

VU Research Portal

Incorporating toxicokinetics and toxicodynamics in metal bioavailability models using *Enchytraeus crypticus*

He, E.

2015

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

He, E. (2015). *Incorporating toxicokinetics and toxicodynamics in metal bioavailability models using *Enchytraeus crypticus**. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam]. Off Page.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Samenvatting

Verontreiniging van de bodem met metalen kan een bedreiging vormen voor de gezondheid van mens en milieu. De giftigheid van metalen in de bodem wordt echter in belangrijke mate bepaald door hun biologische beschikbaarheid. Het is dus van groot belang om de factoren die de biologische beschikbaarheid van metalen bepalen zowel kwalitatief als kwantitatief vast te stellen. Veel van deze factoren zijn gerelateerd aan de chemische aspecten van metaalspecië, en de interactie van het metaal met andere metalen en ionen in de bodemoplossing. Een andere factor die de toxiciteit van metalen beïnvloedt is tijd: de mate van opname van metalen in organismen en de daaruit voortvloeiende effecten zijn afhankelijk van de duur van de blootstelling, ofwel van de processen van toxicokinetiek respectievelijk toxicodynamiek.

Het voornaamste doel van dit proefschrift is te komen tot een eenduidig raamwerk voor het voorspellen van de giftigheid van metalen, met name nikkel (Ni), voor bodemorganismen, dat rekening houdt met factoren als variatie in de chemie van de bodemoplossing, interacties tussen metalen in mengsels, toxicokinetiek en toxicodynamiek.

Alle in dit proefschrift beschreven experimenten zijn uitgevoerd met de potworm *Enchytraeus crypticus*, en maakten gebruik van waterige oplossingen van de te onderzoeken metalen in een medium van inert kwartszand. Het gebruik van dit medium maakte het mogelijk om de chemie van de oplossing en daarmee ook de specië van de metalen goed te controleren, terwijl het dier zich toch natuurlijk kan gedragen; dit is in een echte bodem niet mogelijk.

In de Hoofdstukken 2 en 3 worden experimenten beschreven waarin is onderzocht in welke mate verschillende kationen (Na^+ , Mg^{2+} , K^+ , Ca^{2+} , en H^+) de biologische beschikbaarheid en de toxiciteit van nikkel voor *E. crypticus* beïnvloeden bij verschillende tijden van blootstelling.

De opname en giftigheid van Ni in *E. crypticus* na verschillende tijden van blootstelling zijn onderzocht in Hoofdstuk 2. De Ni concentratie in de dieren en de giftigheid van het metaal namen toe bij toename van de blootstellingduur, en leken een evenwicht te bereiken bij langere blootstellingstijden. De kinetiek van Ni-opname in de dieren kon goed worden beschreven met een zogenaamd eerste-orde één-compartiment model, gebruikmakend van constante snelheidsparameters voor opname en eliminatie. Wanneer de toxiciteit van nikkel werd uitgedrukt op basis van de vrije Ni^{2+} ion activiteit in de testoplossing, nam de LC50 (concentratie waarbij 50% van de dieren sterft) af met een factor 3 in de periode tussen 4 en 21 dagen van blootstelling. Werd de toxiciteit echter gebaseerd op interne nikkelgehalten in de dieren, dan was de LC50 bijna constant en nauwelijks afhankelijk van de blootstellingduur. Omdat de biologische beschikbaarheid van metalen wordt bepaald door de combinatie van de eigenschappen van het organisme, het milieu en het metaal, zou de concentratie in het testorganisme een betere indicator kunnen zijn voor de giftigheid van het metaal, omdat hiermee impliciet rekening wordt gehouden met de toxicokinetiek. Het onderzoek laat zien dat tijd een belangrijke factor is, waarmee rekening moet worden gehouden bij het voorspellen van de giftigheid van metalen. In het milieu worden organismen veel langer aan metalen blootgesteld dan in standaard laboratoriumtesten, die meestal een relatief korte blootstellingstijd kennen. Het gebruik van chronische toxiciteitgegevens is daarom aan te

bevelen voor de risicobeoordeling en het afleiden van risicogrenzen voor metalen in het milieu.

