftiging echter zeer groot. Het klassieke pijlvergift curare uit Zuid-Amerika, dat in relatief lage doseringen vrijwel onmiddellijk verlammingen veroorzaakt wanneer het via een wond in de bloedbaan komt, heeft geen effect wanneer het oraal wordt opgenomen. De stof wordt wel geresorbeerd, maar de resorptiesnelheid is aanzienlijk kleiner dan de snelheid waarmee de geresorbeerde moleculen via de excretie-organen worden uitgescheiden, zodat geen toxische concentratie op de plaats van werking wordt opgebouwd. Bij orale opname wordt gewoonlijk slechts een fractie van de stof tijdens de passage door het maag-darmkanaal geresorbeerd. Deze kan groot of klein zijn, afhankelijk van de aard van de stof, maar van lipofiele stoffen wordt relatief meer opgenomen dan van niet- of minder lipofiele chemicaliën.

Sommige zuren en basen zijn in neutrale vorm lipofiel en kunnen dan de membranen passeren. Een bekend voorbeeld is het pijnstillend middel acetylsalicylzuur, dat vooral in de maag wordt geresorbeerd, aangezien de stof bij een lage pH in dat orgaan overwegend in de niet-gedisassocieerde vorm voorkomt. Zo worden zwakke basen, zoals het amfetamine, relatief gemakkelijk opgenomen

in de dunne darm waar de pH, althans bij de mens, op een basisch niveau ligt. De fractie van de stof die niet wordt geresorbeerd in het maag-darmkanaal, wordt via de faeces uitgescheiden.

De longen kunnen een belangrijke opnameroute vormen, wanneer het gaat om stoffen in damp- of gasvorm, of stoffen die geadsorbeerd zijn aan deeltjes, zoals aërosolen. Bepaalde stoffen, in het bijzonder vluchtige lipofiele producten zoals de oplosmiddelen benzeen en trichloorethyleen, dringen tot in de longblaasjes door en worden daar geresorbeerd. Hydrofiele gasvormige stoffen zoals ammoniak worden in de hogere luchtwegen opgenomen daar ze tijdens de passage oplossen in de vochtlaag van de slijmvliezen. Bij deeltjes is de mate van penetratie gebonden aan de deeltjesgrootte. Deeltjes met een diameter kleiner dan circa 2 μm kunnen tot in de longblaasjes doordringen. Wanneer de mens arbeid verricht, wordt de frequentie en diepte van de respiratie groter en daarmee eveneens de opname van vluchtige en aan kleine deeltjes gebonden stoffen.

Bij vissen vormen de kieuwen een belangrijke toegangsweg. Van het totale lichaamsoppervlak nemen de kieuwen meer dan 90% in beslag. De huid van de vis is nauwelijks doorlaatbaar voor chemicaliën, doch deze kan wel chemische stoffen adsorberen. Daarentegen vormt bij de mens de huid een belangrijke ingang voor chemische stoffen. Daarbij komt dat de mens, als geen ander organisme, in contact komt met chemicaliën in geconcentreerde vorm, waardoor contact met de huid (dermaal contact) voor de hand ligt. Het komt regelmatig voor, dat mensen na dermale opname van een stof worden vergiftigd. Dit is veel gebeurd met lipofiele bestrijdingsmiddelen met een hoge giftigheid, zoals parathion en dinitro-ortho-cresol (DNOC), bijvoorbeeld wanneer de op de rug gedragen voorraadcontainer van de spuitapparatuur lek wordt of de kleding doordrenkt raken ten gevolge van spuiten tegen de wind in. Tijdens het verrichten van zware arbeid wordt de permeabiliteit van de huid groter, omdat de poriën wijder worden en de huid sterker doorbloed wordt in verband met de functie die dit orgaan vervult bij de thermoregulatie.

Verplaatsing in het lichaam

De verplaatsing in het lichaam begint op het moment waarop een organisme uitwendig aan een stof wordt blootgesteld. Het samenspel tussen de eigenschappen van de stof en de eigenschappen van het organisme bepaalt hoeveel van de stof bij een gegeven immissie of blootstelling wordt opgenomen, dat wil zeggen hoe groot de dosis is waarmee het organisme in werkelijkheid te maken krijgt. Men kan het begrip dosis dus definiëren als de opgenomen fractie van de hoeveelheid waaraan men uitwendig is blootgesteld. De uitwendige blootstelling wordt op die manier gevolgd door een fase van inwendige blootstelling. Bepalend voor het effect is tenslotte de hoeveelheid die terecht komt op die plaats of plaatsen in het lichaam waar de betreffende stof zijn werking kan uitoefenen.

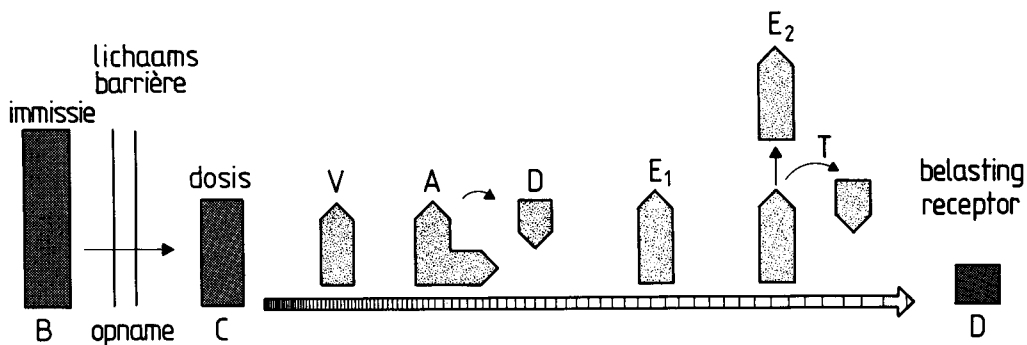


Fig. 3. Schematisch overzicht van de belangrijkste factoren die van invloed zijn op het lot van de stof in een organisme;

V = 'verdelingsverlies', A = adsorptie, D = desorptie, E_1 = excretie van de onveranderde stof, E_2 = excretie na transformatie, T = transformatie (voor de verklaring zie de tekst).

Ook hier kan een transportroute worden geprojecteerd, waarbij een zekere mate van analogie optreedt met de kinetiek in het milieu (figuur 3). Er is een bepaalde uitwendige blootstelling, de immissie (aansluitend op figuur 2) waarvan een bepaalde fractie als dosis wordt opgenomen (kolom C). De inwendige transportroute loopt van C naar D waarbij D de plaats van werking is, soms aangeduid als receptor. Het kolommetje bij D symboliseert de hoeveelheid van de stof die de receptor bereikt.

Na de opname van de stof in het lichaam treedt een verdeling op onder invloed van de circulatie van de lichaamsvloeistoffen, zoals de bloedsomloop, het lymfestelsel en de intracellulaire stroming van het cytoplasma. De verdeling kan moleculen afleiden van de transportroute CD in figuur 3 en is aangegeven met pijl V.

Stoffen kunnen, voor ze de receptor bereiken, geadsorbeerd worden aan bepaalde lichaamscomponenten, zoals plasma-eiwitten en vetweefsel. De verblijfsduur van de stof in het lichaam wordt er gewoonlijk door verlengd. Binding aan plasma-eiwitten kan betekenen dat het transport naar de receptor wordt bevorderd (voorwaartse component pijl A in figuur 3). Adsorptie aan bepaalde weefsels kan ook tot gevolg hebben dat minder moleculen de receptoren bereiken. In figuur 3 zijn de adsorptie en desorptie aangegeven met A en D. De aan eiwitten en vetdepots gebonden stoffen verkeren steeds in een zeker evenwicht met vrij circulerende moleculen van de stof.

Omzetting in het lichaam

De transformatie van chemische stoffen in organismen vindt overwegend plaats via enzymatische processen. Het belangrijkste orgaan voor de biochemische transformatie (biotransformatie) is de lever, maar deze processen vinden ook plaats in andere organen, waaronder de nieren, de longen en de huid. Het proces bestaat gewoonlijk uit twee fasen: een eerste fase waarbij de stof wordt geoxydeerd, gereduceerd of gehydrolyseerd en een tweede fase

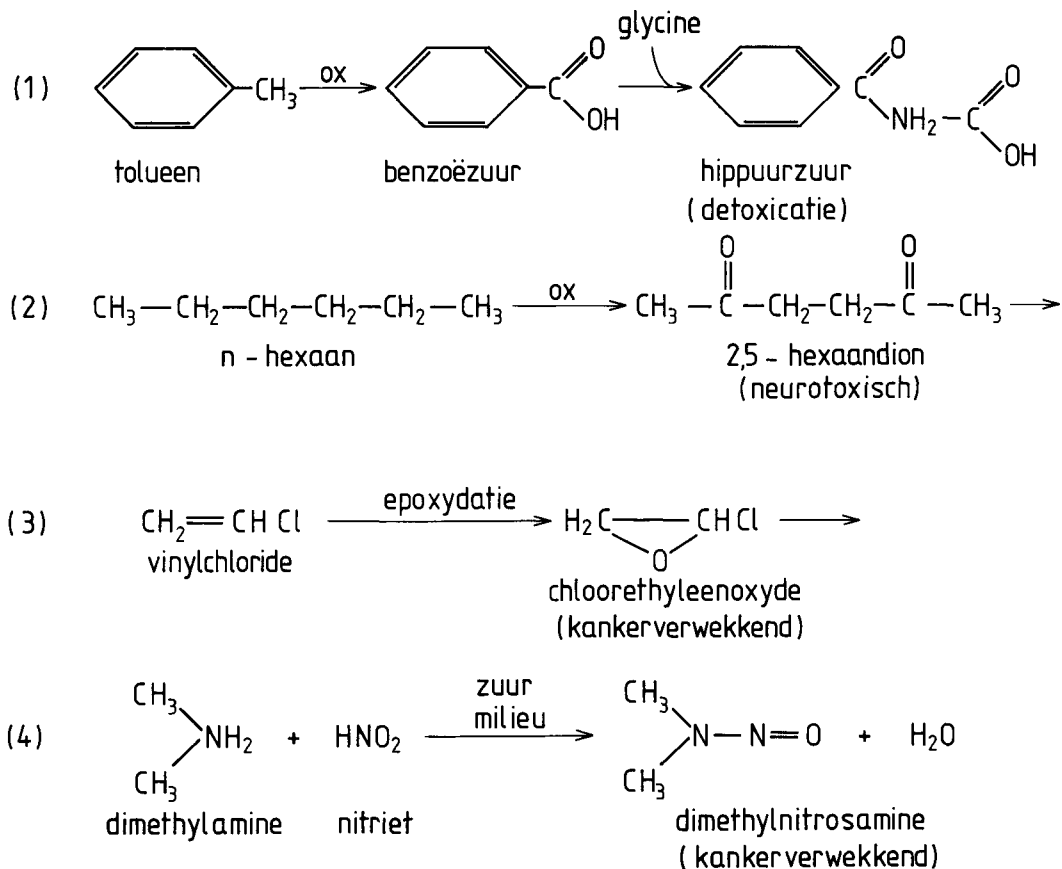


Fig. 4. Enkele voorbeelden van transformatiereacties.

(1) Biochemische oxydatie toluen tot benzoëzuur, gevolgd door koppeling (conjugatie) aan glycine, waarbij hippuurzuur wordt gevormd, (2) biochemische oxydatie van n-hexaan tot 2,5-hexaandion (activatiereactie), (3) biochemische oxydatie (activatie via epoxyde vorming) van vinylchloride tot chloorethyleenoxyde, (4) chemische reactie van dimethylamine en nitriet, waarbij dimethylnitrosamine wordt gevormd.

waarbij de in de eerste fase ontstane metaboliëten worden gekoppeld aan enkele daarvoor beschikbare laagmoleculaire lichaamseigen stoffen.

Een aantal karakteristieke voorbeelden van beide reactietypen is weergegeven in figuur 4. De biotransformatie vormt meestal produkten die aanmerkelijk minder giftig zijn, men spreekt dan van detoxicatie. Het omgekeerde is echter ook mogelijk, namelijk dat er produkten ontstaan die giftiger zijn dan de oorspronkelijke stof. Dit wordt activatie genoemd. Activatie vindt onder andere plaats bij de meeste tot dusver bekende kankerverwekkende stoffen.

Een enkele maal worden transformatieprodukten gevormd langs niet-enzymatische weg. Een belangwekkend en actueel voorbeeld van een dergelijk proces is de vorming van kankerverwekkende nitrosaminen in de maag uit nitriet en

secundaire aminen die in het voedsel voorkomen. Een voorbeeld van deze reactie is eveneens opgenomen in figuur 4. De reactie treedt alleen op bij organismen met een maag waarin een lage pH-waarde heerst, zoals bij de mens en bij andere monogastrische dieren. Evenals in figuur 2 is de transformatie (T) in figuur 3 aangegeven met twee pijlen, één voor de detoxicatie (die zich voortzet in de excretie, E_2) en één voor de activatie.

Uitscheiding

De excretie-organen, waarlangs de afvalprodukten van de normale stofwisseling uit het lichaam worden verwijderd, vervullen ook een rol bij de eliminatie van toxische chemicaliën en hun metabolieten.

Stoffen die vrij in de bloedbaan circuleren zullen gewoonlijk snel via ultrafiltratie in de nieren met de urine worden uitgescheiden. Dit betreft zowel de oorspronkelijke stoffen als sommige van de metabolieten die bij de biotransformatieprocessen ontstaan. Organische zuren en basen, waaronder antibiotica, worden ten dele via actieve transportprocessen in de primaire buisjes van de nieren vanuit het bloed naar de urine afgevoerd. Dit geldt ook voor stoffen die gebonden zijn aan plasma-eiwitten en in de nieren terecht komen. Ook sommige stoffen die in vluchtige vorm via inhalatie in het lichaam binnenkomen, worden ten dele als metabolieten via de urine uitgescheiden, zoals trichloorethyleen, dat voornamelijk als trichloorethanol en trichloorazijnzuur in de urine terecht komt.

Een andere excretiemogelijkheid is de 'route' lever-gal-faeces. Voor enkele stoffen is dit de preferente route, zoals voor diethylstilbestrol (DES), het synthetisch oestrogeen-analoog dat misbruikt wordt als groeistimulant bij vee. De lever beschikt, evenals de nieren, over actieve excretiesystemen voor organische basen en zuren en waarschijnlijk voor een aantal metalen. Dit laatste is aangetoond voor lood.

Een aantal vluchtige vergiften dat via de longen binnenkomt, verlaat het lichaam geheel of ten dele via dezelfde weg, zoals koolmonoxyde en verscheidene oplosmiddelen. Bij lacterende dieren kan de melksecretie soms als excretieroute worden beschouwd. Dat is aangetoond voor bepaalde chloorkoolwaterstofbestrijdingsmiddelen, zoals DDT. Ook een metaboliet van het mycotoxine aflatoxine B_1 , het zogenaamde aflatoxine M_1 (M van melk), is in melk aangetoond, zowel de oorspronkelijke stof als de metaboliet zijn kankerverwekkend.

Ten slotte kunnen haren en veren worden genoemd als uitscheidingsmogelijkheden. Deze spelen een uiterst bescheiden rol bij de eliminatie van onder andere kwik en arseen. Deze waarneming is vooral interessant in verband met de mogelijkheid om aan de hand van de analyse van haren en veren informatie te verkrijgen over de blootstelling in voorafgaande periodes. In figuur 3 is de directe excretie van de onveranderde stof weergegeven met E_1 . E_2 is de excretie na transformatie.

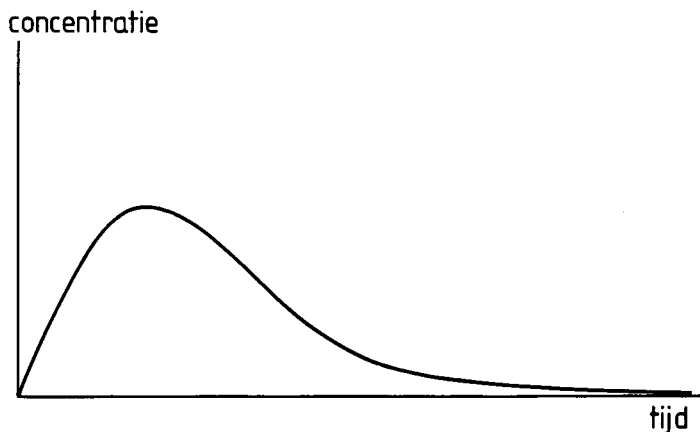


Fig. 5. Algemene gedaante van de kinetiek van een stof in een deel van het milieu of een organisme na blootstelling aan een enkelvoudige dosis van een stof.

CONCENTRATIEVERLOOP VAN STOFFEN IN LEVENDE ORGANISMEN EN HET MILIEU

In het milieu en in organismen leidt het samenspel van de factoren die voor het lot van de stof verantwoordelijk zijn tot een bepaald concentratieverloop in een deel van het milieu of een organisme. De tijd-concentratie curve in figuur 5 geeft de algemene gedaante weer van dit concentratieverloop na éénmalige blootstelling van een organisme of het milieu aan een bepaalde dosis van een stof. De concentratie stijgt tot een maximum en neemt daarna meestal exponentieel af, dat wil zeggen dat de afnamesnelheid evenredig is met de concentratie van de stof in het betreffende deel. De verblijftijd van een stof in een deel kan worden uitgedrukt in de halfwaardetijd. Dat is de tijdsduur waarin de concentratie van de stof afneemt tot de helft van haar waarde.

Aan de hand van de kinetische karakteristieken van de onderscheiden deelprocessen, zoals de opnamesnelheid in het lichaam of het milieu en de snelheid van transformatie, adsorptie, excretie en uitspoeling kan men trachten het lot van de stof in mathematische modellen te beschrijven. Dit wordt bij de beoordeling en voorspelling van het mogelijke gedrag van stoffen in het milieu in toenemende mate gedaan.

Een riskant aspect vormt het optreden van cumulatie van stoffen in een deel van het organisme of het milieu als gevolg van continue of herhaalde blootstelling. Dit proces is schematisch weergegeven in figuur 6. Cumulatie treedt op wanneer een volgende dosis arriveert op een moment waarop de vorige nog niet is geëlimineerd. Bij stoffen die volgens een exponentiële functie worden uitgescheiden - hetgeen voor vrijwel alle stoffen geldt - leidt herhaalde blootstelling aan eenzelfde dosis zoals weergegeven in figuur 6 uiteindelijk tot een maximaal niveau ('plateau-effect'). Dit gebeurt omdat

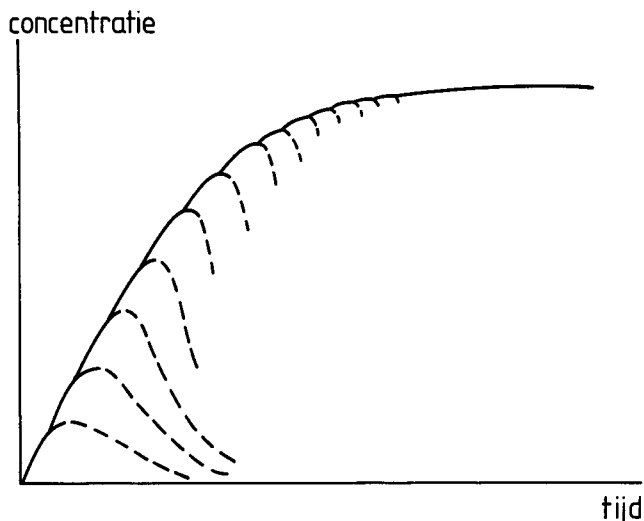


Fig. 6. Algemene gedaante van de cumulatie van een stof in een deel van het milieu of een organisme na continue of herhaalde blootstelling aan een stof.

als gevolg van de toename van de concentratie in het compartiment de eliminatiesnelheid groter wordt. Na verloop van tijd komt het moment waarop per tijdseenheid evenveel wordt uitgescheiden als er wordt opgenomen. De belasting bereikt dan zijn maximum. Cumulatieverschijnselen kunnen ook optreden in zogenaamde voedselketens. Dit betekent dat in een successie van soorten organismen een accumulatiepatroon optreedt, zoals in figuur 6.

