

RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU
BILTHOVEN

Rapport nr. 658603 004

**Toxicokinetiek van benzo(a)pyreen bij de
Riv:TOX rat na herhaalde orale toediening**

M. Olling, K.J. Lusthof, E.D. Kroese, J. Beenen,
M.J. Poelen, R. Klaassen

november 1995

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van de Hoofd Inspectie Gezondheidsbescherming (HIGB), Postbus 5406, 2280 HK te Rijswijk en is beschreven onder projectnummer 658603/BFT-05.

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven
tel. 030-274911, fax 030 - 27442971

VERZENDLIJST

- 1-5 Hoofdinspectie HIGB
- 6 Directeur-Generaal Volksgezondheid
- 7 Depot van Nederlandse Publikaties en Nederlandse Bibliografie
- 8 Directie RIVM
- 9 Dr.ir. H.J.G.M. Derks
- 10 Drs. J.H.C. van Eijkeren
- 11 Dr.ir. G. de Mik
- 12 Prof.dr. G.R. Mohn
- 13 Dr. W. Slob
- 14 Drs. P. de Vrey
- 15 Dr.ir. M.J. Zeilmaker
- 16 Hoofd Bureau Voorlichting en Public Relations
- 17 Bureau Projecten- en Rapporten Registratie
- 18 Unit BFT
- 19-24 Auteurs
- 25-27 Bibliotheek RIVM
- 28-38 Reserve exemplaren t.b.v. Bureau Rapportenbeheer

INHOUDSOPGAVE

	<u>Blz.</u>
Verzendlijst	2
Inhoudsopgave	3
Summary	4
Samenvatting	5
1. INLEIDING	6
2. DOEL VAN HET EXPERIMENT	7
3. MATERIAAL EN METHODEN	7
4. RESULTATEN EN DISCUSSIE	9
5. CONCLUSIES	14
6. LITERATUUR	15
Tabellen	18
Figuren	23

SUMMARY

Benzo(a)pyrene was administered once daily (30 mg/kg) by gavage to 12 male and 12 female Riv:TOX rats, for 15 days on five successive days per week, in the form of a solution in soy oil.

Blood samples were taken over a period of 12 hours on the first day of administration (day 1) and on day 12 from half of the animals, and on day 5 and day 15 from the other half of the animals.

The results show that the mean and maximum plasma concentrations of benzo(a)pyrene decrease after repeated administration and that the t_{\max} increases. These phenomena are probably caused by an induction of liver enzymes and also by a decreasing absorption of benzo(a)pyrene from the gut. The relative contributions of both processes are yet unknown.

After the dosing-free interval of two days the plasma concentrations recover to values that are higher than on the last day of the dosing period, but still lower than after the first dose.

In male rats, the plasma levels of benzo(a)pyrene on day 5 and day 12 (both after a five days' administration) were on average 73% higher than in female rats.

This gender difference was not present after the first dose.

Comparison with the results from the previous study BaP04, where the rats were fasted for 12 h before oral administration, suggests that the absorption of benzo(a)pyrene increases in the presence of food.

SAMENVATTING

Aan 12 mannelijke en 12 vrouwelijke Riv:TOX ratten werd in een periode van 15 dagen op 5 achtereenvolgende dagen per week oraal benzo(a)pyreen (per maagsonde, 30 mg/kg) toegediend, in de vorm van een oplossing in soja-olie.

Bij de ene helft van de dieren werd er bloed afgenomen over een periode van 12 uur op de eerste dag van toediening (dag 1) en op dag 12, bij de andere helft van de dieren op dag 5 en dag 15.

Uit de resultaten blijkt, dat de gemiddelde en maximale plasmaspiegels (C_{max} en AUC) van benzo(a)pyreen afnemen en de t_{max} toeneemt na herhaalde dagelijkse toediening. Deze effecten berusten waarschijnlijk op een inductie van de leverenzymen welke verantwoordelijk zijn voor het metabolisme van benzo(a)pyreen alswel op een afname van de absorptie. Geen uitspraak kan nog worden gedaan over wat de relatieve bijdrage van elk van de processen is.

Na het doseringsvrije interval herstellen de plasmaspiegels van benzo(a)pyreen zich gedeeltelijk, maar zij blijven lager dan op de eerste dag van toediening.

De plasmaspiegels van benzo(a)pyreen waren op dag 5 en dag 12 (beide na vijf dagelijkse toedieningen) gemiddeld 73% hoger bij de mannetjes dan bij de vrouwtjesdieren.

Dit sexeverschil was na de eerste dosering niet aanwezig.

Vergelijking met de resultaten van de eerder uitgevoerde studie BaP04, waarin de ratten gevestigd werden voor toediening, suggereert dat de absorptie van benzo(a)pyreen toeneemt in aanwezigheid van voedsel.

1. INLEIDING

Benzo(a)pyreen (BaP) is de bekendste vertegenwoordiger van de groep van polycyclische aromaten (PAK's). De stof komt voor in o.a. teer en verbrandingsgassen, maar ook in gerookt of geroosterd voedsel en kan als verontreiniging in water aanwezig zijn. Door de IARC¹ wordt benzo(a)pyreen als "probably carcinogenic to humans" (groep 2A) aangemerkt; uit dierproeven is voldoende bewijs voor carcinogeniteit verkregen. Een kwantitatieve correlatie tussen de systematische belasting met benzo(a)pyreen na orale toediening en de carcinogeniteit is echter bij mens noch dier voldoende bekend.

Binnen het RIVM worden de carcinogeniteit van benzo(a)pyreen en de vorming van DNA adducten bij de rat onderzocht na chronische orale toediening (project "carcinogeniteitsstudie met benzo(a)pyreen in de rat bij orale toediening", projectnummer 658603). Van belang zijn vooral de relaties tussen de farmacokinetiek van benzo(a)pyreen, de vorming van DNA adducten en de tumorvorming. Uit de literatuur blijkt, dat ook na orale toediening, BaP verdeeld wordt over diverse weefsels en daar DNA-adducten vormt, wat kan leiden tot tumorvorming (Brauze et al.1991, Weyand and Bevan 1987, Mitchell 1982, Vainio et al.1985). Voor de DNA-adductvorming is metabole activering nodig.

