
Beoordeling carcinogeniteit van stoffen

Beoordeling carcinogeniteit van stoffen

Gezondheidsraad: Commissie Beoordeling carcinogeniteit van stoffen

aan:

de Minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport

de Minister van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer

de Minister en Staatssecretaris van Sociale Zaken en Werkgelegenheid

Nr 1996/26, Rijswijk, 18 december 1996

Deze publicatie kan als volgt worden aangehaald:

Gezondheidsraad: Commissie Beoordeling carcinogeniteit van stoffen. Beoordeling carcinogeniteit van stoffen. Rijswijk: Gezondheidsraad 1996; publicatie nr 1996/26.

Preferred citation:

Health Council of the Netherlands: Committee on the evaluation of the carcinogenicity of chemical substances. Evaluation of the carcinogenicity of chemical substances. Rijswijk: Health Council of the Netherlands, 1996; publication no. 1996/26.

auteursrecht voorbehouden

all rights reserved

ISBN: 90-5549-144-6

Inhoud

Samenvatting, conclusies en aanbevelingen 7

Executive summary 9

1 Inleiding 11

2 Genotoxische en niet-genotoxische carcinogenen: risico-evaluatie 12

3 Nieuwe ontwikkelingen 19

3.1 De herkomst van carcinogene agentia 19

3.2 Proto-oncogenen, tumorsuppressor-genen en genotoxiciteit 20

3.3 Celdeling en tumorpromotie 22

3.4 De chronische dierproef 23

3.5 Bioactivering en verdedigingsmechanismen 26

3.6 Verschillen in de kans op kanker 28

3.7 Relevantie van de dierproef voor de mens 29

3.8 Wiskundige modellen en methoden voor extrapolatie 29

4 Onzekerheid 32

4.1 Het begrip onzekerheid 32

4.2 Bronnen van onzekerheid 32

4.3 De onzekerheid in de schatting van het kankerrisico 33

5 Slotbeschouwing 45

Literatuur 49

Bijlagen 57

A De vragen 58

B De commissie 59

C De bijdrage van de steekproefvariabiliteit aan de onzekerheid
in de uitkomsten van 'lineaire extrapolatie': een rekenvoorbeeld 61

Samenvatting, conclusies en aanbevelingen

In 1978 heeft de Gezondheidsraad een methode aanbevolen voor de beoordeling van stoffen op carcinogene (kankerverwekkende) eigenschappen, alsmede voor schatting van het kankerrisico verbonden met blootstelling aan stoffen met dergelijke eigenschappen. Die methode gaat uit van een indeling van carcinogenen in twee categorieën op basis van het werkingsmechanisme: genotoxische en niet-genotoxische. Voor genotoxische carcinogenen wordt aangenomen dat er bij elk niveau van blootstelling een kans op kanker is, met andere woorden: dat voor die carcinogenen geen veilige blootstelling bestaat. Voor niet-genotoxische carcinogenen wordt het bestaan van een drempel verondersteld, een niveau van blootstelling waarbij en waarbeneden geen schadelijk effect optreedt. In het geval van een genotoxisch carcinogeen wordt het risico van blootstelling geschat via lineaire extrapolatie, in dat van een niet-genotoxisch carcinogeen is schatting van de drempel aangewezen. In het voorliggende rapport buigt een commissie van de Raad zich over de vraag of de huidige wetenschappelijke kennis deze aanpak nog rechtvaardigt.

De commissie geeft een overzicht van de stand van wetenschap ter zake. De voornaamste ontwikkelingen die zij in dit verband noemt, houden in dat thans nauwkeuriger bekend is hoe uit een gezonde lichaamscel een kankergezwell ontstaat en dat er wiskundige modellen zijn die dat ontstaan beschrijven. De nieuwe gegevens over de wijze waarop kanker ontstaat, geven steun aan de in 1978 bepleite tweedeling van carcinogene stoffen op basis van hun werkingsmechanisme. Ook elders in de wereld is die tweedeling inmiddels erkend. Wat betreft de ontwikkelingen op het gebied van de wiskundige modellen meent de commissie dat de modellen (nog) niet

geschikt zijn voor toepassing bij de risicoschatting, omdat de voor toepassing benodigde gegevens voor de meeste stoffen ontbreken. De in 1978 voorgestelde methode is daarvoor wel geschikt, omdat zij weinig gegevens over een stof vereist en eenvoudig is toe te passen. Ze is bovendien niet strijdig met de zojuist geschetste nieuwe ontwikkelingen en berust op een in brede kring aanvaarde hypothese over de invloed van carcinogenen op moleculair niveau op de in een populatie optredende kankerincidentie. Het is een methode die, mede op grond van de lineaire extrapolatie voor genotoxische carcinogenen, door de commissie als zeer veilig wordt beschouwd, dit wil zeggen dat de kans groot is dat het risico ermee wordt overschat. Die veiligheid acht de commissie wenselijk omdat er niet voldoende gedetailleerde gegevens zijn over de stappen tussen de eerste schadelijke moleculaire verandering in een gezonde lichaamscel en de incidentie van (een of meer soorten) kanker bij mensen of proefdieren.

De commissie geeft (kwalitatief) aan met welke onzekerheden de beoordeling van de carcinogeniteit van stoffen en de risicoschatting behept zijn. De onzekerheden berusten onder meer op (onvermijdelijke) toevalsvariatie en tekortschietend inzicht. Van die twee speelt tekortschietend inzicht de voornaamste rol. Het gaat hier nog steeds om de beperktheid van de kennis over de wijze waarop kanker ontstaat en de rol van carcinogene stoffen daarbij. Noch een oordeel over de aanwezigheid van carcinogene eigenschappen, noch schatting van het kankerrisico is daarom mogelijk zonder aannames. In het kankeronderzoek is weliswaar grote vooruitgang geboekt, maar die vooruitgang is volgens de commissie niet van dien aard dat hij verbetering van de risicoschattingmethode mogelijk maakt. Verreweg de meeste onzekerheden die vanouds bij de risicoschatting een rol spelen, zijn blijven bestaan en zullen, naar de commissie verwacht, voorlopig ook niet uit de weg kunnen worden geruimd.

In het licht van de nieuwe gegevens over de ontstaanswijze van kanker en de rol van stoffen daarbij, alsmede in het licht van de gegeven onzekerheden, acht de commissie handhaving van de benadering uit 1978 raadzaam. Maar zij vindt het verstandig de mogelijkheid open te houden er in bijzondere gevallen van af te wijken. Het laatste baseert zij op haar oordeel over enkele genotoxische carcinogenen waarvoor zij op grond van gegevens over hun werkingsmechanisme afleiding van een drempel geschikter vond dan lineaire extrapolatie. Daarom beveelt de commissie aan om de tweedeling van carcinogenen voor de risicoschatting te handhaven, evenals de methode van risicoschatting, en daarop eventueel een uitzondering te maken als de gegevens daar in een concreet geval aanleiding toe geven.

Executive summary

Health Council of the Netherlands: Committee on the evaluation of the carcinogenicity of chemical substances. Evaluation of the carcinogenicity of chemical substances. Rijswijk: Health Council of the Netherlands, 1996; publication no. 1996/26

In 1978, the Health Council of the Netherlands recommended a method for evaluating the carcinogenic (cancer-inducing) properties of substances, as well as for estimating the cancer risk associated with exposure to substances with such properties. That method uses a classification system that divides carcinogens into two categories on the basis of their mechanism of action: genotoxic and non-genotoxic. Genotoxic carcinogens are assumed to pose a cancer risk at any concentration, in other words: with these carcinogens there is no such thing as a safe level of exposure. However, non-genotoxic carcinogens are assumed to have a threshold value, a level of exposure at and beneath which cancer will not be induced. With a genotoxic carcinogen, linear extrapolation is the recommended method for estimating the risks associated with a given level of exposure. Where a non-genotoxic carcinogen is involved, the appropriate procedure is to estimate the threshold value. In the present report, a Health Council committee has addressed the issue of whether this approach can still be justified given the state of the art.

The Committee provides a summary of the state of the art. The principal developments cited by the Committee in this connection are a more precise understanding of how a healthy cell gives rise to a tumour and the availability of mathematical models to describe this process. This new information about the way in which cancer develops lends support to the system, advocated in 1978, that classifies carcinogenic substances into two groups on the basis of their mechanism of action. This classification system has also been recognized in other parts of the world. As regards recent developments in the field of mathematical modelling, the Committee

feels that models are not (yet) suitable for use in risk assessment since the data they require is simply not available for the majority of substances. The method proposed in 1978 is suitable, however, since it is easy to use and requires little data on the substance in question. In addition, it is consistent with the new developments outlined above and is based on a widely accepted hypothesis about the effect of carcinogens at the molecular level on the incidence of cancer observed in a population. Partly because this method uses linear extrapolation for genotoxic carcinogens, the Committee considers that it is relatively safe. In other words, when using this method there is a high probability that the risk will be overestimated. The Committee considers this safety to be important, given the lack of data sufficiently detailed to be of use in risk assessment. More specifically, little detailed information is available concerning the intervening steps between the first harmful molecular changes in a healthy cell and the incidence of (one or more types of) cancer in people or experimental animals.

The Committee identifies the uncertainties that pervade evaluation of the carcinogenicity of substances and risk assessment. These uncertainties stem from a variety of factors, including (unavoidable) chance variation and inadequate understanding. Of the two, the latter is the more important. This concerns the limited understanding of how cancer arises and of the part played by carcinogenic substances in this process. So any conclusions regarding a substance's carcinogenic properties or any estimates of cancer risk necessarily involve certain assumptions. According to the Committee, while great strides have been made in cancer research, the nature of this progress means that it does not facilitate any improvements in the risk assessment method. The overwhelming majority of uncertainties associated with risk assessment in the late seventies have not gone away, nor does the Committee expect them to be resolved in the near future.

Given the new data about how cancer arises and the part played by substances in this process, and in view of the above-mentioned uncertainties, the Committee considers it advisable that the 1978 approach be retained. However, it feels that it would be sensible to reserve the option of departing from this approach in special cases. The Committee found a few instances where this was justified: data concerning the mechanisms of action of some genotoxic carcinogens prompted the Committee to favour the derivation of a threshold rather than the use of linear extrapolation in these cases. Accordingly, the Committee recommends that the classification of carcinogens into two groups for the purposes of risk assessment be retained, as should the method of risk assessment itself. The Committee further recommends exceptions be made in specific cases, where the data indicates this to be an appropriate course of action.

Inleiding

Voor het eerst in 1978 bracht een commissie van de Gezondheidsraad advies uit over de beoordeling van chemische stoffen op kankerverwekkende eigenschappen (GR78). Dat advies bevat aanbevelingen voor die beoordeling en voor het schatten van de kans op kanker als gevolg van blootstelling aan stoffen met die eigenschappen, inbegrepen de aanbeveling om daarbij onderscheid te maken naar het mechanisme van werking.

In 1988 is de toenmalige stand van wetenschap geëvalueerd door een andere commissie van de Gezondheidsraad (GR88). De belangrijkste conclusie van die commissie was dat de aanbevelingen van haar voorgangster nog steeds wetenschappelijk actueel waren.

De commissie uit 1978 adviseerde ook om een commissie in te stellen voor de beoordeling van afzonderlijke stoffen op kankerverwekkende eigenschappen. Aan die aanbeveling gaf de voorzitter van de Gezondheidsraad in 1985 gehoor met de instelling van de commissie die het voorliggende rapport uitbrengt, de Commissie Beoordeling carcinogeniteit van stoffen - verder te noemen: de commissie - die sedertdien een groot aantal stoffen heeft beoordeeld op kankerverwekkende eigenschappen, op basis van de door haar voorgangsters gekozen uitgangspunten.

In het voorliggende rapport geeft de commissie - op verzoek van de voorzitter van de Gezondheidsraad (zie bijlage A) - een overzicht van de stand der wetenschap met betrekking tot de beoordeling van stoffen op kankerverwekkende eigenschappen en bespreekt zij de onzekerheden die verbonden zijn aan die beoordeling.

Genotoxische en niet-genotoxische carcinogenen: risico-evaluatie

Kanker ontstaat als gevolg van een aantal opeenvolgende, onomkeerbare veranderingen in het desoxyribonucleïnezuur (DNA), het erfelijk materiaal in lichaamscellen. Voor de beschrijving van het ontstaan van kanker zijn diverse modellen ontwikkeld. De Gezondheidsraad heeft sinds 1978 een methode van risicoschatting van kankerverwekkende stoffen aanbevolen die op twee van die modellen is gebaseerd (GR78, GR88, GR94). Het eerste is het *multistage*-model (Arm57), dat het bovenbedoelde meerstapskarakter van het ontstaan van kanker weerspiegelt. Dat model impliceert een met de blootstelling aan een kankerverwekkende stof toenemende kankerincidentie (fractie blootgestelden waarbij kanker is opgetreden).

De stappen van het *multistage*-model vertegenwoordigen onomkeerbare DNA-veranderingen die worden veroorzaakt door ‘hits’ (treffers). Om de bijdrage van een bepaalde carcinogene (kankerverwekkende) stof aan het ontstaan van kanker te kunnen beschrijven, is het noodzakelijk de factoren die bijdragen aan dat ontstaan in te delen in drie groepen:

- ‘uitwendige’ treffers als gevolg van de blootstelling aan de carcinogene stof
 - ‘achtergrondtreffers’, die afkomstig kunnen zijn van:
 - andere uitwendige stimuli, bijvoorbeeld carcinogenen die aanwezig zijn in de voeding of het milieu
 - stoffen die ontstaan als gevolg van o.a. normale stofwisselingsprocessen en ontstekingsreacties, zoals verschillende reactieve vormen van zuurstof en andere oxiderende moleculen
-

- andere oorzaken van DNA-veranderingen, zoals ‘spontane’ fouten tijdens de verdubbeling van het DNA en ‘spontane afbraak’ als gevolg van de instabiliteit die DNA-moleculen van nature bezitten (Lin93, Loe89)
- erfelijke predispositie voor een bepaalde tumor.

Deze factoren worden geacht onafhankelijk van elkaar en additief te werken, d.w.z. ze kunnen elkaar vervangen en hun effecten kunnen bij elkaar worden opgeteld.

De vorm van de dosis-responscurve voor een bepaalde carcinogene stof wordt bepaald door de verhouding van de bijdrage van de stof en die van andere oorzaken aan het totale aantal treffers: naarmate de dosis van de stof lager is, is de relatieve bijdrage van de stof aan het proces van de carcinogenese kleiner. Bij de laagst denkbare dosis zal de stof nog één treffer aan het carcinogene proces bijdragen, vandaar de benaming ‘*one-hit*’-kinetiek (Cru76, Emm77, GR78, Lut90).

Bij *one-hit*-kinetiek is de kans op één effectieve treffer recht evenredig met de blootstelling aan de carcinogene stof. Met andere woorden: bij *one-hit*-kinetiek neemt het aantal treffers lineair toe met de blootstelling. Er is geen sprake van *one-hit*-kinetiek in het gebied van de veel hogere doses waaruit de waarnemingen van de tumorincidentie doorgaans afkomstig zijn. In dit gebied is veelal sprake van een exponentieel verband tussen de dosis en de tumorincidentie.

Aan de lineariteit bij lage doses liggen tenminste drie veronderstellingen ten grondslag (GR78). De eerste is dat het optreden van DNA-schade een stochastisch proces is: de stof die een treffer veroorzaakt is uniform verdeeld over en in de doelwitcellen en er is slechts een kleine kans dat de stof een voor het carcinogene proces relevante DNA-verandering veroorzaakt in een willekeurige cel. De tweede veronderstelling is dat er geen drempelwaarde bestaat waarbeneden een stof die treffers veroorzaakt als niet-werkzaam beschouwd kan worden, m.a.w. er bestaat geen dosis waarbij de kans op een relevant effect gelijk is aan nul. De derde veronderstelling is dat ieder individu van een blootgestelde groep even gevoelig is; of een individu een tumor krijgt of niet, hangt alleen af van het al dan niet getroffen worden van de relevante plaatsen in het DNA van een doelwitcel binnen een gegeven tijdsbestek.

Het tweede model waarop de Gezondheidsraad zijn risicoschatting van kankerverwekkende stoffen baseert, is het initiatie-promotiemodel (GR78). Het voorziet in twee fasen in het ontstaansproces van kanker. De initiatie is de eerste, onomkeerbare stap in dat proces. Initiatie houdt in dat in cellen mutaties (onomkeerbare, zichzelf replicerende veranderingen in de inhoud of organisatie van de in DNA opgeslagen erfelijke informatie) in het DNA optreden op plaatsen die relevant

zijn voor de carcinogenese*. Dit impliceert dat initiatie het resultaat is van een (of meer) treffer(s) en geeft het verband van het initiatie-promotiemodel met het *multistage*-model aan. Initiatie is echter niet voldoende voor het ontstaan van een waarneembare tumor. De tweede fase, de promotie, leidt tot een waarneembare tumor door bevordering van de deling van de geïnitieerde cellen. Promotie is, net als initiatie, op zichzelf onvoldoende voor het ontstaan van een waarneembare tumor. Vaak wordt nog een derde stap in het initiatie-promotiemodel onderscheiden: progressie. Progressie van een tumor houdt in dat de tumor ‘onsterfelijk’ wordt. Uiteindelijk kunnen tumorcellen het vermogen krijgen om naburige weefsels binnen te dringen en te metastaseren (‘kwaadaardige tumoren’). Metastasering wil zeggen dat cellen losraken uit de tumor, elders in het lichaam terechtkomen en daar weer uitgroeien tot tumoren.

Stoffen die in staat zijn om initiatie én promotie te bewerkstelligen, kunnen tumoren veroorzaken; zij worden daarom volledige carcinogenen genoemd. Initiatoren en promotoren, stoffen die uitsluitend initiërend respectievelijk promoverend werken, worden als onvolledige carcinogenen aangeduid. Promotoren blijken in de chronische dierproef** wel degelijk een verhoging van de tumorincidentie te kunnen veroorzaken. Promotoren behoren tot de groep van de zogenaamde cocarcinogenen. Cocarcinogeniteit is een algemene term voor de werking van agentia die op enigerlei wijze de werking van een carcinogeen bevorderen.

