

Toxizität von Gemischen und Kombinationswirkungen von Chemikalien

Advanced Course AK Regulatorische Toxikologie

DGPT FJT Dresden

19. März 2012

Bewertung der Toxizität von Gemischen und potentielle Synergismen

-

Stand und Entwicklungsmöglichkeiten

Michael Werner, Bad Kreuznach

DGPT FJT 2012 Dresden

19. März 2012

Regulatorischer Status bei der Bewertung von Gemischen

➤ **Annex I-Listung (PSM/Biozide):**

Fokus auf Bewertung der Aktivsubstanzen

Bewertung der Toxizität der Produkte beschränkt auf „Six Pack“ und Daten zur dermalen Penetration.

➤ **Mögliche Wechselwirkungen** der Komponenten untereinander war von untergeordneter Bedeutung.

➤ **In Zukunft:**

Fokus auf Toxizität von Gemischen und potentielle Kombinationswirkungen der enthaltenen Komponenten bei nationalen Zulassungsverfahren von PSM oder Biozidprodukten.

➤ **Forderungen der Behörden bei der Bewertung:**

Vorlage von Daten/Informationen zu den möglichen Wechselwirkungen der individuellen Komponenten einer Formulierung

→ „**additive Wirkungen/Synergismen**“?

Ansätze bei der Bewertung der Toxizität von Gemischen

➤ Option „A“:

Vorlage von Studien zur akut oralen/dermalen/inhalativen Toxizität einschließlich der primären Reizwirkungen und Hautsensibilisierung
→ Abdeckung des Aspektes „Akute Toxizität“ → „higher tier endpoints“ (z.B. CMR-Eigenschaften)?

➤ Option „B“:

Ableitung der möglichen Gesundheitsgefahren der Formulierung bzw. des Produktes aus vorhandenen Informationen/Daten zur Toxizität der Einzelsubstanzen (Wirksubstanz und Formulanti(en)/Co-Formulanti(en)).

Derzeitiger regulatorischer “Ist”-Zustand

- **Bewertungsrelevante Studien** zu anderen toxikologischen Endpunkten des Gemisches, wie z.B.
 - Toxizität des Gemisches nach wiederholter Verabreichung
 - Gentoxizität
 - Kanzerogenität
 - Reproduktions-/Entwicklungstoxizitätliegen in der Regel nicht vor.

- Forderung aus REACH-VO (1907/2006/EC): „**High level of protection of humans and the environment**“ → weitere Forderung aber auch Reduktion von Tierversuchen und Verwendung von Alternativmethoden.

➤ **Option „B“** derzeit der bevorzugte und realistischste Ansatz

Vorgehensweise bei der Beurteilung der Gemischtoxizität in der Regulatorik (1)

- **Keine Informationen aus Studien für das Gesamtgemisch**
(insbesondere zu „higher tier endpoints“)?
- Sichtung der vorhandenen Daten zu den Einzelkomponenten (Studien oder andere, valide Informationen).
- Anwendung der konventionellen Methode nach der Zubereitungsrichtlinie (1999/45/EC, „DPD“) oder der Einstufungsregeln für Gemische nach der CLP-Verordnung (VO 1272/2008).
- Aufsummierung der Konzentration aller Komponenten, die bzgl. eines bestimmten Endpunktes eingestuft sind.
- Ableitung der Einstufung und Kennzeichnung des Gemisches und damit Charakterisierung der Toxizität des Gemisches auf der Grundlage der vorhandenen Kenntnisse zu den Komponenten.