Het onderzoek binnen het RIVM is gericht op een verantwoorde extrapolatie van de carcinogeniteit van oraal toegediend benzo(a)pyreen van hoge naar lage doseringen en van het proefdier naar de mens. Het bestuderen van de toxicokinetiek van benzo(a)pyreen bij de Riv:TOX rat is noodzakelijk om de blootstelling van het proefdier aan BaP te kwantificeren.

De toxicokinetische resultaten zullen gebruikt worden bij het opstellen van een "fysiologisch gebaseerd farmacokinetisch model" (PBPK model) van benzo(a)pyreen, waarmee een betere extrapolatie van de lotgevallen van benzo(a)pyreen mogelijk is dan met de klassieke farmacokinetische modellen.

¹International Agency for Research on Cancer (1983), IARC monographs on the evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol.32, Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1, Lyon.

2. DOEL VAN HET EXPERIMENT

De doelen van het in dit rapport beschreven experiment waren:

1. Het bestuderen van het effect van herhaalde (dagelijkse) dosering op de kinetiek van benzo(a)pyreen na orale toediening.
2. Het onderzoeken van een eventueel sexeverschil in de kinetiek van benzo(a)pyreen bij de Riv:TOX rat.
3. Het bestuderen van de invloed van voedsel op de opname van benzo(a)pyreen, door vergelijking met de resultaten van experiment 658603/BFT03/04.

3. MATERIAAL EN METHODEN

3.1 Biologisch testsysteem

Er zijn twee groepen van 6 mannelijke en twee groepen van 6 vrouwelijke Wistar ratten (Riv:TOX stam, spf, uit RIVM proefdiervoorraad) gebruikt. Het gewicht van de mannelijke ratten op dag 1 varieerde tussen 266 en 316 g; het gewicht van de vrouwelijke ratten tussen 200 en 264 g. Er is gebruik gemaakt van de Riv:TOX rat, omdat deze ook in de chronische carcinogeniteitsstudie wordt gebruikt.

Na aankomst acclimatiseerden de dieren gedurende vier dagen. De dieren werden per twee gehuisvest in macrolon bakken met een bodembedekking van middelgrof zaagsel, in geklimatiseerde ruimtes met een dag-nachtritme van 12 uur. De dieren kregen voer (SSP-tox voer) en water ad libitum. De dieren werden dagelijks gewogen.

De dieren werden ingedeeld in vier groepen van zes: de mannetjes in groep 1 en 2, de vrouwtjes in groep 3 en 4.

3.2 Test- en referentiestoffen

De testoplossing bevatte 2,407 gram benzo(a)pyreen in 160 ml soja-olie (15 mg/ml).

De soja-olie is dezelfde als die in de chronische carcinogeniteitsstudie is gebruikt (fa. De Oliehoorn te Hoorn). De oplossing werd bij ca 4°C bewaard en zomin mogelijk aan licht blootgesteld.

3.3 Dosering teststof(fen):

Aan de proefdieren werd oraal (per maagsonde) 2 ml testoplossing per kg lichaamsgewicht toegediend (=30 mg/kg) volgens een schema zoals gegeven in tabel 1.

De bloedmonsters werden op verschillende tijdstippen per groep afgenomen (zie tabel 1) door middel van incisie in de staart. De bloedmonsters werden bewaard bij een temperatuur tussen 2° en 6°C en dezelfde dag gecentrifugeerd (15 minuten bij 13000 rpm); de verkregen plasmamonsters werden bij -18°C bewaard.

3.4 Analysemethode:

Het gehalte aan benzo(a)pyreen in plasma werd, na extractie met hexaan, bepaald met een HPLC met een fluorescentiedetector. Als interne standaard werd benzo(ghi)peryleen gebruikt. De methode is gevalideerd en staat beschreven in RIVM-rapport 658603001 (Klaassen et al. 1994).

3.5 Farmacokinetische analyse

De oppervlakken onder de concentratie-tijd curven (AUC_t) zijn berekend met de lineaire trapeziumregel met behulp van het programma "TopFit". De AUC's werden berekend tot en met het tijdstip waarop de concentratie lager was dan de detectielimiet. Concentraties lager dan de detectielimiet werden gelijk aan nul gesteld. C_{max} en t_{max} zijn rechtstreeks uit het concentratie-tijd verloop verkregen.

De biobeschikbaarheid is voor de mannelijke dieren berekend als de ratio van de AUC-waarde na orale toediening en de AUC-waarde na intraveneuze toediening, na correctie voor de dosis. De hierbij gebruikte AUC-waarde na intraveneuze toediening is die welke gevonden werd na toediening van 5 mg benzo(a)pyreen per kg lichaamsgewicht (1,97 mg.h/l ; Lusthof et al. 1993).

4. RESULTATEN EN DISCUSSIE

Er waren geen bijzondere waarnemingen met betrekking tot de gezondheid van de dieren. Het gemiddelde gewicht van de mannetjes nam toe van 278 gram (eerste dag van toediening) tot 302 gram (laatste dag van toediening). Het gemiddelde gewicht van de vrouwtjes nam slechts marginaal toe namelijk van 232 gram tot 236 gram op de laatste dag van toediening.

In tabel 2 zijn de plasmaspiegels van benzo(a)pyreen voor de verschillende dieren op de verschillende dagen gegeven. In de figuren 1 t/m 3 zijn de curven van de gemiddelde concentraties per tijdstip op de verschillende dagen en per sexe weergegeven.

Verschillen tussen de dagen.