De twee genoemde modellen vormen, zoals gezegd, samen de basis voor de methode van schatting van het risico van blootstelling aan carcinogene stoffen die door de Gezondheidsraad is aanbevolen (GR78, GR88, GR94). Die methode heeft als belangrijkste kenmerk dat carcinogene stoffen op grond van hun werkingsmechanisme in twee categorieën worden verdeeld. Tot de eerste categorie behoren volledige carcinogenen, initiatoren en stoffen waarop de ernstige verdenking rust dat zij volledige carcinogenen of initiatoren zijn. Tot deze groep worden dus stoffen gerekend met een onomkeerbaar, zichzelf replicerend effect en stoffen die er ernstig van verdacht worden een dergelijk effect te kunnen veroorzaken. De werking van deze groep stoffen wordt als stochastisch beschouwd, wat het ontbreken impliceert van een drempel, dat wil zeggen van een niveau van blootstelling waarbij en waarbeneden onomkeerbare veranderingen in het DNA niet optreden. Bij deze werking neemt over een bepaald blootstellingstraject de kans op een effect toe met toenemende blootstelling. Tot de tweede categorie worden stoffen gerekend die werkzaam zijn via andersoortige mechanismen: promotoren en andere cocarcinogeen werkende stoffen.

* Het proces dat tot kanker leidt.

** Proef waarin dieren levenslang worden blootgesteld aan de te onderzoeken stof; ook carcinogeniteitsproef genoemd (zie ook 3.4).

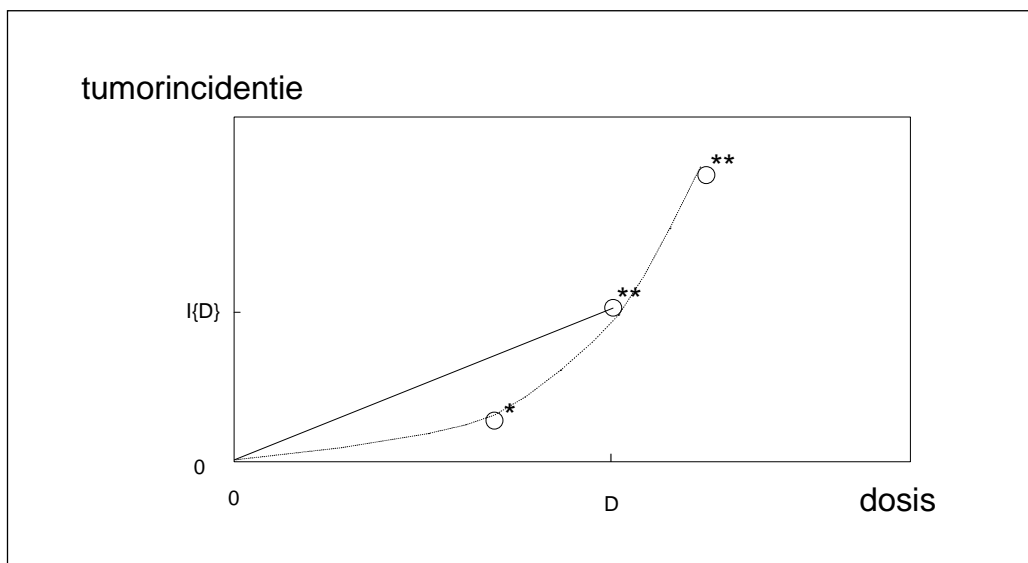
Hun werking wordt beschouwd als niet-stochastisch. Kenmerkend voor niet-stochastische werking is dat het schadelijk effect pas optreedt bij het overschrijden van een zogeheten drempelblootstelling en dat daarboven de schade toeneemt met toenemende blootstelling. In het dosistraject van nul tot en met de drempel treden geen effecten op of voorkomen compenserende processen in het lichaam dat een schadelijk effect optreedt.

Tegenwoordig noemt men stoffen uit de eerste categorie genotoxische carcinogenen en stoffen uit de tweede categorie niet-genotoxische carcinogenen (GR88). Dit betekent dat de DNA-beschadigende werking wordt aangeduid met de term 'genotoxiciteit'.

Het verschil in werkingsmechanisme tussen genotoxische en niet-genotoxische carcinogenen vindt zijn weerslag in de methode van risicoschatting. De risicoschatting voor genotoxische carcinogenen vindt plaats met behulp van lineaire extrapolatie, die voor niet-genotoxische carcinogenen behelst afleiding van een (waargenomen) 'geen-nadelig-effect-niveau' (drempel) en toepassing van een veiligheidsfactor, overeenkomstig de aanbevelingen van de Gezondheidsraad voor het afleiden van gezondheidkundige advieswaarden voor niet-carcinogene stoffen (GR85). De met beide methoden afgeleide waarden vallen onder de noemer van de 'toxicologische advieswaarde' (GR96). De methode vereist gegevens over de blootstelling en de bijbehorende respons (de fractie van de onderzochte groep die (extra) tumoren vertoont) en gegevens die uitsluitel geven over de aan- dan wel afwezigheid van genotoxische eigenschappen.

Het voorgaande betekent dat voor een genotoxisch carcinogeen het doel van de risico-evaluatie bepaling van de blootstelling is waarbij ten hoogste een bepaalde, politiek geaccepteerde extra - aan die blootstelling toe te schrijven - kans op kanker optreedt (figuur 1). Voor een niet-genotoxisch carcinogeen wordt de hoogste blootstelling bepaald die niet leidt tot het waargenomen schadelijke effect dat verantwoordelijk wordt geacht voor het ontstaan van de kanker (figuur 2).

In de afgelopen tien jaar heeft de commissie van een aantal milieugevaarlijke stoffen de kankerverwekkende eigenschappen en de risicoschatting beoordeeld. Dit gebeurde in het kader van de toetsing van 'basisdocumenten' die zijn opgesteld onder verantwoordelijkheid van het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu. Tabel 1 geeft een overzicht van die stoffen en de oordelen van de commissie. Hierbij tekent de commissie aan dat een oordeel het uitgangspunt voor de risicoschatting vastlegt. De tabel bevat enkele stoffen die de commissie weliswaar beschouwt als genotoxische carcinogenen, maar die zij niet in aanmerking vindt komen voor lineaire extrapolatie. Een voorbeeld wordt gevormd door arseenverbindingen. Deze verbindingen moeten

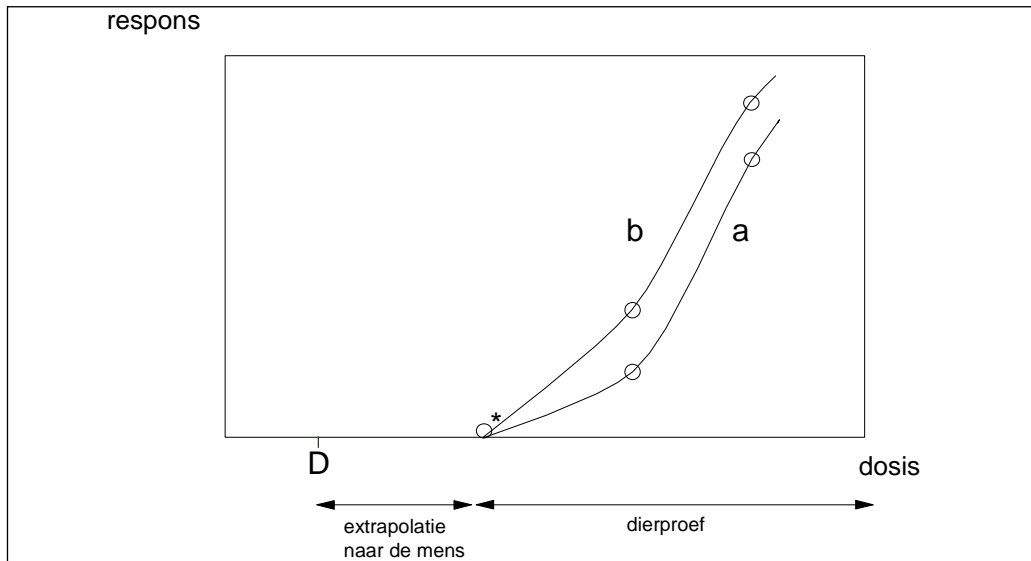


Figuur 1 Schematische weergave van de methode van risicoschatting van genotoxische carcinogenen met resultaten van een chronische dierproef (lineaire extrapolatiemethode). X-as: de dosis carcinogeen; Y-as: de extra tumorincidentie, dit wil zeggen de bij de met het carcinogeen behandelde dieren waargenomen tumorincidentie minus die van de controledieren, op een bepaald tijdstip. (O) Waarneming; (*) geen statistisch significant verhoogde tumorincidentie; (**) statistisch significant verhoogde tumorincidentie, in de praktijk vaak vergezeld van voor het ontstaan van de tumoren relevante andere tekenen van toxiciteit. De curve geeft het theoretisch verloop van de extra tumorincidentie als functie van de dosis weer; met de rechte lijn wordt geëxtrapolerd. De extrapolatie van (D, I(D)) leidt tot overschatting van het kankerrisico bij lagere doses dan D, als de theoretische curve de werkelijke is.

volgens de omschrijving van genotoxiciteit* als genotoxische carcinogenen worden beschouwd (GR93b). Maar arseenverbindingen werken hoogstwaarschijnlijk genotoxisch door remming van enzymen die betrokken zijn bij de synthese en het herstel van DNA. Dit houdt in dat zij langs niet-genotoxische, d.w.z. indirecte weg DNA-schade bevorderen. Naar het oordeel van de commissie betekent dit dat er hoogstwaarschijnlijk sprake is van een drempel: alvorens een negatief effect op DNA-herstel of -synthese waarneembaar is, moet vermoedelijk een bepaald percentage van de enzymmoleculen door binding van arseen uitgeschakeld zijn. Daarom beschouwt de commissie arseenverbindingen als ‘indirecte of niet-stochastisch werkende genotoxische carcinogenen’ en acht zij het afleiden van een drempelwaarde de meest geschikte methode van risicoschatting voor deze stoffen.

Het voorgaande komt erop neer dat de commissie de volgende categorieën carcinogenen onderscheidt:

* Het vermogen om de in DNA opgeslagen informatie irreversibel (onomkeerbaar) te veranderen (GR88).



Figuur 2 Schematische weergave van de risicoschatting van niet-genotoxische carcinogenen met resultaten van een chronische dierproef (drempelmethode). X-as: de dosis carcinogeen; Y-as: de respons; curve a: het percentage dieren dat tumoren vertoont in de met het carcinogeen behandelde groepen minus dat percentage in de controlegroep; curve b: het percentage dieren dat voor het ontstaan van de tumoren relevante andere tekenen van toxiciteit vertoont, berekend op dezelfde wijze. (O) Waarneming; (*) waargenomen geen-nadelig-effect-niveau; (D) gezondheidskundige advieswaarde. De curves geven het theoretisch verloop van de respons als functie van de dosis weer. De stap van het (waargenomen) geen-nadelig-effect-niveau bij proefdieren naar de gezondheidskundige advieswaarde voor de mens behelst de toepassing van een veiligheidsfactor. Deze veiligheidsfactor dient om rekening te houden met verschillen tussen mens en dier, alsmede met verschillen in gevoeligheid tussen mensen.

- 1 genotoxische carcinogenen
 - a stochastisch werkende
 - b niet-stochastisch werkende
- 2 niet-genotoxische carcinogenen.

Voor categorie 1a acht zij lineaire extrapolatie de meest geschikte methode van risicoschatting, voor de categorieën 1b en 2 berekening van een drempelwaarde.

Tabel 1 Overzicht beoordeelde stoffen.

Stof	Indeling ten behoeve van de risicoschatting
1 Alkylerende verbindingen	
acrylonitril	genotoxisch carcinogeen
1,2-dichloorethaan	genotoxisch carcinogeen
ethyleenoxide	genotoxisch carcinogeen
propyleenoxide	genotoxisch carcinogeen
styreen (via styreenoxide)	niet carcinogeen ³
vinylchloride	genotoxisch carcinogeen
2 Mono- en polycyclische aromatische koolwaterstoffen	
anthraceen	niet carcinogeen
benz[a]anthraceen	genotoxisch carcinogeen
benzo[k]fluoroantheen	carcinogeen ¹
benzo[ghi]peryleen	²
benzo[a]pyreen	genotoxisch carcinogeen
chryseen	²
fenantreen	²
fluoroantheen	²
indeno[1,2,3-cd]pyreen	carcinogeen ¹
naftaleen	²
benzeen	genotoxisch carcinogeen
tolueen	²
2,3,7,8-tetrachloro- <i>p</i> -dibenzodioxine	niet-genotoxisch carcinogeen
3 Gehalogeneerde verbindingen	
<i>chloorbenzenen</i>	
1,2-dichloorbenzeen	niet carcinogeen
1,4-dichloorbenzeen	niet-genotoxisch carcinogeen
hexachloorbenzeen	carcinogeen ¹
monochloorbenzeen	niet carcinogeen
<i>chloorfenolen</i>	
2,4-dichloorfenol	niet carcinogeen
2,6-dichloorfenol	²
pentachloorfenol	niet-genotoxisch carcinogeen
2,3,4,6-tetrachloorfenol	²
2,4,5-trichloorfenol	²
2,4,6-trichloorfenol	niet-genotoxisch carcinogeen
<i>haloalkanen, en -alkenen</i>	
chloroform	niet-genotoxisch carcinogeen
(1,2-dichloorethaan)	genotoxisch carcinogeen
dichloormethaan	niet-genotoxisch carcinogeen
tetrachlooretheen	niet-genotoxisch carcinogeen
tetrachloormethaan	niet-genotoxisch carcinogeen
trichlooretheen	niet-genotoxisch carcinogeen
(vinylchloride)	genotoxisch carcinogeen
<i>hexachloorcyclohexanen</i>	
a-hexachloorcyclohexaan	niet-genotoxisch carcinogeen
b-hexachloorcyclohexaan	niet-genotoxisch carcinogeen
g-hexachloorcyclohexaan	niet-genotoxisch carcinogeen
d-hexachloorcyclohexaan	²
4 Metaalverbindingen	
arseenverbindingen	genotoxisch carcinogeen (niet-stochastisch)
cadmiumverbindingen	genotoxisch carcinogeen (niet-stochastisch)
chrom[VI]-verbindingen	genotoxisch carcinogeen
chrom[III]-verbindingen	niet-genotoxisch carcinogeen
5 Overige	
asbest	genotoxisch carcinogeen

¹ Onvoldoende gegevens beschikbaar om het werkingsmechanisme vast te stellen.

² Onvoldoende gegevens beschikbaar voor beoordeling carcinogeniteit.

³ Zwak mutageen, maar geen bewijs voor carcinogeniteit, noch bij de mens noch bij proefdieren.

Nieuwe ontwikkelingen

Sinds het verschijnen van het vorige rapport over de beoordeling van de carcinogeniteit van stoffen (GR88) zijn gegevens gepubliceerd die nader inzicht verschaffen in het mechanisme van het ontstaan van kanker. Die gegevens hebben o.a. betrekking op de regulatie van de celdeling door oncogenen. De commissie bespreekt alleen de gegevens die van belang zijn om te bezien of de in hoofdstuk 2 beschreven methode van risico-evaluatie herziening behoeft.

3.1 De herkomst van carcinogene agentia

De door de commissie uitgevoerde risicobeoordelingen (zie tabel 1) hebben betrekking op vermijdbare risico's: risico's van blootstelling aan stoffen die in het milieu voorkomen en waarvoor de blootstelling kan worden beperkt. Het is nog onduidelijk in welke mate deze stoffen bijdragen aan de waargenomen kankerincidentie in de bevolking. In de publieke opinie lijkt de mening te overheersen dat kanker voor een groot deel door blootstelling aan synthetische stoffen veroorzaakt wordt. Ames en zijn collega's hebben kritiek geuit op die opvatting (Ame83, Ame90c, Ame95). Zij menen dat *life style*-factoren, zoals roken, en natuurlijk voorkomende carcinogenen verantwoordelijk zijn voor een aanzienlijk groter deel van de kankergevallen dan synthetische. Zij constateren dat blootstelling aan natuurlijk voorkomende carcinogene stoffen zelden vermeden of beperkt kan worden, omdat die blootstelling via het voedsel plaatsvindt.

In wezen is de constatering dat zowel natuurlijk voorkomende als synthetische stoffen kankerverwekkende eigenschappen kunnen bezitten, niet nieuw. De commissie maakt echter melding van dit punt, omdat het onderwerp hernieuwd in de belangstelling kwam te staan door de publicaties van Ames en collega's. De mening van Ames over de bijdragen van de synthetische en natuurlijk voorkomende carcinogenen aan de kankerincidentie is recent in grote lijnen gedeeld door de Amerikaanse 'National Research Council' (NRC96). Die instantie meent echter dat de bijdragen van beide onbetekenend zijn in vergelijking met die van *life style*-factoren, zoals roken en eetgewoonten. Bij eetgewoonten gaat het vooral om de bijdrage van een hoge vet- en energieconsumptie, niet om die van synthetische en natuurlijk voorkomende carcinogenen in het voedsel.

Zoals al in hoofdstuk 2 is beschreven, zijn verschillende oorzaken van DNA-schade bekend. Hun relatieve bijdrage aan het ontstaan van kanker in de bevolking kan echter niet, of slechts met grote onzekerheid, worden geschat.

3.2 Proto-oncogenen, tumorsuppressor-genen en genotoxiciteit

De belangrijkste, al in het rapport uit 1988 genoemde, ontwikkeling die heeft bijgedragen aan de kennis over het mechanisme van het ontstaan van kanker, is de ontdekking van cellulaire oncogenen aan het begin van de jaren tachtig en het inzicht dat sindsdien is verkregen in de werking van die genen* in de cel. Met oncogenen worden de genen bedoeld die een rol spelen bij de regulatie van normale celfuncties, zoals celdeling en -differentiatie, en die aan de carcinogenese bijdragen na het ondergaan van een mutatie (Bos92). Ze coderen bijvoorbeeld voor groeifactoren (eiwitten die een rol spelen bij de deling en differentiatie van cellen) of voor receptoren voor groeifactoren in of op de cel (Aar91); sommige van die factoren beïnvloeden de hoeveelheden van eiwitten waarvoor andere genen coderen (Ver92). Oncogenen kunnen worden ingedeeld in twee klassen: proto-oncogenen en tumorsuppressor-genen. Een mutatie in een proto-oncogen kan het ontstaan van een tumor bevorderen door activering van het gen (Bro95, Don95, Kit95). Een mutatie in een tumorsuppressor-gen daarentegen kan de vorming van een tumor bevorderen door inactivering van het gen, d.w.z. opheffing van de remmende werking op de tumorvorming die het gen in ongemuteerde (normale) toestand heeft (Lev94). Beide typen mutaties zijn waargenomen in menselijke tumorcellen en ook in cellen van tumoren die bij proefdieren werden opgewekt door toediening van een genotoxisch carcinogeen.