Vorgehensweise bei der Beurteilung der Gemischtoxizität in der Regulatorik (2)

➤ Fazit:

- **Gängige Praxis = Anwendung der Additivitätsformel** zur Beurteilung der Toxizität und damit zur Einstufung & Kennzeichnung des Gemisches.
- **Ein Vergleich der Validität der Additivitätsformel** mit den Ergebnissen aus vorhandenen Gemischstudien zumeist nur für die Endpunkte akute Toxizität und primäre Reizwirkungen/Sensibilierung möglich.
- **Potenz der Toxizität** von Einzelkomponenten wird nur zum Teil Rechnung getragen; Komponenten innerhalb einer Toxizitätskategorie werden äquipotent behandelt.
- **Potentielle Synergismen/überadditive Wirkungen:** selten Gemischstudien zu „higher tier“ Endpunkten vorhanden → Bewertung derzeit nur über Anwendung des Additivitätsprinzipes (konventionelle Methode).
- **In Zukunft:** bessere Datenlage und Aussagemöglichkeit mit Informationspflichten und Datenanforderungen unter REACH?

Potentielle Synergismen in der Toxizität von Gemischen (1)

- **Erste Ansätze zur Beantwortung von potentiellen Synergismen** in der Toxizität von Gemischen durch ACP („Advisory Committee on Plants, 2005):
 - **Hintergrund:** Wiederholte Behandlung von Feldfrüchten mit verschiedenen PSM und Wirkstoffen unter Einhaltung der Prinzipien des integrierten Pflanzenschutzes → **Mehrfachrückstände von PSM-Wirkstoffen!**
 - Frage nach der **“Cocktail-Wirkung”** im Zusammenhang mit der Exposition und Aufnahme von Gemischen verschiedener PSM-Rückständen über Lebensmittel.

Potentielle Synergismen in der Toxizität von Gemischen (2)

- **Kombinationswirkung von Gemischen** erkannt, aber nicht als besorgniserregend erachtet, da:
 - **Expositionsniveau:**
sehr niedrig über Lebensmittel-Rückstände.
 - **Toxikologisch relevante Wechselwirkungen:**
„Margin of Exposure“ zwischen maximaler Exposition über Rückstände und im Tierversuch beobachteten Effekten im Bereich von 2-3 Größenordnungen.
 - **Kenntnis der Toxizität der Einzelsubstanzen:**
Abschätzung von toxikologisch unbedenklichen „Rückstandsniveaus bei Rückständen von mehreren Substanzen im Lebensmittel möglich.
 - **Zusätzlicher Sicherheitsabstand zur Exposition**
gegeben durch die angewandten (Un)-Sicherheitsfaktoren.

Potentielle Synergismen in der Toxizität von Gemischen (3)

- **Schlussfolgerungen aus BfR-Forum, November 2005:**
 - **Ergebnisse aus Tierversuchen mit Mischungen:** Wirkungen nur beobachtbar oberhalb der NOAELs der individuellen Komponenten.
 - **Dosierungen unterhalb der NOAELs** der individuellen Komponenten zeigen keine additiven, synergistischen oder antagonistischen Effekte in der Mischung.
 - **Systematische Gemischttestung** mit einer Reihe verschiedener Substanz-Dosis-Kombinationen zur Ermittlung potentieller Kombinationswirkungen nicht möglich (**Tierschutz!**).

Einteilung („Arten“) der potentiellen Wechselwirkungen und mechanistische Betrachtungen (1)

- **Ziel bei der Beurteilung der Toxizität von Gemischen:**

Abschätzung des potentiellen gesundheitlichen Risikos nach Exposition gegenüber dem Gemisch unter Berücksichtigung aller vorhandenen Informationen.

- **Wichtig: „Mode of Action“**

Mechanistische Untersuchungen gehören nicht zu den Standard-Testanforderungen bei der Ermittlung und Beurteilung der gesundheitlichen Auswirkungen von Stoffen.