Het plasmaconcentratie-tijd verloop na de eerste toediening (tabel 2, figuur 1, gesloten symbolen) laat zien, dat er een concentratiemaximum (C_{max}) wordt bereikt 1 tot 2 uur na toediening. Bij enkele dieren werd er nog een secundair maximum waargenomen, waardoor niet bij alle dieren een eliminatiehalfwaardetijd kon worden berekend. Waar dit wel mogelijk was, werd er een eliminatiehalfwaardetijd van ongeveer 1,3 uur gevonden, zowel bij de mannetjes als de vrouwtjes. Na een reeks van 5 dagelijkse toedieningen (dagen 5 en 12) geeft het plasmaconcentratie-tijdsverloop (figuur 2 en 3) een significant latere t_{max} te zien dan op dag 1 (3,0 uur in plaats van 1,5 uur), en de C_{max} is eveneens aanzienlijk, en statistisch significant lager dan na de eerste toediening (bij mannetjes 73%, en bij vrouwtjes 88% lager; zie tabel 3). Ook de AUC-waarden van benzo(a)pyreen (tabel 3) zijn op de dagen 5 en 12 statistisch significant lager dan op dag 1: bij de mannetjes gemiddeld 68%, en bij de vrouwtjes gemiddeld 83% lager.

Tussen de dagen 5 en 12 werden geen statistisch significante verschillen gevonden in de farmacokinetische grootheden (zie figuur 3).

Het plasmaconcentratie-tijdsverloop na de toediening op dag 15, i.e. de eerste toediening na de tweede doseringsvrije periode (tabel 2, figuur 2: open symbolen), vertoont meer overeenkomst met het verloop op dag 1 dan die van de dagen 5 en 12 (zie figuren 1 en 3); de C_{max} op dag 15 (tabel 3) is bij de mannetjes gemiddeld 33% lager dan op dag 1, en bij de vrouwtjes is dit

gemiddeld 28%; de t_{\max} komt overeen met die van dag 1. De AUC-waarde op dag 15 (tabel 3) is zowel bij de mannetjes als de vrouwtjes ongeveer 44% lager dan op dag 1.

Het verschil tussen de AUC-waarden van dag 1 en dag 15 is voor beide sexen statistisch significant. Met betrekking tot de C_{\max} -waarden kan geen statistisch significant verschil tussen de dagen 1 en 15 worden aangetoond. Dit wordt vooral veroorzaakt door de grote variabiliteit die in de farmacokinetische grootheden op dag 15 wordt waargenomen.

Statistisch significante verschillen tussen de C_{\max} - en AUC-waarden op dag 15 en die op dag 12 konden alleen aangetoond worden bij de vrouwtjes. Bij de mannetjes ratten wordt wel een duidelijk verschil waargenomen tussen de gemiddelde waarden (op dag 15 ca een factor 2 hoger dan op dag 12), maar door de grote variabiliteit op dag 15 kon bij de deze mannetjes ratten geen verschil statistisch worden aangetoond.

Verschillen tussen de sexen

De AUC- en C_{\max} -waarden zijn alleen op dag 12 significant hoger bij mannetjes dan bij vrouwtjes. Op dag 5 zijn de verschillen niet significant, door de grote variantie op die dag. Deze variantie op dag 5 is wel significant groter bij mannetjes dan bij vrouwtjes.

Zowel op dag 1 als op dag 15 zijn de verschillen tussen de mannetjes en vrouwtjes ratten met betrekking tot zowel de C_{\max} - en AUC-waarden niet statistisch significant. Op de dagen 5 en 12 zijn echter zowel de C_{\max} - als de AUC-waarden bij de vrouwtjes ongeveer de helft van die bij de mannetjes (zie figuur 3).

Op dag 5 is er bij de mannetjesdieren één dier met sterk afwijkende resultaten, nl. dier nr. 632, met een AUC van 0,01 mg.h/l en een C_{\max} van 0,6 mg/l. Weglating van de resultaten van dit dier uit de berekening leidt niet tot een andere conclusie betreffende de verschillen tussen dagen en geslachten.

Biobeschikbaarheid.

In de huidige studie is benzo(a)pyreen oraal toegediend (30 mg/kg) aan mannelijke Riv:TOX ratten, die water en voedsel ad libitum tot hun beschikking hadden. In experiment Bap04 is een eenmalige dosis benzo(a)pyreen (25 mg/kg) oraal toegediend, eveneens aan mannelijke Riv:TOX ratten, maar deze hadden vanaf 12 uur voor de toediening gevast.

In tabel 4 zijn de huidige resultaten (na de eerste orale toediening) geplaatst naast de resultaten uit experiment BaP04. Het blijkt, dat de AUC-waarden bij gevaste ratten, na correctie voor de dosis, gemiddeld 41% lager zijn dan in deze studie. De C_{\max} wordt gemiddeld met ca 64% verhoogd door voedsel. De maximale plasmaspiegels worden bij gevaste ratten na 4,5 uur bereikt, en bij gevoede ratten na 1,5 uur. Verder is het plasmaconcentratie-tijdsverloop bij gevoede ratten regelmatiger dan bij gevaste ratten, en treedt er minder vaak een tweede concentratiemaximum op.

Op grond van deze resultaten kan er geconcludeerd worden, dat voedsel zowel de snelheid (C_{\max} en t_{\max}) als mate (AUC) van opname van benzo(a)pyreen doet toenemen.

De afname van de plasmaspiegels (C_{\max} en AUC) van onveranderd benzo(a)pyreen na herhaalde toediening, en het herstel van dit effect na een periode waarin geen benzo(a)pyreen wordt toegediend, kan worden verklaard door de inductie van leverenzymen (vermoedelijk P450-IA1) door benzo(a)pyreen, waardoor diens eigen metabolisme toeneemt (Gelboin 1980, Conney et al. 1994), en de afname van deze inductie na een dosisvrije periode. Echter, uit de toename van het metabolisme kan niet de toename van de t_{\max} worden toegeschreven. Nemen we deze toename van de t_{\max} eveneens mee in de beschouwing dan kan een andere mogelijke verklaring zijn dat de absorptie van benzo(a)pyreen zowel in snelheid als in mate afneemt na herhaalde toediening en zich weer herstelt na een dosisvrije periode. Voor de veranderingen van de kinetiek na herhaalde toediening kunnen beide mechanismen gelijktijdig verantwoordelijk zijn. Welke bijdrage beide processen leveren is niet direct uit de resultaten van dit experiment te berekenen. Hiervoor zullen eventueel, aangestuurd door het te ontwikkelen PB-PK model, nadere experimenten dienen te worden uitgevoerd. Vooral met betrekking tot de verandering van het absorptieproces na herhaalde toediening zijn geen verdere gegevens bekend.