* gen: drager van een erfelijke eigenschap

Recent is voor darmkanker onderzoek verricht naar het verband tussen het voorkomen van mutaties in oncogenen en het stadium waarin de kanker verkeert (Vog88). Daaruit is gebleken dat het aantal mutaties in oncogenen toeneemt met toenemende kwaadaardigheid van de kanker. Het patroon van de mutaties in een bepaald stadium van kanker blijkt van geval tot geval te verschillen, zowel wat betreft het aantal en type gemuteerde oncogenen als wat betreft de plaats van de mutatie in een gen (Fea90, Vog93). Hetzelfde blijkt te gelden voor andere soorten kanker dan darmkanker (Bod92, Cho92, Col95, Cor91, Mik92, Suc91, Vog93). Afhankelijk van het type kanker zijn één tot zes mutaties waargenomen dan wel gepostuleerd.

Recent zijn ook gegevens verkregen die erop wijzen dat er een verband bestaat tussen de aard van de mutaties in oncogenen en de aard van het carcinogene agens waaraan kankerpatiënten blootgesteld zijn geweest. Zulke gegevens zijn onder meer voortgekomen uit onderzoek naar het verband tussen blootstelling aan aflatoxine en hepatitis B-virus en leverkanker, alsmede tussen ultra-violetstraling (UV) en huidkanker. Van aflatoxine en hepatitis B-virus is bekend dat ze een verhoogde kans op leverkanker geven. Lever-tumorcellen afkomstig van patiënten met een hoge blootstelling aan aflatoxine of een grote waarschijnlijkheid van infectie met hepatitis B-virus bevatten veel vaker een bepaalde mutatie in het tumorsuppressor-gen p53 dan lever-tumorcellen die afkomstig zijn van patiënten met een lage blootstelling aan beide agentia (Ozt91). Huid-tumorcellen bevatten dezelfde mutaties in het p53-gen als de mutaties die UV veroorzaakt in *in vitro*-testsystemen (Bra91). Omdat tumorcellen van de inwendige organen die mutaties niet bevatten, is het aannemelijk dat UV een rol speelt bij het ontstaan van huidkanker: de met UV geassocieerde mutaties zijn andere dan de met aflatoxine en hepatitis B-virus geassocieerde. Deze gegevens doen vermoeden dat mutaties in het tumorsuppressor-gen dat codeert voor het p53-molecule niet beperkt zijn tot bepaalde soorten tumoren en dat de soort mutatie afhangt van de aard van het carcinogene agens dat de mutatie veroorzaakt.

Op grond van de beschikbare gegevens lijkt de conclusie gerechtvaardigd dat kanker ontstaat door een opeenhoping van activerende mutaties in proto-oncogenen of inactiverende mutaties in tumorsuppressor-genen, waarbij de specificiteit van de mutaties van geval tot geval kan verschillen. Ook lijkt het gerechtvaardigd te stellen dat het *multistage*-concept van het ontstaan van kanker door de genoemde bevindingen bevestigd wordt en er nadere invulling door heeft gekregen. De eerste stap van het initiatie-promotiemodel zou in het licht van de genoemde bevindingen overeenkomen met één of meer treffers in proto-oncogenen of tumorsuppressor-genen.

Naast de recente gegevens die het *multistage*-model steunen, zijn er ook nieuwe gegevens die de steil met de dosis toenemende respons bij een genotoxisch carcinogeen plausibel maken. Die gegevens betreffen de ontdekking en de werking van een bijzonder type van mutatie, het zogeheten *mutator*-type. Het bijzondere van dat

type is, dat het optreden ervan verhogend werkt op de snelheid van het 'spontane' optreden van mutaties elders in het DNA (Esh95, Win95, Woo94a). Het veroorzaken van één of enkele mutaties van dit type door een genotoxische stof zou daarom verhogend kunnen werken op de snelheid waarmee het aantal treffers in een cel bereikt wordt dat nodig is alvorens uit die cel een tumor ontstaat. Het zou bovendien kunnen betekenen dat één of enkele mutaties van dit type noodzakelijk en voldoende zijn voor het ontstaan van tumoren na blootstelling aan lage doses (zie b.v. Cha94, Coh90a, Isa85, Lut90). In dat licht zou het optreden van *mutator*-type mutaties in een vroeg stadium van de tumorvorming een verklaring kunnen zijn voor de exponentiële toename van de tumorincidentie met de dosis van een genotoxisch carcinogeen.

3.3 Celdeling en tumorpromotie

De laatste jaren zijn talrijke carcinogene stoffen op basis van hun werkingsmechanisme als niet-genotoxisch beoordeeld (Ame90b) en is onderzoek verricht naar het mechanisme van promotie.

Uit dierproeven is gebleken dat niet-genotoxische carcinogenen op verschillende manieren de deling van geïnitieerde cellen kunnen bevorderen, zoals door directe stimulering van de celdeling, maar ook door indirecte effecten: via het veroorzaken van weefselschade of verstoring van de hormoonbalans (But95).

Ook uit epidemiologisch onderzoek zijn aanwijzingen verkregen voor een bijdrage aan het ontstaan van kanker van verschillende agentia waarvan bekend is dat ze de celdeling bevorderen, zoals bepaalde virussen en bacteriën. Hepatitis B- en C-virus en alcohol worden in deze zin geassocieerd met leverkanker, Schistosoma-infecties met blaaskanker, veranderingen in de hormoonbalans met baarmoederkanker, borstkanker en kanker van de eierstokken, infectie met *Helicobacter pylori* of overmatig gebruik van zout met maagkanker, asbest met mesothelioom en papillomavirussen met baarmoederhalskanker (Hen91, Pre90). Van papillomavirussen is bekend dat ze de celdeling stimuleren door interactie aan te gaan met bepaalde eiwitten die een rol spelen bij de celdeling en het product zijn van tumorsuppressor-genen (Dys89, Sch90).

Dierproeven en epidemiologisch onderzoek hebben dus gegevens opgeleverd die de hypothese ondersteunen dat een verhoogde delingsactiviteit van cellen bijdraagt tot het ontstaan van tumoren - mits de delende cellen geïnitieerd zijn, d.w.z. mutaties bezitten op relevante plaatsen in genen die betrokken zijn bij de carcinogenese (But90, Coh90a, Gra91, Pol90, Pol92). Maar er mag niet geconcludeerd worden dat een stof die de celdeling bevordert onder alle omstandigheden tumoren veroorzaakt (Ten91, Wei91). Een voorbeeld van een dergelijke stof is de promotor ethylacrylaat. Ethylacrylaat veroorzaakt na orale toediening weefselschade, verhoogde celdeling en tumoren in de voormaag van de rat (Mar83), maar na inhalatie geen tumoren in de

ademhalingswegen, hoewel daar wel weefselschade en verhoogde celdeling optreedt (Mil85).

Er zijn inmiddels gegevens die de theorie bevestigen dat bepaalde promotoren de celdeling bevorderen, hetzij direct, als ze zelf een groeifactor zijn (b.v. stoffen met oestrogene werking), hetzij indirect, als ze via beschadiging een weefsel stimuleren tot de afgifte van groeifactoren. Tumor-promotoren zouden door bevordering van de celdeling het aantal geïnitieerde cellen verhogen en dus ook de kans dat een cel met een extra, voor het ontstaan van kanker relevante, DNA-verandering ontstaat. Een andere verklaring zou kunnen zijn dat via bevordering van de celdeling het DNA wordt afgelezen en verdubbeld voordat de DNA-schade is hersteld (zie ook 3.5). In deze verklaring verlaagt promotie de kans op (tijdig) herstel van DNA-schade, met als gevolg dat zij de kans op initiatie door inwendige en uitwendige stimuli verhoogt, b.v. de kans op initiatie als gevolg van DNA-schade door normale stofwisselingsprocessen (zie hoofdstuk 2). Een derde verklaring zou ontregeling van de 'celcyclus-controle' kunnen zijn (Bat96), het mechanisme waarmee wordt voorkomen dat deling van een cel zich voltrekt alvorens de schade aan het DNA van die cel is hersteld. Een combinatie van de genoemde mechanismen is ook denkbaar als verklaring voor tumor-promotie.

Het aantonen van tumor-promoverende werking is enkel mogelijk met *in vivo*-tests; er zijn geen *in vitro*-tests voor het aantonen van een dergelijke werking beschikbaar. De reden is dat uiteenlopende mechanismen aan tumor-promoverende werking ten grondslag liggen (zie b.v. But95, Coh95a, Cou95, Gre92). Eén test voor tumorpromotie is dus ook in de toekomst hoogst onwaarschijnlijk. Wel theoretisch denkbaar zijn tests die specifiek zijn voor een bepaald mechanisme van tumor-promotie, maar dat zou betekenen dat ontwikkeling van geschikte tests voor elk van die mechanismen noodzakelijk is.

3.4 De chronische dierproef

In de afgelopen jaren is de chronische dierproef als methode om stoffen te onderzoeken op carcinogene eigenschappen, onder vuur gekomen. De kritiek is vooral gericht tegen de hoogte van de gebruikte doses. Een carcinogeniteitsproef wordt uitgevoerd met meer dan één dosis, waarbij de hoogste dosis zo gekozen wordt dat zij nét hoog genoeg is om nader omschreven lichte verschijnselen van toxiciteit te veroorzaken, maar niet hoog genoeg om de levensduur significant te verkorten*. Eventuele levensduurverkorting kan dan alleen optreden als gevolg van de door de toegediende stof veroorzaakte tumoren. De bedoelde toxiciteitsverschijnselen behelzen

* Deze dosis wordt in het Engels *maximum tolerated dose*, of soms *minimally toxic dose* genoemd.

verandering van het gehalte van bepaalde enzymen in het bloed of verminderde toename van het lichaamsgewicht (maximaal tien procent vermindering) (Cla91, OECD81). Een dosis die dergelijke lichte tekenen van toxiciteit veroorzaakt, wordt noodzakelijk geacht om fout-negatieve resultaten te voorkomen. Enkele onderzoeksgroepen hebben het gebruik van een dergelijke dosis aangevallen (Ame90a, Coh90a, Roe89, Sal89) met het argument dat zo'n hoge dosis het normale fysiologische evenwicht in het dier verstoort en alleen al dáárdoor leidt tot verhoging van de tumorincidentie. Zij menen dat lagere doses van niet-genotoxische carcinogenen, die geen verstoring van het fysiologische evenwicht veroorzaken, geen verhoging van de tumorincidentie zouden bewerkstelligen. Dit betekent dat ook de doses waaraan de mens blootstaat niet verhogend op de tumorincidentie zouden werken, omdat die lager zijn dan de laagste in dierproeven onderzochte doses. De Gezondheidsraad waarschuwde in 1978 al dat carcinogeniteitsproeven met niet-genotoxische carcinogenen positief uit kunnen vallen als de onderzochte doses zo hoog zijn dat ze het ontstaan van tumoren bevorderen door andere schadelijke effecten (GR78). Als naast de bovengenoemde lichte toxiciteit ook schadelijke effecten zijn waargenomen in het doelorgaan, wordt aangenomen dat die ten grondslag liggen aan de tumoren en wordt de drempelwaarde niet vastgesteld op basis van de tumoren maar op basis van die effecten.

Volgens Hoel en collega's (Hoe88) kunnen niet-genotoxische stoffen carcinogeen werken zonder in het doelorgaan waarneembare ander toxische effecten te veroorzaken. Echter, hun classificatie van de geëvalueerde carcinogenen als niet-genotoxisch was gebaseerd op één genotoxiciteitstest - de Amestest. De commissie vindt dit te mager (GR95a). Toch vindt zij de resultaten van de evaluatie relevant: zij acht het mogelijk dat er niet-genotoxische carcinogenen zijn die zonder waarneembare andere schadelijke effecten de deling van geïnitieerde cellen stimuleren. Maar als zulke tekenen van toxiciteit van één of meer van de onderzochte doses in het orgaan waarin kanker optreedt, worden waargenomen, ondersteunt dit volgens de commissie de conclusie uit genotoxiciteitsonderzoek dat een carcinogeen niet-genotoxisch werkt. Toch kan er ook als dergelijke tekenen afwezig zijn, sprake zijn van een niet-genotoxisch carcinogeen, bijvoorbeeld als de uitkomst van een test op initiatie en promotie hierop wijst. Het antwoord op de vraag of een stof een niet-genotoxisch carcinogeen is, moet daarom zijn gebaseerd op het totaal aan beschikbare, voor beantwoording van die vraag relevante toxiciteitsgegevens.

Bij genotoxische carcinogenen kan een te hoge dosis ook, via andere schadelijke werking ter plekke, een extra verhoging van de tumorincidentie bewerkstelligen. Maar bij deze groep carcinogenen is het effect daarvan op de risicoschatting anders dan bij de niet-genotoxische carcinogenen. Bij niet-genotoxische carcinogenen wordt namelijk een relatief lage dosis, waarbij geen tumoren zijn waargenomen, als een drempel

beschouwd waarbij en waaronder geen verhoging van de tumorincidentie wordt verwacht. Bij genotoxische carcinogenen daarentegen wordt een relatief lage dosis geassocieerd met een, met lineaire extrapolatie van de laagste positieve dosis, te schatten tumorincidentie (zie hoofdstuk 2). Bij de laatste heeft extra toxiciteit daarom tot gevolg dat extra overschatting van het risico optreedt. De Gezondheidsraad adviseerde daarom al in 1978 om bij genotoxische carcinogenen te extrapoleren vanaf de laagste nog positieve dosis, om in elk geval overschatting van het risico als gevolg van andere schadelijke effecten op de tumorincidentie zoveel mogelijk te beperken. De commissie onderschrijft die aanbeveling.

De commissie is van mening dat de chronische dierproef, bij gebrek aan een alternatief, nodig blijft voor onderzoek naar de carcinogene werking van stoffen. Wat betreft de keuze van de doses merkt zij het volgende op. Verlaging van de hoogste dosis tot een dosis waarbij de eerder genoemde schadelijke effecten niet worden waargenomen, vindt zij, net als een commissie van de Amerikaanse 'National Research Council' (NRC93), niet verstandig in verband met de verhoogde kans op fout-negatieve uitslagen die daarvan het gevolg is. Zij merkt op dat bij de interpretatie van de resultaten rekening moet worden gehouden met de gevolgen van andere bij de onderzochte doses waargenomen schadelijke effecten voor het ontstaan van tumoren.

De chronische dierproef is ook om een andere reden bekritiseerd. Die reden is dat de in de proef gebruikte ratten en muizen sinds vele jaren een steeds sterkere gewichtstoename en kortere levensduur vertonen (ILSI95). Bovendien is bij de controle-dieren een hogere incidentie van tumoren waargenomen naarmate de proef korter geleden is uitgevoerd. Deze bij de proefdieren waargenomen veranderingen kunnen invloed op de uitkomst van de proef hebben. In het verleden is namelijk gebleken dat proefdieren die minder voer krijgen en daardoor een lager lichaamsgewicht hebben, langer leven en minder vaak en later kanker krijgen. Voor een overzicht van de literatuur over dit onderwerp zij verwezen naar een recent rapport (ILSI95). Als mogelijke oplossing is wel geopperd de toediening van voer te beperken. Naast de voedingstoestand van de dieren is er echter nog een andere mogelijke oorzaak, te weten genetische veranderingen die in de loop der jaren geleidelijk in de voor de chronische proef gebruikte stammen zouden kunnen zijn opgetreden. De commissie ziet voorlopig geen mogelijkheden voor aanbevelingen die de veranderingen teniet kunnen doen die in de loop der tijd zijn waargenomen bij de in de carcinogeniteitsproef gebruikte dieren.

Recent is voorgesteld om de carcinogeniteitsproef voortaan niet meer uit te voeren met beide geslachten van twee diersoorten, maar de proef te beperken tot onderzoek met mannetjes van één diersoort en vrouwtjes van een tweede (Lai94). Dat voorstel is gebaseerd op de waarneming dat een dergelijke beperkte proefopzet qua gevoeligheid

en specificiteit nauwelijks onderdoet voor de oorspronkelijke. De beperkte opzet heeft het voordeel dat tweemaal zoveel potentieel carcinogene stoffen kunnen worden getest met hetzelfde aantal dieren. Dit voordeel weegt volgens de commissie op tegen het nadeel van een klein verlies aan gevoeligheid en specificiteit. Daarom vindt de commissie het verantwoord om de resultaten van carcinogeniteitsproeven met de zojuist genoemde beperkte opzet te betrekken bij haar oordelen.

Er zijn de laatste jaren nieuwe ontwikkelingen op het gebied van de dierproef. Zo bestaan er inmiddels transgene muize- en rattestammen (stammen die in hun erfelijk materiaal een bewust toegevoegd 'extra' gen dragen) met als extra gen een geactiveerd oncogen of een geïnactiveerd tumorsuppressor-gen (Ten95). Daarnaast bestaan transgene stammen die een verminderd vermogen tot herstel van schade aan het DNA bezitten of dat vermogen missen (Nak95, Tsu96, Vri95). De met zulke transgene stammen in de carcinogeniteitsproef verkregen (schaarse) gegevens duiden erop dat de gevoeligheid van een proef met transgene dieren hoger is dan die van een overeenkomstige proef uitgevoerd met 'gewone' dieren. Voor beantwoording van de vraag of een stof kankerverwekkende eigenschappen bezit, zijn daarom minder transgene dieren nodig dan 'gewone'. Een verhoogde gevoeligheid kan echter ook een grotere kans op vals-positieve uitslagen inhouden. Een oordeel hierover is nog niet mogelijk. Dat geldt ook voor de kans op vals-negatieve uitslagen. De commissie vindt het daarom op dit moment nog te vroeg voor concrete aanbevelingen voor gebruik van transgene dieren voor routine-onderzoek van stoffen op kankerverwekkende eigenschappen en het schatten van kankerrisico's. Daarvoor zijn meer gegevens nodig, vooral over de gevoeligheid en de specificiteit van deze technieken. Zij acht transgene dieren wel van groot belang voor het onderzoek naar het ontstaan van kanker en het werkingsmechanisme van kankerverwekkende stoffen.

3.5 Bioactivering en verdedigingsmechanismen

Het menselijk lichaam beschikt over verscheidene mechanismen die het ontstaan van kanker kunnen beïnvloeden. Die mechanismen zijn werkzaam op het niveau van het DNA-molecule. Een van die mechanismen is biotransformatie*. Door biotransformatie kunnen stoffen die zelf niet genotoxisch zijn, worden omgezet in genotoxische metabolieten ('activering'). Maar er zijn ook biotransformatiereacties die het tegenovergestelde bewerkstelligen ('inactivering'). Omzettingen van het eerste type verhogen de kans op het ontstaan van DNA-schade, die van het tweede verlagen deze kans. Of een bepaalde biotransformatiereactie het ontstaan van DNA-schade bevordert of voorkomt, kan van stof tot stof en van reactie tot reactie verschillen. Vaak bestaat

* omzetting van een stof in een andere door een stofwisselingsreactie

het geheel van biotransformatiereacties die een stof in het lichaam ondergaat, uit een combinatie van activerende en inactiverende reacties.

