

RIJKSINSTITUUT VOOR
VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU
BILTHOVEN

Rapport nr. 658603 005

**Plasmaspiegels van benzo(a)pyreen na vier-
eneenhalve maand herhaalde orale toediening
(5 dagen/week) van benzo(a)pyreen aan de
Riv:TOX rat.**

K.J. Lusthof, M. Olling, E.D. Kroese

februari 1996

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van de Hoofd Inspectie Gezondheidsbescherming (HIGB), Postbus 5406, 2280 HK te Rijswijk in het kader van project 658603 (chronische carcinogeniteitsstudie met benzo(a)pyreen in de rat).

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven,
tel. 030-2749111, fax 030-2742971

VERZENDLIJST

- 1 Dr.ir. P.C. Bragt, HIGB
- 2 Directie RIVM
- 3 Depot van Nederlandse publikaties en Nederlandse bibliografie
- 4 Dr. ir. H.J.G.M. Derks
- 5 Drs. J.H.C. van Eijkeren
- 6 Dr. ir. G. de Mik
- 7 Prof. dr. G.R. Mohn
- 8 Dr. W. Slob
- 9 Dr.ir. M.J. Zeilmaker
- 10 Hoofd Bureau Voorlichting en Public Relations
- 11 Bureau Projecten- en Rapporten Registratie
- 12 Archief LBO
- 13-15 Auteurs
- 16 Bibliotheek RIVM
- 17-27 Reserve exemplaren t.b.v. Bureau Rapportenbeheer

INHOUDSOPGAVE	<u>Pag.</u>
Verzendlijst	2
Inhoudsopgave	3
Summary	4
Samenvatting	5
1. Inleiding	6
2. Doel van het experiment	7
3. Materiaal en Methoden	7
4. Resultaten en discussie	11
5. Conclusies	14
6. Literatuur	15
Tabellen en figuren	16

SUMMARY

During the chronic carcinogenicity study of oral benzo(a)pyrene in the rat, blood samples were taken from 48 rats (24 male, 24 female) after the last of four and a half months' repeated daily intragastric administrations. The repeated administrations took place once daily, five times weekly; benzo(a)pyrene was administered by gastric intubation as a solution in soybean oil. The dosing levels were 0.1, 3.0, 10 and 30 mg per kg body weight. After the last dose, two blood samples were taken from each animal at times up to six hours after administration. The sampling times were the same for the different dosing levels.

The plasma levels increased proportionally with the dose raised to the power 1.5 for male rats and 1.6 for female rats. The average exposure to unchanged benzo(a)pyrene was the same for males and females at dosing levels of 0.1 and 3.0 mg/kg, but about twice as high for males as compared to females at the dosing levels of 10 and 30 mg/kg. The exposure after the last dose of 30 mg/kg was the same as observed in a two-weeks' study at the end of the dosing interval.

SAMENVATTING

In het kader van project 658603 (chronische carcinogeniteitsstudie met benzo(a)pyreen in de rat) zijn er bij 48 ratten (24 mann. en 24 vr.) bloedmonsters afgenomen na de laatste dagelijkse orale toediening van benzo(a)pyreen, na ca. viereneenhalve maand van chronische toediening.

De chronische toediening bestond uit dagelijkse doses van een oplossing van benzo(a)pyreen in soya-olie toegediend per maagsonde, gedurende vijf dagen per week. Er waren vier doseringsnivo's: 0,1, 3, 10 en 30 mg per kg lichaamsgewicht. Na de laatste toediening werden er twee bloedmonsters per dier afgenomen, op tijdstippen tot zes uur na toediening. De tijdstippen van monsternamen waren gelijk voor de verschillende doseringsnivo's.

De plasmaspiegels waren evenredig met de toegediende dosis tot de macht 1,5 voor mannetjesdieren en tot de macht 1,6 voor vrouwtjesdieren. De gemiddelde blootstelling aan onveranderd benzo(a)pyreen was gelijk voor mannetjes en vrouwtjes bij de doseringen van 0,1 mg/kg en 3,0 mg/kg, maar ongeveer twee maal zo groot voor mannetjes dan voor vrouwtjes bij de doseringen van 10 en 30 mg/kg. De blootstelling na de laatste dosis van 30 mg/kg was hetzelfde als waargenomen in een 15-daagse studie aan het einde van elk doseringsinterval.