Enzyminductie kan via een verhoogde vorming van DNA-addukten tot een hogere incidentie van tumoren leiden. De achtereenvolgende stappen worden hieronder besproken.

Enzym-inductie -> DNA-addukten

Een verhoging van de enzymactiviteit kan tot een verhoogde vorming van benzo(a)pyreen-DNA-addukten leiden in de lever, of in incubaties met levermicrosomen of hepatocyten (Eberhart et al. 1992, Chou et al. 1993). Verlaging van de enzymactiviteit kan tot een afname van de hoeveelheid adducten leiden (Vance et al. 1990).

Dit geldt echter alleen voor die organen die benzo[a]pyreen metabolizeren en die een grote hoeveelheid benzo[a]pyreen uit het bloed verwijderen (i.e. longen en lever).

In de andere organen neemt bij enzyminductie de concentratie van onveranderd benzo(a)pyreen in het weefsel af, analoog aan de verlaging van de plasmaconcentratie (Schlede et al. 1970). Over de inductie van de enzyminductie in de organen anders dan longen en lever is weinig bekend.

Enzymen betrokken bij het metabolisme van B[a]P

Cytochroom 1A1 is betrokken bij de vorming van benzo[a]pyrene-7,8-diol, en mogelijk ook de vorming van de "ultimate benzo(a)pyrene mutagen", (+)-anti-benzo[a]pyrene-trans-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide, (Bjelogrljic 1994, Shou et al. 1994, Quan et al. 1994). Shou et al. (1994) Degawa et al. (1994) vonden een correlatie tussen de 1A1 activiteit en de hoeveelheid DNA-adducten.

Ook cytochroom P450-IIC11 is betrokken bij de biotransformatie van benzo[a]pyreen, met name op de 7-,8-,9- and 10-posities (Todorovic et al. 1991).

DNA-addukten -> tumorvorming

Zowel de hoeveelheid DNA-adducten als de snelheid van celproliferatie zijn voorgesteld als indicatoren voor de vorming van tumoren door benzo[a]pyreen (Albert et al. 1991).

Een verband tussen de renale uitscheiding van benzo[a]pyreen-7,8-diol en de vorming van tumoren in interne weefsels is gesuggereerd door Tyndyk et al. (1994).

Interspecies vergelijking

Vergelijking van de activiteit van microsomen van de lever en long afkomstig van mensen, ratten en hamsters (Prough et al. 1979) laat zien, dat de activiteit van humane longmicrosomen ongeveer de helft is van die bij knaagdieren, en dat de activiteit van humane levermicrosomen ongeveer 15-20% is van die bij knaagdieren. Het metabolietenpatroon was kwalitatief gelijk, maar kwantitatief verschillend tussen mens en ratten of hamsters.

De activiteit van P450-1A1 bij de muis is vele malen groter dan die bij de mens, konijn, of bij andere knaagdieren (Shou et al. 1994).

Deze resultaten laten zien, dat bij de interspecies vergelijking de metabole constanten moeten worden gebruikt, die bij de afzonderlijke species zijn bepaald, aangezien de metabole activiteiten per mg eiwit sterk kunnen verschillen bij diverse species.

5. CONCLUSIES

Bij herhaalde orale toediening van benzo(a)pyreen gedurende vijf achtereenvolgende dagen per week, nemen de AUC- en C_{\max} -waarden significant af; de AUC-waarden met gemiddeld 68% bij de mannetjes en 83% bij de vrouwtjes, en de C_{\max} -waarden met gemiddeld 73% bij de mannetjes en 88% bij de vrouwtjes.

Na een doseringsvrij interval van twee dagen nemen de AUC- en C_{\max} -waarden weer toe, maar zij blijven lager dan op de eerste dag van toediening (C_{\max} 28 à 33% lager, en AUC ongeveer 44% lager dan op de eerste dag van toediening).

Een verklaring voor deze veranderingen kunnen gevonden worden in een toename van de metaboleprocessen door auto-inductie van de enzymsystemen of door vertraging van de absorptie na herhaalde toediening. De relatieve bijdragen van beide processen dient nader onderzocht te worden.

Er is een sexeverschil in de kinetische parameters van benzo[a]pyreen. Dit verschil werd waargenomen na herhaalde toediening van benzo[a]pyreen, maar niet bij de eerste dosis of na het doseringsvrije interval. De gemiddelde AUC- en C_{\max} -waarden na de tiende orale dosis zijn gemiddeld 73% hoger bij mannetjes dan bij vrouwtjes (statistisch significant).

Vergelijking met de resultaten van de eerder uitgevoerde studie BaP04 laat zien dat de orale biobeschikbaarheid van benzo(a)pyreen toeneemt in aanwezigheid van voedsel (van 6,1% naar 10,4%).

LITERATUUR

Albert RE, Miller ML, et al. (1991) In: Chemically induced cell proliferation: implications for risk assessment, p.115-122.

Wiley-Liss Inc., 1991 Bjelogrić N, Peng RX et al. (1993) Involvement of P4501A1 in benzo[a]pyrene but not in benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol activation by 3-methylcholanthrene-induced mouse liver microsomes. *Pharmacology and Toxicology* 73:319-324

Brauze D, Mikstacka R and Baer-Dubowska W (1991) Formation and persistence of benzo[a]pyrene-DNA adducts in different tissues of C57BL/10 and DBA/2 mice. *Carcinogenesis* 12:1607-1611

Chou MW, Kong J, et al. (1993) Effect of caloric restriction on the metabolic activation of xenobiotics. *Mutation Research* 295:223-235

Conney AH, Chang RL, et al. (1994) Studies on the metabolism of benzo[a]pyrene and dose-dependent differences in the mutagenic profile of its ultimate carcinogenic metabolite. *Drug Metabolism Reviews* 26:125-163

Degawa M, Stern SJ, et al. (1994) Metabolic activation and carcinogen-DNA adduct detection in human larynx. *Cancer Research* 54:4915-4919

Eberhart J, Coffing SL, et al. (1992) The time-dependent increase in the binding of benzo(a)pyrene to DNA through (+)-anti-benzo[a]pyrene-7,8-diol-9,10-epoxide in primary rat hepatocyte cultures results from induction of cytochrome P450IA1 by benzo[a]pyrene treatment.