Naast biotransformatie van carcinogene stoffen vinden in het lichaam incidenteel chemische reacties plaats als gevolg waarvan carcinogene stoffen, bijvoorbeeld nitrosamines, kunnen ontstaan. Het ontbreken of wegvangen van één van de aan een dergelijke reactie deelnemende stoffen voorkómt die vorming. Dergelijke reacties oefenen een remmende invloed uit op het ontstaan van DNA-schade.

Een andere mogelijkheid om het ontstaan van DNA-schade te voorkómen bieden anti-oxidanten en ‘radicaal-scavengers’, moleculen die radicalen, reactieve vormen van zuurstof en andere oxiderende moleculen onschadelijk kunnen maken.

De bovengenoemde verdedigingsmechanismen helpen het ontstaan van DNA-schade te beperken. Daarnaast is er een mechanisme dat in actie komt als het DNA ondanks alles toch beschadigd is geraakt, het zogenoemde DNA-herstel: correctie van in het DNA opgetreden veranderingen. Als dergelijke veranderingen in het DNA tijdig worden hersteld, d.w.z. voordat de cel deelt, zal het DNA van de dochtercellen geen mutatie bevatten. DNA-herstel berust op de werking van zogenoemde DNA-herstel-enzymen. Het is bekend dat die enzymen niet 100 procent effectief zijn. Hoe efficiënt ze zijn in het verwijderen van DNA-adducten* van verschillende stoffen of van op andere wijze veroorzaakte veranderingen in het DNA, en hoe efficiënt ze daarin zijn bij verschillende doses *in vivo*, is echter niet bekend. Inmiddels staat wèl vast dat er grote verschillen in effectiviteit bestaan tussen herstel-enzymen en dat die verschillen ten minste voor een deel terug te voeren zijn tot het testsysteem dat is gebruikt voor meting ervan (Bre88). Dit bemoeilijkt algemene conclusies.

Van belang bij het DNA-herstelproces is de tijdsduur die beschikbaar is voor herstel. De laatste jaren is gebleken dat cellen die tijdsduur kunnen regelen. Ze beschikken daartoe over een mechanisme om de celdeling tijdelijk te stoppen en zo de tijd te verlengen waarin herstel-enzymen hun werk kunnen doen. Als dat mechanisme ontregeld raakt, wordt de kans kleiner dat DNA-herstel tijdig plaatsvindt. Voor details wordt de lezer verwezen naar een overzichtartikel (Bat96).

Als de genoemde mechanismen falen en DNA-beschadigingen niet tijdig hersteld zijn, is het aantal en de plaats van de beschadigingen van belang: is de schade zo ernstig dat het overleven van een gemuteerde cel onmogelijk is, dan treedt ‘apoptose’ op: de cel gaat via een daartoe ingebouwd mechanisme dood (Bat96). Apoptose is in wezen het ultieme verdedigingsmechanisme tegen het ontstaan van kanker.

* covalent, d.w.z. door een chemische binding, aan DNA gebonden stof

Er zijn dus verschillende oorzaken van mutaties en verschillende verdedigingsmechanismen. Uiteindelijk bepaalt de balans van blootstellingen en verdedigingsmechanismen de kans op een mutatie. Volgens schattingen treden elke dag in elke cel wellicht 10 000 DNA-beschadigingen op door alle oorzaken tezamen (Ame89, Ame95). Onbekend is hoeveel van die beschadigingen niet tijdig hersteld worden en welke gevolgen die hebben.

Omdat er vrijwel geen gegevens beschikbaar zijn over de bijdrage van de bovengenoemde processen aan het ontstaan van kanker - noch bij de mens noch bij proefdieren, zelfs niet voor een bepaalde genotoxische stof - kan er bij de risicoschatting geen rekening mee worden gehouden. Die bijdrage is overigens wel het onderwerp van veel onderzoek. Bij dat onderzoek kunnen recent beschikbaar gekomen genetisch gemodificeerde dierstammen een rol spelen (zie 3.4).

3.6 Verschillen in de kans op kanker

Niet iedereen heeft dezelfde kans om kanker te krijgen. Dit heeft te maken met verschillen in erfelijke aanleg en met omgevings- en *life style*-factoren (zoals roken en eetgewoonten).

Erfelijke aanleg blijkt in belangrijke mate de kans te bepalen op het optreden van, in elk geval enkele vormen van, kanker (Col95, Mik94, Ros95, Woo94b). Voor die aanleg zijn genen verantwoordelijk die bijvoorbeeld de kans op borstkanker verhogen (Woo94b) en tumorsuppressor-genen met bepaalde mutaties (Cav83, Tog92). De erfelijke aanleg uit zich in het feit dat een drager van een dergelijk gen een grotere kans op kanker heeft dan een niet-drager. Erfelijke aanleg uit zich ook via erfelijk bepaalde 'hoge' en 'lage' activiteit van bepaalde biotransformatiereacties in de bevolking (Car82).

Omgevings- en *life style*-factoren hebben ook invloed op de kans op kanker. Het totaal van deze factoren verschilt van individu tot individu. Als gevolg hiervan varieert de kans op kanker binnen de bevolking. Maar de variatie in de bevolking die het gevolg is van de verschillen in de genoemde factoren is vermoedelijk relatief klein vergeleken met de door erfelijke aanleg bepaalde verschillen (Cap95, Eat95, Fle94, Slo95).

Het effect van omgevings- en *life style*-factoren kan tot uitdrukking komen in variatie in de activiteit van onder meer enzymen die verantwoordelijk zijn voor DNA-herstel en biotransformatie. Het is echter ook denkbaar dat het effect van die factoren juist wordt beïnvloed door bestaande verschillen in de activiteit van dergelijke enzymen. De variatie in de activiteit kan overigens van enzym tot enzym verschillen en dus verschillend zijn voor verschillende typen DNA-schade en biotransformatiereacties (Car82, Nak91, Pet91a). Bij biotransformatie van een

carcinogeen zijn vaak verscheidene activerende en de-activerende enzymen betrokken; voor elk daarvan geldt dat hun activiteit spreiding binnen de bevolking kent. De bijdrage van biotransformatie aan de gevoeligheid van een individu voor door blootstelling aan stoffen veroorzaakte kanker wordt dus bepaald door de balans van alle voor omzetting van een stof relevante biotransformatieprocessen. Die balans kan van individu tot individu verschillen en van stof tot stof.

Een bijzonder aspect van de invloed van biotransformatie op de gevoeligheid voor kanker is dat blootstelling aan stoffen de activiteit van biotransformatie-enzymen kan beïnvloeden. Er bestaan namelijk erfelijk bepaalde verschillen in de mate waarin de activiteit van een enzym door stoffen kan worden verhoogd (Mar95, Pet91a, Sap95). Dit aspect illustreert hoe complex de samenhang is tussen de verschillende factoren die de gevoeligheid van een individu voor kanker bepalen.

De laatste jaren is weliswaar meer inzicht verkregen in de oorzaken van variatie in de kans op kanker te krijgen in de bevolking, maar dat inzicht is nog te beperkt om algemene regels te kunnen geven voor verwerking van die variatie in de methode van schatting van het risico dat verbonden is met blootstelling aan kankerverwekkende stoffen.

3.7 Relevantie van de dierproef voor de mens

Een belangrijke aanname bij de risico-evaluatie van stoffen is dat de uitkomst van een dierproef betekenis heeft voor de mens. De recent gesignaleerde overeenkomst tussen de resultaten van proeven met ratten en met muizen (Gra95) maakt aannemelijk dat een dergelijke overeenkomst ook geldt voor proefdier en mens. Er zijn echter uitzonderingen bekend, gevallen waarin op goede gronden van deze aanname wordt afgeweken. Een dergelijke uitzondering doet zich bijvoorbeeld voor als de biotransformatiereacties waarmee carcinogenen worden omgezet in metabolieten, tussen mens en dier verschillen. Een dergelijk verschil kan zich in principe voordoen bij zowel genotoxische als niet-genotoxische carcinogenen. Een andere uitzondering heeft betrekking op verschillen in werkingsmechanisme van niet-genotoxische carcinogenen. Voor een aantal niet-genotoxische carcinogenen is uit gegevens over het werkingsmechanisme gebleken dat de in de dierproef gevonden kanker ontstaat via een mechanisme dat wel bij de betreffende diersoort maar niet bij de mens werkt (Coh95b). Voorbeelden hiervan uit de groep van de door de commissie beoordeelde stoffen zijn 1,4-dichloorbenzeen en dichloormethaan. De bij met 1,4-dichloorbenzeen behandelde mannetjesratten gevonden niertumoren ontstaan via een mechanisme dat bij de mens geen rol speelt (GR93a). In het geval van dichloormethaan worden de bij muizen waargenomen levertumoren veroorzaakt door metabolieten van

dichloormethaan die ontstaan als gevolg van biotransformatiereacties waarover de mens slechts in zeer geringe mate beschikt (GR87b). Uit deze voorbeelden blijkt dat gegevens over het ontstaansmechanisme van de door een stof bij proefdieren veroorzaakte tumoren cruciaal zijn voor de beoordeling van de kans op kanker als gevolg van blootstelling van de mens aan die stof.

3.8 Wiskundige modellen en methoden voor extrapolatie

Een verbetering van de risicoschatting valt te verwachten van het gebruik van een biokinetisch model, doorgaans aangeduid met de Engelse term *physiologically-based pharmacokinetic (pbpk) model*, in combinatie met een risicoschattingsmodel. Een biokinetisch model is een wiskundige beschrijving van het verband tussen de blootstelling van een organisme in zijn geheel, ook wel uitwendige blootstelling genoemd, en de blootstelling in het orgaan waarin kanker (of een ander schadelijk effect) optreedt. Biokinetisch modellen zijn specifiek voor een stof. Het grote belang ervan is dat de toepassing tot een nauwkeuriger schatting van het risico voor de mens kan leiden (And87). Een nadeel van dergelijke modellen ligt op het praktische vlak: voor zo'n model zijn veel gegevens over de kinetiek van de stof *in vivo* nodig. Voor vele stoffen ontbreken die gegevens.

Een andere voor de risico-evaluatie relevante ontwikkeling heeft plaatsgevonden op het gebied van de wiskundige modellen die gebruikt worden voor de beschrijving van het verband tussen de dosis en het effect. Celdeling werd in het verleden niet in modellen opgenomen die dat verband voor kanker beschrijven, al werd dit proces wel beschouwd als een belangrijk vereiste voor het ontstaan van tumoren (Cla81, Sch79). Inmiddels is celdeling wel verwerkt in dergelijke modellen. Het gaat hier om modellen die een beschrijving van het ontstaan van kanker bevatten (Moo81, Moo89). Deze modellen zijn specifiek voor een bepaald soort kanker. Zij kunnen echter (nog) niet worden gebruikt voor de risicoschatting van stoffen, omdat toepassing ervan kennis vereist van de waarde van een groot aantal parameters en die kennis voor afzonderlijke stoffen doorgaans ontbreekt. In de toekomst kunnen modellen als deze, met een gedetailleerde biologische basis, wellicht een nauwkeuriger schatting opleveren van het risico bij lage blootstellingen.

Voorlopig kunnen de risico's voor verreweg de meeste stoffen dus alleen worden geschat met eenvoudiger methoden, die maar weinig gegevens vereisen. Voor een overzicht van relatief eenvoudige, in de praktijk gehanteerde methoden verwijst de commissie naar enkele publicaties (Moo94, Why92). Voor de methode die de commissie voorstaat, geldt ook dat toepassing ervan weinig gegevens vereist. Nodig zijn gegevens over de dosis en de bijbehorende respons (de fractie van de onderzochte

groep die (extra) tumoren vertoont) en gegevens die uitsluitel geven over de aanwezigheid van genotoxische eigenschappen (zie hoofdstuk 2).

Er zijn inmiddels meer mogelijkheden. Recent voorgestelde methoden zijn bijvoorbeeld die van Maynard en collega's (May95), Gaylor en Gold (Gay95), Krewski en collega's (Kre91) en Evans en collega's (Eva94). De eerstgenoemden stellen een methode voor die veel overeenkomst vertoont met de door de commissie aanbevolen benadering. Het meest in het oog springende punt van overeenkomst is de tweedeling van carcinogene stoffen voor de risicoschatting in genotoxische en niet-genotoxische. Het belangrijkste punt van verschil is dat Maynard en collega's, hoewel ze het ontbreken van een drempel voor de werking van genotoxische stoffen theoretisch mogelijk achten, voorstellen om een praktische drempel af te leiden uit de beschikbare gegevens. Zij noemen die drempel voor genotoxische carcinogenen 'No expected human effect level (NEHEL)'. De commissie vindt het verstandiger om voorzichtigheidshalve uit te gaan van het ontbreken van een drempel.

De methode van extrapolatie die Krewski en collega's voorstellen, is slechts gebaseerd op één aanname: dat er bij lage doses sprake is van een lineair verband tussen dosis en respons (Kre91). Het karakteristieke van die methode is dat de bovengrens van het betrouwbaarheidsinterval van de respons bij doses die de respons niet significant verhogen, wordt gebruikt voor de schatting van de helling van de dosis-responscurve in het lage-dosisgebied.

Bij de methode van Evans en collega's wordt de blootstelling bij een bepaald risico geschat met een waarschijnlijkheidsverdeling die het verband weergeeft tussen de kans op kanker en de blootstelling. De methode maakt gebruik van het oordeel van deskundigen en een beslisboom. Zij heeft als bijzonderheid dat zij een aspect verdisconteert dat bij andere methoden buiten beschouwing blijft: de onzekerheid die verbonden is met verschillen in oordeel tussen deskundigen. De commissie vindt de methode theoretisch interessant, maar te onpraktisch voor routinematige toepassing.

De benadering van Gaylor en Gold is een relatief ruwe risicoschattingsmethode, bedoeld voor stoffen waarover (heel) weinig gegevens beschikbaar zijn. Zij komt neer op schatting van de blootstelling waarbij de kans op kanker één per miljoen is, door deling van de *maximum tolerated dose* (zie 3.4) door 740 000; de auteurs gaan met deze methode voorbij aan het verschil in mechanisme tussen genotoxische en niet-genotoxische carcinogenen. De commissie is het wel eens met hun voorstel om de methode te gebruiken voor het stellen van prioriteiten, d.w.z. om te bepalen welke stoffen het gevaarlijkst lijken en daarom (met voorrang) in aanmerking komen voor carcinogeniteitsproeven, onderzoek naar het werkingsmechanisme en risicoschatting.

Onzekerheid

4.1 Het begrip onzekerheid

Het oordeel dat stoffen al dan niet carcinogene eigenschappen bezitten en de schatting van het risico van blootstelling aan als carcinogeen beoordeelde stoffen zijn behept met onzekerheid. Onzekerheid kan in dit verband het beste worden omschreven als de onbekendheid die het gevolg is van het ontbreken van gegevens over de werkelijkheid: gegevens die óf niet verkrijgbaar zijn óf in principe wel verkrijgbaar, maar niet beschikbaar. Zij kan ook het gevolg zijn van onbekende natuurlijke variatie en onvermijdelijke toevalsfluctuaties.

4.2 Bronnen van onzekerheid

Er zijn verschillende bronnen van onzekerheid in risicoschattingen. Finkel onderscheidt parameteronzekerheid, modelonzekerheid en natuurlijke variatie (Fin90).

Parameteronzekerheid is het gevolg van meetfouten, willekeurige fouten en/of systematische fouten. Meetfouten zijn onvermijdelijke fouten die optreden bij de meting van numerieke waarden, ze leveren de meest voorkomende bijdragen aan de parameteronzekerheid.

Willekeurige fouten, ook wel toevallige fouten of steekproeffouten genoemd, zijn inherent aan uitspraken die men doet op grond van een beperkt aantal waarnemingen (de steekproef). De werkelijke waarde van de te meten grootte zal door deze fouten

afwijken van de uit de steekproef te schatten waarde. Er zijn statistische methoden beschikbaar om de hieruit voortvloeiende onzekerheid te kwantificeren. De steekproeffout is kleiner naarmate de steekproef groter is.

Systematische fouten (bias) zijn fouten die, onder meer, kunnen optreden als de steekproef niet representatief is. In tegenstelling tot een steekproeffout wordt een systematische fout niet kleiner door een grotere steekproef.

Modelonzekerheid heeft betrekking op de onzekerheid omtrent de methode die het gevolg is van het gebruik van surrogaatvariabelen, uitgesloten variabelen en abnormale omstandigheden, alsmede van de geschiktheid van het gebruikte model.

Vereenvoudigingen van de werkelijkheid zijn onvermijdelijk in elk model.

Een surrogaatvariabele vervangt de variabele die men eigenlijk wil, maar niet kan meten. Een uitgesloten variabele is een variabele die niet is onderzocht maar die wel bijdraagt aan het effect. Het effect van een uitgesloten variabele kan pas achteraf worden vastgesteld en niet meer worden gecorrigeerd.

Het probleem van de afwijkende omstandigheden heeft betrekking op de mate van generaliseerbaarheid van een model. Tussen afwijkende omstandigheden en uitgesloten variabelen bestaat slechts een gradueel verschil: afwijkende omstandigheden zijn zo zeldzaam, dat het niet zinvol is om ze in het model op te nemen; als die omstandigheden zich voordoen is het model niet van toepassing.

Met natuurlijke variatie wordt in dit rapport bedoeld de variatie die inherent is aan het systeem dat wordt onderzocht. Natuurlijke variatie is onvermijdelijk.

4.3 De onzekerheid in de schatting van het kankerrisico

Om een goed beeld te krijgen van de onzekerheid in schattingen van het kankerrisico is het noodzakelijk om de twee fasen van de risicoschatting te onderscheiden: de kwalitatieve en de kwantitatieve. In de kwalitatieve fase wordt beoordeeld of een stof kankerverwekkende en genotoxische eigenschappen bezit (*hazard identification*). Als kankerverwekkende eigenschappen aan de stof worden toegeschreven, wordt in de kwantitatieve fase de eigenlijke ‘extrapolatie’ (*dose-response assessment*) uitgevoerd.

In de kwalitatieve fase worden de beschikbare *in vitro*-gegevens, dierproefgegevens en epidemiologische gegevens geïnventariseerd en beoordeeld. Als de conclusie luidt dat de stof in kwestie carcinogeen is voor mens of dier, wordt op basis van de resultaten van o.a. genotoxiciteitstests (GR95a) en tests voor detectie van DNA-adducten vastgesteld of de stof al dan niet genotoxisch is. De uitkomst van die vaststelling bepaalt welke extrapolatiemethode geschikt wordt geacht voor de kwantitatieve fase (zie hoofdstuk 2).