De invloed van de chemie van de testoplossing (met name concentraties van de kationen Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ and H^+) op de opname en toxiciteit van Ni voor *E. crypticus* is bepaald in Hoofdstuk 3. Dezelfde factoren (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+) hadden invloed op zowel de opname in de dieren als de toxiciteit van Ni; bij hogere concentraties van deze kationen waren zowel de opname als de toxiciteit van Ni lager. Dit geeft aan dat het gelijktijdig aanwezig zijn van deze kationen beschermend werkt door competitie met het metaal voor bindingsplaatsen aan het oppervlak van het organisme, waardoor de opname van metaalionen wordt tegengegaan. De activiteit van het vrij Ni^{2+} ion werd berekend met het speciatiemodel WHAMVI om rekening te houden met de chemie van de testoplossingen (o.a. pH, gehalte aan opgelost organisch koolstof) op de metaalspeciatië. Rekening houdend met de metaalspeciatië werden uitgebreide Langmuir sorptiemodellen en biotische ligandmodellen (BLM) ontwikkeld, die de opname respectievelijk toxiciteit van Ni voor *E. crypticus* goed konden beschrijven. De constanten voor de binding van Mg^{2+} en Na^+ aan liganden, die werden afgeleid uit de opname- en uit de toxiciteitsgegevens waren vrijwel hetzelfde. Voor Ca^{2+} waren de bindingsconstanten verkregen op basis van bioaccumulatie- en toxiciteitsgegevens echter nogal verschillend. Dit kan enerzijds worden verklaard uit het feit dat Ca^{2+} invloed kan hebben op de doorlaatbaarheid van de membraan voor metalen. Anderzijds zou in het organisme sprake kunnen zijn van competitie tussen Ni^{2+} en Ca^{2+} voor binding aan de target sites. Deze resultaten tonen aan dat het biotische ligand model, dat oorspronkelijk is ontwikkeld voor waterorganismen, ook toepasbaar is voor bodemorganismen, waarbij het lichaamsoppervlak een surrogaat is voor de biotische liganden waaraan het metaal kan binden. Toxische effecten zijn het gevolg van een overmatige bezetting van deze liganden met het metaal.

Zoals aangetoond in de Hoofdstukken 2 en 3, zijn de biologische beschikbaarheid en de toxiciteit van metalen afhankelijk van de blootstellingsduur en de eigenschappen van het blootstellingsmedium. De bestaande BLMs zijn meestal ontwikkeld voor evenwichtstoestanden bij één vaste blootstellingstijd, en gaan daarmee voorbij aan de invloed van de tijd op de processen van metaal-opname en -toxiciteit. In Hoofdstuk 4 wordt aangetoond dat een BLM ontwikkeld op basis van acute toxiciteitsgegevens niet kan worden gebruikt om de chronische toxiciteit van metalen te voorspellen. De acute BLM bleek de chronische toxiciteit van nikkel voor *E. crypticus* te onderschatten. In dit hoofdstuk zijn daarom twee algemene biologische beschikbaarheidsmodellen ontwikkeld, die zijn gebaseerd op een statische BLM maar rekening houden met het effect van de blootstellingstijd. Dit is gedaan door op twee manieren een van de parameters in het model tijdsafhankelijk te maken: (b). de fractie van de bindingsplaatsen die bezet is met het metaal en 50% sterfte van de testorganismen veroorzaakt (f_{50}) en (c). de bindingsconstanten van het metaal en de concurrerende kationen (K_{MeBL} respectievelijk K_{CBL}). Met deze generieke modellen kon de toxiciteit van Ni voor *E. crypticus* goed worden beschreven bij verschillende blootstellingstijden en bij verschillen in de chemische samenstelling van de testoplossingen. In eerdere studies is aangenomen dat de bindingsconstanten metaal- en soort-specifiek zijn en alleen kunnen worden afgeleid bij evenwicht. Als een dergelijk chemisch en biologisch evenwicht niet is bereikt, wat zeker het geval kan zijn bij een korte blootstellingsduur,

kunnen de afgeleide bindingsconstanten niet gebruikt worden voor het voorspellen van chronische toxiciteit. Het is belangrijk dat hiermee in de toekomst rekening wordt gehouden bij het ontwikkelen van BLMs voor chronische toxiciteit.

Metalen zijn in het milieu meestal aanwezig in mengsels, bijvoorbeeld in mijnafval en in industrieel of huishoudelijk afvalwater. De risicobeoordeling voor metalen moet daarom ook rekening houden met mengseltoxiciteit. Om die reden is in de Hoofdstukken 5 en 6 de toxiciteit van mengsels van nikkel en kobalt voor *E. crypticus* onderzocht bij verschillende blootstellingstijden. Ook hierbij is gebruik gemaakt van blootstelling in het eerder beschreven medium van een waterige oplossing in inert kwartszand, onder toepassing van een combinatie van toxicokinetische en toxicodynamische benaderingen.