Twee willekeurige modellen van voedselketens zijn weergegeven in figuur 7, waarin de soorten A, B en C en de soorten D, E en F de ketens vormen. De ketens zijn gebaseerd op de aanname dat de opeenvolgende soorten in de keten zich exclusief met hun voorgangers voeden. In de keten ABC treedt inderdaad cumulatie op, kennelijk omdat de stof in alle drie de soorten in relatief sterke mate cumuleert. De keten DEF toont een ander beeld. F cumuleert de stof in mindere mate dan E, bijvoorbeeld omdat de transformatie of de excretie bij die soort efficiënter verloopt. Als gevolg daarvan treedt in deze keten nauwelijks cumulatie op.

Een voorbeeld van dit laatste model is de min of meer theoretische voedselketen vis - visetende vogel - mens in geval van een stof die wél in visen cumuleert, maar niet in warmbloedige organismen, zoals is aangetoond voor het herbiciden diuron. De waarschijnlijkheid van cumulatie in voedselketens hangt dus sterk af van het vermogen de stof te elimineren, hetgeen van soort tot soort aanzienlijk kan verschillen. In het algemeen is het vermogen tot transformatie bij koudbloedige dieren minder ontwikkeld dan bij warmbloedige.

De toelichting op de voedselketenproblematiek is hiermee echter niet com-

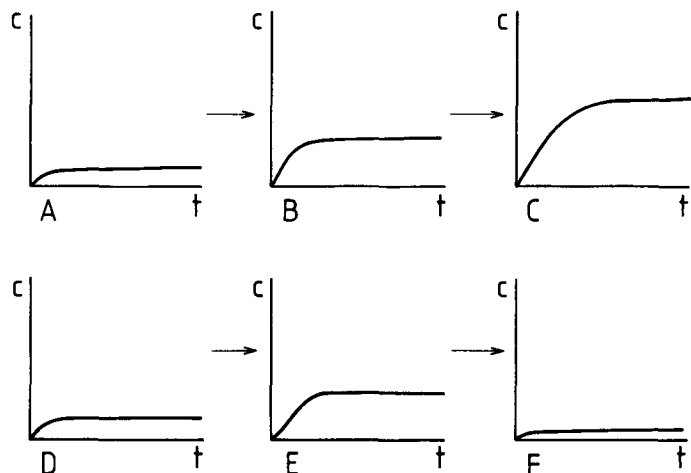


Fig. 7. Cumulatie van een stof in twee gefingeerde voedselketens; ABC en DEF (voor de verklaring zie de tekst).

pleet. Een ander aspect waarop moet worden gelet, is het patroon van de voedselkeuze van de soorten die in een voedselketen voorkomen. Dikwijls wordt gesteld dat de mens aan het eind van de voedselketen staat en dus een even groot risico zou lopen bepaalde stoffen in zijn lichaam op te hopen als dieren die in de natuur aan het eind van zo'n keten staan, zoals zeehonden en roofvogels. Het verschil is echter dat deze dieren aan het eind van voedselketens staan waarin een hoge graad van specialisatie optreedt in de voedselkeuze. Volwassen zeehonden eten alleen vis; is die vis verontreinigd, dan krijgen de dieren de stof bij iedere voedselopname naar binnen. De mens heeft gewoonlijk een zeer gevarieerd menu en de kans is klein dat een bepaalde verontreinigende stof in alle voedselbestanddelen voorkomt. Naast het per soort bepaalde eliminatievermogen is de specialisatie in de voedselkeuze dus een tweede factor die bepalend is voor de waarschijnlijkheid van accumulatie van stoffen in voedselketens.

3 Kwalitatieve aspecten van de toxische werking

Een vergiftiging manifesteert zich door ziekteverschijnselen of symptomen, variërend van beperkte lokale effecten tot complexe syndromen die kunnen resulteren in de dood van een organisme. Symptomen kunnen in principe in alle lichamelijke functies tot uiting komen, afhankelijk van de aard van de stof, de opnameroute, de duur van de blootstelling en vooral de grootte van de dosis. Vergiftigingen die binnen enkele uren of enkele dagen optreden na kortdurende blootstellingen aan relatief hoge doseringen worden aangeduid als acute vergiftigingen. De vergiftigingen na langdurige blootstellingen aan relatief lage doseringen noemt men chronische vergiftigingen. Er worden een aantal gradaties onderscheiden tussen de extremen acuut en chronisch, zoals subacuut en semi-chronisch. De symptomen bij acute vergiftiging door een bepaalde stof kunnen aanmerkelijk verschillen van de symptomen die optreden na chronische blootstelling. Enkele voorbeelden hiervan zijn weergegeven in tabel 1. Chronische vergiftigingen zijn in de regel irreversibel terwijl bij acute vergiftigingen dikwijls sprake is van een reversibele werking.

De toxische werking van stoffen wordt soms omschreven aan de hand van de belangrijkste symptomen, zoals irriterende stoffen, ademhalingsvergiften, zenuwvergiften, leververgiften, kankerverwekkende stoffen en stoffen die blijvende ontwikkelingsschade veroorzaken in het embryo tijdens de zwangerschap (teratogene stoffen). In sommige situaties is het mogelijk aan de hand van de vergiftigingsverschijnselen de hiervoor verantwoordelijke stof te herkennen. Dikwijls echter zijn de symptomen niet specifiek voor een bepaalde stof. Symptomen van benauwdheid kunnen bijvoorbeeld worden veroor-

Tabel 1. Symptomen na acute en chronische vergiftiging van de mens door enkele stoffen.

Stof	Dominerende vergiftigingssymptomen	
	acuut	chronisch
Ethanol	dronkenschap; coma	levercirrose; seniele dementie
Arseen trioxyde	darmstoornis; spierkramp	hyperpigmentatie; aantasting perifeer zenuwstelsel
Aflatoxine B ₁	leverdegeneratie	leverkanker

zaakt door stoffen met een primair giftig effect op de ademhaling en door stoffen die in eerste instantie het zenuwstelsel aantasten.

MECHANISME VAN DE VERGIFTIGING

Aan alle vergiftigingen ligt een reactie tussen de giftige stof en een bepaalde lichaamseigen moleculaire structuur ten grondslag. De primaire beschadiging op moleculair niveau wordt de primaire laesie genoemd. De receptor (de moleculaire structuur waarop de stof aangrijpt) wordt door de giftige stof veranderd, bijvoorbeeld door oxydatie of doordat de stof zich aan de receptor bindt. De verandering van de receptor vormt de stimulus voor het effect. Dit kan een positieve of een negatieve stimulus zijn. Het werkingsmechanisme is schematisch weergegeven in figuur 8.

Het effect komt tot stand op subcellulair of cellulair niveau. Wanneer de opgenomen dosis relatief klein is, kan de schade tot een klein aantal cellen beperkt blijven. Er blijven dan voldoende onaangetaste cellen over om de normale orgaanfunctie in stand te houden. Indien een relatief groot aantal cellen wordt aangetast, zal het betreffende orgaan zijn functies niet meer normaal kunnen vervullen. Op dat moment zal de vergiftiging (toxische

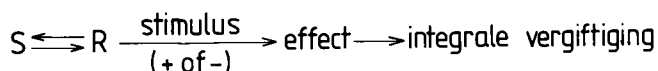


Fig. 8. Schematische voorstelling van het mechanisme van de vergiftiging. De relatie $S \rightleftharpoons R$ symboliseert de reactie tussen stof en receptor.

Tabel 2. Enkele voorbeelden van toxische werkingsmechanismen, onderscheiden naar primaire laesie, stimulus, effect en toxische werking.

Giftige stof	Primaire laesie	Stimulus	Effect	Toxische werking
Nitriet	oxydatie van ferrohemoglobine tot ferrihemoglobine	blokkade van het zuurstoftransport (negatieve stimulus)	zuurstoftekort in weefsels (hypoxie)	duizeligheid, daling bloeddruk, verlamming ademhaling
Parathion na bio-activatie	remming enzym acetyl-cholinesterase	o.a. overmatige stimulering van glad spierweefsel door overmaat acetylcholine (positieve stimulus)	overmatige contractie van glad spierweefsel	o.a. braken, diarree, ademhalingsmoeilijkheden
Dimethylnitrosamine (DMN) na bio-activatie	alkylering van o.a. stikstof in DNA-basen	wijziging in de basenvolgorde tijdens DNA-reproductie	puntmutaties	o.a. leverkanker

werking) zich gewoonlijk als een integraal ziekteproces bij het individu openbaren. Het vergiftigingsproces verplaatst zich dus successievelijk vanaf het moleculaire niveau naar de hogere niveau's van biologische integratie in de volgorde cel - weefsel - orgaan - individu. Tabel 2 geeft enkele voorbeelden van toxische werkingsmechanismen.

Ter illustratie van de pluriformiteit van de vergiftigingsmechanismen zullen enkele toxische werkingsprincipes hieronder nader worden uitgewerkt aan de hand van een aantal voorbeelden die betrekking hebben op verschillende orgaansystemen en fysiologische processen.

Zenuwstelsel en zenuw-spier functie

Een groot aantal stoffen veroorzaakt vergiftigingen waarvan het primaire aangrijppingspunt gelegen is in het zenuwstelsel of op de overgang van het zenuwstelsel naar bepaalde organen of weefsels, zoals de dwarsgestreepte spieren en de gladde spieren van het maag-darmkanaal. Globaal kunnen twee hoofdtypen van toxische werkingsmechanismen worden onderscheiden. Ten eerste een toxisch effect op de neurotransmissie, dat is de prikkeloverdracht van zenuw naar zenuw of van de zenuw naar een orgaan en ten tweede een toxisch effect op de zenuwcellen zelf. Een goed voorbeeld van een effect op de neurotransmissie vormt de remming van het enzym acetylcholinesterase door onder andere organische fosforinsecticiden.

Wanneer het acetylcholinesterase wordt geremd, hoopt het acetylcholine zich op in de ruimtes tussen de zenuwovergangen en de overgangen van zenuwen naar organen, de zogenaamde synapsen. Globaal genomen heeft dit de volgende consequenties:

- In bepaalde delen van de hersenen wordt de prikkelgeleiding gestoord.
- In het autonome zenuwstelsel - vooral in het parasympatische gedeelte - treedt een versterkte prikkelgeleiding op waardoor de autonome functies een overreactie vertonen (o.a. sterke contractie van gladde spieren (zie tabel 2)).
- De prikkeloverdracht naar de dwarsgestreepte spieren wordt versterkt, hetgeen spoedig leidt tot een verminderde spierfunctie daar deze spieren in tegenstelling tot de gladde spieren op het overmatige acetylcholine aanbod reageren met een afname in de prikkelgevoeligheid.

De belangrijkste integrale verschijnselen zijn psychische symptomen, hoofdpijn, krampen in het maag-darmkanaal gevolgd door braken en diarree, speekselvloed, sterke transpiratie, bronchospasmen, vertraagde hartslag, vernauwing van de pupillen en verlamingsverschijnselen van de ademhalings-spieren. Deze vergiftigingen hebben niet zelden een fatale afloop.

Interessant is dat de autonome verschijnselen symptomatisch kunnen worden behandeld met atropine, een alkaloïd dat voorkomt in de wolfskers (*Atropa belladonna*) en de doornappel (*Datura stramonium*). Atropine is een competitieve antagonist van acetylcholine en blokkeert de acetylcholinereceptor

in de autonome organen, waardoor deze niet langer kwetsbaar zijn voor de overprikkeling. Effecten op de neurotransmissie zijn voornamelijk acuut van karakter; ze worden veroorzaakt door kortdurende blootstelling aan relatief hoge concentraties van de betreffende chemicaliën.

De vergiftigingen die samenhangen met de selectieve verstoring van het ionentransport tijdens de prikkelgeleiding door de zenuw zijn eveneens acuut van aard. Een stof als tetrodotoxine, dat voorkomt in de zeer giftige kogelvis, veroorzaakt een blokkade van het natriumionentransport, waardoor de prikkelgeleiding volledig stagneert. DDT en sommige pyrethroiden (insecticiden) veroorzaken een verlengde influx van natriumionen, waardoor afwijkende actiepotentialen ontstaan, zoals repetitieve potentialen in de sensibele zenuwvezels.

Een relatief groot aantal stoffen heeft een rechtstreekse degeneratieve invloed op zenuwcellen. Deze vergiftigingen hebben meestal een chronisch verloop. Een voorbeeld hiervan is de perifere, distale axonopathie met secundaire demyelinisatie, zoals die kan worden veroorzaakt door onder andere koolstofdissulfide, acrylamide en het 2,5-hexaandion (een endogeen gevormde actieve metaboliet van hexaan). Distale axonopathie wil zeggen dat de zenuwvezels vanaf de uiteinden worden aangetast. Demyelinisatie betekent degeneratie van de myelineschede die zich romdom bepaalde typen zenuwvezels bevindt. Een schema van dit effect is voor een motorische zenuw weergegeven in figuur 9. Het axon verliest door de degeneratieve veranderingen het contact met de spieren die daarna eveneens degeneratieverschijnselen gaat vertonen.

Er zijn verscheidene hypothesen opgesteld ter verklaring van dit effect. De meest waarschijnlijke is dat de genoemde stoffen de energiestofwisseling verstoren. De energievoorziening van de zenuwvezel is vooral afhankelijk van de glycolyse, waarvoor de enzymen aangevoerd worden vanuit het lichaam. Bij remming van de glycolytische enzymen stagneert de aanvoer hiervan uiteraard in de eerste plaats in de verre uiteinden van de zenuwen. Dit verklaart ook dat lange zenuwen het eerst worden aangetast. Zowel koolstofdissulfide, acrylamide, als het 2,5-hexaandion remmen het enzym glyceraldehyde-3-fosfaat-dehydrogenase, dat een sleutelpositie inneemt in de glycolyse. De integrale vergiftiging begint met krachtverlies in de ledematen, in het geval van de hier besproken stoffen vooral in de benen, waardoor moeilijkheden bij het lopen ontstaan. Verder treedt pijn op in de spieren en ervaart men verschijnselen van gevoelsverlies in de uiterste delen van de ledematen. Ook kan het centrale zenuwstelsel worden aangetast. De vergiftigingen kunnen een fatale afloop hebben. Ook lood en methylnikkelt kunnen een degeneratieve invloed hebben op de zenuwvezels, vermoedelijk via een ander mechanisme dan hierboven beschreven.

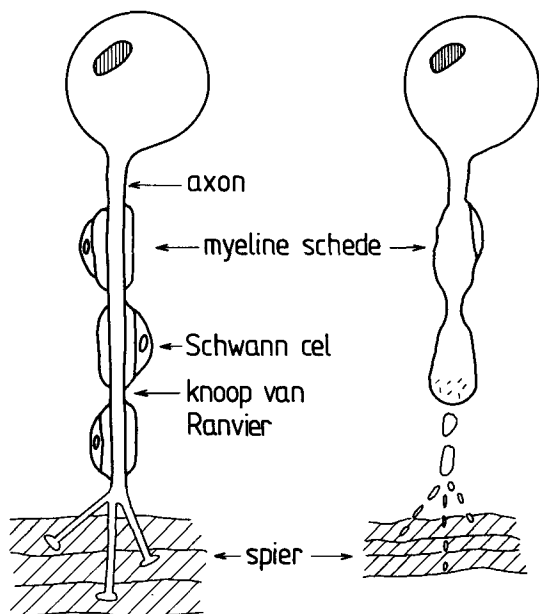


Fig. 9. Schematische weergave van degeneratieve veranderingen in een perifere zenuwvezel onder invloed van bepaalde neurotoxische stoffen. De linkerzijde representeert de normale situatie, de rechterzijde de aangetaste zenuw.

Lever en nieren

Lever en nieren zijn kwetsbaar gebleken voor een relatief groot aantal chemicaliën. De kwetsbaarheid kan ten dele worden verklaard uit hun positie in relatie tot de circulatie van de lichaamsvloeistoffen. Immers, de lever komt via de leverpoortader gemakkelijk in contact met stoffen die vanuit het maag-darmkanaal worden opgenomen en de nieren staan in verband met hun excretiefunctie in zeer nauw contact met het bloed en de stoffen die daarin kunnen voorkomen.

Er zijn stoffen die zeer ernstige acute leverschade kunnen induceren, zoals tetrachloorkoolstof, chloroform, dimethylnitrosamine en een aantal chloorkoolwaterstofverbindingen, waaronder het vermaarde TCDD (tetrachloor-dibenzodioxin). De schade gaat gepaard met levernecrose (celdood) en leververvetting (ophoping van triglyceriden in levercellen).

Bij een aantal stoffen is intensief onderzoek gedaan naar de werkingsmechanismen. Eén der best onderzochte stoffen is de radicaalvormer tetrachloorkoolstof. De huidige hypothese is dat in de lever radicalen (moleculen met ongepaard elektron en daardoor reactief) worden gevormd die daarna peroxydatie van de lipiden veroorzaken in de membranen binnen de cel. Hierbij worden de mitochondriën aangetast en laten de ribosomen los van het endo-

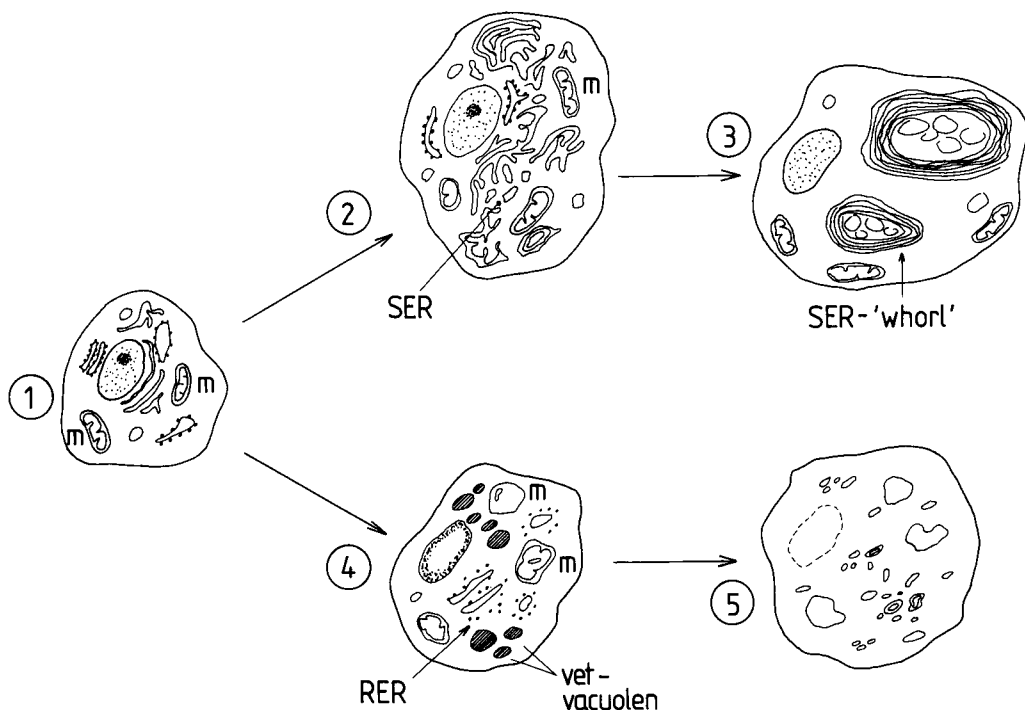


Fig. 10. Twee voorbeelden van hepatotoxische effecten van bepaalde stoffen op de lever, respectievelijk 1 - 2 - 3 pathologische levercelverandering onder invloed van bepaalde 'drug-enzyme' inducerende stoffen en 1 - 4 - 5, degeneratieve celschade onder invloed van bijvoorbeeld tetrachloorkoolstof, chloroform en paracetamol.; (1) normale levercel, (2) geïnduceerde vergrote (hypertrofische) levercel met sterk ontwikkeld glad endoplasmatisch reticulum (SER), (3) gedegeneerde cel met kluwens van glad endoplasmatisch reticulum (SER-'whorl'), (4) primair gedegeneerde levercel met vetvacuolen, opvallende kenmerken zijn verder het loslaten van de ribosomen van het ruwe endoplasmatisch reticulum (RER), de zwelling van de mitochondriën (m) en de veranderde chromatineverdeling in de kern, (5) volledig gedegeneerde (necrotische) cel.

plasmatisch reticulum. Er zijn aanwijzingen dat het effect op het endoplasmatisch reticulum ten dele indirect is en het gevolg is van een storing in de ademhalings- en oxydatieve fosforileringsprocessen in de mitochondriale membranen. De energieleverantie die nodig is voor de instandhouding van de functie en structuur van het endoplasmatisch reticulum stagneert, de eiwitsynthese neemt sterk af, de cel verliest het vermogen tot uitscheiding van triglyceriden en er ontstaat een zogenaamde vette degeneratie van de levercellen (figuur 10). Als zeer grote delen van de lever beschadigd zijn, treedt door het functieverlies van dit orgaan een zeer ernstige en dikwijls fatale vergiftiging op. Deze gaat gepaard met buikkrampen, algemene malaise, nierinsufficiëntie en aantasting van de hersenfunctie.