In de kwantitatieve fase vindt dan risicoschatting plaats met de op grond van de kwalitatieve fase gekozen methode (zie hoofdstuk 2). De risicoschatting wordt bij voorkeur uitgevoerd met de gegevens afkomstig van een daarvoor geschikt bevonden epidemiologisch onderzoek; als dat ontbreekt wordt de meest geschikt geachte dierproef gebruikt.

4.3.1 Gegevens en de daarmee verbonden onzekerheden

A Epidemiologische gegevens

Bij de beoordeling van de uitkomsten van epidemiologisch onderzoek naar het verband tussen blootstelling aan een stof en kanker moet rekening worden gehouden met de bijdrage van een aantal factoren aan de onzekerheid in de risicoschatting (Bou95). Bij een cohort-onderzoek, het voor vaststelling van een verband tussen blootstelling aan stoffen en kanker meest geschikte type epidemiologische onderzoek, wordt het 'relatieve risico' geschat, dit wil zeggen het quotiënt van het risico van de blootgestelde groep en dat van de controlegroep, bijvoorbeeld in de vorm van de Standardised Mortality Ratio (SMR). Factoren die bijdragen aan de onzekerheid in de SMR zijn onder meer:

- het gekozen eindpunt (primaire kankerdiagnose of kankersterfte)
- de waargenomen incidentie van de primaire kankerdiagnose (of kankersterfte)
- de werkelijke kankerincidentie (of kankersterfte)
- de werkelijke blootstelling
- misclassificatie van de blootstelling*
- schatting van de blootstelling (kwantitatief)
- de tijd die verloopt tussen het begin van de blootstelling en het optreden van kanker of de dood ten gevolge van kanker
- de vergelijkbaarheid van de onderzochte groepen
- het optreden van effectmodificatie.

De eerste zeven factoren dragen bij aan de steekproeffout voor een bepaalde combinatie van blootstelling en incidentie. De laatste twee factoren uit de bovenstaande opsomming, de vergelijkbaarheid van de onderzochte groepen en effectmodificatie, kunnen bronnen van systematische fouten zijn en worden hierna achtereenvolgens besproken.

* Iemand die is blootgesteld wordt beschouwd als niet blootgesteld, of omgekeerd.

De vergelijkbaarheid van de onderzochte groepen wordt negatief beïnvloed door de volgende factoren:

- verstorende variabelen (Engelse term: *confounders*)
- verschillen in variatie (m.b.t. gevoeligheid voor kanker)
- verschillen in de vaststelling van het effect of de blootstelling in de onderzochte populaties
- clusterbias.

Een verstorende variabele (*confounder*) veroorzaakt vertekening van het empirisch gevonden verband tussen een bepaalde risicofactor en het ontstaan van de bestudeerde aandoening (Bou95). Een factor is in een onderzoek werkzaam als verstorende variabele wanneer die factor zelf een risicofactor is voor de aandoening in kwestie en in het onderzoek ongelijk blijkt te zijn verdeeld over de groepen met en zonder de risicofactor waarvan men het effect wil bestuderen. Verstorende variabelen kunnen tot onder- of overschatting van het risico leiden (Day85). Een voorbeeld van een verstorende variabele is een verschil in rookgedrag tussen de blootgestelden en de controles in een onderzoek naar het verband tussen de blootstelling aan een bepaalde stof en het optreden van longkanker. Een ander voorbeeld van verstoring doet zich voor als de blootgestelde groep ook was blootgesteld aan een andere stof die als carcinogeen bekend staat ('co-expositie'). Een derde voorbeeld is een verschil in variatie in gevoeligheid voor het effect van een carcinogeen binnen de vergeleken groepen, de blootgestelde groep en de controlegroep.

Verstoring wordt meestal tot de groep van de systematische fouten gerekend. Het hangt van de variabele af, of voor de betreffende systematische fout kan worden gecorrigeerd. Is dit niet het geval, dan is de verstorende variabele in wezen een uitgesloten variabele. Bij het eerste en het laatste voorbeeld is correctie voor de verstorende variabele mogelijk mits voldoende gegevens beschikbaar zijn over de verstorende variabele, bij het tweede voorbeeld is correctie niet mogelijk en laat het onderzoek geen conclusie toe over de oorzaak van de kanker.

Als de onderzochte groepen niet vergelijkbaar zijn, is een systematische fout het gevolg. De mate van vergelijkbaarheid bepaalt dan de grootte van de betreffende systematische fout. Een voorbeeld van een dergelijke systematische fout is het *healthy worker effect*, dat vaak optreedt als de algemene bevolking als controlegroep voor blootgestelde werknemers wordt gebruikt (Mei89). Het komt tot uiting in de SMR voor totale mortaliteit. Het *healthy worker effect* kan zich voordoen als de gezondheidstoestand van de onderzochte werknemers verschilt van die van de algemene bevolking, als gevolg van bijvoorbeeld selectie bij de aanstellingskeuring. Het leidt in de meeste gevallen tot onderschatting van het (relatieve) risico. In een analyse van 260 cohortonderzoeken naar het verband tussen blootstelling aan stoffen

en het optreden van ziekten waaronder kanker, is die onderschatting gemiddeld 16% gebleken (Mei89). Het effect kan worden vermeden door gebruik van een ‘interne’ controlegroep in plaats van de algemene bevolking (Arr94).

Er is ook sprake van een systematische fout als de wijze van vaststelling van het effect of de blootstelling niet in alle onderzochte groepen hetzelfde is. Men zou deze fouten echter ook tot de meetfouten kunnen rekenen.

Clusterbias is een andere oorzaak van een systematische fout. Een cluster is een verzameling van een ongewoon groot aantal soortgelijke aandoeningen in een omschreven gebied, periode of populatie, waarbij een gemeenschappelijke oorzaak wordt verondersteld (Dri89). Epidemiologisch onderzoek dat wordt uitgevoerd naar aanleiding van het optreden van een cluster, moet in principe onafhankelijk van dat cluster, dus elders worden gedaan. Als dit niet gebeurt, kan overschatting van het risico het gevolg zijn. De grootte van de bijdrage van clusterbias aan de onzekerheid in een risicoschatting is niet bekend voor afzonderlijke stoffen. Het is wel mogelijk om clusterbias als zodanig te herkennen in de resultaten van een gepubliceerd onderzoek: het optreden ervan blijkt uit de onderzoeksopzet.

Tabel 2 Door roken veroorzaakte modificatie van het effect van blootstelling aan asbest op longkanker.^a

	geen blootstelling aan asbest	wel blootstelling aan asbest	verschil
niet-rokers	11 ^b	58	47
rokers	120	590	470

^a bron: Che89

^b aantal sterfgevallen door longkanker per 100 000 persoonjaren

Effectmodificatie treedt op wanneer twee factoren beide het te meten effect kunnen veroorzaken en de grootte van het effect van de ene factor afhangt van de andere (de effectmodifier) (Bou95). Als een effectmodifier niet onderzocht is, is het een uitgesloten variabele en kan de invloed van die variabele op het risico niet worden bepaald. Afhankelijk van de richting van de werking van de effectmodifier leidt effectmodificatie tot onder- of overschatting van het risico. Een bekend voorbeeld van effectmodificatie is de door roken veroorzaakte modificatie van het longkankerrisico dat met blootstelling aan asbest geassocieerd is. Tabel 2 toont de gegevens. Het met asbest geassocieerde risico in de rokersgroep is groter dan dat in de niet-rokersgroep. Een deel van dat risico komt echter voor rekening van de combinatie van roken en blootstelling aan asbest. Als het geheel aan asbest zou worden toegeschreven, zou het longkankerrisico van asbest overschat worden.

B Carcinogeniteitsonderzoek met proefdieren

B1 De uitkomst van de carcinogeniteitsproef

Bij de interpretatie van de resultaten van een carcinogeniteitsproef kunnen onder meer de volgende variabelen bijdragen aan de onzekerheid:

- de grootte van de intervallen tussen de geteste doses
- de grootte van de groepen
- de waargenomen tumorincidentie
- de werkelijke tumorincidentie
- de achtergrondincidentie (incidentie in de controlegroep).

Enkele andere bronnen van onzekerheid zijn:

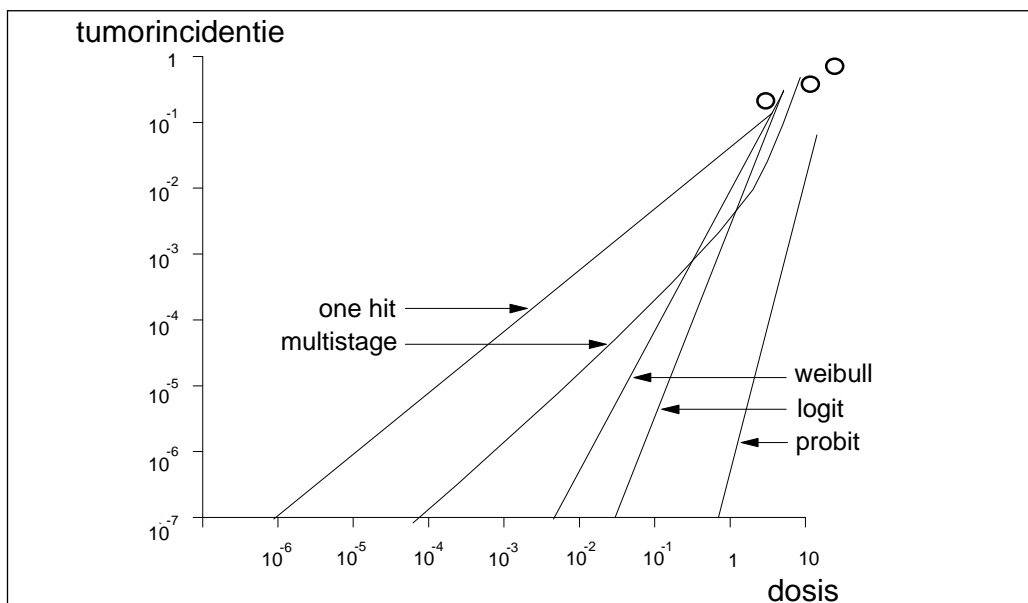
- de relevantie van de proef voor de mens (blootstellingsroute, mechanisme)
- verschil in gevoeligheid tussen diersoorten
- verschil in gevoeligheid tussen mannetjes- en vrouwtjesdieren
- de soort(en) tumoren die met een carcinogene stof in verband worden gebracht
- verschil in gevoeligheid van een diersoort voor verschillende typen tumoren.

B2 De betekenis van de uitkomst van een carcinogeniteitsproef voor de mens

Een belangrijke onzekerheid is of een stof die carcinogeen is bij proefdieren, dit ook is bij de mens. Men neemt voorzichtigheidshalve aan dat dat zo is zolang het tegendeel niet is bewezen. Die aanname is gebaseerd op het empirische feit dat stoffen die carcinogeen bij de mens zijn bevonden, dit ook bij proefdieren blijken te zijn.

Een andere belangrijke oorzaak van onzekerheid met betrekking tot de relevantie van de dierproef is de onbekendheid van het mechanisme dat ten grondslag ligt aan de tumorvorming. In vele gevallen is het mechanisme noch bij de mens noch bij proefdieren bekend; in die gevallen wordt aangenomen dat er geen verschil in mechanisme is. Als het ontstaansmechanisme bekend is en niet van toepassing bij de mens, beschouwt de commissie de tumoren die in de dierproef zijn waargenomen als niet relevant. Dit is het geval bij bijvoorbeeld de in 3.7 genoemde, door 1,4-dichloorbenzeen bij de rat veroorzaakte niertumoren (GR93a).

De betekenis van een dierproef voor de mens is onzeker als er sprake is van een niet voor de mens relevante proefopzet. Dit is bijvoorbeeld het geval wanneer de mens niet is blootgesteld via de in een dierproef toegepaste route. Als de route irrelevant is voor de mens, hebben de dierproefgegevens geen betekenis voor hem. Dit is naar de mening van de commissie en die van de Commissie WGD van de Gezondheidsraad het geval bij intraperitoneale injectie van bepaalde typen minerale kunstvezels, omdat de



Figuur 3 Schematische weergave van de extrapolatie met vijf verschillende methoden (naar Cot86, HMSO91). X-as: dosis (mg per kg lichaamsgewicht); Y-as: tumorincidentie (dimensieloos); (o) waarneming (vrijwel altijd tussen 10^{-1} en 1). De weergegeven extrapolatiemethoden zijn gebaseerd op wiskundige formules die worden gebruikt om het verband tussen de dosis en de tumorincidentie te beschrijven in het gehele dosisgebied, dus zowel het gebied waarin de waarnemingen liggen ('hoge-dosisgebied'), als dat waarnaar geëxtrapoleerd wordt ('lage-dosisgebied'). De methode van de commissie wordt het best benaderd door de meest linkse curve.

mens via inhalatie, en niet via injectie, aan dergelijke vezels wordt blootgesteld (GR95b, GR95c).

Als er een verschil in gevoeligheid is tussen diersoorten of tussen mannetjes- en vrouwtjesdieren, wordt de extrapolatie uitgevoerd met de gegevens van de gevoeligste soort respectievelijk het gevoeligste geslacht.

C Gegevens over het werkingsmechanisme

De conclusie die uit de gegevens over het werkingsmechanisme (gegevens uit genotoxiciteitstests en gegevens over vorming van DNA-adducten) kan worden getrokken, is afhankelijk van het aantal en het type uitgevoerde tests en de kwaliteit ervan. De commissie volstaat hier met op te merken dat de conclusie over het werkingsmechanisme kwantitatieve gevolgen heeft. Die gevolgen zouden uitblijven als er geen verschil was in de wijze van risicoschatting tussen genotoxische en niet-genotoxische carcinogenen. De conclusie over het werkingsmechanisme wordt getrokken op basis van goed omschreven criteria (GR95a). Bij onvolledige dan wel

onbetrouwbare gegevens over het werkingsmechanisme vindt de commissie het verstandig om voorzichtigheidshalve van stochastische werking uit te gaan.

4.3.2 *Extrapolatie*

Er zijn twee stappen: extrapolatie van hoge naar lage blootstelling (zie hoofdstuk 2) en van dier naar mens, dan wel van de onderzochte groep personen naar de doelgroep.

Een belangrijke bron van onzekerheid is gelegen in de methode van extrapolatie van hoge naar lage blootstelling. In figuur 3 zijn enige methoden weergegeven die alle een lineaire extrapolatie impliceren; daarin komen zij overeen met de methode van de commissie voor stochastisch werkende genotoxische carcinogenen. De figuur laat zien dat de keuze van de methode voor lineaire extrapolatie de uitkomst van de risicoschatting sterk beïnvloedt: de met de weergegeven methoden berekende blootstellingen die overeenkomen met een gegeven (laag) risico, verschillen ordes van grootte. Bij bijvoorbeeld een risico van 1 op 10^6 gaat het - bij de voor het weergegeven verloop van de curves gekozen waarden van de parameters in de wiskundige formules - om 5 ordes van grootte tussen de uitersten.

Verificatie van extrapolatiemethoden, met name gericht op de 'juistheid' bij lage blootstellingen, is onmogelijk. Naarmate men het effect van een lagere dosis wil onderzoeken, zijn namelijk grotere aantallen dieren nodig en de blootstelling van de mens is doorgaans zo laag dat extreem grote aantallen proefdieren voor verificatie nodig zouden zijn. Niettemin zijn enkele proeven uitgevoerd waarin genotoxische carcinogenen werden toegediend aan ongebruikelijk grote aantallen dieren (Coh90b, Gay79, Pet91). Daardoor konden de laagste onderzochte doses aanzienlijk lager zijn dan in een 'standaard'-carcinogeniteitsproef, zij het nog altijd hoger dan de blootstelling van de mens. De proeven hebben de lineariteit van de respons bij de onderzochte doses aannemelijk gemaakt voor enkele, maar niet alle, soorten tumoren. Het testen van nog lagere doses is niet haalbaar wegens de daarvoor benodigde aantallen dieren.

Dat stochastisch werkende genotoxische carcinogenen geen lineariteit bij lage doses zouden kennen, maar een drempel, wordt wel op theoretische gronden aangenomen (zie b.v. May95). Verondersteld wordt, onder meer, dat beneden een bepaalde dosis

- een dergelijk carcinogeen in het lichaam zó snel in niet-genotoxische metabolieten zou worden omgezet dat DNA-schade niet op kan treden
- het carcinogeen zou worden weggevangen door binding aan andere moleculen dan DNA, zoals eiwitten
- herstel van DNA-schade volledig zou zijn.

Pas bij een dosis die zo hoog is dat deze beschermende mechanismen ‘overvraagd’ worden, een drempeldosis dus, zou een kwaadaardige tumor ontstaan. Tot de naar voren gebrachte theoretische argumenten voor een drempel behoren ook argumenten die betrekking hebben op het cellulaire niveau, bijvoorbeeld dat wel een tumor(cel) ontstaat, maar dat die wordt opgeruimd door het immuunsysteem en dat er meer dan één stap nodig is voor progressie tot een kwaadaardige tumor. Deze argumenten hebben dus betrekking op latere fasen in de carcinogenese dan de eerder genoemde. Hoewel de commissie meent dat de genoemde beschermende mechanismen wel degelijk een rol kunnen spelen, acht ze hun bijdrage te onzeker om het bestaan van een op die mechanismen gebaseerde drempel aan te nemen. Zij merkt hierbij op dat, als haar aannames fout zijn, het kankerrisico meevalt: het is dan lager dan uit die aannames volgt.

Bij de extrapolatie van dier naar mens spelen verscheidene onzekerheden een rol. Voor de meeste carcinogenen is niet bekend of een bepaalde uitwendige blootstelling bij mens en proefdier tot dezelfde biologisch effectieve dosis (dosis in het orgaan waarin het effect optreedt) leidt. Voor die carcinogenen wordt aangenomen dat een gelijke uitwendige blootstelling tot een gelijke biologisch effectieve dosis leidt. Of die aanname tot onderschatting of overschatting leidt, is niet bekend en is afhankelijk van de stof.

Een andere bron van onzekerheid bij de extrapolatie van dier naar mens betreft de vraag of mens en proefdier blootstaan aan een even grote achtergrondbelasting met carcinogene, met name tumor-promoverende, stoffen. Als de mens blootstaat aan meer tumor-promoverende stoffen dan het proefdier, kan dezelfde dosis van een genotoxisch carcinogeen bij de mens tot een hogere kankersterfte leiden. In dat geval zou schatting op basis van een dierproef leiden tot onderschatting van het risico voor de mens. Als het omgekeerde het geval is, zou het tot overschatting leiden. De commissie constateert dat de mens weliswaar blootstaat aan tumor-promotoren waaraan proefdieren niet blootgesteld worden, zoals tabaksrook en alcohol, maar dat een uitspraak over een eventueel verschil in blootstelling aan tumor-promotoren vergelijking vereist van het totaal aan promoverende stoffen waaraan mens en proefdier blootstaan. Dat totaal is echter noch voor de mens, noch voor proefdieren bekend. Verdiscontering van een mogelijk verschil in achtergrondblootstelling aan carcinogenen tussen de mens en proefdieren is dus niet mogelijk.