In Hoofdstuk 5 is het Concentratie Additie (CA) model gebruikt om de toxiciteit van de metaalmengsels te voorspellen. Afwijkingen van concentratie additie gaven aan dat er sprake was van een interactie tussen Ni en Co. Om het achterliggende mechanisme te begrijpen, zijn de interacties tussen beide metalen bepaald op verschillende niveaus. Daartoe zijn de interacties bij verschillende blootstellingstijden geanalyseerd met het zogenaamde MIXTOX model, en werd de toxiciteit gerelateerd aan de vrije ion-activiteiten in de testoplossingen en aan de concentraties van de metalen in de testorganismen. Wanneer de toxiciteit werd gebaseerd op vrije ion-activiteiten was de interactie voornamelijk antagonistisch en variërend in de tijd. Maar wanneer de toxiciteit werd uitgedrukt op basis van interne metaalconcentraties in de dieren werd geen afwijking van concentratie additie gevonden. Dit suggereert dat de interactie tussen Ni en Co voornamelijk plaatsvindt bij opname in de dieren, waarschijnlijk door concurrentie om dezelfde bindings- of opnameplaatsen. Deze hypothese wordt ondersteund door het feit dat de nikkelgehalten in de dieren lager waren bij aanwezigheid van kobalt in het medium. Deze resultaten suggereren ook dat het gebruik van lichaamsconcentraties voor het voorspellen van de toxiciteit van metaalmengsels de invloed van de factor tijd op de interactie van de metalen in het mengsel kan reduceren, omdat hiermee impliciet rekening wordt gehouden met de toxicokinetiek. De variatie in de toxicodynamiek moet worden meegenomen in toekomstige studies die gericht zijn op het vaststellen van milieukwaliteitscriteria.

In Hoofdstuk 6 is het recent ontwikkelde WHAM-F_{TOX} model, dat aanneemt dat humuszuur model kan staan voor niet-specifieke biotisch liganden, toegepast om na te gaan of het geschikt is voor het beschrijven van de dynamische opname en toxiciteit van metaalmengsels. Deze aanname werd bevestigd door het feit dat de opname van Ni en Co in *E. crypticus* lineair gerelateerd aan de mate van binding aan humuszuur, berekend met het WHAMVI speciatiemodel en rekening houdend met de chemische samenstelling van de testoplossing. De toxiciteit van zowel de metalen apart als van de mengsels bij verschillende blootstellingstijden kon goed beschreven worden met het WHAM-F_{TOX} model. Metaal-specifieke verschillen in de opnamekinetiek (langzaam/ snel) van de metalen leiden tot een grotere of kleinere tijdafhankelijkheid van de toxiciteit. Dit kan verklaren waarom de geschatte toxiciteitscoëfficiënt voor Ni tijdsafhankelijk was, terwijl die voor Co niet afhankelijk was van de tijd. Het WHAM-F_{TOX} model lijkt dus een veelbelovend instrument voor het voorspellen van de toxiciteit van metalen gebaseerd op louter chemische parameters. Desondanks moet er rekening mee worden gehouden dat ook biologische factoren een belangrijke rol spelen bij de regulatie van de opname en de detoxificatie van metalen. Deze

processen kunnen niet worden genegeerd bij het ontwikkelen van een mechanistisch model voor metaal toxiciteit.

Samenvattend laat dit onderzoek zien dat kinetische en dynamische processen betrokken moeten worden bij de analyse van zowel de opname als de toxiciteit van metalen. Traditionele toxiciteitstesten met een vaste tijdsduur zijn van beperkte waarde voor de risicobeoordeling van stoffen met een langdurige blootstelling. In dit onderzoek werd de toxiciteit van metalen altijd gerelateerd aan twee blootstellingsniveaus: concentraties in het milieu en in de testorganismen. Zodoende kon worden aangetoond dat de biologische beschikbaarheid en toxiciteit van metalen vooral worden beïnvloed door competitieve interacties tussen ionen bij de opname van metalen in organismen. De ontwikkelde biologische beschikbaarheidsmodellen, die rekening houden met de blootstellingstijd en de –condities, bleken goed in staat de toxiciteit te voorspellen van zowel de metalen apart als in mengsels. De resultaten van dit proefschrift kunnen bijdragen aan verbetering van het begrip van de mechanismen van opname en toxiciteit van metalen en daarmee aan het beter karakteriseren van hun mogelijke risico's in het milieu.