Minder ingrijpend, maar wel van grote toxicologische betekenis, is het verschijnsel van de inductie van biotransformatie-enzymen ('drug enzyme induction'). Een aantal enzymen in dat systeem, waaronder de MFO-('mixed func-

tion oxydase')enzymen zoals P448 en P450, kunnen in sterke mate in hun activiteit worden gestimuleerd door een verscheidenheid van chloorkoolwaterstofverbindingen (o.a. DDT, hexachloorbenzeen, PCB's), polycyclische aromaten (o.a. methylcholantreen) en barbituraten (o.a. fenobarbital). Dit gaat gepaard met de extra aanmaak van enzymen in het zogenaamde gladde deel van het endoplasmatische reticulum. De beïnvloede levercellen worden groter (levercelhypertrofie) en het totale levergewicht neemt toe. In het verleden is dit effect wel beschouwd als een proces van fysiologische aanpassing aan het aanbod van lichaamsvreemde stoffen. De huidige visie wijkt hiervan af, nu bekend is dat de inductie niet altijd zal bijdragen tot de detoxicatie van de inducerende en eventuele andere stoffen, maar soms de activatie zal bevorderen. Ook inductie kan uiteindelijk gevolgd worden door degeneratie en sterfte van levercellen (figuur 10), maar in het algemeen vertoont deze vorm van leverschade een hogere mate van reversibiliteit dan die van de vetige degeneratie.

Langdurige blootstelling van de lever aan bepaalde stoffen (de bekendste is ethanol) kan levercirrose veroorzaken. Er treedt bindweefselgroei op ten koste van de functionele levercellen. De capaciteit van de lever neemt daarbij sterk af.

Van de werkingsmechanismen van stoffen die de nieren beschadigen, is relatief weinig bekend. Bij vergiftigingen met anorganische kwikverbindingen is schade aan de nier het meest opvallende effect. Er treedt op uitgebreide schaal necrose op van de cellen van de primaire tubuli. Dit kan gedeeltelijk gepaard gaan met verstoppingen van de niertubuli met afgestorven celmateriaal, waardoor de uitscheiding van de urine wordt gehinderd. Dit laatste kan in zeer sterke mate het geval zijn bij het uiterst gevaarlijke gas arsine dat op een zodanige wijze aanleiding kan geven tot een dergelijke obstructie, dat de urineproductie wordt geblokkeerd (anurie). Ook cadmiumzouten kunnen de functie van de tubuluscellen op ernstige wijze verstoren, waardoor de capaciteit van de nieren aanmerkelijk afneemt. De destijds in Japan waargenomen Itai-itai-ziekte, waarbij bij veel mensen degeneratieve veranderingen aan het skelet werden geconstateerd na blootstelling aan onder andere cadmium, is zeer waarschijnlijk een secundair gevolg van een gestoorde nierfunctie. Nierlijden gaat in het algemeen gepaard met een dramatische vermindering van de lichamelijke conditie.

Cellulaire ademhaling, zuurstoftransport en oxydatieve fosforylering

Een aantal stoffen remt de ademhaling op cellulair niveau, waaronder de gevreesde vergiften cyaanwaterstof (blauwzuur) en zwavelwaterstof. Beide stoffen reageren preferent met het laatste enzym in de cellulaire ademhalingsketen, het cytochroomoxydase. Door de binding van cyaanwaterstof of zwavelwaterstof aan de ferrivorm van dit enzym, behoudt het ijzeratoom zijn geoxydeerde vorm en wordt de elektronenoverdracht vanuit de keten naar mole-

culaire zuurstof geblokkeerd. Bij blootstelling aan hoge concentraties kan de vergiftiging een zeer acuut verloop hebben. Opvallende symptomen zijn onder andere misselijkheid, braken, een snelle en diepe ademhaling, stuip-trekkingen, coma en soms zeer snel ademstilstand.

Het transport van zuurstof door het bloed kan eveneens op selectieve wijze door enkele specifiek werkende stoffen worden geremd. Het meest bekend is ongetwijfeld het koolmonoxyde. Dit gas gaat, evenals zuurstof, binding aan met het hemoglobine, waarbij de bindingsaffiniteit van koolmonoxyde circa 200 maal groter is dan die van zuurstof. Ook bij een relatief lage concentratie van koolmonoxyde in de lucht in verhouding tot zuurstof, kan een aanzienlijke fractie van het hemoglobine worden geblokkeerd. Bij acute blootstelling aan hoge concentraties zijn de belangrijkste symptomen misselijkheid, zwaktegevoel, stuip-trekkingen, hartkloppingen en depressie van de ademhaling. Langdurige blootstelling kan leiden tot chronische effecten, zoals hoofdpijn, vermoeidheid en stoornissen in de hartvaten.

Bij een ander type reactie met hemoglobine wordt ferrihemoglobine gevormd door oxydatie van het ferro-atoom. Bekende ferrihemoglobinevormers zijn natriet, aminofenolen en nitroverbindingen, zoals het trinitrotolueen (TNT). Ferrihemoglobine mist bindingsaffiniteit voor zuurstof en wanneer een relatief grote fractie van het hemoglobine in ferrihemoglobine is omgezet, ontstaan dezelfde soort vergiftigingsverschijnselen als bij acute vergiftiging door koolmonoxyde (zie tabel 2). In de bloedlichaampjes komt het enzym ferrihemoglobinereductase voor dat het ferrihemoglobine regenereert tot hemoglobine.

De oxydatieve fosforylering vindt plaats in de mitochondriën. Bij dit proces wordt de energie die vrijkomt bij de cellulaire ademhaling vastgelegd in chemische vorm en wel voornamelijk in de vorm van het adenosine trifosfaat (ATP). Sommige stoffen blokkeren de vorming van ATP. Men spreekt dan van ontkoppelaars van de oxydatieve fosforylering. Voorbeelden zijn de chemische bestrijdingsmiddelen dinitro-ortho-cresol (DNOC) en pentachloorfenol. De energiestofwisseling wordt bij vergiftiging met deze stoffen gestoord. Symptomen zijn onder andere misselijkheid, heftige transpiratie, koorts en ademhalingsmoeilijkheden. Acute vergiftigingen hebben vaak een fatale afloop.

Chemische carcinogenese

Dat chemische stoffen kanker kunnen veroorzaken, is nadrukkelijk komen vast te staan bij ervaringen in het arbeidsmilieu van de chemische industrie. Deze ervaringen stammen al uit de 19e eeuw, toen bleek dat bij werknemers in de kleurstofindustrie in Duitsland blaaskanker voorkwam als gevolg van blootstelling aan stoffen als 2-naphthylamine en benzidine. Inmiddels is van enkele tientallen stoffen bekend dat ze beroepskanker veroorzaken, waartoe behalve de reeds genoemde ook arseen- en chroomverbindingen, vinylchloride, bischloormethylether en asbest behoren. Verder is gebleken dat bepaalde ge-

neemsmiddelen kankerverwekkend kunnen zijn. Bekende voorbeelden zijn diethylstilboestrol, cyclofosfamide en chlooramfenicol. In de meeste gevallen zijn de kankerverwekkende eigenschappen van deze stoffen bevestigd in experimenten met proefdieren.

Er zijn inmiddels bewijzen dat chemische stoffen ook buiten de beroeps- en medische sfeer een belangrijke rol kunnen spelen bij het ontstaan van de ziekte. Stoffen die als zodanig zijn geïdentificeerd, zijn onder andere aflatoxine, nitrosaminen, diverse componenten uit tabaksrook en produkten die uit aminozuren ontstaan bij de verhitting van eiwithoudende voedingsmiddelen zoals vlees.

Het mechanistisch denken over het ontstaan van kanker onder invloed van chemische milieufactoren wordt thans voornamelijk bepaald door de zogenaamde somatische mutatietheorie. Deze theorie is samengevat in figuur 11. Op grond van talloze resultaten van experimenteel onderzoek kan worden geconcludeerd dat normale lichaamscellen onder invloed van een successie van enkele genetische mutaties kunnen transformeren tot een potentiële kankercel. Deze mutaties kunnen door bepaalde chemische stoffen worden veroorzaakt. Men spreekt in dit verband van initiatoren. De getransformeerde cel manifesteert zich als een kwaadaardig celtipe als de initiatiefase wordt gevolgd door een promotiefase.

Van een aantal stoffen is aangetoond dat ze zowel initiatie- als promotoreigenschappen hebben, terwijl daarnaast stoffen voorkomen die uitsluitend of althans overwegend over één der beide eigenschappen beschikken. Volledige carcinogenen zijn bijvoorbeeld sommige nitrosaminen, aflatoxine en bepaalde aromatische aminen. TCDD ('dioxin') en een aantal componenten in tabaksrook zijn vooral promotorstoffen. Het beeld wordt verder gecompliceerd door co-carcinogene en anti-carcinogene chemische factoren die niet direct van in-

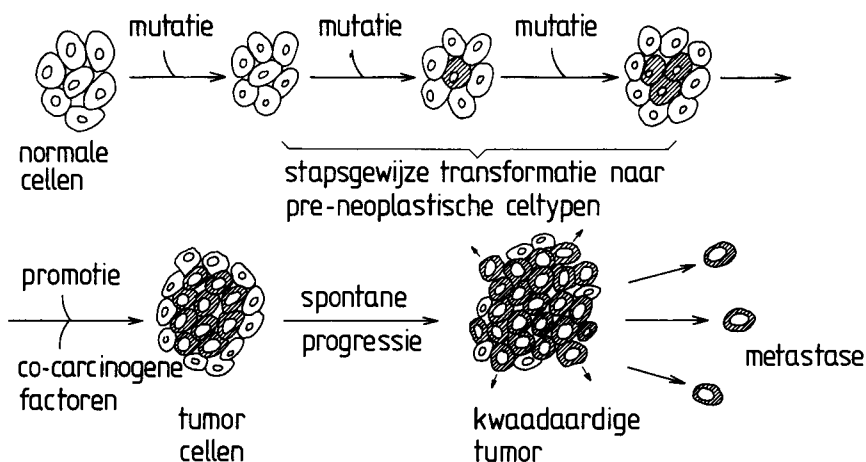


Fig. 11. Schematische voorstelling van de chemische carcinogenese op basis van de somatische mutatietheorie (voor de toelichting zie de tekst).

vloed zijn op het transformatieproces, maar wel het manifest worden van de ziekte beïnvloeden. Als co-carcinogeen zijn onder andere immuno-suppressieve stoffen werkzaam die het immuunsysteem onderdrukken en daarmee de weerstand van het lichaam tegen de overleving van 'vreemde' (b.v. door mutaties getransformeerde) celtypen doen afnemen.

De somatische mutatiemogelijkheden zijn ook op moleculair niveau bevestigd. Gevonden is dat de initiërende carcinogene stoffen aanleiding geven tot een alkyleringsreactie met onder andere de basen uit DNA en RNA. Als gevolg hiervan kan bij de replicatie van DNA en RNA een afwijkende samenstelling ontstaan in de basenvolgorde, waardoor de genetische code verandert. Nog niet bekend is welke soorten mutaties betekenis hebben voor de transformatie. Ook is het nog niet duidelijk hoe de promotie precies in zijn werk gaat.

Dit waren slechts enkele voorbeelden van toxische werkingsmechanismen. Het zou mogelijk zijn meer voorbeelden te geven van de toxische werking op andere orgaansystemen en functies zoals de huid, het maag-darmstelsel de endocriene organen, de voortplanting en het immuunsysteem. Hiervoor wordt verwezen naar de algemene toxicologische literatuur.

RELATIE TUSSEN STRUCTUUR EN WERKING

De primair toxische laesie wordt veroorzaakt door een reactie op moleculair niveau tussen een lichaamsvreemde stof en lichaamseigen moleculen. Deze reactie wordt bepaald door de eigenschappen van de beide reagerende componenten zoals die voortkomen uit hun chemische structuur. De vraag is derhalve interessant in hoeverre de toxische potentie(s) van een stof kunnen worden afgeleid uit de structuur. Een dergelijk inzicht zou bijvoorbeeld kunnen leiden tot een herkenning van riskante stoffen en tot de ontwikkeling van een chemische technologie waarbij de synthese van riskante structuren wordt voorkomen. Daarnaast verschaft inzicht in de relatie tussen structuur en werking de mogelijkheid om in die gevallen waar een bepaalde biologische werking in toxische of andere zin wenselijk wordt geacht (b.v. bij de ontwikkeling van geneesmiddelen en pesticiden), structuren te ontwikkelen waarbij die werking met grotere effectiviteit en selectiviteit kan worden gerealiseerd. Het is dan ook begrijpelijk dat juist in het farmaceutisch en farmacologisch onderzoek hoge prioriteit wordt gegeven aan relatie tussen structuur en werking. Voor toxische stoffen kunnen inmiddels enkele belangrijke structurele kenmerken worden onderscheiden. Op grond hiervan is een globale indeling van vergiften mogelijk.

Alkylerende stoffen

Alkylerende stoffen zijn organische stoffen met een zodanige elektronenverdeling in de moleculen, dat één of meerdere koolstofatomen positief gela-

den zijn. Men spreekt in dit verband wel van carboniumionen of carbokationen. Het relatieve elektronentekort van de betreffende chemische groep in het molecuul maakt het molecuul elektrofiel, dat wil zeggen het zal preferent reageren met moleculaire structuren met een relatief overschot aan elektronen, zogenaamde nucleofiele groepen. Nucleofiele groepen komen frequent voor in levende organismen, bijvoorbeeld de carboxyl-, amino- en iminogroepen in eiwitten en nucleïnezuren. Veel alkylerende stoffen zijn sterk reactief en daardoor weinig selectief in hun toxische werking. Ze reageren onder andere met de huid en slijmvliezen (irriterende en blaartrekkende werking), met tal van enzymen en membranen, waardoor ze een sterk remmend effect kunnen hebben op de celdeling, alsmede met de nucleïnezuren RNA en DNA. Als gevolg van deze laatste eigenschap zijn veel alkylerende stoffen mutageen en soms carcinogeen.

Belangwekkend is dat tijdens de biotransformatie uit niet-alkylerende stoffen alkylerende metaboliëten kunnen worden gevormd in bepaalde organen. Transformatie tot alkylerende metaboliëten vindt onder andere plaats bij vinylchloride, sommige nitrosamines, 3,4-benzpyreen en aflatoxine B₁. De werking van dit soort stoffen is wel tamelijk selectief, daar de werking uitsluitend tot uiting komt op de plaats waar de metaboliët met alkylerende eigenschappen wordt gevormd. Direct werkzame alkylerende stoffen zijn bijvoorbeeld methylbromide, stikstofmosterd en β -proprilacton.

De alkylerende potentie van een stof laat zich, zeker voor direct alkylerende stoffen, redelijk uit de moleculaire structuur afleiden. Voor de indirect werkende is de situatie gecompliceerder, daar in dat geval inzicht nodig is in de wijze waarop de stof via de biotransformatie in zijn structuur wordt veranderd.

Radicalen en radicaalvormers

Radicalen zijn stoffen waarvan de moleculen een ongepaard elektron bevatten. Hierdoor zijn ze sterk reactief. Radicalen kunnen kettingreacties induceren in onder andere onverzadigde vetzuren in de lipidenlaag van membranen (peroxydatie van lipiden). Hierdoor treedt membraanschade op. Bekende radicaalvormende stoffen zijn chloroform en het eerder bij de behandeling van de invloed van toxische stoffen op de lever besproken tetrachloorkoolstof.

In het lichaam ontstaan spontaan radicalen uit onder andere zuurstof, waaronder superoxyde-, hydroxyl- en peroxyradicalen. Ook deze radicalen kunnen membraanschade door peroxydatie veroorzaken. Van een aantal stoffen is bekend dat ze dit soort endogene radicalen kunnen doen ontstaan, bijvoorbeeld het herbicide paraquat. De longschade die deze stof kan veroorzaken is dus zeer waarschijnlijk het gevolg van een radicaalmechanisme. Dit geldt ook voor het geneesmiddel paracetamol (een pijnstiller). Deze stof is hepatotoxisch (toxisch in de lever). Ze wordt via de biotransformatie omgezet in

een semi-chinonradicaal, terwijl zeer waarschijnlijk tevens superoxyde- en peroxyradicalen ontstaan.

De vorming van radicalen door chemische stoffen kan thans nog niet in alle gevallen uit de chemische structuur worden voorspeld. Men mag echter aannemen dat met de toenemende kennis van de mechanismen van biotransformatie en de moleculairfysische eigenschappen van stoffen binnen niet al te lange tijd een stadium wordt bereikt waarop men de waarschijnlijkheid van radicaalvorming uit de structuur van stoffen kan bepalen.

Metaalkationen

Metaalkationen zijn reactief op grond van hun positieve ladingseigenschappen. Ze binden zich gemakkelijk aan bepaalde nucleofiele groepen, in het bijzonder sulphydrylgroepen, die functioneel voorkomen op de actieve plaatsen van een reeks van enzymen. Zowel lood-, cadmium- als kwikzouten remmen de activiteit van metabool sterk actieve cellen en zijn bijvoorbeeld alle toxisch voor de nieren, waar met name schade optreedt in de cellen van de primaire tubuli. Er zijn ook verschillen in toxiciteit, die ten dele berusten op een verschillend lot van de metalen in het lichaam als gevolg van verschillen in ladingseigenschappen en molecuulgrootte.

Organische fosforesters

Deze groep omvat een groot aantal stoffen dat onder andere wordt toegepast als insecticiden, veterinaire geneesmiddelen en weekmakers (in plastics en minerale oliën). Organische fosforesters zijn zonder uitzondering specifieke remmers van het neurotransmissie-enzym acetylcholinesterase (zie bij toxische werking zenuwstelsel). Het actieve deel van dit enzym, de zogenaamde anionische groep, wordt selectief covalent gebonden door het positief geladen fosforatoom. Een aantal vertegenwoordigers van de groep heeft bovendien een degeneratieve werking op het zenuwstelsel, zoals de weekmaker triortho-cresylfosfaat (TOCP). De structurele eigenschappen die bepalend zijn voor deze neurotoxische werking zijn thans nog onvoldoende bekend.

Oplosmiddelen en inerte gassen

Van dit soort stoffen kan de toxische werking ten dele worden voorspeld. Het voorspelbare deel betreft een narcotisch effect op het zenuwstelsel. Dit effect berust op een verstoring van de fysische gesteldheid van de vloeistoffase in de zenuwvezels, waardoor de snelheid van de prikkelgeleiding in de zenuwvezels afneemt. Deze werking verklaart de vroegere of huidige toepassing van stoffen als chloroform, diethylether en halothaan bij de narcose bij operaties. De dampspanning waarbij narcotische effecten optreden, ligt voor alkanen, alifatische halogeenkoolwaterstoffen, aromatische koolwater-

stoffen, aromatische koolwaterstoffen en ethers globaal bij dezelfde waarde van verzadiging.

Ook in het aquatische milieu ligt de narcotische werking van dergelijke stoffen voor bijvoorbeeld vissen bij onderling min of meer gelijke waarden van verzadiging. Voor lagere alifatische en aromatische halogeenkoolwaterstoffen, kan de letale toxiciteit bij vissen ook beschreven worden aan de hand van fysisch-chemische parameters, de lipofiliteit, de dissociatieconstante en een sterische variabele. De lipofiliteit, bijvoorbeeld uitgedrukt in de n-octanol/waterverdelingscoëfficiënt, is in dit verband de belangrijkste parameter. Waarschijnlijk wordt de letaliteit van dit soort stoffen bij vissen bepaald door een specifiek verstorend effect op membraanfuncties.