1. INLEIDING

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

Binnen het RIVM wordt de carcinogeniteit van benzo(a)pyreen en de vorming van DNA adducten bij de rat onderzocht na chronische orale toediening (project "carcinogeniteitsstudie met benzo(a)pyreen in de rat bij orale toediening", projectnummer 658603). Dit onderzoek is gericht op een verantwoorde risicoschatting van humane blootstelling aan lage orale doses benzo(a)pyreen. Van belang zijn vooral de relaties tussen de farmacokinetiek van benzo(a)pyreen, de vorming van DNA adducten en de tumorvorming.

In dit rapport worden de resultaten beschreven van metingen van de plasmaconcentraties bij de aan de chronische studie deelnemende ratten, na 4,5 maand van dagelijkse (5 dagen/week) orale toedieningen.

In afzonderlijke studies werd de kinetiek van BaP na eenmalige toediening en toediening gedurende twee weken onderzocht (ref.2,3).

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

2. DOEL VAN HET EXPERIMENT

De doelstellingen van het in dit rapport beschreven experiment waren:

1. Bestuderen of de kinetiek van benzo(a)pyreen na herhaalde orale toediening gedurende viereneenhalve maand lineair is.
2. Onderzoeken of er na herhaalde toediening een sexeverschil aanwezig is in de kinetiek van benzo(a)pyreen.
3. Het vergelijken van de plasmaspiegels van benzo(a)pyreen na 4,5 maand met die na twee weken.

3. MATERIALEN EN METHODEN

Tijd en plaats

De toedieningen en bloedafnames vonden plaats tussen 5 en 7 april 1993. De opwerking en analyse van de bloedmonsters vond plaats tussen 13 mei en 2 juli 1993.

Alle experimenten zijn uitgevoerd bij het RIVM. Het dierexperimentele gedeelte vond plaats in ruimte C021; de monstervoorbereiding en de analyse van benzo(a)pyreen vond plaats bij de unit BFT, bouwdeel A2.

De toedieningen vonden plaats tussen 9.00 uur en 9.30 uur 's morgens.

Biologisch testsysteem

In totaal zijn er bij 48 ratten (24 m en 24 v) bloedmonsters afgenomen.

De ratten waren Wistar-ratten van de Riv:TOX stam, status: spf, en afkomstig uit de RIVM proefdiervoorraad. Het gewicht van de mannelijke ratten was gemiddeld 370 g (range:309-444); het gewicht van de vrouwelijke ratten was gemiddeld 219 g (range:187-249).

De ratten waren gebruikt in de chronische carcinogeniteitsstudie met benzo(a)pyreen.

De dieren waren per twee gehuisvest in macrolon bakken (dieren per bak identificeerbaar d.m.v. oorknipje) met een draadbodem in geklimatiseerde ruimtes van gebouw 6, C-vlek, met een dag-nachtritme van 12 uur. De dieren kregen voer met een laag gehalte aan vet (2,7% soja-olie) en water ad libitum.

Test- en referentiestoffen

In de chronische carcinogeniteitsstudie is benzo(a)pyreen van Serva (Heidelberg, BRD, lot nr 24022) gebruikt. De zuiverheid hiervan is gecontroleerd door het laboratorium voor Analytisch Residu Onderzoek (ARO) m.b.v. RP-HPLC met UV detectie, eluens: 8% water in acetonitril. Zie voor een uitgebreide beschrijving de carcinogeniteitsstudie.

Als teststof bij de analyse van plasma is benzo(a)pyreen van Janssen Chimica gebruikt (lotnr. 59325/2). De zuiverheid hiervan werd gecontroleerd d.m.v. HPLC met UV detectie (254 nm). Conditie HPLC: kolom: ODS-Hypersil 15 cm (5 m), eluens: methanol-water (90-10), detectie: UV absorptie bij 254 nm. De zuiverheid is berekend als het oppervlak onder de benzo(a)pyreenpiek gedeeld door het totale oppervlak onder alle aanwezige pieken.

De verschillende batches soya-olie waren afkomstig van de firma "De Oliehoorn" uit Hoorn (NL).

Dosering teststof(fen):

Aan de proefdieren werd per maagsonde een oplossing toegediend van benzo(a)pyreen in soya-olie, in een hoeveelheid van 0,75 ml oplossing per mannelijke rat en 0,60 ml oplossing per vrouwelijke rat. De toe te dienen dosis werd vooraf vastgesteld op basis van het verwachte gemiddelde lichaamsgewicht per groep (mannetjes/vrouwtjes, vier doseringsnivo's plus blanko). De concentraties van de oplossingen werden zo gekozen, dat de nominale doseringen uitkwamen op 0,1 mg/kg, 3,0 mg/kg, 10,0 mg/kg en 30 mg/kg. De werkelijk toegediende doses (mg per kg werkelijk lichaamsgewicht) zijn vermeld in tabel 1; de grootste afwijking van de nominale dosis bleek 8% te zijn.