Gelboin HV. (1980) Benzo[a]pyrene metabolism, activation, and carcinogenesis: role and regulation of mixed-function oxidases and related enzymes. *Physiological reviews* 60:1107-1166

R.Klaassen, K.J.Lusthof, M.Olling (1994). Een bepalingmethode van benzo(a)pyreen in ratteplasma met behulp van hogedrukvlloeistofchromatografie. RIVM rapport 658603001

K.Lusthof, M.Olling, E.D.Kroese, J.Beenen, M.J.Poelen, H.A.M.G.Vaessen,C.G.v.d.Kamp (1993) Farmacokinetiek en biologische beschikbaarheid van benzo(a)pyreen (BaP) in de Riv:TOX rat. RIVM rapport 658603002

Mitchell CE (1982) Distribution and retention of benzo(a)pyrene in rats after inhalation
Toxicol. Lett.11:35-42

Quan TH, Reiners JJ, et al. (1994) Cytotoxicity and genotoxicity of (+/-) benzo[a]pyrene-trans-7,8-dihydrodiol in CYP1A1-expressing human fibroblasts quantitatively correlate with CYP1A1 expression level. Carcinogenesis 15:1827-1832

Schlede E, Kuntzman R, et al. (1970) Effect of enzyme induction on the metabolism and tissue distribution of benzo(a)pyrene. Cancer research 30: 2893-2897

Shou MG, Korzekwa KR, et al. (1994) The role of 12 cDNA-expressed human, rodent, and rabbit cytochromes P450 in the metabolism of benzo[a]pyrene and benzo[a]pyrene trans-7,8-dihydrodiol. Molecular Carcinogenesis 10:159-168

Todorovic R, Devanesan PD, et al. (1991) A monoclonal antibody to rat liver cytochrome P450 IIC11 strongly and regiospecifically inhibits constitutive benzo[a]pyrene metabolism and DNA binding. Molecular Carcinogenesis 4:308-314

Tyndyk ML, Zabezhinski MA, et al. (1994) Individual values of excretion of benzo[a]pyrene metabolites and susceptibility to its carcinogenic effect in rats. Cancer Letters 78:163-170

Vainio H, Hemmink K, and Wilbourn J (1985) Data on the carcinogenicity of chemicals in the IARC monographs programme. Carcinogenesis 6:1653-1665

Vance RE, Teel RW, and Strother A (1990) Inhibition of liver microsome-mediated mutagenesis, metabolism and DNA-binding of benzo[a]pyrene and benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol in the rat following glucose administration. *Cancer Letters* 50:149-156

Weyand EH and Bevan DR (1987) Species differences in disposition of benzo[a]pyrene
Drug Metab. Disp. 15:442-448

Tabel 1 Schema toediening benzo(a)pyreen en bloedafnames

Datum	Dag	Groepen 1 en 3		Groepen 2 en 4	
		Toediening BaP	Bloedmonster-names	Toediening BaP	Bloedmonsterna-mes
9-3-1992	1	30 mg/kg	t=20,40,60, 90 min; 2,3,6,8,12 h	30 mg/kg	-
10-3-1992	2	30 mg/kg	-	30 mg/kg	-
11-3-1992	3	30 mg/kg	-	30 mg/kg	-
12-3-1992	4	30 mg/kg	-	30 mg/kg	-
13-3-1992	5	30 mg/kg	-	30 mg/kg	t=20,40,60,90 min;2,3,6,8,12 h
16-3-1992	8	30 mg/kg	-	30 mg/kg	-
17-3-1992	9	30 mg/kg	-	30 mg/kg	-
18-3-1992	10	30 mg/kg	-	30 mg/kg	-
19-3-1992	11	30 mg/kg	-	30 mg/kg	-
20-3-1992	12	30 mg/kg	t=20,40,60, 90 min; 2,3,6,8,12 h	30 mg/kg	-
23-3-1992	15	30 mg/kg	-	30 mg/kg	t=20,40,60, 90 min;2,3,6,8,12 h

Tabel 2. Individuele en gemiddelde plasmaconcentraties (ng/ml) bij mannelijke (m) en vrouwelijke (v) Riv:TOX ratten na herhaalde orale toediening van 30 mg benzo[a]pyreen per kg lichaamsgewicht, op vijf achtereenvolgende dagen per week, gedurende 15 dagen.

Tijd (h)		Dag 1															
		Rat nr (m)					Rat nr. (v)										
		622	623	624	625	626	627	Gem.	s.d.	634	635	636	637	638	639	Gem.	s.d.
0.3	149.0			89.0	150.0		113.0	125.3	25.7	175.0	107.0	82.0	79.0	38.0	109.0	96.6	45.3
0.7	279.0		266.0	170.0	222.0	159.0	145.0	206.8	52.3	268.0	143.0	139.0	162.0	132.0	231.0	173.2	57.3
1.0	377.0		361.0	258.0	331.0	292.0	263.0	313.7	46.0	366.0	375.0	314.0	276.0	174.0	338.0	268.5	82.8
1.5	567.0		407.0	375.0	495.0	301.0	340.0	414.2	91.1	583.0	375.0	547.0	388.0	237.0	581.0	451.8	128.5
2.0	289.0		270.0	291.0	666.0	197.0	220.0	322.2	157.6	334.0	326.0	528.0	288.0	196.0	422.0	349.0	104.3
3.0	116.0		89.0	117.0	215.0	347.0	83.0	161.2	93.8	93.0		121.0	77.0	39.0	189.0	103.8	50.2
6.0	35.0		52.0	57.0	71.0	57.0	121.0	65.5	27.0	4.8	49.0	83.0	119.0	26.0	44.0	54.3	37.4
8.0	62.0		15.0	8.0	15.0	4.0	5.0	18.2	20.1	2.8	24.0	5.2	2.0	0.0	11.2	7.5	8.2
12.0	2.0		1.0	1.0	1.0		1.0	1.2	0.4	0.7	3.3	3.0	0.7	0.3	1.2	1.5	1.2