Oplosmiddelen kunnen op de mens en andere organismen naast de narcotische werking tal van andere werkingen hebben (b.v. beenmergdepressie in het geval van benzeen, hepatotoxiciteit bij chloroform, carcinogeniteit bij vinylchloride etc.).

Stoffen met structuuranalogie met lichaamseigen metabolieten

Onder lichaamseigen metabolieten worden hier verstaan de intermediaire producten in de stofwisseling: vitamines, hormonen, neurotransmitter-stoffen, co-enzymen en dergelijke. Structuurverwantschap van een 'vreemde stof' met één van deze metabolieten kan gepaard gaan met een zelfde soort werking of met een remmende of blokkerende werking van de fysiologische processen waarin de metabolieten functioneren. De toxicologische consequenties van structuuranalogie kunnen aan de hand van tal van voorbeelden worden geïllustreerd.

Het muscarine, een stof die in verschillende giftige paddestoelen (o.a. de soorten *Amanita*, *Inocybe* en *Psilocybe*) voorkomt, imiteert de werking van de neurotransmitter acetylcholine in het autonome zenuwstelsel. Reeds bij een oppervlakkige vergelijking van de structuur van deze twee stoffen (figuur 12) is de verwantschap duidelijk. De analoge structuur heeft kennelijk tot gevolg dat het muscarine effectief reageert met de acetylcholine-receptor. Meestal echter werkt structurele verwantschap blokkerend. De stof treedt wel in de plaats van de metaboliet, maar is niet effectief. Atropine, besproken bij de toxische werking van stoffen op het zenuwstelsel, bindt zich wel met de receptor maar stimuleert de receptor niet. Het in figuur 12 getoonde bestrijdingsmiddel warfarine antagoneert vitamine-K dat een sleutelpositie vervult in het bloedstollingsproces. Het bloedstollingsmechanisme wordt verstoord en er ontstaan inwendige bloedingen. Warfarine en andere zogenaamde anticoagulantia worden toegepast bij de bestrijding van ratten en muizen. Klassiek is ook het voorbeeld van het fluorazijnzuur, dat eveneens als bestrijdingsmiddel voor knaagdieren wordt gebruikt en van nature voorkomt in planten (o.a. de zogenaamde gifblaar, *Dichapetalum cymosum*, in Zuid-Afrika). Fluorazijnzuur neemt in de citroenzuurcyclus de plaats in van de

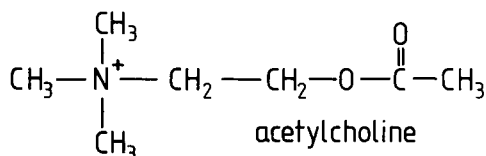
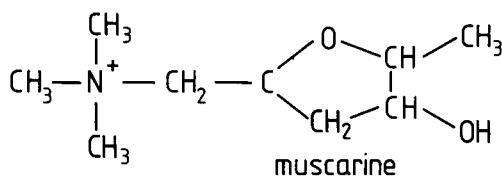
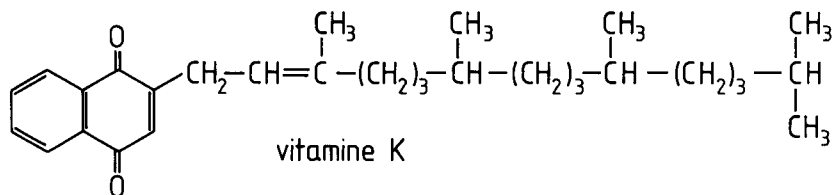
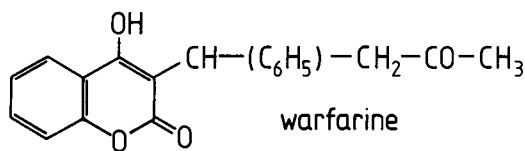


Fig. 12. Twee voorbeelden van structuurverwantschap (voor de toelichting zie de tekst).

metaboliet azijnzuur. Het wordt ingebouwd in citroenzuur waarbij fluorcitraenzuur ontstaat. Als gevolg hiervan blokkeert de cyclus. Men spreekt in dit verband wel van letale synthese. Voor meerdere voorbeelden wordt verwezen naar de literatuur.

Het spreekt vanzelf dat de analyse van dit soort werkingsmogelijkheden aan de hand van de beoordeling van de chemische structuur van een stof aanmerkelijk gecompliceerder is dan de analyse van een mogelijke alkylerende werking. Naarmate meer bekend wordt over de structuur van de receptoren in fysiologische processen, zal wellicht toch het moment komen waarop men chemische structuren efficiënt kan toetsen op een aantal interactiemogelijkheden met vitale levensprocessen. Het inzicht in de betekenis van structuurverwantschap met biologische 'sleutelmoleculen' wordt inmiddels op ruime schaal toegepast bij de ontwikkeling van biologisch actieve stoffen zoals bestrijdingsmiddelen en geneesmiddelen.

Er zijn veel toxische stoffen waarvan het werkingsmechanisme thans nog niet bekend is. Aangenomen mag worden, dat in de meeste gevallen sprake zal zijn van hetzij activatie tot reactieve metabolieten van het alkylerende of radicaaltype, hetzij activatie tot metabolieten met structurele kenmerken

die leiden tot selectieve interactie met vitale receptoren ofwel selectieve interactie met vitale receptoren zonder voorafgaande activatie.

COMBINATIEWERKING VAN TOXISCHE STOFFEN

Tot dusver is bij de bespreking van de toxische werking steeds uitgegaan van de werking per individuele stof. Dit is realistisch, omdat vergiftigingen dikwijls het gevolg zijn van blootstelling aan één enkele stof. Het komt ook vaak voor dat de mens en andere organismen gelijktijdig aan meerdere stoffen worden blootgesteld. Een belangrijke vraag is dan of hierdoor een vergroot risico ontstaat, bijvoorbeeld doordat de stoffen elkaars werking wederkerig of eenzijdig versterken.

Bij een gecombineerde blootstelling is in de meeste gevallen ofwel sprake van een onafhankelijke werking van de betrokken stoffen of additiviteit in de werking. Versterking in de zin dat de combinatie sterker werkzaam is dan men op grond van een beschouwing van de afzonderlijke werkingen zou veronderstellen, is relatief zeldzaam.

Bij een onafhankelijke werking zullen na blootstelling aan werkzame doseringen de symptomen van vergiftiging naast elkaar kunnen optreden. Een persoon die bijvoorbeeld gedurende een bepaalde periode werkzame doseringen binnenkrijgt van zowel lood als tetrachloorkoolstof, een situatie die vroeger in het schildersvak voorkwam, krijgt te maken met zowel symptomen van loodvergiftiging (b.v. verlamningsverschijnselen in de handen) als symptomen van tetrachloorkoolstofvergiftiging (degeneratieve leverschade met tal van secundaire gevolgen voor de lichamelijke conditie).

Bij blootstelling aan niet-werkzame doseringen van deze stoffen zal ook de combinatie onwerkzaam zijn, omdat de stoffen een verschillend werkingsmechanisme bezitten. De één kan de ander niet aanvullen tot een werkzame dosis. Dit laatste is dus wel mogelijk bij combinaties van stoffen met een identiek werkingsmechanisme. Wanneer een gebruiker van chemische bestrijdingsmiddelen in de landbouw gelijktijdig te maken krijgt met verschillende vertegenwoordigers van de groep van de organische fosforesters, bijvoorbeeld een combinatie van parathion en azinfosmethyl, is extra voorzichtigheid geboden. Beide remmen zoals eerder werd toegelicht het enzym acetylcholinesterase. Ook als van ieder van beide stoffen een niet-werkzame hoeveelheid wordt opgenomen, kan dit toch resulteren in een vergiftiging. Hier is dus duidelijk sprake van een optelling (summatie) van het toxisch effect. Men spreekt dan van een additieve werking. Dit gaat ook op voor de narcotische werking van vluchtige oplosmiddelen en de irriterende werking op slijmvliezen van bepaalde prikkelende gassen (o.a. chloor, nitreuze dampen).

Wederzijdse of eenzijdige versterking van de werking bij gecombineerde blootstelling komt wel degelijk voor, maar is zeldzaam. Deze vorm van samenwerking wordt synergisme genoemd. Ook hanteert men de term potentiëring voor dit fenomeen. Een aantal jaren geleden traden onverwachts ernstige vergifti-

gingen op bij mensen die bij de toepassing werden blootgesteld aan het normaliter niet zo giftige bestrijdingsmiddel malathion. Bij nader onderzoek bleek dat een verontreiniging van het produkt met het isomeer isomalathion voor de onverwacht hogere giftigheid van het preparaat verantwoordelijk was. Het isomalathion potentieert de giftigheid van malathion, omdat het de ontgiftiging van malathion in het lichaam remt.

Een ander voorbeeld van synergisme vormt het verschijnsel van de zogenaamde alcoholintolerantie na blootstelling aan bepaalde stoffen, waaronder bepaalde alkyldithiocarbamaten die als fungiciden worden gebruikt in de land- en tuinbouw (o.a. thiram en ziram). Mensen die aan relatief hoge doseringen zijn blootgesteld, ervaren wanneer ze daarna alcohol gebruiken een aantal vergiftigingsverschijnselen waaronder een hittegevoel in het gezicht, een verhoogde pols- en ademprequentie en daling van de bloeddruk. Deze worden bij blootstelling aan de individuele stoffen nimmer waargenomen. Het gaat dus om een interactie. Vroeger werd aangenomen dat verstoring van de biotransformatie van alcohol met als gevolg een ophoping van acetaldehyde voor deze vorm van synergisme verantwoordelijk was. Toediening van acetaldehyde alleen leidt echter niet tot dezelfde symptomen. Het werkingsmechanisme is tot dusver niet volledig opgehelderd.

Een ander voorbeeld van synergisme vormt de verhoogde kankerincidentie na gecombineerde blootstelling op lange termijn van de mens aan tabaksrook en bepaalde vormen van asbest.

Een gecombineerde blootstelling kan ook resulteren in antagonisme, dat wil zeggen dat de toxische werking geringer is dan men op grond van de werking van de stoffen afzonderlijk zou verwachten. Simultane toediening van metalen zoals kwik en lood met zogenaamde chelaatvormers vermindert de giftigheid van de metalen. Chelaatvormers zijn stoffen die metaalionen kunnen binden. Het gevolg is dat minder metaalionen terecht komen op de receptoren waar het toxisch effect tot stand komt. Chelaatvormers als EDTA (ethyleendiaminetetra-azijnzuur) en dimercaprol worden wel toegepast bij de therapie van metaalvergiftigingen.

Sommige stoffen die de biotransformatie-enzymen induceren tot hogere activiteit kunnen behalve een synergistische werking (zoals bij malathion-isomalathion) ook een antagonistische werking hebben wanneer de detoxicatie wordt bevorderd. Zo kan na voorafgaande blootstelling aan bepaalde slaapmiddelen (in het bijzonder barbituraten) de gevoeligheid voor bepaalde medicijnen en bestrijdingsmiddelen afnemen.

Een ander voorbeeld van antagonisme vormt de beschermende werking van nitriet bij vergiftiging door blauwzuur (cyaanwaterstof). Het blauwzuur remt de cellulaire ademhaling via binding aan het driewaardige ijzeratoom in het enzym cytochroomoxydase. Nitriet veroorzaakt ferrihemoglobinemie (zie pag. 32). Ook het ferrihemoglobine bindt blauwzuur. Dit zal er toe leiden dat het cytochroomoxydase enigszins wordt ontlast. Bij blauwzuurvergiftigingen wordt therapeutisch van deze werking gebruik gemaakt. Het spreekt vanzelf dat hier-

bij een milde vorm van ferrihemoglobine wordt geïnduceerd, die geen bedreiging vormt voor het zuurstoftransport. De toediening van atropine bij organische fosforestervergiftigingen (pag. 27) mag ook worden beschouwd als een voorbeeld van antagonisme.

4 Kwantitatieve aspecten van de toxische werking

De hedendaagse toxicologen sluiten zich trouw aan bij de uitspraak van de Zwitserse medicus Theophrastus Bombastus von Hohenheim (1493-1541), beter bekend als Paracelsus, die in zijn boek 'Sieben Defensiones' tot de uitspraak kwam: 'Alle Ding sind Gifft allein die Dosis macht das ein Ding kein Gifft ist'. Hij verdedigde zich tegen de aantijging door collegae medici dat het door hem gepraktiseerde gebruik van onder andere kwik- en antimoonpreparaten tegen bepaalde ziekten, waaronder syphilis, op toxicologische gronden onaanvaardbaar zou zijn. Naast de dosis vormt de factor tijd een belangrijk kwantitatief gegeven, daar de toxische werking steeds een functie is van de dosis en de blootstellingsduur.

HET DOSISBEGRIIP

De mate van giftigheid van een stof wordt in hoofdzaak bepaald door de dosis waarbij de giftige werking optreedt. Zo bestaan voor de acute orale giftigheid verschillende gradaties. Stoffen die oraal vergiftigingen veroorzaken bij doseringen in de orde van microgrammen per kilogram lichaamsgewicht zijn extreem giftig. Van zeer giftig kan men spreken bij acuut toxische doseringen in de orde van milligrammen per kilogram en van matig giftig als het gaat om een dosisniveau van honderden ~~van~~ milligrammen per kilogram. Boven dat niveau komt een traject van geringe giftigheid tot circa enkele grammen per kilogram. Stoffen met een acute giftigheid van 5%^g/kg of meer worden als niet-giftig beschouwd. De indeling is nogal subjectief, maar is toch van praktische betekenis bij het classificeren van vergiften.

Tabel 3 geeft een overzicht van de acute orale giftigheid van een aantal bekende vergiften in vergelijking tot het nauwelijks giftige keukenzout. Aan de getallen mag geen absolute waarde worden toegekend, ze geven een indicatie van de dodelijke dosis. Afhankelijk van de gebruikte proefdierstammen en omstandigheden waaronder de toxiciteitsproeven zijn uitgevoerd, kunnen deze doseringen gemakkelijk met een factor twee variëren. Opvallend is dat de meeste thans bekende extreem giftige stoffen natuurprodukten zijn. Extreme giftigheid vindt zijn verklaring in het raffinement van het werkingsmechanisme. Zonder uitzondering gaat het hierbij om stoffen die met grote efficiëntie reageren met zeer vitale receptoren.

Ook bij de chronische giftigheid verschillen de doses waarbij een bepaalde werking optreedt, gewoonlijk uitgedrukt in milligrammen per kilogram lichaamsgewicht per dag, van stof tot stof aanzienlijk en kan men diverse gif-

Tabel 3. Acute orale giftigheid van enkele giftige stoffen.

Stof	Dodelijke dosis voor proefdieren ¹ (µg/kg)	Herkomst ²
botuline toxine A	0,0005	N
difterie toxine	0,3	N
TCDD	1	S
tetradotoxine	15	N
amanitine	150	N
curare	500	N
strychnine	500	N
aflatoxine B ₁	600	N
aldicarb	900	S
nicotine	1 000	N
methylkwik	1 000	N/S
parathion	3 000	S
endrin	7 000	S
blauwzuur	10 000	N/S
thallium	10 000	S
dieldrin	46 000	S
methylbromide	100 000	S
DDT	113 000	S
lood	120 000	S
tetrachloorkoolstof	570 000	S
keukenzout	4 000 000	N

1. LD₅₀ (mediaan letale dosis = dosis waarbij 50% van de dieren sterft) bij kleine proefdieren (rat, muis, cavia).

2. S = synthetisch; N = van natuurlijke herkomst.

tigheidsklassen onderscheiden (b.v. sterk en zwak werkzame carcinogenen).

De toxische werking neemt toe met de dosis. Iemand die gedurende enkele uren wordt blootgesteld aan koolmonoxyde (veroorzaker van de kolendampvergiftiging) in een concentratie van 100 mg/m³ ervaart symptomen van hoofdpijn en kortademigheid. Bij een concentratie van 250 mg/m³ worden deze symptomen sterker en krijgt men bovendien te maken met misselijkheid, pijn in de borst, verschijnselen van geestelijke irritatie en een gevoel van zwakte. Boven een concentratie van 250 mg/m³ kan bewusteloosheid optreden, gevolgd door een sterk verminderde ademhaling die kan uitmonden in ademstilstand en daarmee de dood van het slachtoffer. Het koolmonoxyde is een riskante stof, omdat het verschil tussen de concentratie die lichte symptomen van vergiftiging veroorzaakt enerzijds en een fatale concentratie anderzijds nauwelijks meer dan een factor twee bedraagt. Als risicoverhogende factor komt daar nog bij dat koolmonoxyde een reukloos gas is. Het verschil tussen de concentratie waarbij lichte symptomen van vergiftiging optreden en een fatale dosis kan ook relatief groot zijn.

Om dicht bij huis te blijven kan als voorbeeld cafeïne worden gekozen, het actieve bestanddeel van koffie. Reeds bij consumptie van één à twee koppen koffie, hetgeen neerkomt op een opname van circa 100-200 mg cafeïne, treden lichte symptomen op, zoals een stimulerende werking op onder andere

het centrale zenuwstelsel, de hartfunctie en de diuretische werking van de nieren. Deze stimulerende werking neemt, in het bijzonder voor het zenuwstelsel en de hartfunctie, toe met de dosis. Bij opname van 10 g cafeïne of meer door een volwassene (theoretisch zo'n 100 koppen koffie) kunnen de gevolgen fataal zijn. De marge is hier dus aanzienlijk groter dan in het geval van koolmonoxyde. Fatale acute vergiftigingen door de consumptie van koffie zijn dan ook in hoge mate onwaarschijnlijk. Uit deze voorbeelden blijkt dat kennis over de relatie tussen dosis en werking van groot belang is voor de toxicologische beoordeling van chemicaliën.

Een nauwkeurige kwantificering van de werkingsgraad van toxische stoffen is dikwijls niet mogelijk. In de meeste gevallen moet worden volstaan met een descriptieve benadering, zoals hierboven werd gedaan voor koolmonoxyde. Wel kan men relaties tussen dosis en werking getalsmatig benaderen wanneer men deze relaties betreft op een arbitrair gekozen meetbaar aspect van de werking, bijvoorbeeld letaliteit, functionele orgaanschade of het voorkomen van tumoren. In de arbeidssituatie kan men bepaalde klachten registreren en meten en deze correleren met gegevens over het niveau van blootstelling. Bij toxiciteitsproeven met proefdieren kan men ditzelfde doen, zij het met meer mogelijkheden omdat men na afloop van een experiment, bij de sectie en het vervolgonderzoek, een bepaalde werkingsgraad nauwkeuriger kan bestuderen dan bij intacte organismen.

Wanneer men bij het opstellen van relaties tussen dosis en werking volgens dit principe aan de slag gaat, zal men spoedig ontdekken dat mensen of proefdieren per individu verschillend reageren op een bepaalde dosis. Dit houdt verband met de biologische spreiding in de gevoeligheid binnen een populatie. Op dit aspect wordt nader ingegaan in hoofdstuk 5. Hierdoor ontstaat per dosis of concentratie een bepaalde frequentie van voorkomen van de werking in een groep organismen of een populatie van mensen. Naarmate de dosis hoger wordt, neemt die frequentie toe. Dit biedt de mogelijkheid relaties tussen dosis en werking grafisch weer te geven in de vorm van procentuele-frequentiecurves. Dit wordt in de toxicologie regelmatig toegepast. In de eerste plaats kan zo de relatie tussen dosis en werking op aanschouwelijke wijze worden gepresenteerd. In de tweede plaats kan via grafische interpolatie de mediaanwaarde van het werkzame dosistraject worden bepaald en via extrapolatie de waarde worden geschat van het niet-werkzame dosisniveau. Dit laatste gegeven vormt een belangrijk uitgangspunt bij het opstellen van veiligheidsnormen voor potentiële giftige stoffen.