Monsterrouting en -opslag

De bloedmonsters werden na afname op smeltend ijs in het donker geplaatst, met uitzondering van de monsters van 5 april 1993 met afnametijdstip $t=40$ t/m $t=160$ minuten, welke niet op ijs, maar wel in het donker zijn bewaard. De monsters werden door dezelfde persoon die de bloedmonsters afnam getransporteerd naar BFT en dezelfde dag gecentrifugeerd; de plasmamonsters werden bij -18°C bewaard in kamer A2.020.

Opslag ruwe data en onderzoeksgebonden resultaten

In het onderzoeksdossier (brandkast nr 2, BFT) bevinden zich onder het hoofdstuk "ruwe data en berekeningen" het formulier met tijdstippen van bloedafname, de ruwe HPLC-data en verwijzingen naar overige gegevens in de gebruikte labjournaals; labjournaal 110 (brandkast 1, BFT) bevat de weegresultaten van de monsters.

Gegevens betreffende de temperatuurregistratie van de koelkast en vrieskast op kamer A2020 bevinden zich in de brandvertragende kast nr.1 .

Analysemethode:

Het plasmagehalte aan benzo(a)pyreen werd bepaald door middel van HPLC met fluorescentie-detectie, na extractie van het plasma met hexaan, waaraan als interne standaard benzo(ghi)peryleen is toegevoegd. De methode is gevalideerd en staat beschreven in RIVM-rapport 65860301 ("Een bepalingmethode van benzo(a)pyreen in ratteplasma met behulp van hogedrukvlloeistofchromatografie", R. Klaassen, K.J. Lusthof en M. Olling, ref.2).

Beschrijving van het experiment:

Dagelijks werd aan mannelijke en vrouwelijke Riv:TOX ratten een orale dosis van benzo(a)pyreen per maagsonde toegediend, opgelost in soja-olie. De toedieningen op de drie achtereenvolgende dagen van deze studie (5-7 april 1993) waren voor de gebruikte dieren de laatste van een serie dagelijkse toedieningen in het kader van de chronische carcinogeniteitsstudie. De doses die per dier zijn toegediend, zijn weergegeven in tabel 1.

De tijd klok werd onmiddellijk na de eerste toediening gestart. De afgelezen tijdstippen van toediening van de volgende doses en de tijdstippen van bloedmonstername werden ingevuld op een van te voren ontworpen formulier. Bloedmonsters werden afgenomen door incisie in de staart en verzameling van het bloed in een gehepariniseerd Eppendorff cupje met capillaire opening (Microvette^R). De tijdstippen van bloedafname waren ongeveer 40, 80, 120, 160, 260 en 360 minuten na toediening. Per dier werd er op twee verschillende tijdstippen een bloedmonster afgenomen. De bloedmonsters werden op smeltend ijs in het donker geplaatst en bij de Unit BFT gecentrifugeerd. De hoeveelheid plasma werd gewogen, en de monsters werden in de vrieskast bewaard tot de analyse. (Beschrijving weegprocedure: in hoofdstuk "Inspecties/Correspondentie"). Het experiment werd uitgevoerd volgens de OECD GLP-principes.

Berekeningen farmacokinetische parameters

Voor de mannetjes - en vrouwtjesdieren werden afzonderlijke curves opgesteld per doseringsnivo. De resultaten werden per afnametijdstip en doseringsnivo gemiddeld (2 metingen per afnametijdstip, 6 afnametijdstippen, 4 doseringen). Met deze gegevens werden de gemiddelde concentratie-tijd curves samengesteld.

De AUC waarden van de vier concentratie-tijd curves zijn berekend met de lineaire trapeziumregel, zoals beschreven door Rowland and Tozer (1980), voor het tijdsinterval van 0 tot en met 6 uur na toediening. Concentraties lager dan de detectielimiet werden gelijk aan nul gesteld.

C_{max} en t_{max} zijn rechtstreeks uit de gemiddelde concentratie-tijd curves verkregen.