Tijd (h)		Dag 5															
		Rat nr (m)					Rat nr. (v)										
		628	629	630	631	632	633	Gem.	s.d.	640	641	642	643	644	645	Gem.	s.d.
0.3	4.5		11.1	21.0	0.0	0.0	43.0	13.3	15.2	3.8	6.8	1.6	7.1	20.0	11.1	8.4	6.0
0.7	16.0		58.0	68.0	0.0	0.0	108.0	41.7	39.8	10.7	17.0	7.8	18.4	28.8	20.4	17.2	6.8
1.0	26.0		29.0	43.0	0.0	0.0	100.0	33.0	33.7	7.0		15.0	25.0	32.0	68.0	29.4	21.1
1.5	21.0		56.0	61.0	0.0	0.0	160.0	49.7	54.9	14.0	27.0	8.0	22.0	25.0	91.0	31.2	27.5
2.0	42.0		81.0	81.0	1.1	0.6	81.0	47.8	35.9	8.0	20.0	19.0	17.0	11.0	69.0	24.0	20.6
3.0	169.0		139.0	6.0	10.0	0.0	278.0	100.3	104.0	4.8	67.0	31.0	20.0	29.0	4.4	30.4	20.5
6.0	18.0		18.0	33.0	32.0	0.5	33.0	22.4	11.8	8.0	39.0	17.0	0.9	1.5	4.4	11.8	13.3
8.0	4.0		1.7	1.3	7.1	0.2	39.0	8.9	13.7	0.9	0.7	1.4	0.3	0.4	0.4	0.7	0.4
12.0	0.2		1.1	0.3	0.5	0.0	0.5	0.4	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.0	0.2	0.2	0.1

Tabel 2 (vervolg)

Dag 12

Tijd (h)	Rat nr. (m)						Rat nr. (v)									
	622	623	624	625	626	627	Gem.	s.d.	634	635	636	637	638	639	Gem.	s.d.
0.3	11.0	9.0	11.0	14.0	17.0	10.0	12.0	2.7	9.0	13.0	30.0	5.7	0.0	8.6	11.1	9.3
0.7	44.0	15.0	35.0	27.0	55.0	27.0	33.8	12.9	42.0	19.0	18.0	17.0	6.4	17.0	19.9	10.7
1.0	65.0	28.0	56.0	48.0	83.0	31.0	51.8	19.1	41.0	43.0	59.0	16.0	3.3	24.0	31.1	18.6
1.5		41.0	93.0	79.0	78.0	48.0	67.8	19.9	64.0	68.0	66.0	34.0	0.0	67.0	49.8	25.2
2.0	57.0	38.0	118.0	123.0	95.0	61.0	82.0	32.0	58.0	56.0	61.0	30.0	0.0	51.0	42.7	21.6
3.0	119.0	74.0	196.0	99.0	152.0	66.0	117.7	45.2	107.0	40.0	75.0	62.0	31.0	46.0	60.2	25.4
6.0	44.0	13.0	6.2	3.9	4.4	7.1	13.1	14.1	8.8	3.0	11.6	30.0	13.0	0.0	11.1	9.6
8.0	2.0	0.0	0.0	0.0	1.1	0.0	0.5	0.8	0.2	0.2	0.3	0.6	4.4	0.3	1.0	1.5
12.0	0.3	0.4	0.4	0.0	0.4	0.3	0.3	0.1	0.3	0.1	0.1	1.7	0.5	0.4	0.5	0.5

Dag 15

Tijd (h)	Rat nr. (m)						Rat nr. (v)									
	628	629	630	631	632	633	Gem.	s.d.	640	641	642	643	644	645	Gem.	s.d.
0.3	51.0	29.0	19.0	17.0	29.0	29.0	29.0	11.0	2.1	54.0	187.0	27.0	26.0	25.0	53.5	61.6
0.7	117.0	90.0	72.0	34.0	41.0	87.0	73.5	28.8	1.4	109.0	190.0	59.0	63.0	92.0	85.7	57.4
1.0	200.0	142.0	117.0	45.0	111.0	182.0	132.8	50.8	8.4	179.0	658.0	173.0	135.0	147.0	216.7	205.3
1.5	393.0	275.0	219.0	33.0	106.0	234.0	210.0	115.8	27.0	189.0	630.0	94.0	120.0	630.0	281.7	250.8
2.0	273.0	218.0	730.0	17.0	13.0	201.0	242.0	239.6	56.0	140.0	387.0	108.0	44.0	199.0	155.7	115.7
3.0	127.0	61.0	42.0	28.0	30.0	83.0	61.8	34.8	35.0	36.0	35.0	192.0	57.0	4.6	59.9	61.0
6.0	50.0	216.0	28.0	40.0	6.2	11.0	68.0	75.4	140.0	5.0	48.0	4.0		21.0	43.6	50.8
8.0	11.3	4.7	1.9	3.2	7.0	11.0	6.5	3.6	2.0	0.8	10.5	2.6	8.4	6.6	5.2	3.6
12.0	0.2	0.6	0.0	2.3	1.1	16.0	3.4	5.7	0.1	0.3	2.3	0.6	0.3	1.3	0.8	0.8