In figuur 13 is een voorbeeld gegeven van een curve die de relatie weergeeft tussen dosis en werking. De dosis is logaritmisch uitgezet, hetgeen gebruikelijk is daar de spreiding in de gevoeligheid van een populatie bij benadering een normale verdeling vertoont ten opzichte van de log-dosis. Transformatie van de dosis tot log-dosis leidt dan tot een symmetrische sigmoïde curve. Soms wordt bij dit soort grafische presentaties ook een wiskundige transformatie toegepast, op de ordinaat bijvoorbeeld, door de werkings-

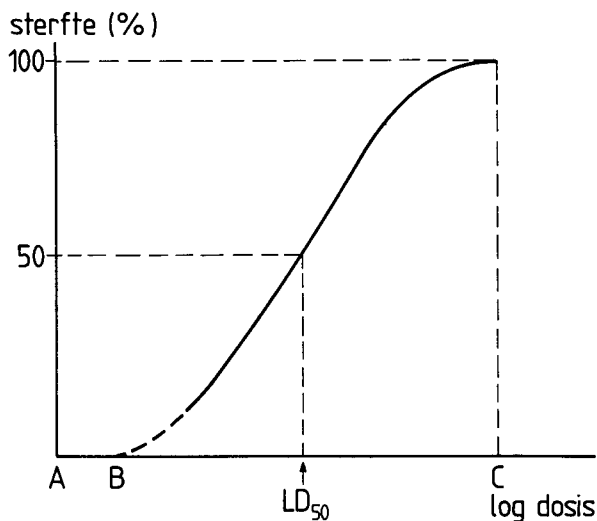


Fig. 13. Algemene gedaante van de relatie tussen dosis en werking in de vorm van een procentuele-frequentiecurve.

percentages weer te geven in zogenaamde probits (door gebruik van een waarschijnlijkheidsverdeling). De relatie tussen dosis en werking kan daardoor worden weergegeven als een lineair verband. Voor nadere details hierover wordt verwezen naar de literatuur.

In figuur 13 is aangegeven hoe via intrapolatie de LD₅₀ van een stof kan worden geschat, wanneer de grafiek het verband aangeeft tussen de dosis en het sterftepercentage in een proefdierpopulatie. De LD₅₀ is de mediaan letale dosis, dat wil zeggen de berekende dosis die correspondeert met een sterfte van 50%. Op de betekenis van deze toxicologische parameter wordt nader ingegaan in hoofdstuk 6. Het traject AB in figuur 13 representeert de niet-werkzame dosis, in dit geval dus de niet-letale dosis. Het punt B, in feite de LD₀, laat zich niet nauwkeurig bepalen daar dat punt van de curve bepaald wordt door de aanwezigheid van een klein aantal relatief gevoelige dieren in de onderzochte populatie. Men mag dus aannemen dat het punt B bij een herhaling van een dergelijk experiment met een groter aantal proefdieren naar links zal verschuiven. Op vergelijkbare wijze zal het punt C, dat wordt bepaald door de minst gevoelige dieren, naar rechts verschuiven. De LD₅₀ zal bij een identieke proefopzet en bij gebruik van dezelfde proefdierstam ongeveer op dezelfde plaats blijven. Dit verklaart dat bij de getalsmatige weergave van de acuut letale werking van stoffen de voorkeur wordt gegeven aan het gebruik van de LD₅₀ boven het gebruik van de LD₀ en de LD₁₀₀. Mutatis mutandis kunnen ook andere effecten via een procentuele-frequentiecurve worden weergegeven, zoals groeiremming en bepaalde specifieke werkingstypen (kanker, lever- en nieraandoeningen etc.).

Ofschoon het punt B de neiging vertoont met een toename van het aantal onderzochte organismen naar links te verschuiven, zal het gewoonlijk nimmer terecht komen bij het punt A. Empirische ervaring en theoretisch inzicht in de werkingsmechanismen van toxische stoffen (hoofdstuk 3) rechtvaardigen de aanname dat van de meeste stoffen een bepaalde minimumdosis dient te worden overschreden alvorens van een wezenlijke functieverstoring (b.v. enzymremming of membraanbeschadiging) sprake kan zijn. Een uitzondering mag zeer waarschijnlijk worden gemaakt voor carcinogene stoffen met initiërende werking, omdat hierbij een uiterst geringe dosis voldoende is voor de transformatie van een normale cel tot een preneoplastische of kankercel. In dat geval zal bij een toename van de aantallen proefdieren of personen het punt B steeds verder verplaatsen in de richting van punt A.

Soms is het mogelijk op grond van kennis omtrent de relatie tussen dosis (of concentratie) en werking van individuele stoffen een berekening te maken van deze relatie voor mengsels van deze stoffen. Dit gaat op in situaties waar sprake is van een additieve werking (zie hoofdstuk 3). De LD_{50} van een mengsel kan dan worden benaderd met behulp van de volgende formule:

$$LD_{50}\text{-mengsel} = \frac{100}{\frac{a}{A} + \frac{b}{B} + \frac{c}{C}}$$

waarin A, B en C de LD_{50} representeren van drie verschillende stoffen en a, b en c de percentages weergeven waarin ze in het mengsel voorkomen. Deze berekeningstechniek kan van praktische toepassing zijn als mensen of dieren aan een cocktail van bepaalde stoffen worden blootgesteld, zoals een mengsel van organische fosforesters in de land- en tuinbouw. Op vergelijkbare wijze kan ook een samengestelde dosis worden berekend voor sub-letale werkingen waarvoor additie geldt.

DE FACTOR TIJD

Acute vergiftiging

Bij acute vergiftigingen, dat wil zeggen vergiftigingen die het gevolg zijn van relatief kortdurende blootstelling aan relatief hoge doseringen of concentraties van een stof, kan de kritische blootstellingsduur variëren van enkele minuten tot enkele dagen. Een persoon die aan een hoge concentratie van zwavelwaterstof of blauwzuurgas wordt blootgesteld, kan binnen enkele minuten via de longen een dodelijke dosis in zijn lichaam opnemen. Bij extreem of zeer giftige stoffen kan een werkzame dosis ook via de mond in zeer korte tijd worden opgenomen, zoals bij vloeibare producten waarvan één slok voldoende is om een toxische werking te veroorzaken.

De betekenis van de tijd bij acute orale vergiftigingen laat zich goed illustreren aan de hand van het voorbeeld van de acute nitrietvergiftigingen

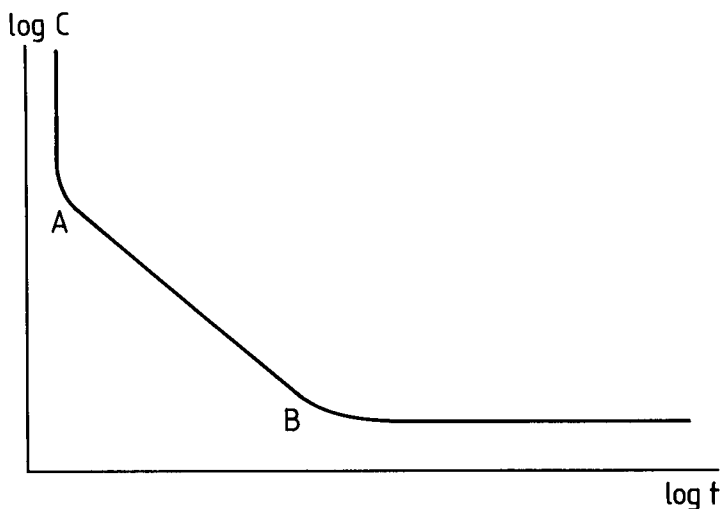


Fig. 14. Algemene gedaante van de relatie tussen concentratie (C) en tijd (t) bij de acute tot subacute vergiftiging.

die in ons land voorkomen bij rundvee. Deze vergiftigingen zijn het gevolg van de hoge nitraatgehaltes die vooral in het voorjaar aanwezig zijn in gras en het loof van voedergewassen. Koeien reduceren nitraat in de pens tot nitriet dat ferrihemoglobinemie kan veroorzaken (zie hoofdstuk 3). Wanneer het vee op het land graast en de voedselopname over het etmaal is gespreid, treden vergiftigingen niet op. Wanneer het vee op stal wordt gehouden en de voeding op gezette tijden plaatsvindt, kan in korte tijd per voeding zo veel nitraat worden opgenomen dat hieruit een fatale vergiftiging resulteert. Bij de gespreide voedselopname blijft de blootstelling van de receptor beneden een kritisch niveau.

Het verband tussen concentratie en tijd bij bepaalde acute vergiftigingen heeft dikwijls de gedaante van de curve in figuur 14. Gedacht kan hierbij worden aan acute vergiftigingen bij mensen en dieren na blootstelling aan stoffen via de lucht en het voedsel (zoals bij de nitraatvergiftiging bij rundvee) of bij vissen na blootstelling via het water. De curve geeft het verband weer tussen de blootstellingstijd en concentratie voor een bepaalde werking (b.v. 50% sterfte bij vissen of het optreden van slijmvliesirritatie bij de mens). Binnen zekere grenzen van concentratie of dosis (C) en blootstellingsduur (t) is het produkt van blootstellingsduur en concentratie bij benadering vaak constant (werking = $f \times C \times t$; f is een constante).

In de figuur gaat dit op voor het traject AB. Daarbuiten buigt de curve en verloopt parallel aan de assen. De afstand tot de horizontale as representeert de drempelconcentratie die bij verlenging van de blootstellingsduur geen effect meer heeft. De afstand tot de vertikale as geeft de minimumtijd weer (minimale latentietijd) die nodig is voor het induceren van de werking.

Chronische vergiftiging

Chronische vergiftigingen worden gekenmerkt doordat de symptomen van vergiftiging pas na langdurige blootstellingsperiodes in de orde van maanden tot jaren tot uiting komen. Dit duidt erop dat de stof gedurende deze periode irreversibele schade toebrengt aan een bepaald orgaan of proces. Aanvankelijk leidt dit niet tot waarneembare gezondheidsschade, maar kennelijk cumuleert het toxisch effect, waardoor uiteindelijk vergiftigingsverschijnselen ontstaan.

Een bekend voorbeeld van chronische vergiftiging vormt de levercirrose door alcohol (ethylalcohol) (zie hoofdstuk 3). De minimaal werkzame dosis ligt gemiddeld bij een dagelijkse consumptie van ongeveer 100 ml alcohol. Er zijn aanwijzingen dat een dergelijke of hogere dosis voortdurend aanleiding geeft tot een afsterven van levercellen. Aanvankelijk worden deze verliezen gecompenseerd door de produktie van nieuwe cellen. Het regeneratievermogen van het orgaan neemt evenwel af naarmate de blootstelling voortduurt, hetgeen gepaard gaat met een toename in de vorming van bindweefsel. Het ontstaan van levercirrose onder invloed van stoffen als ethylalcohol en tetrachloorkoolstof wordt in belangrijke mate mede bepaald door de nutriëntensamenstelling van de voeding (zie hoofdstuk 5).

Een bijzondere rol speelt de blootstellingsduur in relatie tot het ontstaan van kanker onder invloed van carcinogenen met een initiërende werking. In tabel 4 wordt het verband aangegeven tussen dosis en blootstellingstijd met betrekking tot de kankerverwekkende werking van 4-dimethylamino-azobenzeen. Hieruit blijkt, dat het produkt van de dagelijkse dosis en de blootstellingsduur een tendens vertoont kleiner te worden naarmate de dagelijkse dosis lager en de blootstellingsduur langer wordt. Het verband tussen dosis en blootstellingsduur in dit soort experimenten kan gewoonlijk worden benaderd door de formule $d \times t^n = C$ (constant), waarin n een waarde van 2-3 heeft. Voor de onderzoeker die het experiment in tabel 4 uitvoerde, was dit aanleiding te concluderen dat de factor tijd een bijdrage levert tot het totale effect. Dit is in overeenstemming met de in hoofdstuk 3 beschreven

Tabel 4. Inductie van leverkanker bij de rat met 4-dimethylamino-azobenzeen¹.

Dagelijkse dosis d (mg)	Blootstellingsduur t (dagen)	Totale dosis (D) (mg)
30	34	1020
20	52	1040
10	95	950
5	190	950
3	350	1050
1	700	700

1. Gegevens van Druckrey (1967).

somatische-mutatiehypothese die uitgaat van de aanname dat cellen stapsgewijs via genetische mutaties tot kankercellen worden getransformeerd.

Men zou de betekenis van de blootstellingsduur nu als volgt kunnen begrijpen. Een cel die éénmaal gemuteerd is, zal zich naarmate de tijd vordert, delen tot een populatie van mutante dochtercellen. Bij een relatief lange blootstellingsduur zullen dit er gemiddeld meer zijn dan bij een relatief korte blootstellingsduur, waardoor de kans in het eerste geval groter is dat een reeds gemuteerde celpopulatie opnieuw door een mutatie wordt getroffen. Onderzoekresultaten zoals die in tabel 4 steunen ook de opvatting dat bij initiërende carcinogene stoffen in het algemeen niet mag worden uitgegaan van het bestaan van een niet-werkzame dosis.

Latentietijd

De latentietijd is de tijd die verstrijkt tussen het begin van de blootstelling en het optreden van de vergiftigingsverschijnselen. Veelal zal deze latentietijd samenvallen met de blootstellingstijd. Dit is echter niet altijd het geval. Soms kan na beëindiging van de blootstellingsperiode een aanzienlijke tijd verstrijken alvorens de symptomen van vergiftiging zich manifesteren. Een bekend voorbeeld hiervan vormen vergiftigingen met het onkruidbestrijdingsmiddel paraquat, dat nogal eens wordt gebruikt bij intentionele zelfvergiftiging. Na opname van een éénmalige dosis van het gewoonlijk vloeibare produkt treden onmiddellijk enkele symptomen op van voorbijgaande aard zoals brandende pijn in mond en keelholte, braken en leverfunctiestoornissen. Na een schijnbaar herstel ontwikkelt zich dagen later een ernstige longafwijking die niet zelden leidt tot de dood van de betrokkene. Kennelijk is op het moment van blootstelling een irreversibel effect geïnduceerd, waardoor langzaam een proces op gang komt dat pas dagen later uitmondt in verschijnselen van vergiftiging.

Er zijn ook kankerverwekkende stoffen bekend, waaronder nitrosaminen, die werkzaam zijn na een eenmalig kortdurend contact aan de stof. De latentietijd kan dan liggen in de orde van één jaar of langer. De stof is dan al lang door het lichaam uitgescheiden. Ook in dit geval heeft een kortdurend contact met de stof geleid tot de inductie van een irreversibel effect dat uiteindelijk escaleert tot een vergiftiging.

5 Verschillen in gevoeligheid voor toxische stoffen

De gevoeligheid voor giftige stoffen kan van soort tot soort en van individu tot individu binnen een soort aanmerkelijk variëren. In het algemeen berust dit op principiële verschillen in de anatomie en fysiologie van de soorten en op variabiliteit in de erfelijke gesteldheid en lichamelijke conditie waar het individuen van één soort betreft. Men kan dus onderscheid maken in gevoeligheidsverschillen tussen en binnen soorten.

VERSCHILLEN TUSSEN SOORTEN

De mens en andere organismen vertonen soms grote onderlinge verschillen in lichaamsbouw en lichaamsgrootte en het functioneren van fysiologische processen zoals de spijsvertering en stofwisseling, de biotransformatie van lichaamsvreemde stoffen, de voortplanting, de ademhaling en zintuigelijke functies. Hierdoor geeft de blootstelling van sommige soorten aan een bepaalde dosis of concentratie van een giftige stof wel aanleiding tot de opbouw van een werkzame concentratie van de stof op de plaats van de receptoren in organen en weefsels en bij andere soorten niet. Het niet gevoelig zijn van bepaalde soorten kan ook betekenen dat specifiek gevoelige receptoren ontbreken. Deze gevoeligheidsverschillen worden gewoonlijk aangeduid met het begrip selectieve toxiciteit.

Anatomie

Het klein zijn van bepaalde organismen houdt in het algemeen in dat de verhouding tussen de lichaamsoppervlakte en het lichaamsgewicht relatief groot is, waardoor bij een oppervlakkig contact met een stof gemakkelijk een werkzame dosis kan worden opgenomen. Dit verklaart bijvoorbeeld dat insecten gewoonlijk gevoeliger voor bepaalde insecticiden zijn dan vogels en zoogdieren. In het geval van insecten komt daarbij dat de huid zeer lipofiel is, waardoor de meeste insecticiden er gemakkelijk doorheen dringen. Bovendien komen de belangrijke receptoren, in dit geval sensibele zenuwvezels, tot in de buitenste laag van de insectehuid voor. De relatief grote gevoeligheid van vissen voor insecticiden zoals DDT en de pyrethroïden kan eveneens worden verklaard uit de oppervlakkige ligging van het zijlijnzintuig, waardoor deze stoffen gemakkelijk tot de receptoren in dit zintuigorgaan kunnen doordringen.

Het klein zijn betekent soms dat de stofwisseling op een hoog niveau ligt

in vergelijking tot grotere dieren, waardoor per tijdseenheid relatief gesproken veel meer voedsel wordt verwerkt. Wanneer zich in dat voedsel toxische stoffen bevinden, zullen dit soort dieren naar verhouding veel meer van de stof binnenkrijgen. Voor kippen is berekend dat per dag ongeveer 3,5% van het lichaamsgewicht aan voedsel wordt opgenomen, terwijl dit bij de koolmees 25% bedraagt. Vooral bij kleine insektenetende vogels en zoogdieren (vleermuizen, spitsmuizen) ligt de voedselopname op een zeer hoog niveau, hetgeen ze extra kwetsbaar maakt voor residu's van insecticiden die op hun voedsel kunnen voorkomen.

Ook inwendige barrières kunnen een rol spelen bij soortspecifieke gevoeligheidsverschillen. De goudhamster is veel minder gevoelig voor DDT dan andere kleine knaagdieren. De orale LD_{50} van deze stof bedraagt voor de goudhamster meer dan 5000 mg/kg, terwijl voor de muis en rat waarden in de orde van 100-200 mg/kg worden gevonden. Op grond van metingen van DDT-gehalten in de hersenen van deze dieren is geconcludeerd dat dit verschil in belangrijke mate wordt bepaald door de doorlaatbaarheid voor DDT van het membraansysteem dat het hersenweefsel scheidt van de circulatie.

Fysiologie

De fysiologische verschillen tussen organismen die in taxonomisch opzicht geringe verwantschap vertonen, kunnen zeer groot zijn. Het meest uitgesproken zijn deze verschillen als men planten en bacteriën vergelijkt met dieren. Het fotosyntheseproces komt alleen in groene planten voor en er zijn stoffen die dit proces selectief remmen. Een aantal van deze stoffen vindt toepassing als herbiciden bij de bestrijding van onkruiden. De giftigheid van deze herbiciden voor zoogdieren is gewoonlijk klein. Omgekeerd missen planten een zenuwstelsel, waardoor vergiften met een selectieve werking op het zenuwstelsel voor planten niet giftig zijn. Ze kunnen er zonder enige nadelige consequenties mee worden behandeld tegen aantasting door insecten. Het mechanisme waarmee de celwand van bacteriën wordt gevormd, is een selectief aangrijpingspunt voor bepaalde antibiotica zoals penicilline. Het ontbreken van deze receptoren in de andere organismen vormt de verklaring voor de overwegend geringe giftigheid van penicilline en enkele andere antibiotica voor de mens.

Ook wanneer de onderlinge verwantschap groter is, kunnen er specifieke verschillen zijn in het voorkomen van bepaalde receptoren. De remmende invloed van DDT op de voortplanting van een aantal soorten roof- en watervogels houdt verband met fysiologische aspecten van de voortplanting die kenmerkend zijn voor vogels. Het mechanisme van deze werking is nog niet volledig opgehelderd.