Extra onzekerheid ontstaat als omrekening van de ene blootstellingsroute naar de andere nodig is, omdat de route van toediening aan de proefdieren verschilt van de route van blootstelling van de mens. Deze omrekening is alleen gerechtvaardigd als het op grond van de biokinetiek van de stof aannemelijk is dat de stof via beide routes hetzelfde orgaan bereikt en daar tumoren veroorzaakt (zie ook 4.3.1).

Een andere belangrijke bron van onzekerheid wordt gevormd door mogelijke verschillen in voedingstoestand tussen mens en proefdier. Gezien het effect van overvoeding op de kans op kanker, zou men verschillen in voedingstoestand tussen mens en proefdier eigenlijk moeten verdisconteren in de op dierproeven gebaseerde risicoschatting. De betekenis van de voedingstoestand voor het kankerrisico is onderkend (zie 3.4), maar toepassing van die kennis bij de risicoschatting is niet mogelijk, omdat gegevens ontbreken waaruit afgeleid kan worden of verschillen in voedingstoestand tussen mens en proefdier bestaan en zo ja, hoe die in de risicoschatting verdisconteerd zouden kunnen worden.

Tot slot verdienen potentiële verschillen in gevoeligheid voor kanker aandacht als bron van onzekerheid bij de extrapolatie van dier naar mens. Op dergelijke verschillen heeft een aantal aannames betrekking. Het gaat hierbij om aannames over verschillen in gemiddelde gevoeligheid voor een carcinogeen tussen soorten, en om spreiding in de gevoeligheid binnen een soort. Als binnen een soort subgroepen onderscheiden worden, kan er in principe ook nog sprake zijn van verschillen in de gemiddelde gevoeligheid van, en in de spreiding van de gevoeligheid binnen, de subgroepen.

Het is niet bekend of de mens en het proefdier (gemiddeld) even gevoelig zijn voor een bepaald carcinogeen. Als regel wordt gelijke gevoeligheid aangenomen. Als een stof bij meer dan één diersoort carcinogeen is gebleken en die soorten vertonen een verschil in gevoeligheid, wordt veiligheidshalve aangenomen dat de mens even gevoelig is als de gevoeligste diersoort. Deze aanname is, voorzover te overzien valt, voldoende voorzichtig, want de schaarse gegevens die beschikbaar zijn over verschillen in gevoeligheid tussen mens en dier geven geen aanleiding om aan te nemen dat de mens gevoeliger is dan de gevoeligste diersoort (All88, Cru89, Goo91, GR78).

In het geval van epidemiologische gegevens over het verband tussen blootstelling aan stoffen en kanker is extrapolatie van de onderzochte groep mensen naar de doelgroep nodig. Die groepen kunnen qua samenstelling verschillen; veel voorkomende verschillen in samenstelling betreffen leeftijd of geslacht. De onderzochte groep bestaat vaak uit (mannelijke) werknemers. De doelgroep kan bijvoorbeeld bestaan uit de algemene bevolking, zoals in het geval van milieuvreemde stoffen, of uit werknemers als het gaat om stoffen in de arbeidssfeer. Bij de extrapolatie speelt de onzekerheid die verbonden is met verschillen in spreiding tussen de onderzochte groep en de doelgroep een grote rol. Er zijn geen aanwijzingen voor verschillen in gemiddelde gevoeligheid en spreiding van de gevoeligheid tussen verschillende bevolkingsgroepen (bijvoorbeeld tussen mannen en vrouwen of tussen leeftijdsgroepen) voor wat betreft kanker als gevolg van blootstelling aan stoffen. Daarom wordt veelal aangenomen dat dergelijke verschillen niet bestaan.

Uitzonderingen op deze regel zijn bekend, bijvoorbeeld bij typen tumoren waarbij bepaalde hormoonreceptoren een cruciale rol spelen.

4.3.3 *Publicatiebias*

Bij de beoordeling van de beschikbare gegevens speelt een onzekerheid een rol die nog niet eerder genoemd is, namelijk de onzekerheid die het gevolg is van publicatiebias. Publicatiebias kan in principe optreden bij elk soort onderzoek. De term staat voor de systematische fout die het gevolg is van het niet publiceren van de resultaten van onderzoek. Veelal gaat het hierbij om onderzoek met negatieve uitkomsten, d.w.z. onderzoek dat geen aanwijzingen heeft opgeleverd dat er sprake is van een verhoogde kans op kanker. Publicatiebias leidt derhalve in de meeste gevallen tot overschatting van het risico. De commissie vermoedt dat deze vorm van bias het meest optreedt bij epidemiologisch onderzoek. Rapportages over epidemiologisch onderzoek met negatieve uitkomsten worden niet altijd aangeboden voor publicatie of, als dit wel gebeurt, vaak niet voldoende ‘interessant’ gevonden voor publicatie. Daarentegen worden de uitkomsten van carcinogeniteitsproeven, positieve én negatieve, doorgaans wel gepubliceerd om onnodige herhaling van dergelijke (kostbare) proeven te voorkómen; internationale instanties als het ‘International Agency for Research on Cancer (IARC)’ houden goed bij voor welke stoffen carcinogeniteitsproeven lopen en welke uitkomst ze opleveren. De bijdrage van publicatiebias aan de onzekerheid voor afzonderlijke stoffen is niet bekend.

4.3.4 *Berekening van de steekproeffout*

Steekproeffouten in de uitkomsten van carcinogeniteitsproeven en epidemiologisch onderzoek worden verschillend berekend, omdat de blootstelling sterk verschilt: de geteste doses in een carcinogeniteitsproef zijn zo hoog dat er geen lineair verband meer hoeft te bestaan tussen kans en dosis, wat bij de bij de mens optredende blootstellingen doorgaans wel het geval is. Voor de uitvoering van een carcinogeniteitsproef en de statistische verwerking van de resultaten ervan, waarover vergaande internationale consensus bestaat, verwijst de commissie naar twee overzichtspublicaties (Gar86, Pet80).

De commissie illustreert de berekening van de steekproeffout aan de hand van gegevens over benzeen. Zij heeft in dit geval de resultaten van een epidemiologisch onderzoek lineair geëxtrapoleerd (GR87a). De lineaire extrapolatie heeft opgeleverd dat levenslange blootstelling aan 0,65 µg benzeen per m³ lucht leidt tot één extra sterfgeval door acute non-lymfatische leukemie op de miljoen sterfgevallen. De onzekerheid in die schatting wordt tot uitdrukking gebracht in een interval waarvan dat

punt deel uitmaakt. Voor de berekening van het betreffende interval verwijst de commissie naar bijlage C. Het heeft als ondergrens 0,32 en als bovengrens 2,59 µg benzeen per m³ lucht.

4.3.5 *Nadere beschouwing risico-evaluatie*

Het oordeel over de kankerverwekkende en genotoxische eigenschappen en de schatting van het kankerrisico zijn behept met onzekerheid. Aan die onzekerheid dragen allerlei factoren bij, zoals het ontbreken van gegevens, de kwaliteit van de beschikbare gegevens, incomplete kennis van biologische verschijnselen, en wetenschappelijke oordelen om gebrek aan kennis te overbruggen. De bijdrage van de meeste factoren is niet in een getal uit te drukken. Van één factor waarvoor dat wel kan is dit met een voorbeeld gedaan (zie 4.3.4).

De commissie gaat bij voorkeur uit van epidemiologische gegevens, mits die gegevens voldoende betrouwbaar zijn. Voor criteria die dienstig kunnen zijn voor beoordeling van de betrouwbaarheid van conclusies uit epidemiologische gegevens verwijst zij naar een publicatie van Hill (Hil65). Als epidemiologische gegevens het uitgangspunt zijn, vervalt een van de belangrijkste (kwalitatieve) onzekerheden verbonden aan de dierproef: de onzekerheid of een stof die carcinogeen werkt bij proefdieren dat ook doet bij de mens. Het beschikbaar zijn van adequate epidemiologische gegevens betekent dat ook andere onzekerheden vervallen, zoals in de kwantitatieve fase de onzekerheid verbonden met een (mogelijk) verschil in gevoeligheid tussen mens en dier, dat bij gebruik van dierproefgegevens verdisconteerd zou moeten worden. Daar komen echter andere onzekerheden voor in de plaats, zoals de onzekerheid in de feitelijke blootstelling, die bij epidemiologisch onderzoek groter is dan bij dierexperimenteel onderzoek. Deze onzekerheid is een van de belangrijkste bij risicoschatting op basis van epidemiologische gegevens; de feitelijke blootstelling moet meestal achteraf worden geschat op basis van gebrekkige informatie.

Als epidemiologische gegevens ontbreken of van onvoldoende kwaliteit zijn, moeten dierproefresultaten worden gebruikt. In dat geval bestaat onzekerheid of een stof die carcinogeen is bij proefdieren, dit ook is bij de mens. Men neemt aan dat dat zo is zolang het tegendeel niet bewezen is. Die aanname is gebaseerd op het empirische feit dat stoffen die carcinogeen bij de mens zijn bevonden, ook carcinogeen bij proefdieren blijken te zijn. Bij extrapolatie van dierproefgegevens speelt nog een andere onzekerheid een belangrijke rol: de onzekerheid die het gevolg is van het gebruik van gegevens verkregen met doses die aanzienlijk hoger zijn dan die waaraan de mens is blootgesteld.

Als ook gegevens afkomstig uit carcinogeniteitsproeven ontbreken, is er één situatie waarin de commissie een oordeel over de carcinogeniteit van een stof desalniettemin verantwoord vindt. Die situatie doet zich voor wanneer *in vivo*-genotoxiciteitstests (twee tests gericht op verschillende organen (GR95a)) zijn verricht en minstens één daarvan positief is, met andere woorden wanneer de stof genotoxisch *in vivo* is gebleken. In dat geval vindt de commissie het verstandig om voorzichtigheidshalve van carcinogeniteit uit te gaan (GR95a). In dat geval kan echter het (mogelijke) kankerrisico niet gekwantificeerd worden, omdat gegevens afkomstig van onderzoek dat beperkt is tot *in vivo*-genotoxiciteitstests, kwantificering van dat risico niet toelaten. Alleen gegevens afkomstig van de chronische dierproef laten kwantificering toe. Als ook gegevens afkomstig van *in vivo*-genotoxiciteitstests geheel of grotendeels ontbreken en slechts gegevens afkomstig van *in vitro*-tests beschikbaar zijn, vindt de commissie een uitspraak over het bezit van kankerverwekkende eigenschappen niet verantwoord, omdat zij de kans op een foute conclusie dan te groot vindt.

Tot slot zij opgemerkt dat ook onzekerheid is verbonden met enkele nog niet genoemde factoren, zoals beoordeling van de kwaliteit en het (relatieve) belang van onderzoeken en met de invloed van gelijktijdige blootstelling aan andere stoffen.

Slotbeschouwing

De belangrijkste conclusie van de commissie is dat de in 1978 door een commissie van de Gezondheidsraad voorgestelde tweedeling van carcinogene stoffen voor de risicoschatting op grond van het mechanisme steun vindt in de recente resultaten van onderzoek naar de wijze waarop kanker ontstaat. Die tweedeling was gebaseerd op de toen beschikbare, beperkte kennis over de ontstaanswijze van kanker. In dit verband ziet de commissie de ontdekking van en het verkregen inzicht in de werking en functie van oncogenen als één van de belangrijkste ontwikkelingen in het kankeronderzoek. Hierdoor hebben namelijk het *multistage*-model en het initiatie-promotiemodel nadere experimentele en moleculair-epidemiologische onderbouwing gekregen.

De bedoelde ontwikkelingen geven haar ook geen aanleiding de methode van risicoschatting te wijzigen. De methode die de commissie voorstaat, is relatief eenvoudig. Ze vereist gegevens over de blootstelling en de bijbehorende respons (de fractie van de onderzochte groep die (extra) tumoren vertoont), gegevens die uitsluitel geven over de aan- dan wel afwezigheid van genotoxische eigenschappen en, bij gebleken aanwezigheid van dergelijke eigenschappen, ook gegevens over het mechanisme van de genotoxische werking. Zoals in hoofdstuk 2 uiteen is gezet, berust de methode op aannames over het al dan niet stochastisch karakter van de werking van carcinogenen. Die aannames hebben betrekking op de werking van carcinogenen op moleculair niveau.

Van de voor de risicoschatting benodigde gegevens zijn die over het mechanisme van de genotoxische werking in enkele gevallen van cruciale betekenis gebleken. Voor enkele door de commissie als carcinogenen met genotoxische eigenschappen

beoordeelde stoffen heeft zij namelijk op grond van dergelijke gegevens geconcludeerd dat ze *niet-stochastisch* werken: arseen- en cadmiumverbindingen (zie hoofdstuk 2). De toepassing van lineaire extrapolatie voor genotoxische carcinogenen zou in die gevallen naar de mening van de commissie geen recht doen aan de gegevens over het werkingsmechanisme.

De commissie onderscheidt daarom de volgende categorieën carcinogenen:

- 1 genotoxische carcinogenen
 - a stochastisch werkende
 - b niet-stochastisch werkende
- 2 niet-genotoxische carcinogenen.

Voor categorie 1a acht zij lineaire extrapolatie de meest geschikte methode van risicoschatting, voor de categorieën 1b en 2 berekening van een drempelwaarde.

De tweedeling van carcinogene stoffen voor de risicoschatting was in 1978 nog niet gangbaar; inmiddels is zij breder aanvaard (EPA96, HMSO91, Moo94, NRC94). Controversieel was destijds de aanname dat de werking van niet-genotoxische carcinogenen een drempel kent.

Men mag uit het bovenstaande niet concluderen dat de genoemde tweedeling van carcinogenen inmiddels onomstreden is. Het bestaan van een drempelwaarde voor niet-genotoxische carcinogenen is nog steeds onderwerp van discussie (zie b.v. Hoe94, Moo94, Why92). Ook de geschiktheid van de lineaire extrapolatie voor de risicoschatting van stochastisch werkende genotoxische carcinogenen is omstreden (zie b.v. Hoe94).

De commissie heeft in hoofdstuk 4 de onzekerheden besproken die een rol spelen bij de risicoschatting van kankerverwekkende stoffen. Die onzekerheden berusten onder meer op toevalsvariatie en tekortschietend inzicht. Van die twee vormt tekortschietend inzicht de belangrijkste oorzaak van onzekerheid. Tekortschietend inzicht is het gevolg van het ontbreken van (een deel van) de benodigde gegevens. Hierbij gaat het om het ontbreken van algemene gegevens die inzicht verschaffen in het ontstaan van kanker, alsmede van specifieke gegevens die nodig zijn voor de risicoschatting van afzonderlijke stoffen. Het ontbreken van de eerste komt tot uitdrukking in de aannames waarop kankermodellen en de daarvan afgeleide methoden voor risicoschatting zijn gebaseerd; deze vorm van onzekerheid werkt door in alle met die methoden uitgevoerde risicoschattingen. De onzekerheid die het gevolg is van tekortschietend inzicht kan worden geïllustreerd met vergelijking van een aantal methoden voor risicoschatting: de keuze van de methode blijkt grote getalsmatige gevolgen voor de uitkomst van de schatting te hebben. Het ontbreken van voor een stof specifieke

gegevens leidt er, vanzelfsprekend, toe dat de mate van onzekerheid van stof tot stof kan verschillen.

De commissie wijst erop dat haar lineaire methode voor stochastisch werkende genotoxische carcinogenen een zeer veilige is. Dat wil zeggen dat die methode, die is gebaseerd op de aanname van *one-hit*-kinetiek bij lage blootstelling, een hoge schatting van het risico bij lage blootstelling oplevert, of met andere woorden, een lage schatting van de blootstelling die overeenkomt met een bepaald, vooraf gegeven risico (Cot86, Hoe94, Sie94).

Ter compensatie van het ontbreken van gegevens zijn aannames nodig. Voor vele van de voor de risicoschatting benodigde aannames is het veiligste alternatief gekozen. Vermoedelijk vindt ook daarom grote overschatting van het risico plaats. Onderschatting kan echter niet geheel worden uitgesloten. De mate waarin het risico wordt overschat, valt echter niet aan te geven. Die hangt namelijk niet alleen af van de aannames, maar ook van het werkelijke risico - en dat is juist onbekend.

Risicoschattingmethoden waarin meer details over het ontstaan van kanker zijn verwerkt, vereisen aanzienlijk meer gegevens over een stof dan de in dit rapport beschreven benadering. Die gegevens ontbreken echter voor verreweg de meeste stoffen. Dit betekent niet dat dergelijke methoden geen wetenschappelijk nut hebben. Het betekent wel dat zij (nog) niet kunnen worden gebruikt voor de risicoschatting van carcinogene stoffen. De in dit rapport beschreven benadering kent dit bezwaar niet, omdat zij weinig gegevens over een stof vereist en eenvoudig is toe te passen. Vanwege haar eenvoud en veiligheid voldoet zij naar de mening van de commissie goed voor het vigerende stoffenbeleid van de overheid, dat als doel heeft de bevolking te beschermen tegen te hoge blootstelling aan als schadelijk voor de gezondheid beoordeelde stoffen.

In het licht van de nieuwe gegevens over de ontstaanswijze van kanker en de rol van stoffen daarbij, alsmede in het licht van de gegeven onzekerheden, acht de commissie, zoals gezegd, handhaving van de in 1978 voorgestelde benadering raadzaam. Op grond van de opgedane ervaring laat zij de mogelijkheid open om in specifieke gevallen van de methode af te wijken als de gegevens daartoe aanleiding geven. De commissie verwacht dat het in de toekomst in toenemende mate mogelijk zal zijn alternatieve methoden voor de risicoschatting toe te passen, als de daarvoor benodigde gegevens over een stof beschikbaar zijn.

Tot slot wijst de commissie nog op enkele punten. Voor categorie 1a bepleit zij puntschatting van het blootstellingsniveau dat overeenkomt met een gegeven kankerincidentie. De berekening van een betrouwbaarheidsinterval bij de puntschatting voor blootstelling aan benzeen (bijlage C) dient slechts ter illustratie van de invloed

van de steekproefonzekerheid op een puntschatting. Zoals uiteen is gezet, is bij de meeste aannames die nodig zijn voor de risicoschatting, het veiligste alternatief gekozen, met als gevolg dat een puntschatting ruim voldoende veiligheid garandeert. Ter vergelijking: de bijdrage van de onzekerheid over de juistheid van de methode van extrapolatie aan de onzekerheid in de risicoschatting is vele malen (ordes van grootte) groter (zie hoofdstuk 4).