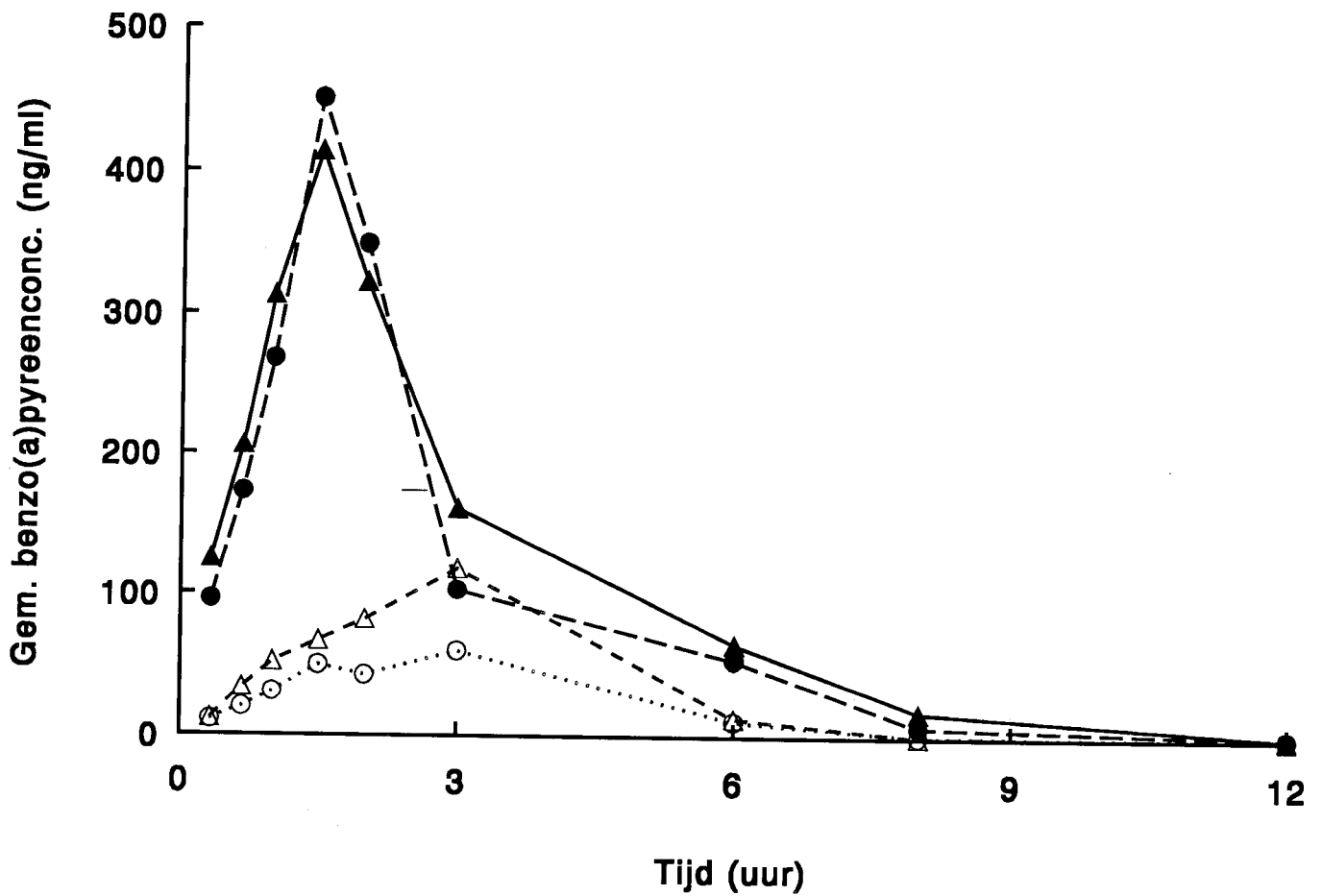
Tabel 3. Individuele en gemiddelde kinetische parameters bij mannelijke en vrouwelijke Riv:TOX ratten na herhaalde orale toediening van 30 mg benzo[a]pyreen per kg lichaamsgewicht, op vijf achtereenvolgende dagen per week, gedurende 15 dagen.

Dier nr	Dag 1			Dag 12		
	Mannetjes					
Dier nr	AUC (mg.h/l)	Cmax (ng/ml)	t(max) (h)	AUC (mg.h/l)	Cmax (ng/ml)	t(max) (h)
622	1.31	567	1.5	0.47	119	3.0
623	1.04	407	1.5	0.25	74	3.0
624	1.00	375	1.5	0.58	196	3.0
625	1.66	666	2.0	0.37	123	2.0
626	1.34	347	3.0	0.49	152	3.0
627	1.02	340	1.5	0.25	66	3.0
Gem.	1.23	450	1.8	0.40	122	2.8
s.d.	0.26	135	0.6	0.14	49	0.4
Dier nr	Vrouwtjes					
Dier nr	AUC (mg.h/l)	Cmax (ng/ml)	t(max) (h)	AUC (mg.h/l)	Cmax (ng/ml)	t(max) (h)
634	1.05	583	1.5	0.35	107	3.0
635	1.26	375	1.5	0.19	68	1.5
636	1.35	547	1.5	0.30	75	3.0
637	1.06	388	1.5	0.26	62	3.0
638	0.54	237	1.5	0.11	31	3.0
639	1.39	581	1.5	0.18	67	1.5
Gem.	1.11	452	1.5	0.23	68	2.5
s.d.	0.31	141	0.0	0.09	24	0.8
Dier nr	Dag 5			Dag 15		
Mannetjes						
Dier nr	AUC (mg.h/l)	Cmax (ng/ml)	t(max) (h)	AUC (mg.h/l)	Cmax (ng/ml)	t(max) (h)
628	0.46	169	3.0	0.95	393	1.5
629	0.45	139	3.0	1.08	275	1.5
630	0.24	81	2.0	0.90	730	2.0
631	0.12	32	6.0	0.24	45	1.0
632	0.00	1	2.0	0.23	111	1.0
633	0.99	278	3.0	0.71	234	1.5
Gem.	0.38	117	3.2	0.68	298	1.4
s.d.	0.35	101	1.5	0.37	245	0.4
Vrouwtjes						
Dier nr	AUC (mg.h/l)	Cmax (ng/ml)	t(max) (h)	AUC (mg.h/l)	Cmax (ng/ml)	t(max) (h)
640	0.05	14	1.5	0.49	140	6.0
641	0.28	67	3.0	0.42	189	1.5
642	0.14	31	3.0	1.23	658	1.0
643	0.09	25	1.0	0.63	192	3.0
644	0.11	32	1.0	0.39	135	1.0
645	0.25	91	1.5	0.65	630	1.5
Gem.	0.15	43	1.8	0.63	324	2.3
s.d.	0.09	29	0.9	0.31	249	1.9