Een voorbeeld waarbij de broedbiologie van een vogelsoort aanleiding geeft tot selectieve gevoeligheid vormt de sterfte van eidereenden in de Waddenzee door enkele insecticiden die optrad in het begin van de zestiger jaren. Hier-

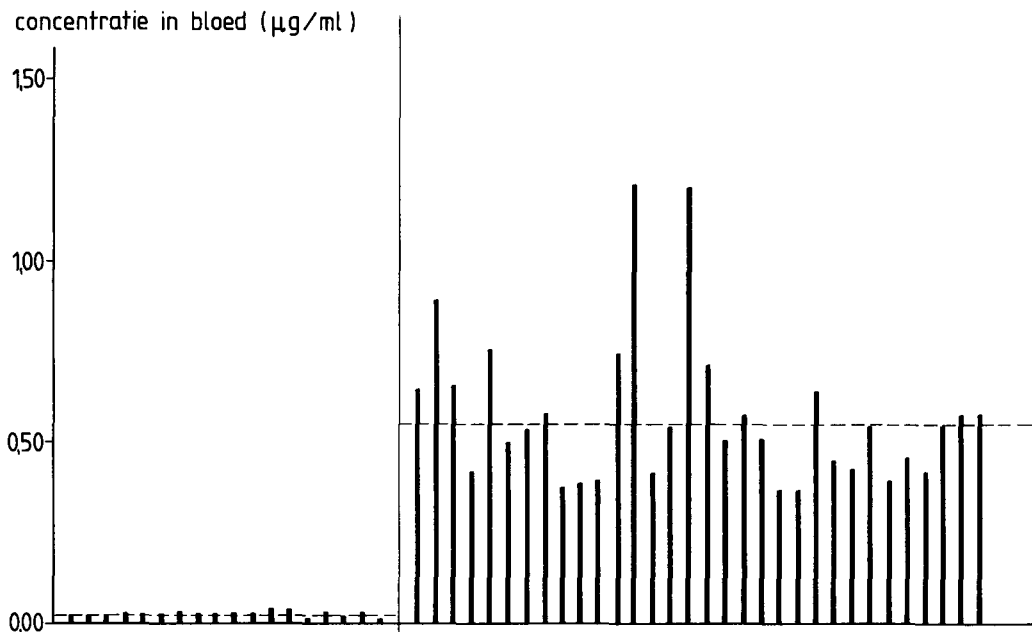


Fig. 15. Concentratie van het insecticide dieldrin in het bloed van eidereenden in 1966. De linkerzijde van de figuur toont de gehalten in 18 broedvogels waarvan bloed werd afgenomen in het begin van het broedseizoen (op 3 en 4 mei). De rechterzijde toont de gehalten in 32 broedvogels die aan het eind van het broedseizoen (tussen 23 mei en 10 juni) stervend of in slechte conditie werden aangetroffen. Hiermee vergelijkbare concentratieveranderingen werden ook gevonden voor enkele andere stoffen (o.a. telodrin en PCB's). De vergiftiging werd in hoofdzaak veroorzaakt door een additief effect van dieldrin en telodrin.

bij werden alleen de vrouwelijke dieren getroffen, omdat deze dieren tijdens het broeden niet of nauwelijks eten. Als gevolg daarvan neemt hun gewicht met 25-30% af. De insecticiden die de dieren in de voorgaande periode via het eten van mossels hadden opgenomen, kwamen tijdens de broedperiode vanuit vet- en ander weefsel geleidelijk vrij in het bloed. Hierdoor werd uiteindelijk een toxisch niveau bereikt in het zenuwstelsel dat leidde tot de dood van grote aantallen van deze eenden. Figuur 15 toont het verschil in gehalte voor één der insecticiden, het dieldrin, tussen eenden waarvan aan het begin van de broedperiode bloed werd afgenomen en broedvogels die stervend of in slechte conditie werden verzameld aan het einde van de broedtijd. Mannelijke eenden werden niet getroffen daar deze niet aan het broedproces deelnemen. De meeste andere vogelsoorten waarin de insecticiden eveneens aanwezig waren, werden niet of slechts in geringe aantallen vergiftigd (onder andere omdat deze zich wel voeden tijdens de broedperiode). Wel traden ernstige vergiftigingen op bij enkele soorten sterns. De vergiftiging bij sterns werd voornamelijk bepaald door de hoge insecticidegehalten die voorkwamen in bepaalde vissoorten in het westelijk deel van de Waddenzee waar deze vogels overwegend fourageren.

In zeer veel gevallen kan de selectieve giftigheid van stoffen worden verklaard op grond van verschillen in het vermogen van organismen om stoffen via de biotransformatie te inactiveren of via de excretie-organen uit te scheiden. Opvallend is bijvoorbeeld de geringe activiteit van de biotransformatie-enzymen bij koudbloedige organismen (vissen, kikkers) in vergelijking met warmbloedige organismen (vogels, zoogdieren). Dit verschil kan een factor tien of meer bedragen. Dit verklaart de waargenomen tendens voor een sterkere mate van cumulatie van bepaalde lipofiele stoffen in weefsels van koudbloedige organismen dan in warmbloedige. Een geringe biotransformatie blijft. Wellicht verklaart dit tevens de lage incidentie van kanker bij vissen, daar de meeste kankerverwekkende stoffen via biotransformatie tot reactieve metaboliëten worden geactiveerd.

Een spectaculair voorbeeld van selectieve toxiciteit op grond van biotransformatie kan worden gegeven met betrekking tot het acaricide methyl-naphthyl-fluoracetamide (wordt in Nederland niet toegepast). De orale LD₅₀ van dit middel ligt bij het konijn en de hond op een niveau van 2-3 mg/kg. Muizen en ratten zijn honderd tot tweehonderd maal minder gevoelig, omdat deze dieren de stof via de biotransformatie in veel geringere mate in het toxische fluorazijnzuur omzetten. Vermeldenswaard is verder nog de ongevoeligheid van bepaalde konijnerassen voor atropine, hetgeen berust op de aanwezigheid van een atropine-esterase dat bij andere soorten, inclusief de mens, veel minder actief is. Deze konijnen kunnen dus zonder schadelijke gevolgen atropine bevattende gifplanten consumeren zoals de wolfskers (*Atropa belladonna*).

In de literatuur kan men tal van andere voorbeelden vinden van gevoeligheidsverschillen tussen soorten die worden veroorzaakt door verschillen in de snelheid waarin en wijze waarop stoffen via de biotransformatie worden omgezet.

VERSCHILLEN BINNEN DE SOORT

Binnen de populatie van een soort kunnen mensen of andere organismen zeer verschillend reageren op de giftige stoffen. De achtergrond hiervan wordt voornamelijk bepaald door weerstandsverschillen met een erfelijke basis en conditieverschillen die te maken hebben met leeftijd, voedings- en leefgewoonten en ziekten.

Erfelijkheid

Eén van de meest bekende genetisch bepaalde vormen van overgevoeligheid bij sommige mensen is het veel voorkomende tekort van glucose-6-fosfaat-dehydrogenase. Dit enzym bekleedt een sleutelpositie bij de koolhydraatstofwisseling in de rode bloedlichaampjes. Een gevolg hiervan is dat de rode bloedlichaampjes extra gevoelig zijn voor oxydatieve schade door bepaalde stoffen. De celwand wordt beschadigd en er treedt hemolyse op (hemolytische

anemie). Het zuurstoftransport kan daarbij in gevaar komen. Bovendien veroorzaken deze oxydatief werkzame stoffen meestal ferrihemoglobinemie. Stoffen die bij deze mensen hemolyse kunnen veroorzaken zijn bepaalde geneesmiddelen waaronder het anti-malaria middel primaquine en sommige sulfonamiden, verder nitroverbindingen (b.v. trinitrotolueen), en aromatische amines en nitrieten. Er zijn verschillende genetische vormen van een erfelijk bepaald tekort aan glucose-6-fosfaat-dehydrogenase bekend.

Eén vorm, die vooral bekend is in het mediterrane gebied, is geassocieerd met een vorm van hemolytische anemie die favisme wordt genoemd. Deze naam is afgeleid van de wetenschappelijke naam van de tuinboon (*Vicia faba*). In dit consumptiegewas komen stoffen voor (o.a. de glycosiden divicine en convicine) die door oxydatie membraanschade kunnen veroorzaken in de rode bloedlichaampjes. Favisme treedt vooral op bij kinderen. Bij de vergiftiging wordt te weinig NADPH gevormd om het membraanbeschermend glutathion-redox-mechanisme in de gereduceerde staat te brengen.

Er is ook een genetisch bepaald tekort bekend van het enzym ferrihemoglobine-reductase dat normaal ferrihemoglobine reduceert tot hemoglobine. Dit tekort leidt tot een verhoogde gevoeligheid voor ferrihemoglobinemie veroorzakende stoffen.

De gevoeligheid voor kanker kan ook ten dele erfelijk bepaald zijn. Er zijn aanwijzingen dat de van persoon tot persoon soms aanzienlijk variërende activiteit van het biotransformatie-enzym arylkoolwaterstof hydroxylase geassocieerd is met de individuele gevoeligheid voor longkanker. Een hoge activiteit van dit enzym zou tot gevolg hebben dat bepaalde kankerverwekkende stoffen, waaronder polycyclische koolwaterstoffen, in versterkte mate worden geactiveerd tot kankerinitierende metabolieten. Op verscheidene plaatsen in de wereld wordt thans onderzocht of men aan de hand van activiteitsbepalingen in weefselmonsters, die bij levende mensen worden verzameld, per individu een voorspelling kan doen inzake de aanleg voor het krijgen van longkanker. Wellicht ligt hier ook de verklaring van het feit dat sommige straffe rokers wel en anderen geen longkanker krijgen.

Bepaalde vormen van sensibilisatie (overgevoeligheid die voortkomt uit een reactie van het immuunsysteem op bepaalde stoffen en materialen) zijn zeer waarschijnlijk eveneens erfelijk bepaald. Sommige mensen vertonen na regelmatig contact met sensibiliserende stoffen zoals bijegif (dat een soms fataal verlopende immuunrespons teweeg kan brengen) en driewaardige chroomzouten (aanwezig in onder andere lederwaren en cement; kunnen allergische contact-dermatitis veroorzaken) wel een overgevoeligheidsreactie, maar anderen niet.

Erfelijke aanleg komt ook tot uiting in gevoeligheidsverschillen die minder uitgesproken zijn dan in de hier gegeven voorbeelden. In natuurlijke populaties verschillen alle individuen onderling in de samenstelling van hun genenpakket, tenzij er sprake is van identieke tweelingen, drielingen etc. Dit heeft tot gevolg dat de individuen onderling niet alleen qua uiter-

lijk verschillen vertonen, maar eveneens variëren in hun fysiologische functies. Hierdoor kan een orgaanfunctie van het ene individu kwetsbaarder zijn dan dat van een ander, of kunnen er verschillen bestaan in de activiteit van de biotransformatie-enzymen en excretiefuncties.

De erfelijk bepaalde individuele gevoeligheidsverschillen vormen de basis van de ontwikkeling van genetische resistentie bij sommige diergroepen zoals insecten en vissen. Dit treedt op wanneer de gevoelige organismen in de populatie onder invloed van de letaal toxische werking worden uitgeselecteerd. Hierdoor treedt een selectie-mechanisme in werking waardoor uiteindelijk populaties ontstaan die een veel lagere gevoeligheid bezitten voor bijvoorbeeld pesticiden dan de uitgangspopulatie. In de land- en tuinbouw vormen insecten die resistentie hebben ontwikkeld tegen insecticiden een groot probleem.

Leeftijd

Zeer jonge organismen zijn over het algemeen gevoeliger voor de toxische werking van chemicaliën. Dit houdt in veel gevallen verband met het nog niet voltooid zijn van de orgaanontwikkeling of het nog niet volledig functioneel zijn van bepaalde fysiologische processen. Bij het jonge zoogdier is de barrière tussen bloed en hersenen bijvoorbeeld beter doorlaatbaar voor chemische stoffen dan bij het volwassen dier. Ook ligt bij zuigelingen en jonge zoogdieren in het algemeen de capaciteit van de biotransformatie-enzymen op een relatief laag niveau. Zo zijn er tal van andere fenomenen waarin het zeer jonge dier verschilt van de volwassen soortgenoot. Zuigelingen zijn erg gevoelig voor de giftige werking van nitriet, omdat het zogenaamde foetale hemoglobine, dat in die leeftijdsfase nog aanwezig is, gemakkelijker tot ferrihemoglobine wordt geoxydeerd dan het hemoglobine van de volwassene.

Kalveren blijken in vergelijking tot volwassen koeien extreem gevoelig te zijn voor organische fosforesters zoals parathion. De oraal letale dosis van parathion ligt bij kalveren in de orde van 0,5 mg/kg lichaamsgewicht, terwijl bij het volwassen dier een waarde van ongeveer 50 mg/kg wordt gevonden. De verklaring is dat bij het kalf de voor herkauwers karakteristieke bacteriënstofwisseling in de pens nog niet op gang is gekomen. Deze bacteriën leveren bij het volwassen dier een belangrijke bijdrage tot de biotransformatie van lichaamsvreemde stoffen.

Bij vissen zijn de zeer jonge ontwikkelingsstadia dikwijls erg gevoelig voor giftige stoffen, bijvoorbeeld het dooierzakbroed. Dat zijn de jonge visjes die nog geheel teren op de dooier. Het kan dan voorkomen dat stoffen die in het dooiermateriaal aanwezig zijn, zoals lipofiele milieucontaminanten, in werkzame concentraties in de visjes terecht komen.

Ook bij oude organismen kan de gevoeligheid hoger liggen dan bij de gemiddelde volwassen individuen. De activiteit van biotransformatie-enzymen neemt bij het ouder worden gewoonlijk af, terwijl de weerstand van bepaalde

orgaansystemen tegen de giftige werking van toxische stoffen kan verminderen, bijvoorbeeld omdat het regeneratievermogen van de cellen terugloopt. Men mag bij de beoordeling van de gevoeligheid van het oudere organisme niet uit het oog verliezen, dat het hierbij in letterlijke zin dikwijls gaat om 'diehards', namelijk individuen die de hogere leeftijd bereiken juist omdat hun weerstandsvermogen boven het gemiddelde ligt.

Voedings- en leefgewoonten en gezondheid

Eenzijdigheid in de voeding of voedseltekorten kunnen tot gevolg hebben dat bepaalde essentiële nutriënten in onvoldoende mate worden opgenomen, waardoor bepaalde fysiologische processen niet langer optimaal functioneren.

De al eerder genoemde levercirrose, die kan ontstaan na chronische blootstelling van de mens aan onder andere ethylalcohol en tetrachloorkoolstof, treedt vooral op bij mensen met een relatief eiwitarm dieet. Ook in dierexperimenteel onderzoek is gevonden dat een eiwitrijke voeding de lever een zekere mate van bescherming geeft tegen hepatoxische stoffen. Een goede eiwitvoorziening is onder andere nodig voor het op peil houden van de activiteit van de biotransformatie-enzymen. Overigens brengt ook een tekort aan vitamine-C de werkzaamheid van deze enzymen in gevaar.

Gebrek aan vitamine-E en het spoelement selenium maakt organismen extra kwetsbaar voor radicalen en radicaalvormende stoffen. Vitamine-E neutraliseert vrije radicalen en selenium vormt een essentieel bestanddeel van het enzym glutathionperoxydase dat onder andere peroxyradicalen vernietigt.

Selenium in de vorm van seleniet speelt eveneens een beschermende rol bij het compenseren van de giftige werking van metalen, waaronder cadmium- en kwikverbindingen. In de weefsels van mariene zoogdieren, zoals zeehonden en walvissen, komen opvallend hoge kwikconcentraties voor. Het feit dat deze gehalten sterk gecorreleerd zijn met eveneens hoge seleniumconcentraties doet vermoeden dat hier sprake is van een zodanige interactie tussen selenium en kwik, dat de receptoren waar de toxische werking van dit metaal tot stand komt niet of nauwelijks worden belast. Het is niet uitgesloten dat selenium ook bij de mens bescherming biedt tegen vergiftiging door metalen.

Experimenteel onderzoek heeft aangetoond dat de genoemde 'anti-oxydantia', vitamine-C, vitamine-E en het seleenhoudende glutathionperoxydase, zeer waarschijnlijk ook bescherming bieden tegen bepaalde vormen van kanker. Ook komen in bepaalde voedingsmiddelen (o.a. koolsoorten, ananas, appels) organische stoffen voor (o.a. indolen en steroïden) die bescherming bieden tegen bijvoorbeeld kanker van de dikke darm (colonkanker).

De kennis van de voedingsfactoren die van invloed zijn op de weerstand van organismen tegen vergiftigingen is nog zeer onvolledig. Toch mag reeds worden geconcludeerd dat een tekort aan de genoemde en andere essentiële nutriënten in de voeding de kwetsbaarheid van organismen voor vergiften aanmerkelijk kan vergroten.

Overmatig gebruik van geneesmiddelen is in de huidige maatschappij een toxicologisch vraagstuk van niet geringe importantie. Men kan dit overmatig gebruik aanmerken als een associatief kenmerk van de leefgewoonten en sociale verhoudingen die representatief zijn voor de structuur van de huidige maatschappij. Er zijn aanwijzingen dat geneesmiddelen, ofschoon onmisbaar bij de bestrijding van een aantal ziekten, veelvuldig worden voorgeschreven en gebruikt in situaties waarin de medische indicaties dit niet of nauwelijks rechtvaardigen. Veel vormen van zelfmedicatie met pijnstillers, slaapmiddelen en 'tranquilizers' bieden weliswaar tijdelijk enig soulaas bij de bestrijding van als onaangenaam ervaren symptomen, maar verkleinen gewoonlijk de kans op het vinden van een oorzakelijke oplossing van de gezondheidsproblemen. Deze oplossing moet meestal gezocht worden in een bijstelling van de leef- en voedingsgewoonten, in een herstel van het vertrouwen in de eigen gezondheid of in een verbetering van de sociale omstandigheden.

Ook het gebruik van 'drugs' heeft in onze huidige maatschappij excessieve vormen aangenomen. Hierbij denke men niet slechts aan heroïne, cocaïne en cannabisprodukten, maar eveneens aan alcohol en tabak. Al deze stoffen hebben met elkaar gemeen dat het overmatig gebruik met zijn vele toxicologische consequenties te maken heeft met leefgewoonten die voortkomen uit een bepaalde vorm van onvrede met de levensomstandigheden waarin men verkeert.

Behalve de reeds genoemde erfelijk bepaalde stofwisselingsstoornissen, zoals een tekort aan glucose-6-fosfaat-dehydrogenase, kunnen ook andere aandoeningen aanleiding geven tot een vergrote gevoeligheid van de toxische werking van bepaalde stoffen. Mensen met een sclerotische vernauwing van de kransslagader in het hart zijn gewoonlijk in verhoogde mate gevoelig voor koolmonoxyde. Ontstekingen in organen als lever en nieren verhogen gewoonlijk niet alleen de gevoeligheid voor hepatotoxische en nefrotoxische stoffen, maar kunnen ook gepaard gaan met een grote gevoeligheid voor bijvoorbeeld neurotoxische stoffen.

Het voorkomen van leverkanker, een prominente vorm van kanker in Afrika en Zuidoost-Azië, lijkt in sterke mate geassocieerd te zijn met infecties van hepatitis-B-virus. Er zijn aanwijzingen dat deze vorm van hepatitis de lever ontvankelijk maakt voor carcinogene stoffen zoals het aflatoxine B₁.

6 Toxicologisch onderzoek en normstelling

Eén van de belangrijkste doelstellingen van de toxicologie is informatie te verschaffen waarmee schade aan de gezondheid van mens en milieu door chemicaliën kan worden voorkomen of beperkt. Enerzijds gaat het hierbij om schadepreventie met betrekking tot nieuw te introduceren stoffen zoals geneesmiddelen, bestrijdingsmiddelen, voedseladditieven en industriële produkten, anderzijds betreft dit het terugdringen van gevaren van stoffen die al gebruikt worden, die voorkomen als milieuverontreiniging of van nature aanwezig zijn.

ONDERZOEK

Centraal in het toxicologisch onderzoek staat de vraag naar de giftigheid, dat wil zeggen het vermogen van een stof vergiftigingen te veroorzaken. Het onderdeel van het toxicologisch onderzoek dat zich hierop richt, wordt gewoonlijk aangeduid als het toxiciteitsonderzoek. Daarnaast kan men onderscheiden het epidemiologisch-toxicologisch onderzoek, waarbij men de aanwezigheid en werking van stoffen binnen populaties van mensen en andere organismen bestudeert en het fundamenteel toxicologisch onderzoek, dat zich richt op de opheldering van het werkingsmechanisme en het onderzoek naar het lot van stoffen in het milieu. Een adequaat beeld van de toxicologie van een stof is verkregen wanneer het onderzoek antwoord geeft op de volgende vragen:

- Hoe werkt de stof, welke orgaansystemen worden aangetast (hoofdstuk 3)?
- Wat zijn de kwantitatieve relaties tussen dosis (of concentratie), werking en tijd (hoofdstuk 4)?
- Wat gebeurt er met de stof in het milieu, hoe is het concentratieverloop in ruimte en tijd, aan welke hoeveelheden worden organismen en receptoren blootgesteld (hoofdstuk 2)?