De commissie meent dat de chronische dierproef nodig blijft voor beoordeling van het kankerrisico van afzonderlijke stoffen als geen of onvoldoende epidemiologische gegevens beschikbaar zijn. Zoals in hoofdstuk 4 uiteen is gezet, is een aantal onzekerheden verbonden aan het gebruik van dierproefgegevens voor de beoordeling van het kankerrisico van stoffen. Tot de belangrijkste behoren de vragen of een diercarcinogeen ook carcinogeen is bij de mens, en of de dosis-responsrelatie bij mens en dier hetzelfde is. In de meeste gevallen zijn de antwoorden op beide vragen niet bekend en wordt een bevestigend antwoord veiligheidshalve aangenomen. De commissie wijst erop dat het in principe mogelijk is dat een stof die niet carcinogeen is gebleken bij proefdieren, wel degelijk carcinogeen is bij de mens als bij de mens een mechanisme een rol speelt dat bij de gebruikte proefdieren ontbreekt.

Tenslotte merkt de commissie op dat de door haar voorgestane aanpak gericht is op afzonderlijke stoffen. In de praktijk wordt de mens echter blootgesteld aan vele stoffen tegelijk, zowel stoffen met positieve als stoffen met negatieve effecten op de gezondheid - die bovendien afkomstig zijn uit verschillende bronnen. De methode biedt echter geen mogelijkheid om rekening te houden met de invloed van gelijktijdige blootstelling aan andere stoffen op het risico van blootstelling aan een afzonderlijke stof. De commissie meent dat dit een belangrijke oorzaak is van onzekerheid, die nader onderzoek behoeft.

Rijswijk, 18 december 1996,
voor de commissie

dr ir PW van Vliet
secretaris

prof. dr GJ Mulder
voorzitter

Literatuur

-
- Aar91 Aaronson SA. Growth factors and cancer. *Science* 1991; 254: 1146-53.
- All88 Allen B, Crump K, Shipp A. Carcinogenic potencies of chemicals in animals and humans. *Risk Anal* 1988; 8: 531-44.
- Ame83 Ames BN. Dietary carcinogens and anticarcinogens. *Science* 1983; 221: 1256-64.
- Ame89 Ames BN. Mutagenesis and carcinogenesis: endogenous and exogenous factors. *Environ Mol Mut* 1989; 16: 66-77.
- Ame90a Ames BN, Swirsky-Gold L. Too many rodent carcinogens: mitogenesis increases mutagenesis. *Science* 1990; 249: 970-1.
- Ame90b Ames BN, Swirsky-Gold L. Chemical carcinogenesis: too many rodent carcinogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7772-6.
- Ame90c Ames BN, Profet M, Swirsky-Gold L. Dietary pesticides (99.99% all natural). *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7777-81.
- Ame95 Ames BN, Gold LS, Willett WC. The causes and prevention of cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 5258-65.
- And87 Andersen ME, Clewell HJ, Gargas ML, e.a. Physiologically based pharmacokinetics and the risk assessment process for methylene chloride. *Toxicol Appl Pharmacol* 1987; 87: 185-205.
- Arm57 Armitage P, Doll R. A two-stage theory of carcinogenesis in relation to the age distribution of human cancer. *Br J Cancer* 1957; 9: 161-9.
- Arr94 Arrighi HM, Hertz-Picciotto I. The evolving concept of the healthy worker survivor effect. *Epid* 1994; 5: 189-96.
- Bat96 Bates S, Vousden KH. P53 in signaling checkpoint arrest or apoptosis. *Curr Opin Genet Dev* 1996; 6: 12-8.
-

- Bod92 Bodner SM, Minna JD, Jensen SM, e.a. Expression of mutant p53 proteins in lung cancer correlates with the class of p53 gene mutation. *Oncogene* 1992; 743-9.
- Bos92 Bos JL, van Kreijl CF. Genes and gene products that regulate proliferation and differentiation: critical targets in carcinogenesis. *IARC Sci Publ* 1992; 116: 57-65.
- Bou95 Bouter LM, van Dongen MCJM. *Epidemiologisch onderzoek. Opzet en interpretatie*. Derde, herziene druk. Houten/Antwerpen: Bohn Stafleu Van Loghum, 1995.
- Bra91 Brash DE, Rudolph JA, Simon JA, e.a. A role for sunlight in skin cancer: UV-induced p53 mutations in squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 10124-8.
- Bre88 Brent TP, Dolan ME, Fraenkel-Conrat H e.a. Repair of O-alkylpyrimidines in mammalian cells: a present consensus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 1759-62.
- Bro95 Bronner MP, Culin C, Reed JC, e.a. The bcl-2 proto-oncogene and the gastrointestinal epithelial tumor progression model. *Am J Pathol* 1995; 146: 20-6.
- But90 Butterworth BE. Consideration of both genotoxic and nongenotoxic mechanisms in predicting carcinogenic potential. *Mutat Res* 1990; 239: 117-32.
- But95 Butterworth BE, Conolly RB, Morgan KT. A strategy for establishing mode of action of chemical carcinogens as a guide for approaches to risk assessments. *Cancer Lett* 1995; 93: 129-46.
- Cap95 Caporaso N, Goldstein A. Cancer genes: single and susceptibility: exposing the difference. *Pharmacogenetics* 1995; 5: 59-63.
- Car82 Cartwright RA, Glashan RW, Rogers HJ, e.a. Role of N-acetyltransferase phenotypes in bladder carcinogenesis: a pharmacogenetic epidemiological approach to bladder cancer. *Lancet* 1982; ii: 842-6.
- Cav83 Cavenee WK, Dryja TP, Phillips RA, e.a. Expression of recessive alleles by chromosomal mechanisms in retinoblastoma. *Nature* 1983; 305: 779-84.
- Cha94 Cha RS, Thilly WG, Zarbl H. N-nitroso-N-methylurea-induced rat mammary tumors arise from cells with preexisting oncogenic Hras gene mutations. *Proc-Natl-Acad-Sci USA* 1994; 91: 3749-53.
- Cho92 Cho KR, Vogelstein B. Suppressor gene alterations in the colorectal adenoma-carcinoma sequence. *J Cell Biochem* 1992; 166: 137-41.
- Cla81 Clayson DB. Carcinogens and carcinogenesis enhancers. *Mutat Res* 1981; 86: 217-29.
- Cla91 Clayson DB, Iverson F, Mueller R. An appreciation of the maximum tolerated dose: an inadequate precise decision point in designing a carcinogenesis bioassay. *Teratogen Carcinogen Mutagen* 1991; 11: 279-96.
- Coh90a Cohen SM, Ellwein LB. Cell proliferation in carcinogenesis. *Science* 1990; 249: 1007-11.
- Coh90b Cohen SM, Ellwein LB. Proliferative and genotoxic cellular effects in 2-acetylaminofluorene bladder and liver carcinogenesis: biological modelling of the ED01 study. *Appl Pharmacol* 1990; 104: 79-93.
- Coh95a Cohen SM. Human relevance of animal carcinogenicity studies. *Regul Toxicol Pharmacol* 1995; 21: 75-86.
- Coh95b Cohen SM, Lawson TA. Rodent bladder tumors do not always predict for humans. *Cancer Lett* 1995; 93: 9-16.
- Col95 Collins N, McManus R, Wooster R, e.a. Consistent loss of the wild type allele in breast cancers from a family linked to the BRCA2 gene on chromosome 13q12-13. *Oncogene* 1995; 10: 1673-5.
-

- Cor91 Corominas M, Sloan SR, Leon J, e.a. Ras activation in human tumors and in animal model systems. *Environ Health Perspect* 1991; 93: 19-25.
- Cot86 Cothorn CR. Techniques for the assessment of carcinogenic risk due to drinking water contaminants. *CRC Crit Rev Environmental Control* 1986; 16: 357-99.
- Cou95 Counts JL, Goodman JI. Alterations in DNA methylation may play a variety of roles in carcinogenesis. *Cell* 1995; 83: 13-5.
- Cru76 Crump KS, Hoel DG, Langley CH, e.a. Fundamental carcinogenic processes and their implications for low dose risk assessment. *Cancer Res* 1976; 36: 2973-9.
- Cru89 Crump K, Allen B, Shipp A. Choice of a dose measure for extrapolating carcinogenic risk from animals to humans: an empirical investigation of 23 chemicals (with discussion). *Health Phys* 1989; 57 (Suppl.1): 387-93.
- Day85 Day NE. Statistical considerations. In: Wald NJ, Doll R, Eds. *Interpretation of negative epidemiological evidence for carcinogenicity*. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC), 1985: 13-27. (IARC Scientific publications no. 65).
- Don95 Donis-Keller H. The RET proto-oncogene and cancer. *J Intern Med* 1995; 238: 319-25.
- Dri89 Drijver M. Ziekteclusters in relatie tot milieuverontreiniging. In: Stumpel-ARJ, van-den-Doel-R. *Medische milieukunde*. Utrecht: Bohn, Scheltema en Holkema, 1989: 423-43.
- Dys89 Dyson N, Howley PM, Harlow E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 1989; 243: 934-7.
- Eat95 Eaton DL, Gallagher EP, Bammler TK, e.a. Role of cytochrome P4501A2 in chemical carcinogenesis: implications for human variability in expression and enzyme activity. *Pharmacogenetics* 1995; 5: 259-74.
- Emm77 Emmelot P, Scherer E. Multi-hit kinetics of tumor formation, with special reference to experimental liver and human lung carcinogenesis and some general conclusions. *Cancer Res* 1977; 37: 1702-8.
- EPA96 Environmental Protection Agency (EPA). Proposed guidelines for carcinogen risk assessment. Washington DC: Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, 1996; publicatie nr EPA/600/P-92/003C.
- Esh95 Eshleman JR, Lang EZ, Bowerfind GK, e.a. Increased mutation rate at the Hprt locus accompanies microsatellite instability in colon cancer. *Oncogene* 1995; 10: 33-7.
- Eva94 Evans JS, Gray GM, Sielken RL Jr, e.a. Use of probabilistic expert judgment in uncertainty analysis of carcinogenic potency. *Regul Toxicol Pharmacol* 1994; 20: 15-36.
- Fea90 Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990; 61: 759-67.
- Fin90 Finkel AM. *Confronting uncertainty in risk management*. Washington: Center for risk management, Resources for the future, 1990.
- Fle94 Fleming CM, Persad R, Kaisary A, e.a. Low activity of dapsone N-hydroxylation as a susceptibility risk factor in aggressive bladder cancer. *Pharmacogenetics* 1994; 4: 199-207.
- Gar86 Gart JJ, Krewski D, Lee PN, e.a. *Statistical methods in cancer research. Volume III. The design and analysis of long-term animal experiments*. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC), 1986. (IARC publications No.79).
- Gay79 Gaylor DW. The ED01 study: Summary and conclusions. *J Environ Pathol Toxicol* 1979; 3: 179-83.
-

- Gay95 Gaylor DW, Gold LS. Quick estimate of the regulatory virtually safe dose based on the maximum tolerated dose for rodent bioassays. *Regul Toxicol Pharmacol* 1995; 22: 57-63.
- Goo91 Goodman G, Wilson R. Predicting the carcinogenicity of chemicals in humans from rodent bioassay data. *Environ Health Persp* 1991; 94: 195-218.
- GR78 Gezondheidsraad: Commissie Beoordeling carcinogeniteit van chemische stoffen. Advies inzake de beoordeling van carcinogeniteit van chemische stoffen. Rijswijk: Gezondheidsraad, 1978; publicatie nr 1978/19.
- GR85 Gezondheidsraad: Commissie Uitgangspunten voor normstelling. Uitgangspunten voor normstelling. De inzichtelijke opbouw van advieswaarden voor niet-mutagene, niet-carcinogene en niet-immunotoxische stoffen. Den Haag: Gezondheidsraad, 1985; publicatie nr 1985/31.
- GR87a Gezondheidsraad. Benzeen. Toetsing van een basisdocument en voorstel risico-evaluatie. Den Haag: Gezondheidsraad, 1987; publicatie 1987/14.
- GR87b Gezondheidsraad. Dichloormethaan. Toetsing van een ontwerp-basisdocument. Den Haag: Gezondheidsraad 1987; publicatie nr 1987/28.
- GR88 Gezondheidsraad: Commissie Beoordeling carcinogeniteit van chemische stoffen. Advies inzake de beoordeling van carcinogeniteit van chemische stoffen II. Den Haag: Gezondheidsraad, 1988; publicatie nr 1988/04.
- GR93a Gezondheidsraad: Commissie Risico-evaluatie van stoffen. Chloorbenzenen. Toetsing van een basisdocument. Den Haag: Gezondheidsraad, 1993; publicatie nr 1993/07.
- GR93b Gezondheidsraad: Commissie Risico-evaluatie van stoffen. Arseen. Toetsing van een basisdocument. Den Haag: Gezondheidsraad, 1993; publicatie nr 1993/02.
- GR94 Health Council of the Netherlands: Committee on the Evaluation of the Carcinogenicity of Chemical Substances. Risk assessment of carcinogenic chemicals in the Netherlands. *Regul Toxicol Pharmacol* 1994; 19: 14-30.
- GR95a Gezondheidsraad: Commissie Beoordeling carcinogeniteit van stoffen. Betekenis van mutageniteitstests. Den Haag: Gezondheidsraad, 1995; publicatie nr 1995/20.
- GR95b Gezondheidsraad: Commissie Beoordeling carcinogeniteit van stoffen. Minerale kunstvezels. Den Haag: Gezondheidsraad, 1995; publicatie nr 1995/18.
- GR95c Health Council of the Netherlands: Dutch Expert Committee on Occupational Standards (DECOS). Man Made Mineral Fibers (MMMMF). The Hague: Health Council of the Netherlands, 1995; publication no 1995/02WGD.
- GR96 Gezondheidsraad: Commissie Afleiding gezondheidkundige advieswaarden. Toxicologische advieswaarden voor blootstelling aan stoffen. Rijswijk: Gezondheidsraad, 1996; publicatie nr 1996/12.
- Gra91 Grasso P, Sharratt M. Role of persistent, non-genotoxic tissue damage in rodent cancer and relevance to humans. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1991; 31: 253-87.
- Gra95 Gray GM, Li P, Shlyakhter P, e.a. An empirical examination of factors influencing prediction of carcinogenic hazard across species. *Regul Toxicol Pharmacol* 1995; 22: 283-91.
- Gre92 Green S, Tugwood JD, Issemann I. The molecular mechanism of peroxisome proliferator action: a model for species differences and mechanistic risk assessment. *Toxicol Lett* 1992; 64-65 (Spec no): 131-9.
-

- Hen91 Henderson BE, Ross RK, Pike MC. Toward the primary prevention of cancer. *Science* 1991; 254: 1131-8.
- Hil65 Hill AB. Environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med* 1965; 58: 295-300.
- HMSO91 Department of Health. Committee on Carcinogenicity of chemicals in food, consumer products and the environment. Guidelines for the evaluation of chemicals for carcinogenicity. Londen: Her Majesty's Stationary Office, 1991. (Report on Health and Social Subjects nr. 42).
- Hoe88 Hoel DG, Haseman JK, Hogan MD, e.a. The impact of toxicity on carcinogenicity studies: implications for risk assessment. *Carcinogenesis* 1988; 9: 2045-52.
- Hoe94 Hoel DG, Portier CJ. Nonlinearity of dose-response functions for carcinogenicity. *Environ Health Perspect* 1994; 102: 109-13.
- ILSI95 International Life Sciences Institute (ILSI). Dietary restriction: Implications for the design and interpretation of toxicity and carcinogenicity studies. Washington, DC: ILSI Press, 1995.
- Isa85 Isaacs JT. Determination of the number of events required for mammary carcinogenesis in the Sprague-Dawley female rat. *Cancer Res* 1985; 45: 4827-32.
- Kit95 Kitahori Y, Naito N, Koninshi N, e.a. Frequent mutations of Ki-ras codon 12 in N-bis(2-hydroxypropyl)-nitrosamine-initiated thyroid, kidney and lung tumors in Wistar rats. *Cancer Lett* 1995; 96: 155-61.
- Kre91 Krewski D, Gaylor D, Szyszkowicz M. A model-free approach to low-dose extrapolation. *Environ Health Perspect* 1991; 90: 279-85.
- Lai94 Lai DY, Baetcke KP, Vu VT, e.a. Evaluation of reduced protocols for carcinogenicity testing of chemicals: report of a joint EPA/NIEHS workshop. *Regul Toxicol Pharmacol* 1994; 19: 183-201.
- Lev94 Levy DB, Smith KJ, Beazer-Barclay Y, e.a. Inactivation of both APC alleles in human and mouse tumors. *Cancer Res* 1994; 54: 5989-96.
- Lin93 Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 1993; 362: 709-15.
- Loe89 Loeb LA. Endogenous carcinogenesis: molecular oncology into the twenty-first century - presidential address. *Cancer Res* 1989; 49: 5489-96.
- Lut90 Lutz WK. Dose-response relationship and low dose extrapolation in chemical carcinogenesis. *Carcinogenesis* 1990; 11: 1243-7.
- Mar83 Maronpot RR. NTP Technical report on the carcinogenesis bioassay of ethyl acrylate in rats and mice. Research Triangle Park: NTP, 1983; NTP Tech Rep 259.
- Mar95 Martinez C, Agundez JAG, Olivera M, e.a. Lung cancer and mutations at the polymorphic NAT2 gene locus. *Pharmacogenetics* 1995; 5: 207-14.
- May95 Maynard RL, Cameron KM, Fielder R, e.a. Setting air quality standards for carcinogens: an alternative to mathematical quantitative risk assessment - discussion paper. *Human Exper Toxicol* 1995; 14: 175-86.
- Mei89 Meijers JMM, Swaen GMH, Volovics A, e.a. Occupational cohort studies: the influence of design characteristics on the healthy worker effect. *Int J Epid* 1989; 18: 970-5.
- Mik92 Miki Y, Nishisho I, Miyoshi Y, e.a. Interstitial loss of the same region of 5q in multiple adenomas and a carcinoma derived from an adenomatous polyposis coli (APC) patient. *Genes Chromosom Cancer* 1992; 4: 81-3.
-