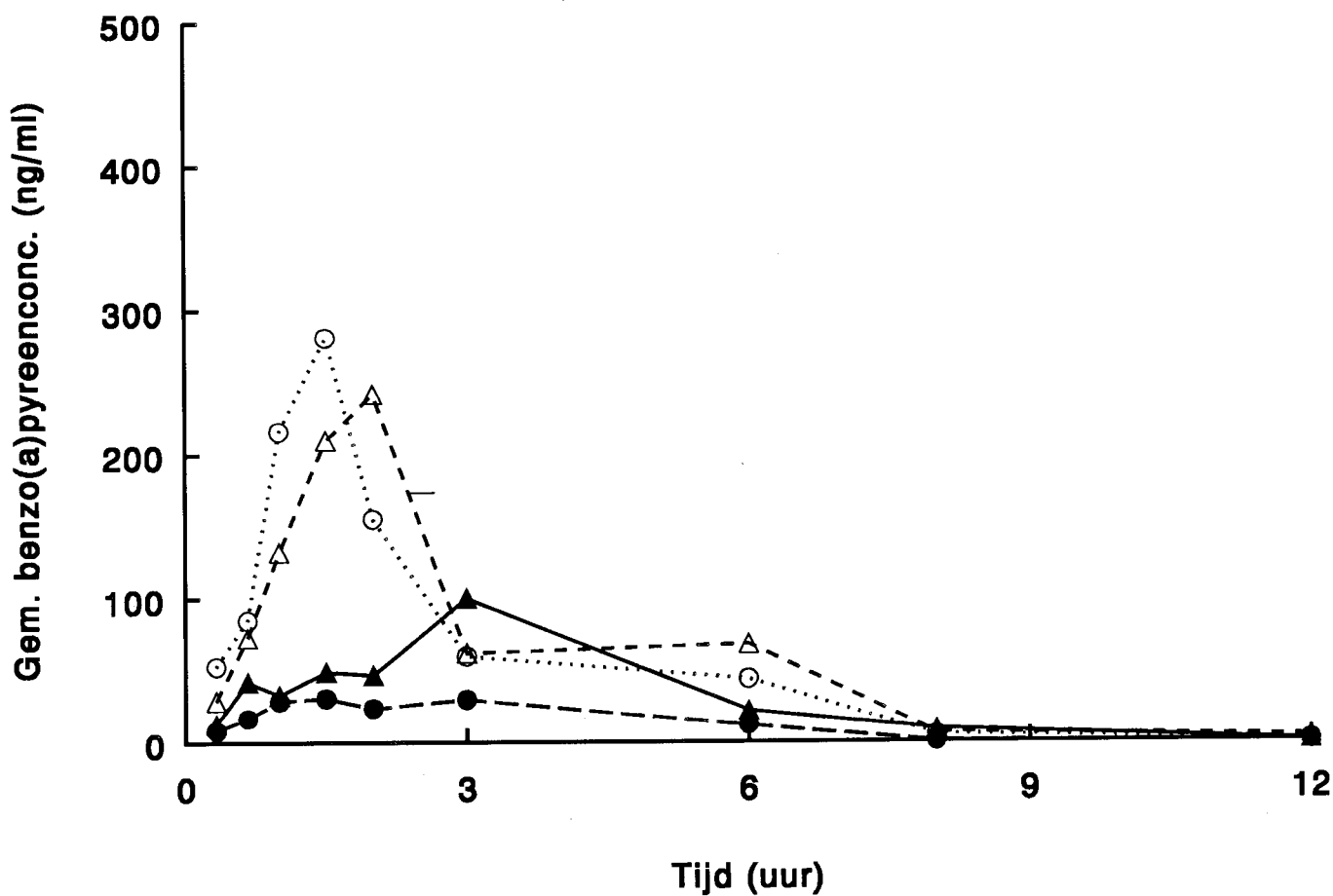
Tabel 4. Vergelijking van de gemiddelde farmacokinetische parameters van benzo(a)pyreen na orale toediening aan gevoede mannelijke Riv:TOX ratten (dit experiment, dag 1) en aan gevaste mannelijke Riv:TOX ratten (experiment BaP04). (resultaten \pm standaarddeviatie; t_{\max} : mediaan [range]).

	gevoede ratten dosis 30 mg/kg	gevaste ratten dosis 25 mg/kg
AUC(mg.h/l) mannetjes	1,23 \pm 0,26	0,60 \pm 0,16
C_{\max} (mg/l) mannetjes	0,45 \pm 0,14	0,14 \pm 0,04
t_{\max} (h) mannetjes	1,5 [1,5-3,0]	4,5 [0,8-6,0]
Orale biobeschikbaarheid (%)	10,4 %	6,1 %

Figuur 1 Gemiddelde plasmaconcentratie-tijdcurves bij mannelijke en vrouwelijke Riv:TOX ratten na herhaalde orale toediening van 30 mg benzo[a]pyreen per kg lichaamsgewicht op dag 1 en dag 12. Dag 1: man (▲) en vrouw (●); dag 12: man. (Δ) en vrouw. (○).



Figuur 2 Gemiddelde plasmaconcentratie-tijdcurves bij mannelijke en vrouwelijke Riv:TOX ratten na herhaalde orale toediening van 30 mg benzo[a]pyreen per kg lichaamsgewicht op dag 5 en dag 15. Dag 5: man (▲) en vrouw. (●); dag 15: man. (Δ) en vrouw. (○).



Figuur 3 Gemiddelde plasmaconcentratie-tijdcurves bij mannelijke en vrouwelijke Riv:TOX ratten na herhaalde orale toediening van 30 mg benzo[a]pyreen per kg lichaamsgewicht op dag 5 en dag 12. Dag 5: man (▲) en vrouw. (●); dag 15: man. (Δ) en vrouw. (○).