Toxiciteitsonderzoek

Het onderzoek naar de giftigheid van chemicaliën wordt uitgevoerd met behulp van een serie qua opzet min of meer gestandaardiseerde dierproeven en toetsen met celweeksystemen en micro-organismen. Over de keuze van de toetsen bestaat een redelijke mate van internationale consensus. In tabel 5 wordt een overzicht gegeven van de belangrijkste toetsen die in de meeste landen worden voorgeschreven in het kader van het toelatingsbeleid ingevolge de wetgeving op het gebied van voedseladditieven, bestrijdingsmiddelen, geneesmiddelen en enkele andere groepen van stoffen. In de regel geldt, dat het pro-

Tabel 5. Overzicht van de toetsen in het toxiciteitsonderzoek.

Toets	Voornaamste doelstelling en aanduiding van de uitvoering
Acuut, oraal, dermaal, inhalatie, leefmilieu (b.v. bij vissen) e.a.	bepaling giftigheid bij kortdurende (24 uur of minder) blootstelling aan relatief hoge doseringen of concentraties; veelal bepaling LD ₅₀ of LC ₅₀ ; proefdieren: rat, konijn, hond, vogels**, vissen**, bijen** e.a.
Irritatie	onderzoek naar reacties met de huid en eventueel ogen (erytheem, oedeem e.d.); proefdier: konijn.
Sensibilisatie*	bepaling sensibiliserend vermogen op de huid; alleen uitgevoerd indien op grond van structuurverwantschap met bekende allergenen of andere redenen effect wordt verwacht; proefdier: cavia.
Mutageniteit	onderzoek naar mutagene eigenschappen en eventuele carcinogene potentie; proefdieren: bananenvlieg (<i>Drosophila melanogaster</i>), andere modelsystemen: bacteriën (o.a. <i>Salmonella typhimurium</i>), zoogdiercellen.
Subacuut, oraal, dermaal, inhalatie, leefmilieu e.a.	bepaling giftigheid na herhaalde toediening over periodes tot circa één maand; proefdieren: zie acuut.
Semi-chronisch, oraal (soms dermaal, inhalatie), leefmilieu e.a.	zeer belangrijke toets van bepaling semi-lange-termijn werking (1/10 levensduur, meestal continue blootstelling; vaststelling dosis of concentratie waarbij geen werking meer optreedt ('no effect level')); proefdieren: rat, vogels**, aquatische organismen**.
Metabolisme	onderzoek naar het lot en de biotransformatie; proefdieren: rat, konijn e.a.
Chronisch, oraal	bepaling lange-termijnwerking (gewoonlijk 9/10 levensduur, meestal continue blootstelling), met bijzondere aandacht voor neurologische, fysiologische, biochemische en hematologische werkingsystemen, indicatie voor carcinogene werking indien bij de uitvoering speciale voorzieningen worden getroffen voor de tumordetectie; vaststelling dosis waarop geen effect meer optreedt ('no effect level'); proefdier: rat, muis; minimaal 20 proefdieren per sexe voor zowel de controle als iedere doseringsgroep.
Carcinogeniteit*	bepaling carcinogene werking (blootstelling over een gehele levensduur), alleen uitgevoerd als op grond van structuurverwantschap met bekende carcinogenen of andere redenen (b.v. uitslag mutageniteitstoetsen) een carcinogene werking wordt verwacht; proefdieren: rat, muis, hamster; minimaal 50 proefdieren per sexe voor zowel de controle als iedere doseringsgroep.
Reproductie	onderzoek naar: effecten op de fertiliteit, pre-, peri- en postnatale effecten op de vrucht en het pasgeboren jonge dier, perien- en postnatale effecten op het moederdier, toeneming van gevoeligheid in opeenvolgende generaties; veelal continue blootstelling aan 3 generaties; proefdieren: rat, vogels**, vissen** e.a.
Teratogeniteit	speciaal onderzoek naar invloed op ongeboren vrucht; toediening gedurende de gehele dracht of alleen tijdens de periode van de organogenese; proefdieren: konijn, muis, vogels**, vissen**.
Neurotoxiciteit**	bepaling neurologische effecten met bijzondere aandacht voor degeneratieve schade aan neuronale weefsels; gewoonlijk alleen uitgevoerd wanneer structuurverwantschap met bekende neurotoxische stoffen of andere redenen (b.v. uitkomst van semi-chronische en chronisch onderzoek) neurotoxiciteit wordt verwacht; proefdier: kip.

Met het symbool (*) zijn toetsen aangeduid die uitsluitend worden uitgevoerd wanneer op grond van structuurverwantschap met bekende stoffen of andere redenen een werking wordt verwacht die met de betreffende toets kan worden gedetecteerd.

Met het symbool (**) zijn proefdieren aangeduid die worden gebruikt wanneer het onderzoek tevens tot doel heeft informatie te verschaffen over het vermogen van stoffen om schade aan het milieu toe te brengen.

gramma zoals weergegeven in de tabel volledig wordt uitgevoerd wanneer de mens via de voeding of op andere wijze langdurig met de stof in aanraking kan komen. Met betrekking tot de afvalstoffen en milieuverontreinigende stoffen, die ook aanleiding kunnen geven tot langdurige blootstelling van de mens en andere organismen, is het beleid in de meeste landen tot dusver aanzienlijk minder stringent. Het laat zich echter aanzien dat de uitvoering van recent ingevoerde of op handen zijnde wettelijke regelingen (in Nederland o.a. de Wet chemische afvalstoffen en de Wet milieugevaarlijke stoffen) hierin enige verandering zal brengen. Op de details van de uitvoering van het toxiciteitsonderzoek zal in het kader van deze inleiding niet nader worden ingegaan.

Zeer belangrijk is de vraag in hoeverre het programma van toetsen uit tabel 5 aanvaardbaar is als voorspellend model voor de mens. Tegenwoordig kunnen vrijwel alle thans bekende werkingstypen van toxische stoffen, zoals die bij de mens kunnen voorkomen, aan de hand van het toxiciteitsonderzoek worden vastgesteld. Wanneer men de rat, een dominerend proefdier in het toxiciteitsonderzoek waarvan uitvoerig studie is gemaakt, in beschouwing neemt, mag men concluderen dat er in fysiologisch en anatomisch opzicht zeer veel punten van overeenkomst bestaan met de mens. De functie en bouw van de meeste organen zijn vrijwel identiek, terwijl ook de meeste biochemische en biofysische processen die aan de fysiologische functies ten grondslag liggen gelijk zijn.

Er zijn echter kwalitatieve en kwantitatieve verschillen. Zo vertonen de structuur en functie van de placenta van de rat grote verschillen met die van de mens. De rat heeft geen galblaas, de mens wel. Voor de mens vormt vitamine-C een essentiële nutriënt die via de voeding moet worden opgenomen, de rat maakt dit vitamine zelf. Kwantitatieve verschillen zijn de hogere groeisnelheid van de rat en de soms hogere en soms lagere activiteit van bepaalde biotransformatie-enzymen. Ook is de rat gewoonlijk minder gevoelig voor bepaalde neurotoxische, sensibiliserende en teratogene stoffen dan de mens. De verschillen tussen de rat en de mens worden ten dele ondervangen door ook soorten proefdieren in het onderzoek op te nemen die qua gevoeligheid voor bepaalde toxische effecten wel overeenkomst vertonen met de mens. Dit verklaart de keuze van kip, cavia en konijn voor het aantonen van respectievelijk neurotoxische, sensibiliserende en teratogene eigenschappen van stoffen. Men moet bij de beoordeling van de voorspellende waarde van het toxiciteitsonderzoek dus niet alleen de rat in beschouwing nemen, maar het totale pakket van toetsen.

De uitvoering van het onderzoek, zoals samengevat in tabel 5, wordt steeds aangepast aan nieuw verworven inzichten en technische mogelijkheden om de schadelijke werking van stoffen te identificeren. Bovendien worden toetsen of onderdelen daarvan soms in hun geheel uit het programma gelicht en vervangen door betere testsystemen. Er is thans een tendens de LD₅₀-bepaling te verlaten, gezien de beperkte waarde die deze parameter heeft voor stoffen

met een lichte tot matige giftigheid. Een indicatie over de acute toxiciteit aan de hand van een beperkte dierproef met een zeer gering aantal proefdieren is dan voldoende. Dit heeft ook als bijkomend voordeel dat aan minder dieren leed wordt bezorgd.

Ook voor de overige toetsen wordt door toxicologen gezocht naar alternatieve onderzoeksmodellen om in de toekomst het gebruik van proefdieren zo veel mogelijk te beperken. Een aantal ontwikkelingen in het gebruik van orgaan- en celcultures zijn in dit verband veelbelovend. Van de volledige vervanging van het proefdiergebruik zal echter geen sprake kunnen zijn, daar bepaalde werkingstypen en de relaties tussen dosis, tijd en werking uitsluitend bij intacte dieren bestudeerd kunnen worden.

Epidemiologisch-toxicologisch onderzoek

In het algemeen wordt met het woord epidemiologie het vakgebied aangeduid, dat zich richt op de bestudering van de incidentie, distributie en mogelijkheden tot beteugeling van ziekten in populaties van de mens en andere organismen. Dit soort onderzoek is voor de toxicologie van groot belang (1) wanneer bepaalde stoffen reeds in het milieu voorkomen en de verdenking bestaat dat ze een schadelijke invloed op een populatie uitoefenen (2) bij nieuw geïntroduceerde stoffen waarvan men de eigenschappen onder praktijkomstandigheden nader wil onderzoeken.

In principe worden populaties van organismen onderzocht op het voorkomen van gezondheidseffecten waarvan vermoed wordt dat deze het gevolg zijn van blootstelling aan een bepaalde stof of een mengsel van stoffen. De gezondheidkundige gegevens kunnen worden vergeleken met gegevens over de concentraties of doseringen waaraan de individuele leden van de populaties uitwendig en inwendig zijn blootgesteld.

In het algemeen worden bij het epidemiologisch-toxicologisch onderzoek waarnemingstechnieken toegepast die worden aangeduid met de termen 'gezondheids-screening' (de registratie van gezondheidseffecten bij mensen en dieren), 'biologische monitoring' (het meten van de inwendige blootstelling van organismen aan bepaalde stoffen) en 'omgevings-monitoring' (het meten van de uitwendige blootstelling via analyses van water, bodem, lucht en voedsel).

Wanneer de resultaten van de 'gezondheids-screening' tonen dat bepaalde gezondheidseffecten overeenkomen met het klinisch beeld van de vergiftiging die de stoffen kunnen veroorzaken (b.v. door deze te vergelijken met de bevindingen van het toxiciteitsonderzoek) en bij de bewuste individuen bovendien sprake is van een inwendige blootstelling waarbij een dergelijke vergiftiging zou kunnen optreden, kan worden geconcludeerd dat de gezondheidseffecten zeer waarschijnlijk oorzakelijk gerelateerd zijn aan de blootstelling. De resultaten van de 'omgevings-monitoring' verschaffen daarnaast inzicht in de relatie tussen de inwendige en uitwendige blootstelling. Voor-

zichtigheid is geboden bij de interpretatie van dergelijk onderzoek, daar het vinden van correlaties tussen gezondheidseffecten en bepaalde blootstellingsniveau's niet zonder meer bewijst dat sprake is van een oorzakelijk verband. De situatie kan verder gecompliceerd zijn doordat bepaalde gezondheidseffecten zoals kanker, pas optreden lang nadat de hiervoor verantwoordelijke blootstelling heeft plaatsgevonden. Via retrospectief onderzoek moet dan worden getracht een kwalitatief en kwantitatief beeld te verkrijgen over de blootstelling in het verleden.

Vooraf in de medische epidemiologie zijn methodes uitgewerkt voor de opzet van het onderzoek en de uitwerking van de resultaten. Deze methodes beogen de gemeten variabelen op zodanige wijze met elkaar in verband te brengen dat andere factoren die van invloed kunnen zijn op de gezondheidstoestand, zoveel mogelijk worden uitgesloten.

Fundamenteel toxicologisch onderzoek

Bij onderzoek gericht op de werkingsmechanismen volgt men de principes die in het algemeen gelden bij de uitvoering van natuurwetenschappelijk onderzoek. Aan de hand van alle beschikbare informatie over de stof wordt een werkhypothese opgesteld die men toetst met behulp van hiertoe geëigende onderzoeksmodellen. Daarna zijn er twee mogelijkheden. De resultaten steunen de hypothese, waardoor het onderzoek in dezelfde lijn kan worden voortgezet en men het doel dichterbij nadert of de resultaten zijn geheel of ten dele strijdig met de gestelde hypothese, waardoor deze moet worden bijgesteld of vervangen door een nieuw concept. Gezien de pluriformiteit van de werkmogelijkheden van toxische stoffen kan men in het onderzoek te maken krijgen met alle denkbare onderzoekstechnieken die in het medisch-biologisch en chemisch georiënteerde natuurwetenschappelijke onderzoek toepassing vinden. Men kan te maken krijgen met farmacologische en fysiologische technieken als het onderzoek vergt dat orgaan- en integrale functies van organismen moeten worden bestudeerd. Ook de morfologische pathologie kan van groot belang zijn. Verder zijn er raakpunten mogelijk met de endocrinologie, immunologie, ecologie, de analytische en organische chemie, terwijl bij de studie op het subcellulaire en moleculaire niveau biochemische en biofysische methodieken nodig zijn. De toxicologie onderhoudt dus nauwe banden met vele andere wetenschapsgebieden (zie ook hoofdstuk 1).

Onderzoek naar het lot van stoffen in het milieu

De belangrijkste aspecten die hierbij aan de orde komen, zijn reeds besproken in hoofdstuk 2. Evenals bij het toxiciteitsonderzoek heeft men bij de systematische verkenning van het mogelijke gedrag van stoffen in het milieu een min of meer gestandaardiseerd onderzoeksprotocol ontwikkeld, waarvan de belangrijkste componenten zijn samengevat in tabel 6. De meeste van

Tabel 6. Overzicht van de belangrijkste toetsen die worden toegepast bij de bepaling van het lot van stoffen in het milieu.

Parameter	Type toets en aanduiding van de uitvoering
Fysisch-chemische eigenschappen	- bepaling smeltpunt en/of kookpunt, dampdruk, oplosbaarheid in water en octanol/water-verdelingscoëfficiënt met behulp van gangbare fysisch-chemische methodes.
Mobiliteit in het milieu	- vluchtigheid, met het oog op de herverdeling van stoffen tussen de milieucompartimenten bodem, water en lucht en in het bijzonder de emissie naar lucht; diverse methodes gebaseerd op analytisch-chemische metingen onder laboratorium- en veldomstandigheden; - bepaling van adsorptie-isothermen, b.v. met behulp van de zogenaamde 'slurry'-methode; - doorspoeling door grondkolommen ('leaching'), b.v. ter bepaling van het transport van de bodem naar het oppervlaktewater; soms met behulp van lysimeters.
Afbraak in het milieu	- de afbraak in de bodem door middel van incubatie van de stof in gewoonlijk minimaal twee type grondmonsters bij twee temperaturen op onderlinge afstand van 10 °C in het traject 5-25 °C; vaststelling 'bound residue' (residu dat achterblijft na uitputtende extractie); - afbraak in water, eventueel met inbegrip van de fotochemische afbraak; diverse toetsmethoden beschikbaar, waaronder studies in het veld en semi-veldstudies (model-ecosystemen).
Residuen in planten en dieren	- residu-onderzoek van stoffen en/of omzettingsprodukten; belangrijk i.v.m. bestrijdingsmiddelen en milieucontaminanten; - overdrachtstudies met landbouwhuisdieren ter bepaling van residuen in o.a. vlees, melk, eieren; belangrijk in verband met veevoedercontaminanten en veterinaire geneesmiddelen.
Bio-accumulatie	- onderzoek naar ophoping van stoffen in bepaalde organismen in het bijzonder vissen; gehaltemetingen na statische of doorstroomblootstelling.

deze toetsen zijn in Nederland onder andere voorgeschreven in het kader van het toelatingsbeleid van bestrijdingsmiddelen. Details van de uitvoering van dit onderzoek worden hier verder buiten beschouwing gelaten.

NORMSTELLING

Onze maatschappij hanteert normen in de zin van rechtsregels van wet die beogen ongunstige invloeden van chemische stoffen te voorkomen of binnen aanvaardbare grenzen te houden. In het algemeen worden normen opgesteld in twee fases. Ten eerste worden wetenschappelijk gefundeerde grenswaarden vastgesteld die de grens aangeven van gehalten of concentraties beneden welke de kans op bepaalde ongewenste effecten minimaal geacht kan worden. Daarna volgt een beleidsbeslissing van de overheid die de norm oplevert. Hierbij worden ook overwegingen van onder andere sociaaleconomische aard betrokken.

Bij het vaststellen van grenswaarden richt men zich vooral op de relaties tussen dosis (of concentratie) en effect alsmede de zogenaamde 'no effect levels' (juist niet werkzame doseringen of concentraties die op grond van

het toxiciteits- of epidemiologisch toxicologisch onderzoek kunnen worden bepaald). Daarnaast wordt gelet op het lot van de stof in het milieu, de aard van het gebruik of voorkomen van de stof en de risicogroepen waarvoor het gebruik of voorkomen van betekenis is (mens, landbouwhuisdieren, vissen etc.).

In ons land zijn thans met betrekking tot chemische stoffen normen bekend voor voedingsmiddelen (o.a. tolerantiewaarden voor pesticiden en additieven), de lucht in het werkmilieu (zogenaamde MAC-waarde = maximaal aanvaarde concentraties), de buitenlucht (enkele geadviseerde grenswaarden) en het oppervlaktewater (emissionormen en kwaliteitsnormen). Voor de bodem is de normering nog maar nauwelijks op gang gekomen. Er is alleen een voorlopige lijst met richtcijfers die gebruikt kan worden bij een eerste beoordeling van een verontreiniging van grond of grondwater.

De normering van de voeding is verreweg het best geregeld en heeft een gedegen wettelijke basis. De principiële aanpak die daarvoor geldt is als volgt. Voor nieuw toe te laten stoffen of bij verlenging van een toelating wordt de 'no effect level' in beschouwing genomen die voortkomt uit het toxiciteitsonderzoek. Deze wordt 'vertaald' naar de zogenaamde ADI ('Acceptable Daily Intake', ingeburgerd jargon voor aanvaardbare dagelijkse opname) met inachtneming van een veiligheidsfactor, gewoonlijk de factor honderd. Deze factor wordt toegepast ten eerste om een eventuele grotere gevoeligheid bij de mens ten opzichte van het proefdier te compenseren en ten tweede om extra bescherming te bieden aan bepaalde groepen van de bevolking die op grond van de in hoofdstuk 5 besproken factoren gevoeliger zouden kunnen zijn dan het populatiegemiddelde. De ADI-waarde wordt daarna omgerekend naar het voedingsmiddel, waarbij gebruik wordt gemaakt van gemiddelde consumptiecijfers. De berekening mondt uit in een zogenaamde maximaal toelaatbare waarde (in het Engelse jargon 'permissible level'). Dit is niet automatisch de waarde die ingevolge de wetgeving wordt vastgelegd! Het beleid streeft naar een minimumwaarde en stelt een norm vast waarbij een verantwoord landbouwkundig of technologisch gebruik van de stof nog juist mogelijk is. Dit wordt dan de maximaal toegestane concentratie in het produkt.

Voor de MAC-waarde geldt eveneens dat primair een wetenschappelijk advies wordt opgesteld op grond van de onderzoeksresultaten, waarbij veel waarde wordt toegekend aan de epidemiologische gegevens met betrekking tot de mens. Voor een groot aantal stoffen zijn gegevens bij de mens bekend, aangezien veel industriële stoffen al in gebruik waren voordat sprake was van een adequaat beleid dat op de bescherming van de gezondheid van de werknemers was gericht. Een dergelijk beleid begint inmiddels gestalte te krijgen. De veiligheidsmarges die worden toegepast bij de extrapolatie van de 'no effect level' naar de advieswaarde zijn gewoonlijk aanzienlijk kleiner dan die welke worden toegepast bij de vaststelling van ADI's van voedingsmiddelen. De redenen hiervoor zijn ten eerste, dat veelal gegevens beschikbaar zijn over de gevoeligheid van de mens en ten tweede dat men te maken heeft met een ri-

sicogroep die overwegend bestaat uit gezonde mensen van een leeftijdscategorie die extra kwetsbare leeftijdsgroepen uitsluit.