- Mik94 Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, e.a. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 1994; 266: 66-71.
- Mil85 Miller RR, Young JT, Kociba RJ, e.a. Chronic toxicity and oncogenicity bioassay of inhaled ethyl acrylate in Fischer-344 rats and B6C3F1 mice. *Drug Chem Toxicol* 1985; 8: 1-42.
- Moo81 Moolgavkar SH, Knudson AG Jr. Mutation and cancer: a model for human carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 1981; 66: 1037-52.
- Moo89 Moolgavkar SH, Dewanji A, Luebeck G. Cigarette smoking and lung cancer: reanalysis of the British doctors' data. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81: 416-20.
- Moo94 Moolenaar RJ. Carcinogen risk assessment: international comparison. *Regul Toxicol Pharmacol* 1994; 20: 302-36.
- Nak91 Nakachi K, Imai K, Hayachi S, e.a. Genetic susceptibility to squamous cell carcinoma of the lung in relation to cigarette smoking dose. *Cancer Res* 1991; 51: 5177-80.
- Nak95 Nakane H, Takeuchi S, Yuba S e.a. High incidence of ultraviolet-B- or chemical-carcinogen-induced skin tumours in mice lacking the xeroderma pigmentosum group A gene. *Nature* 1995; 377: 165-8.
- NRC93 National Research Council (NRC). *Issues in risk assessment*. Washington, DC: National Academy Press, 1993.
- NRC94 National Research Council (NRC). *Science and judgment in risk assessment*. Washington, DC: National Academy Press, 1994.
- NRC96 National Research Council (NRC). *Carcinogens and anticarcinogens in the human diet: a comparison of naturally occurring and synthetic substances*. Washington, DC: National Academy Press, 1996.
- OECD81 OECD. *Guideline 451 for testing of chemicals: carcinogenicity studies (adopted 12.05.81)*. Parijs: OECD, 1981.
- Ozt91 Ozturk M, Bressac MS, Puisieux MS, e.a. P53 mutation in hepatocellular carcinoma after aflatoxin exposure. *Lancet* 1991; ii: 1356-9.
- Pet80 Peto R, Pike M, Day N, e.a. Guidelines for simple, sensitive significance tests for carcinogenic effects in long term animal experiments. In: *IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals on humans, supplement 2*. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1980: 311-426.
- Pet91a Petersen DD, McKinney CE, Ikeya K, e.a. Human CYP1A1 gene: cosegregation of the enzyme inducibility phenotype and an RFLP. *Am J Hum Genet* 1991; 48: 720-5.
- Pet91b Peto R, Gray R, Brantom P, e.a. Effects on 4080 rats of chronic ingestion of N-nitrosodiethylamine or N-nitrosodimethylamine: a detailed dose-response study. *Cancer Res* 1991; 51: 6415-51.
- Pol90 van de Poll ML, van der Hulst DA, Tates AD, e.a. Correlation between clastogenicity and promotion activity in liver carcinogenesis by N-hydroxy-2-acetylaminofluorene, N-hydroxy-4'-fluoro-4-acetylaminobiphenyl and N-hydroxy-4-acetylaminobiphenyl. *Carcinogenesis* 1990; 11: 333-9.
- Pol92 van de Poll MLM, Lafleur MVM, van Gog F, e.a. N-acetylated and deacetylated 4'-fluoro-4-aminobiphenyl and 4-aminobiphenyl adducts differ in their ability to inhibit DNA replication of single-stranded X174 in *Escherichia coli*. *Carcinogenesis* 1992; 13: 751-8.
-

- Pre90 Preston-Martin S, Pike MC, Ross RK, e.a. Increased cell division as a cause of human cancer. *Cancer Res* 1990; 50: 7415-21.
- Roe89 Roe FJC. Non-genotoxic carcinogenesis: implications for testing and extrapolation to man. *Mutagenesis* 1989; 4: 407-11.
- Ros95 Rossel M, Schuffenecker I, Schlumberger M, e.a. Detection of a germline mutation at codon 918 of the RET proto-oncogene in French MEN 2B families. *Hum Genet* 1995; 95: 403-6.
- Sal89 Salsburg D. Does everything "cause" cancer: an alternative interpretation of the "carcinogenesis" bioassay. *Fundam Appl Toxicol* 1989; 13: 351-8.
- Sap95 Proceedings of the 14th Sapporo Cancer Seminar on genetic polymorphism and cancer susceptibility. *Pharmacogenetics* 1995; 5: S59-171.
- Sch79 Scherer E, Emmelot P. Multihit kinetics of tumor cell formation and risk assessment of low doses of carcinogen. In: Griffin AC, Shaw CR, red. *Carcinogens: identification and mechanisms of action*. New York: Raven Press, 1979: 337-64.
- Sch90 Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, e.a. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 1990; 63: 1129-36.
- Sie94 Sielken RJ, Stevenson DE. Another flaw in the linearized multistage model. Upper bounds on human cancer potency. *Regul Toxicol Pharmacol* 1994; 19: 106-14.
- Slo95 Slone DH, Gallagher EP, Ramsdell HS, e.a. Human variability in hepatic glutathione S-transferase-mediated conjugation of aflatoxin B1-epoxide and other substrates. *Pharmacogenetics* 1995; 5: 224-33.
- Suc91 Suchy B, Zietz C, Rabes HM. K-ras point mutations in human colorectal carcinoma. Relation to aneuploidy and metastasis. *Int J Cancer* 1991; 52: 30-3.
- Ten91 Tennant RW, Elwell MR, Spalding JW, e.a. Evidence that toxic injury is not always associated with induction of chemical carcinogenesis. *Mol Carcinogen* 1991; 4: 420-40.
- Ten95 Tennant RW, French JE, Spalding JW. Identifying chemical carcinogens and assessing potential risk in short-term bioassays using transgenic mouse models. *Environ Health Perspec* 1995; 103: 942-50.
- Tog92 Toguchida J, Yamaguchi T, Dayton SH, e.a. Prevalence and spectrum of germline mutations of the p53 gene among patients with sarcoma. *N Engl J Med* 1992; 326: 1301-8.
- Tsu96 Tsuzuki T, Sakumi K, Shiraishi A, e.a. Targeted disruption of the DNA repair methyltransferase gene renders mice hypersensitive to alkylating agents. *Carcinogenesis* 1996; 17: 1215-20.
- Ver92 Verma IM, Inoue J, Kerr LD, e.a. Oncogenes as transcription factors: implications for signal transduction. *Prog Clin Biol Res* 1992; 376: 41-59.
- Vog88 Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, e.a. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *New Engl J Med* 1988; 319: 525-32.
- Vog93 Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer. *Trends Genet* 1993; 9: 138-41.
- Vri95 de Vries A, van Oostrom C-Th M, Hofhuis FMA e.a. Increased susceptibility to ultraviolet-B and carcinogens of mice lacking the DNA excision repair gene XPA. *Nature* 1995; 377: 169-73.
- Wei91 Weinstein IB. Mitogenesis is only one factor in carcinogenesis. *Science* 1991; 251: 387-8.
-

- Why92 Whysner J, Williams GM. International cancer risk assessment: the impact of biologic mechanisms. *Regul Toxicol Pharmacol* 1992; 15: 41-50.
- Win95 de Wind N, Dekker M, Berns A, e.a. Inactivation of the mouse Msh2 gene results in mismatch repair deficiency, methylation tolerance, hyperrecombination, and predisposition to cancer. *Cell* 1995; 82: 321-30.
- Woo94a Wooster R, Cleton-Jansen AM, Collins N, e.a. Instability of short tandem repeats (microsatellites) in human cancers. *Nat Genet* 1994; 6: 152-6.
- Woo94b Wooster R, Neuhausen SL, Mangion TQ, e.a. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. *Science* 1994; 265: 2088-90.

A De vragen

B De commissie

C De bijdrage van de steekproefvariabiliteit aan de onzekerheid
in de uitkomsten van 'lineaire extrapolatie': een rekenvoorbeeld

Bijlagen

De vragen

Op 27 oktober 1993 schreef de voorzitter van de Gezondheidsraad aan de Commissie Beoordeling carcinogeniteit van stoffen:

In 1978 en 1988 hebben commissies van de Gezondheidsraad advies uitgebracht over de algemene uitgangspunten voor de beoordeling van de carcinogeniteit van chemische stoffen. Sinds haar instelling in 1985 heeft Uw commissie de kankerverwekkende eigenschappen van een groot aantal stoffen beoordeeld op basis van de uitgangspunten die bovengenoemde commissies formuleerden.

Het komt mij zinvol voor opnieuw geïnformeerd te worden over de vraag of de uitgangspunten voor de beoordeling van de kankerverwekkende eigenschappen nog actueel zijn. Gelet op het feit dat binnenkort een artikel over de methode beoordeling van Uw commissie in het tijdschrift *Regulatory Toxicology and Pharmacology* verschijnt, verzoek ik U hierbij mij te adviseren over de huidige stand van wetenschap met betrekking tot de beoordeling van de kankerverwekkende eigenschappen van stoffen. Ik verzoek U mij met name antwoord te geven op de volgende vragen:

- 1 Welke nieuwe inzichten heeft het wetenschappelijk onderzoek in de laatste jaren opgeleverd en welke gevolgen hebben deze gehad, of zouden deze in de toekomst moeten hebben, voor de beoordeling van de kankerverwekkende eigenschappen van stoffen?
- 2 Hoe groot is de onzekerheid in het door U cijfermatig geschatte risico van blootstelling, welke factoren dragen aan bij aan deze onzekerheid en in welke mate?

Ik zou het op prijs stellen als U aan het advies een kort overzicht toevoegt van de stoffen welke de commissie sinds haar oprichting beoordeeld heeft en aangeeft van welke uitgangspunten uitgegaan werd bij de beoordeling van genoemde stoffen.

De commissie

-
- prof. dr GJ Mulder, *voorzitter*
toxicoloog, Rijksuniversiteit Leiden
 - drs HC Dreef-van der Meulen
dierpatholoog, NV Organon, Oss
 - prof. dr VJ Feron
toxicoloog, TNO Voeding, Zeist
 - prof. dr GR Mohn
genetisch toxicoloog, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven
 - dr PC Noordam, *adviseur*
Ministerie van Sociale Zaken en Werkgelegenheid, Den Haag
 - dr H Roelfzema, *adviseur*
Ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport, Rijswijk
 - dr GMH Swaen,
epidemioloog, Rijksuniversiteit Limburg, Maastricht
 - prof. dr ALM Verbeek,
epidemioloog, Katholieke Universiteit Nijmegen
 - dr HG Verschuuren
toxicoloog, DOW Chemical Europe, Horgen, Zwitserland
 - prof. dr EW Vogel
genetisch toxicoloog, Rijksuniversiteit Leiden
-

- dr JA van Zorge, *adviseur*
Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, Den Haag
- dr ir PW van Vliet, *secretaris*
Gezondheidsraad, Den Haag

De commissie is de volgende deskundigen erkentelijk voor hun bijdragen:

- prof. dr R Bernards, moleculair-bioloog, Nederlands Kanker Instituut, Amsterdam
- prof. dr JHJ Hoeijmakers, moleculair-bioloog, Erasmus Universiteit, Rotterdam
- dr PGH Mulder, statisticus, Erasmus Universiteit, Rotterdam

De bijdrage van de steekproefvariabiliteit aan de onzekerheid in de uitkomsten van ‘lineaire extrapolatie’: een rekenvoorbeeld

Op verzoek van de commissie is deze bijlage opgesteld door dr PGH Mulder, Instituut voor Epidemiologie en Biostatistiek, Erasmus Universiteit, Rotterdam

De algebraïsche weergave van een lineaire relatie tussen twee variabelen (x en y) luidt

$$y = \alpha + \beta x \tag{1}$$

Hierin zijn α en β constanten (de parameters die de relatie karakteriseren). Doorgaans - en in het onderstaande - is x het symbool voor de onafhankelijke ingestelde variabele (waarvan de beschikbare waarden dus zijn op te vatten als foutloze gegevens) terwijl y staat voor de afhankelijke variabele (waarvan de beschikbare waarden meetuitkomsten zijn die met toevalsvariaties zijn behept). In deze bijlage stellen x en y de blootstelling (dosis) respectievelijk de tumorincidentie voor.

Parameterschatting

De parameters α en β kunnen in principe geschat worden uit een reeks van beschikbare getallenparen: $(x_1, y_1), (x_2, y_2), \dots, (x_N, y_N)$. Voor de schatting van beide is $N \geq 2$ een noodzakelijk voorwaarde; is één van beide bekend dan is $N \geq 1$ noodzakelijk voor de schatting van de andere. Het laatste toegespitst:

bij gegeven α en gegeven paar (x_i, y_i) verkrijgt men de geschatte waarde (notatie: b) van β als (zie 1):

$$b = (y_1 - \alpha) / x_1 \quad (2)$$

De toevalsfluctuatie in b wordt, gegeven α en x_1 , blijktens deze formule geheel bepaald door de toevalsfluctuatie in y_1 .

Lineaire extrapolatie

Zijn α en β bekend (of geschat), en is y_0 een foutloos gegeven getal in het traject waarin de lineaire relatie tussen x en y (zie 1) geldigheid heeft, dan verkrijgt men als volgt de geschatte waarde (notatie x_0) voor de x -waarde waarvoor de verwachte y -waarde gelijk is aan y_0 (zie 1):

$$x_0 = (y_0 - \alpha) / b \quad (3)$$

(hier is α foutloos bekend verondersteld evenals y_0 ; β is geschat door b ; de toevalsfluctuatie in x_0 wordt geheel bepaald door de toevalsfluctuatie in b).

Opmerking: ook als de werkelijke doch onbekende relatie tussen x en y wel degelijk lineair is (in het beschouwde gebied), staat allerm minst vast dat deze samenvalt met de rechte lijn die resulteert uit de hierboven beschreven schatting van β . Het beschikbare getal y_1 is immers met toevalsfouten behept en kan daardoor (aanzienlijk) verschillen van de ware y -waarde die, volgens de relatie $y = \alpha + \beta x$, bij x_1 hoort. Als de werkelijke relatie tussen x en y in het beschouwde gebied niet lineair is, maar convex, dan leidt, gemiddeld bezien, lineaire extrapolatie tot onderschatting van x_0 .

Berekening van een 95%-betrouwbaarheidsinterval bij x_0

Moet behalve β ook α geschat worden (uit meetgegevens) dan is het rechterlid van (3) het quotiënt van twee stochastische variabelen. De berekening van het gezochte betrouwbaarheidsinterval is dan minder eenvoudig dan wanneer, zoals hier, van de veronderstelling wordt uitgegaan dat α gegeven is. Omdat bovendien x_0 en b (zie 3) omgekeerd evenredig met elkaar zijn, verkrijgt men dan de gezochte onder- respectievelijk bovengrens eenvoudigweg door in het rechterlid van (3) b te vervangen door respectievelijk de boven- en de ondergrens van het 95%-betrouwbaarheidsinterval bij b . Op hun beurt verkrijgt men beide laatstbedoelde grenzen door in het rechterlid van (2) y_1 te vervangen door respectievelijk de boven- en de ondergrens van het bij y_1 behorende 95%-betrouwbaarheidsinterval (let wel: in dat rechterlid zijn α en x_1 beide foutloos gegeven). Die grenzen worden geheel bepaald door de (statistische) kansverdeling van de toevalsfouten waaraan y_1 als meetuitkomst onderhavig was. In

het speciale geval dat de variabele y staat voor het ‘aantal waargenomen gevallen’ in een zekere steekproef uit een populatie van potentiële gevallen, is het plausibel om te postuleren dat y_i een a -selecte trekking is uit een ‘Poisson-verdeling’. De gezochte intervalsgrenzen bij y_i kan men dan rechtstreeks aflezen uit gangbare statistische ‘Poisson-tabellen’ (zie bijvoorbeeld Pea70).

Toepassing voor ‘benzeen’ (gegevens uit GR87a)

Het symbool y staat nu voor het quotiënt van 2 kansen, te weten: de kans op overlijden door acute non-lymfatische leukemie (ANL) in een aan x blootgestelde onderzoekspopulatie, gedeeld door de overeenkomstige kans in een blootstellingsvrije onderzoekspopulatie. Dit impliceert dat, per definitie, $\alpha = 1$ (immers voor $x = 0$ is y per definitie gelijk aan 1).

Beschikbare basisgegevens: het getallenpaar (x_i, y_i) waarin:

$x_i = 4,57 \text{ mg/m}^3$ (een relevant cijfer voorzover de ‘extrapolatie’ van onderzochte naar levenslange blootstelling relevant is)

$y_i = 8$ (waargenomen ANL-sterfgevallen in een steekproef van 748 aan x_i blootgestelden) gedeeld door 1,71 (bij veronderstelling het foutloos bekende verwachte aantal ANL-sterfgevallen in een even grote steekproef uit een niet blootgestelde populatie).

Parameterschatting:

zie formule (2): $b = \frac{(8/1,71) - 1}{4,57} = 0,80$ ($\alpha = 1$; foutloos)

Lineaire extrapolatie:

De ‘achtergrondsterfte’ door ANL is in Nederland 1755 per miljoen sterfgevallen. Maximaal toegestaan is één extra ANL-sterfgeval (door benzeen) per miljoen sterfgevallen. Dit impliceert:

$$y_0 = \frac{1756}{1755} = 1,00057^*$$

* vertaling van additionele naar proportionele toevoeging; nodig omdat de variabele y een proportionele (kans)verhoging voorstelt

Verondersteld wordt nu dat $b = 0,80$ (ontleend aan Amerikaanse gegevens) overdraagbaar is naar de Nederlandse situatie. Tezelfdertijd wordt de Nederlandse ‘achtergrondsterfte’ als referentie gekozen.

Dit geeft (zie formule 3):

$$x_0 = \frac{1,00057-1}{0,80} = 0,71 \text{ (}\mu\text{g/m}^3\text{)}$$

Berekening 95%-betrouwbaarheidsinterval bij x_0

Volgens de Poisson-tabel hoort bij de waarneming 8 het interval (3,45-15,8). Omdat de verwachte achtergrondsterfte (1,71) bij veronderstelling foutloos gegeven is, hoort dan bij y_1 ($= 8/1,71$) het interval $(\frac{3,45}{1,71} - \frac{15,8}{1,71})$.

Dus zijn (zie formule 2) de beide grenzen bij b :

$$\text{ondergrens: } (3,45/1,71 - 1)/4,57 = 0,22$$

$$\text{bovengrens: } (15,8/1,71 - 1)/4,57 = 1,80$$

Formule (3) geeft dan voor het 95%-betrouwbaarheidsinterval bij x_0 :

$$\text{ondergrens: } \frac{0,00057}{1,80} = 0,32 \text{ (}\mu\text{g/m}^3\text{)}$$

$$\text{bovengrens: } \frac{0,00057}{0,22} = 2,59 \text{ (}\mu\text{g/m}^3\text{)}$$

Literatuur

- GR87a Gezondheidsraad. Benzeen. Toetsing van een basisdocument en voorstel risico-evaluatie. Den Haag: Gezondheidsraad, 1987; publicatie nr 1987/14.
- Pea70 Pearson ES, Hartley HO (Eds). Biometrika tables for statisticians, vol 1. Cambridge: University Press, 1970.