Einteilung („Arten“) der potentiellen Wechselwirkungen und mechanistische Betrachtungen (2)

- Additivität der Wirkungen bei Substanzen: „**Simple Dissimilar Action**“
 - Wirkmechanismus und möglicherweise auch Wirkort/Wirkart der Substanzen sind unterschiedlich, keine Beeinflussung der Wirkungen der Einzelsubstanzen untereinander.
 - unabhängige Wirkungen der individuellen Substanzen auf das jeweilige Zielorgan werden impliziert.
 - Risikocharakterisierung: kombinierte Risikoabschätzung bei unterschiedlichem Wirkmechanismus und Wirkort nicht erforderlich.
 - Vergleich der Exposition gegenüber individuellen Substanzen mit NOAEL/Referenzwert für jede Substanz
 - „Trigger“ für potentielle gesundheitliche Wirkungen der Mischung ist die gefährlichste individuelle Komponente in der Mischung.

Einteilung („Arten“) der potentiellen Wechselwirkungen und mechanistische Betrachtungen (3)

- Additivität der Dosierung bei Substanzen: „**Simple Similar Action**“
 - Wirkung über einen gemeinsamen oder ähnlichen Mechanismus, gleiches Zielorgan oder Zielgewebe.
 - Addition/Potenzierung von Effekten bzw. Dosierungen auch unterhalb einer Wirkschwelle für individuelle Substanzen → Substanzen weisen nur eine unterschiedliche Potenz in der jeweiligen Wirkung auf.
 - Risikocharakterisierung: kombinierte Risikobetrachtung von Substanzen mit gleichem Wirkmechanismus/Wirkort.
 - Definition von „TEFs/TEQs“ (Toxicity Equivalency Factors/Quotients) oder „RPFs“ (Relative Potency Factors) relativ zu einer Marker-Substanz

Risikocharakterisierung bei Substanzen mit gemeinsamen Wirkmechanismus + Wirkort (1)

➤ Organophosphate (OPs)/Carbamate

- **Mechanismus:** Hemmung der Cholinesterase und damit Verhinderung des Abbau von Acetylcholin.
- **Wirkort:** Muskarin- und nicotinartige Wirkungen durch Anreicherung von Acetylcholin an den motorischen Endplatten.

➤ Beispiel: Konzept für eine kombinierte Risikoabschätzung bei OPs:

- **Etablierung von TEFs/RPFs** für jedes Organophosphat (Basis = aus verfügbaren Studien abgeleitete NOAELs und A(O)ELs/ADIs).
- **Vorgehensweise:**
Ermittlung der Substanzäquivalente = Aufsummierung der nachgewiesenen Rückstandsmengen der verschiedenen OPs unter Einbeziehung der jeweiligen OP-spezifischen TEFs/RPFs.

Risikocharakterisierung bei Substanzen mit gemeinsamen Wirkmechanismus + Wirkort (2)

➤ Expositions- und Risikoabschätzung bei Organophosphaten:

- **Maximale duldbare Rückstandsmenge** für ein individuelles OP ist definiert als das größte Produkt aus dem MRL und TEF/RPF für ein OP.
- **Wichtig bei TEF/RPF-Approach** für eine Mischung: Anpassung des MRL für ein bestimmtes OP unter Berücksichtigung der relativen Potenz in Bezug auf ein Referenz-OP.

$$R_{ie} = R_i \times PF \times RPF$$
$$R_{cum} = \sum R_{ie}$$

R_{ie} = substance-specific residue concentration expressed as equivalent of the index (“lead”) substance

R_i = substance-specific residue concentration

PF = processing factor

RPF = relative potency factor

R_{cum} = cumulative residue concentration

Ausblick und Entwicklungsmöglichkeiten in der Bewertung von Gemischen

➤ Tierversuche mit Gemischen?

- Nur in begrenztem Rahmen möglich.
- **Ansatz:** Testung „repräsentativer“ Mischungen und Anwendung der „bridging principles“.

➤ Erweiterte Kenntnis der Toxizität von Formulantiem/Co-Formulantiem

- Bislang nur **limitierte Kenntnis** zu diesen Stoffklassen vorhanden.
- **Registrierungen unter REACH:** Verfügbarkeit von Daten zu Formulierungshilfsmitteln.
- **Identifikation** der Targets und Mechanismus der Wirkungen.

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!