De berekening van de ijklijn is uitgevoerd m.b.v. Lotus 123, waarbij de lijn door het nulpunt is geforceerd.

De dosisafhankelijkheid van de kinetische parameters is bestudeerd door de AUC- en C_{max} -waarden te fitten aan de formule: AUC (of C_{max}) = $a * Dosis^b$, met het programma EnzFit (versie 1.05, Elsevier). De coëfficiënt "b" is gelijk aan 1 in het geval van eerste orde eliminatie, en gelijk aan 2 in het geval van nulde orde eliminatie (verzadiging van metaboliserende enzymen). Een coëfficiënt van 1,3 betekent b.v. dat de AUC 2,5 maal zo groot wordt als de dosis een faktor 2 toeneemt.

4. RESULTATEN EN DISCUSSIE

Zuiverheid van de teststof

De zuiverheid van de in de chronische carcinogeniteitsstudie toegediende teststof (benzo(a)pyreen van Serva (Heidelberg)) is gerapporteerd in maart 1992 door ARO, en bedroeg 98,6%.

De zuiverheid van het bij de analyse van plasma gebruikte benzo(a)pyreen (Janssen Chimica) is gecontroleerd op 1 april 1993 en was 94,4%.

Plasmakinetiek van benzo(a)pyreen

De per twee dieren gemiddelde plasmaconcentraties staan vermeld in tabel 2 en zijn weergegeven in figuur 1. De plasmaconcentraties zijn weergegeven op een log-schaal omdat de doses op logaritmische schaal op gelijke afstand liggen.

Na ongeveer twee uur bereiken de plasmaspiegels een maximum. Het verloop van de plasmaconcentraties werd gefit volgens de de formule (fitting m.b.v. EnzFitter, 1.05, Elsevier):

$$C = A * [e^{(-k_a * t)} - e^{(-k_e * t)}]$$

waarin k_a de absorptiesnelheidskonstante en k_e de eliminatiesnelheidskonstante is.

De door curve-fitting verkregen eliminatie-halfwaardetijd ($t_{1/2}(e)$) was, gemiddeld over de vier doses, $1,8 \pm 0,9$ uur voor de mannetjes en $1,6 \pm 0,7$ uur voor de vrouwtjes. Deze halfwaardetijden komen redelijk overeen met de waarde van $1,0 \pm 0,1$ uur, die werd gevonden na eenmalige intraveneuze toediening van een dosis van 5 mg/kg aan mannetjes (experiment Bap03/04). De absorptie-halfwaardetijd was, gemiddeld over de vier doses, $0,6 \pm 0,5$ uur voor zowel de mannetjes als de vrouwtjes. Hierbij dient te worden opgemerkt dat de betrouwbaarheid van de schatting van de halfwaardetijden matig is gezien het kleine aantal meetpunten dat bij de schatting gebruikt wordt en de grote variabiliteit hierin (zie tabel 2).

In tabel 3 zijn de maximale plasmaspiegels van benzo(a)pyreen (C_{max}) en bijbehorende tijdstippen (t_{max}) gegeven, evenals de AUC-waarden.

De AUC- en C_{max} -waarden nemen meer dan proportioneel toe met de dosis. De exponent "b" uit de vergelijking AUC (of C_{max}) = $a * dosis^b$ varieert tussen 1,47 en 1,63 voor zowel AUC als C_{max} , voor mannetjes zowel als vrouwtjes. De factor "a" is echter bij mannetjes groter dan bij de vrouwtjes (voor AUC: $1,92 \pm 0,13$ vs. $0,66 \pm 0,37$; voor C_{max} : $0,98 \pm 0,30$ vs. $0,34 \pm 0,34$). Dit sexeverschil leidt tot ongeveer twee maal zo hoge C_{max} - en AUC-waarden bij de mannetjes dan bij de vrouwtjes, bij de hoogste doses (10 en 30 mg/kg). Bij de lagere doses (0,1 en 3 mg/kg) is geen sexeverschil waarneembaar.

Het sexeverschil kan worden veroorzaakt door een verschil in de absorptie of de eliminatie (dus metabolisme). Een verschil in absorptie is aannemelijk, omdat de absorptie van benzo(a)pyreen

onvolledig is, en sterk gefaciliteerd wordt door gal en dus de mate van abortie afhankelijk is van de intestinaal aanwezige gal (ref.4,5). Een sexeverschil in metabolisme is echter ook aannemelijk, en op grond van vergelijking met de resultaten van een 15-daagse studie zelfs waarschijnlijker (zie hieronder).