Het normenbeleid voor het milieu bevindt zich nog in een beginfase. Het is in sterke mate saneringsgericht, omdat de verontreiniging tot stand kon komen voordat beleid van enige betekenis in deze werd gevoerd. Men hanteert in dit verband onder andere de term kwaliteitsdoelstelling, zijnde het geheel van eisen waaraan een bepaald oppervlaktewater of de lucht nu of in de toekomst zou moeten voldoen. Ook hier gaat men bij het vaststellen van de grens- of streefwaarden uit van een toxicologische beoordeling van de relatie tussen dosis (of concentratie) en effect. Echte kwaliteitsnormen kunnen pas worden vastgesteld wanneer goede afspraken kunnen worden gemaakt over de basiskwaliteit van het milieu. Een goede wettelijke basis voor het dwingend voorschrijven van kwaliteitsnormen ontbreekt tot dusver. Wel wordt mede onder druk van de inmiddels door de Europese Gemeenschap opgestelde richtlijnen (die bindend zijn voor de lidstaten als de Raad van de EG deze aanvaardt) gewerkt aan een hiervoor noodzakelijke aanpassing van de huidige milieuwetten.

Normen hebben niet steeds het karakter van een getalsnorm. Er wordt ook gebruik gemaakt van kwalitatieve regels met een bepaalde mate van bindendheid. Zo worden hulpstoffen met een initiërende carcinogene werking uit het voedsel geweerd, omdat het in het algemeen niet mogelijk is een voor de mens onschadelijke dosis van dit soort stoffen aan te geven. Een ander voorbeeld van een kwalitatieve 'norm' vormt de toepassing van zwarte lijsten bij de kwalificering van stoffen (o.a. door de EG en Oslo Conventie). Tot deze stoffen behoren een aantal categorieën van relatief giftige en persistente stoffen, zoals bepaalde polyhalogeenaromaten en cadmium- en kwikverbindingen. Plaatsing op de zwarte lijst houdt als beleidsprincipe in dat de lozing van dit soort stoffen zo ver mogelijk moet worden teruggedrongen. Ze mogen bijvoorbeeld niet in zee worden gedumpt.

Geen enkele norm mag beschouwd worden als een garantie voor absolute veiligheid. Immers de toxicoloog kan geen volledig bewijs van onschadelijkheid leveren, zolang de complete blauwdruk van de levensprocessen ontbreekt. Er kan slechts een redelijke schatting worden gemaakt van veilige doseringen en concentraties. De Nota Milieuhygiënische Normen van de Gezondheidsraad (1976) stelt terecht dat absolute veiligheid niet bestaat en dat de overblijvende risico's of risico's van alternatief toe te passen procedures en technieken bij de beleidsmatige vaststelling van normen dienen te worden betrokken. Het toegelaten pesticidenresidu in een voedingsmiddel is dus alleen dan maatschappelijk aanvaardbaar, wanneer het niet toelaten van het pesticide of de toelating van een alternatieve stof een groter risico zou representeren voor de gezondheid van de samenleving.

- Akkermans, L.M.A., 1974. Mode of action of dieldrin. Utrecht.
- Baars, A.J., 1979. Xenobiotics metabolizing enzymes in the fruit fly, *Drosophila melanogaster* and the albino rat, with emphasis on glutathion-S-transferase. Leiden.
- Bercken, J. van den, 1972. An electro-physiological investigation into the action of DDT, dieldrin and allethrin in the clawed toad, *Xenopus laevis*. Utrecht.
- Berg, A.P. van den, 1977. Cytochrome P-450-substrate interaction and hepatic drug metabolism in the mouse. Rotterdam.
- Blaauboer, B., 1978. Formation and reduction of ferrihemoglobin in red cells. Utrecht.
- Bladeren, P.J. van, 1981. The dual role of glutathione conjugation in the biotransformation of xenobiotics. Leiden.
- Broek, J.M. van den, 1981. Species differences in the induction of drug metabolism by rifampicin. Leiden.
- Bruin, J. de, 1959. Enige beschouwingen over het voorkomen en de therapie van industriële loodvergiftiging. Amsterdam.
- Debets, F.M.H., 1981. Contribution to the elucidation of the mechanism of hepatic porphyria induced by hexachlorobenzene and related polyhalogenated hydrocarbons. Wageningen.
- Delbressine, L., 1981. Metabolic detoxification of olefinic compounds. Nijmegen.
- Dewaide, J.H., 1971. Metabolism of xenobiotics. Nijmegen.
- Dortland, R.J., 1980. Toxicological evaluation of parathion and azinphosmethyl in fresh water model ecosystems. Wageningen.
- Douze, J.M.C., 1976. De "Paraquat" long. Utrecht.
- Engelse, L. den, 1976. The formation of tumours in mice treated with dimethylnitrosamine. Amsterdam.
- Ensberg, L.F.G., 1973. Gezondheid bij blootstelling aan bestrijdingsmiddelen in het beroep. Amsterdam.
- Feron, V.J., 1976. Experimenteel longkankeronderzoek bij syrische goudhamsters. Leiden.
- Groot, G. de, 1982. Haemoperfusion in clinical toxicology, a pharmacokinetic evaluation. Utrecht.
- Heer, H. de, 1979. Measurements and computations on the behaviour of the insecticides azinphos-methyl and dimethoate in ditches. Wageningen.
- Henderson, P.Th., 1971. Metabolism in isolated hepatocytes and proliferating liver tissue. Nijmegen.
- Jager, K.W., 1970. Aldrin, dieldrin, endrin and telodrin, an epidemiological and toxicological study of long-term occupational exposure. Amsterdam.
- Julsingha, E.B. van, 1976. Two new procedures for use in teratology studies designed to evaluate the safety of agents. Utrecht.
- Kamerbeek, H.H., 1971. Therapeutic problems in thallium poisoning. Utrecht.
- Koeman, J.H., 1971. Het voorkomen en de toxicologische betekenis van enkele chloorkoolwaterstoffen aan de Nederlandse kust in de periodes van 1965 tot 1970. Utrecht.
- Könemann, H., 1979. Quantitative structure-activity relationships for kinetics and toxicity of aquatic pollutants and their mixtures in fish. Utrecht.
- Kool, H.J., 1983. Organic mutagens and drinking water in the Netherlands. Wageningen.
- Kramers, R.G.N., 1983. Chemical mutagenesis studies in *Drosophila*, with emphasis on the genetic effects of hycanthone. Leiden.
- Kuiper, J., 1982. The use of enclosed plankton communities in aquatic toxicology. Wageningen.
- Leeuwangh, P., 1973. Aromatische hydroxylering bij vogels. Utrecht.
- Leferink, J.G., 1979. Terbutaline. Analytical, clinical, pharmacological and toxicological aspects. Utrecht.
- Linnewiel, H.A., 1964. Speciesverschillen in de biotransformatie van chinine. Utrecht.
- Lock, R.A.C., 1979. Effects of mercuric chloride and methylmercuric chloride on mucus production and osmoregulatory of the gills in Rainbow Trout *Salmo gairdneri*, Richardson. Nijmegen.
- Logten, M.J. van, 1972. De dithiocarbamaat-alcohol-reactie bij de rat. Utrecht.
- Malten, K.E., 1956. Beroepsekseem bij het verwerken van kunststoffen. Amsterdam.

- Monster, A.C., 1978. Kinetics of chlorinated hydrocarbon solvents. Amsterdam.
- Musch, A., 1974. Gedragsveranderingen als toksikologies criterium voor de werking van dieldrin bij de rat. Utrecht.
- Nater, J.P., 1961. Chromaatcezeem. Amsterdam.
- Notten, W., 1975. Alteractions in the D-glucuronic acid pathway and drug metabolism by exogenous compounds. Nijmegen.
- Ottevanger, C.F., 1976. An epidemiological and toxicological study of occupational exposure to an organophosphorus pesticide. Amsterdam.
- Peters, P.W.J., 1981. Induced congenital malformations of the central nervous system; a teratological study. Utrecht.
- Plomp, T.A., 1979. The distribution of thiamphenicol in various human tissues and body fluids: some therapeutical and toxicological implications. Utrecht.
- Putte, I. van der, 1981. An assessment of the environmental toxicity of hexavalent chromium in fish. Wageningen.
- Rauws, A.G., 1968. Broomcarbamiden: vergelijkend onderzoek naar biotransformatie en toxiciteit van broomisoval en carbromal bij de rat. Leiden.
- Ree, J.K. van de, 1971. Cardiovasculaire gevolgen van intoxicatie met tricyclische antidepressiva. Utrecht.
- Sangster, P.B., 1976. Vergiftiging door orfenadrine, kliniek, pathofysiologie en behandeling. Utrecht.
- Schaaper, M.R.M., 1982. Induced mutagenesis in *Escherichia coli*; a biochemical approach. Leiden.
- Seinen, W., 1978. Immunotoxicity of alkyltin compounds. Utrecht.
- Sicherer, C.A.F.W., 1965. Kunstmeststoffen en bestrijdingsmiddelen bij de uitvoering van de land- en tuinbouw-ongevallenwet. Utrecht.
- Slooff, W., 1983. Biological effects of chemical pollutants in the aquatic environment and their indicative value. Utrecht.
- Strik, J.J.T.W.A., 1973. Experimentele leverporfyrie bij vogels. Utrecht.
- Tesink, J., 1964. Fluorvergiftiging bij runderen en haar beïnvloeding door het toedienen van aluminiumsulfaat. Utrecht.
- Tennekes, H.A.m 1979. The relationship between microsomal enzyme induction and liver tumour formation. Wageningen.
- Til, H.P., 1970. Toxicologisch onderzoek naar de werking van sulfiet bij ratten, varkens en kwartels. Utrecht.
- Verschuuren, H.G., 1970. Toxicologisch onderzoek van tetrasul en verwante acariciden. Utrecht.
- Verweij, J.H.P., 1970. Molybdeenovermaat bij het rund door luchtverontreiniging. Utrecht.
- Verweij, H., 1982. Photodynamic and ozone induced modification of human erythrocytes. Leiden.
- Vonk, J.W., 1975. Chemical decomposition of bisdithiocarbamate fungicides and their metabolism by plants and microorganisms. Utrecht.
- Vos, J.G., 1972. Toxicology of polychlorinated biphenyls (PCB's) and impurities. Utrecht.
- Vijverberg, H., 1982. Interaction of pyrethroids with the sodium channels in myelinated nerve fibres. Utrecht.
- Walle, H.B. van der, 1982. Sensitizing potential of acrylic monomers in guinea pigs. Nijmegen.
- Willmer, J.W.G.M., 1980. Mutagenicity of gamma irradiated nucleic acid constituents. Nijmegen.
- Wit, J.G., 1962. Over de enzymatische O-methylering. Aspecten van de stofwisseling van exogene 1,2,3,-trifenolen. Leiden.
- Woutersen, R., 1979. Experimentele protoporfyrie bij muizen en Japanse kwartels. Utrecht.
- Zeeland, A.A. van, 1975. Resistance to purine analogues; studies of its suitability in mutation research with mammalian cells in vitro. Leiden.
- Zielhuis, R.L., 1959. De industriële loodintoxicatie in Nederland. Leiden.

BIJLAGE 2. OVERZICHT VAN DEELDISCIPLINES IN DE TOXICOLOGIE EN DE BELANGRIJKSTE INSTELLINGEN IN NEDERLAND WAAR DEZE DISCIPLINES WORDEN TOEGEPAST

Deeldisciplines	Instelling
Klinische toxicologie van de mens	1, 7, 12, 13, 16, 18, 22
Klinische toxicologie van het dier	3, 14, 15, 24, 41
Industriële toxicologie	10, 19, 21, 22, 23, 27, 35, 36, 37
Voedingsmiddelentoxicologie	2, 4, 9, 15, 23, 25, 30, 32, 33, 34, 35, 38, 42
Milieu(eco-)toxicologie	2, 4, 5, 6, 8, 11, 15, 20, 23, 25, 32, 33, 35, 40
Geneesmiddelentoxicologie	1, 2, 12, 13, 15, 16, 18, 21, 26, 31, 32, 39, 41, 42
Mutageniteits- en/of carcinogeniteits onderzoek	2, 4, 9, 10, 11, 17, 21, 23, 25, 26, 28, 29, 33
Fundamenteel toxicologisch onderzoek	De meeste van de genoemde instituten en instellingen m.u.v. de departementen.

Overheidsinstituten

1. Nationaal Vergiftigingen Informatiecentrum, Rijksinstituut voor de Volksgezondheid, Bilthoven.
2. Sector Toxicologie en Levensmiddelen, Rijksinstituut voor de Volksgezondheid, Bilthoven.
3. Centraal Diergeneeskundig Instituut, Lelystad.
4. Rijksinstituut voor Drinkwateronderzoek, Leidschendam.
5. Rijksinstituut voor de Zuivering van Afvalwater, Lelystad.
6. Rijksinstituut voor Natuurbeheer, Arnhem, Leersum.
7. Gerechtelijk Laboratorium van het Ministerie van Justitie, Rijswijk.
8. Instituut voor Onderzoek van Bestrijdingsmiddelen, Wageningen.

TNO-instellingen

9. Centraal Instituut voor Voedingsonderzoek TNO, Zeist.
10. Medisch Biologisch Laboratorium TNO, Rijswijk.
11. Centraal Laboratorium TNO, Hoofdafdeling Maatschappelijke Technologie, Delft.

Universitaire instituten

12. Afdeling Reanimatie en Klinische Toxicologie, Academisch Ziekenhuis, R.U., Utrecht.
13. Universitair Toxicologisch Centrum, R.U., Utrecht.
14. Faculteit Diergeneeskunde, R.U., Utrecht.
15. Vakgroep Veterinaire Farmacologie, Farmacie en Toxicologie, R.U., Utrecht.
16. Toxicologisch Laboratorium, R.U., Leiden.
17. Laboratorium voor Stralengenetica en Chemische Mutagenese, R.U., Leiden.
18. Afdeling Toxicologie, Laboratorium voor Farmaceutische en Analytische Chemie, R.U., Groningen.
19. Coronel Laboratorium, Universiteit van Amsterdam.
20. Milieu- en Toxicologisch Chemisch Laboratorium, Universiteit van Amsterdam.
21. Farmacologisch Instituut, K.U., Nijmegen.
22. Sectie Arbeidsdermatologie, Derm. Kliniek, K.U., Nijmegen.
23. Vakgroep Toxicologie, Landbouwhogeschool, Wageningen.

Particuliere instellingen en stichtingen

24. Stichting Gezondheidszorg voor Dieren (Prov. Gezondheidsdiensten voor Dieren).
25. Keuringsinstituut voor Waterleidingartikelen, Nieuwegein.
26. Vereniging het Nederlandse Kanker Instituut, Amsterdam.

27. Stichting Eerste Regionale Bedrijfsveiligheids- en Milieudienst, Tricht.
28. NOTOX Pathobiology Research B.V., Rotterdam.
29. Litton Bionetics, Veenendaal.
30. Instituut voor Landbouwkundig Onderzoek van Biochemische Produkten, Wageningen.

Industriële centra

31. Drug Safety R & D Labs., Organon International B.V., Oss.
32. Duphar B.V., Weesp.
33. Group Toxicology Division, Shell Internationale Research Mij N.V., (Research Centrum in Verenigd Koninkrijk).
34. Unilever N.V., Vlaardingen (Research Centrum in Verenigd Koninkrijk).
35. Akzo Corporate Research en de Stafafdeling Safety, Environment, Insurance, Akzo-Arnhem.
36. Bedrijfs- en Milieuhygiënische Diensten.

Ministeriële departementen

37. Medische Dienst, Directoraat-Generaal van de Arbeid, Ministerie van Sociale Zaken en Werkgelegenheid, Den Haag.
38. Hoofdinspectie van de Volksgezondheid belast met het toezicht op Levensmiddelen en de Keuring van Waren, Ministerie van Welzijn, Volksgezondheid en Cultuur, Leidschendam.
39. Hoofdafdeling Geneesmiddelen, Medische Hulpmiddelen en Infectieziekten, Ministerie van Welzijn, Volksgezondheid en Cultuur, Leidschendam.
40. Directoraat-Generaal van de Milieuhygiëne, Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, Leidschendam.
41. Veterinaire Hoofdinspectie, Ministerie van Welzijn, Volksgezondheid en Cultuur, Ministerie van Landbouw en Visserij, Den Haag.
42. Directie Voedings- en Kwaliteitsaangelegenheden, Ministerie van Landbouw en Visserij, Den Haag.

Geraadpleegde en algemene literatuur

- Albert, A., 1973. Selective toxicity. The physico-chemical basis of therapy. Chapman and Hall, London, 5e druk. 662 p.
- Ariëns, E.J. & A.M. Simonis, 1973. Inleiding in de algemene toxicologie. De Nederlandse Bibliotheek der Geneeskunde, deel 84. Stafleu's Wetenschappelijke Uitgeversmaatschappij B.V., Alphen aan de Rijn/Brussel. 236 p.
- Brown, V.K.H., 1980. Acute toxicity in theory and practice. John Wiley, Chichester. 159 p.
- Copius Peereboom, J.W., 1976. Chemie, mens en milieu. Van Gorcum, Assen/Amsterdam. 312 p.
- Doull, J., C.D. Claassen & M.O. Amdur (Eds), 1980. The basic science of poisons. Macmillan Publishing Company, New York, 2e druk. 778 p.
- Druckrey, H., 1967. Quantitative aspects in chemical carcinogenesis. In: R. Truhaut (Ed.): Potential carcinogenic hazards from drugs. Springer Verlag, Berlijn-Heidelberg. p. 60-78.
- Genderen, H. van, 1966. Bestrijdingsmiddelen als factor van de kwaliteit van voedingsmiddelen. Landbouwkundig Tijdschrift 78: 24-32.
- Genderen, H. van, 1975. Inleiding over combinaties van geneesmiddelen en over variaties in werking bij verschillende diersoorten. Tijdschrift voor Diergeneeskunde 100 (1) 25-36.
- Heijst, A.N.P. van & S.A. Pikaar, 1978. Vademecum vergiftigingen. Elsevier, Amsterdam/Brussel. 199 p.
- Kemp, A., J.H. Geurink, R.T. Haalstra & A. Malestein, 1977. Nitrate poisoning in cattle. 2. Changes in nitrite in rumen fluid and methemoglobin formation in blood after high nitrate intake. Netherlands Journal of Agricultural Science. 25: 51-62.
- Koeman, J.H. & H. van Genderen, 1972. Tissue levels in animals and effects caused by chlorinated hydrocarbon insecticides, chlorinated biphenyls and mercury in the marine environment along the Netherlands coast. In: Marine pollution and sea life. Fishing News (Books) Ltd., England. p. 428-434.
- Lindner, E., 1974. Toxikologie der Nahrungsmittel. Georg Thieme Verlag, Stuttgart. 49 p.
- Ramade, F., 1979. Ecotoxicologie. Collection d'écologie no 9. Masson, Paris. 228 p.
- Spencer, P.S. & H.H. Schaumburg (Eds), 1980. Experimental and clinical neurotoxicology. Williams and Wilkins, Baltimore/London. 929 p.
- Strong, F.M. (Ed.), 1973. Toxicants occurring naturally in foods. National Academy of Science, Washington/D.C. 624 p.
- Vaino, H., M. Sorsa & K. Hemminki (Eds), 1981. Occupational cancer and carcinogenesis. Hemisphere Publishing Corporation, Washington/New York/London. 422 p.
- Verberk, M.M. & R.L. Zielhuis, 1980. Giftige stoffen uit het beroep. De Nederlandse Bibliotheek der Geneeskunde, deel 130. Stafleu's Wetenschappelijke Uitgeversmaatschappij B.V., Alphen aan de Rijn/Brussel. 263 p.
- Vries, J. de, 1981. Hepatotoxic metabolic activation of paracetamol and its derivatives phenacetin and benorilate: oxygenation or electron transfer. Biochemical Pharmacology. 30: 399-402.