Vergelijking met resultaten na eenmalige en 15-daagse toediening

Lineariteit: In een eerdere studie (BaP03/04, ref.3) zijn de plasmaspiegels van benzo(a)pyreen bepaald na eenmalige orale toediening (doses: 1, 5, 10 en 25 mg/kg) aan mannetjesratten (Riv:TOX). De relatie tussen de doses en AUC-waarden uit deze studie kan eveneens worden beschreven met de vergelijking $y = a * x^b$, met als uitkomst een waarde van $1,49 \pm 0,20$ voor de exponent "b". Vergelijking van deze relatie (AUC-dosis) met die van de huidige studie geeft het volgende:

$$\text{Eenmalige toediening:} \quad \text{AUC} = (5,0 \pm 3,1) * \text{Dosis}^{(1,49 \pm 0,20)}$$

$$4,5 \text{ maand toediening:} \quad \text{AUC} = (1,9 \pm 0,1) * \text{Dosis}^{(1,54 \pm 0,02)}$$

De mate van non-lineariteit lijkt dus hetzelfde te zijn na eenmalige en herhaalde dosering.

De gemiddelde blootstelling aan onveranderd benzo(a)pyreen lijkt echter af te nemen tijdens herhaalde toediening (zie hieronder).

Blootstelling BaP: De resultaten uit deze studie kunnen worden vergeleken met die uit studie BaP05 (RIVM-rapport 658603004), waar een dagelijkse orale dosis van 30 mg/kg is toegediend gedurende 15 dagen (dosering een maal daags, vijf dagen per week) aan mannetjes- en vrouwtjesratten (Riv:TOX). De resultaten van studie BaP03/04 zijn in tegenstelling tot de overige studies verkregen na toediening aan ratten na overnacht vasten, hetgeen een grotere variatie in de farmacokinetische parameters oplevert dan na toediening in gevoede toestand.

De vergelijking van de resultaten wordt bemoeilijkt, doordat, bij het in dit rapport beschreven experiment, de plasmaconcentratie-tijd curven zijn samengesteld met behulp van waarnemingen die zijn verkregen op drie dagen achtereenvolgende dagen van toediening direct na een doseringsvrije periode van twee dagen. De resultaten van experiment BaP05 laten zien, dat de AUC-waarden van BaP gedurende de vijf-daagse doseringsperiode afnemen tot ca 25% van de waarde na de eerste toediening, maar dat na de doseringsvrije periode van twee dagen de gemiddelde plasmaconcentratie zich herstelt tot 50% van de waarde na de eerste toediening. Dit effect kan worden toegeschreven aan inductie van de metaboliserende enzymen door BaP en aan het gedeeltelijk verdwijnen van de inductie wanneer er geen BaP gedoseerd wordt.

De in dit experiment gevonden AUC-waarde van BaP is ongeveer evengroot als die van de vijfde en tiende toediening uit de 15-daagse studie, maar lager dan die van de elfde toediening. De vijfde en tiende toediening vonden plaats op de laatste dag van de vijf-daagse doseringsperiode, terwijl

in dit experiment de bloedmonsters zijn afgenomen op de eerste drie dagen na de doseringsvrije periode. Het is niet bekend, hoe snel de AUC waarde afneemt gedurende de eerste drie dagen na de doseringsvrije periode. Het aantal gegevens in het huidige experiment is helaas te beperkt, om de invloed van de dag van toediening op de AUC te kunnen bepalen. De in dit experiment verkregen gegevens zullen nader onderzocht dienen te worden met het 'physiologically based pharmacokinetic model' (PB-PK model) dat in ons laboratorium in ontwikkeling is en waarin de inductiestatus van de rat, afhankelijk het toedienisschema van benzo(a)pyreen, wordt meegenomen.

Om deze reden en gezien de proefopzet van het huidige experiment (geen individuele AUC waarden bekend) kan er thans niet worden nagegaan, of de AUC-waarde statistisch significant afneemt van de tweede week tot de vijfde maand van herhaalde toediening.

Sexeverschil: In de huidige studie worden ongeveer twee maal zo hoge C_{max} - en AUC-waarden gevonden bij de mannetjes dan bij de vrouwtjes, bij de hoogste doses (10 en 30 mg/kg). In experiment BaP05 werd een dergelijk verschil tussen mannetjes en vrouwtjes gevonden na vijf dagelijkse toedieningen (plasmaspiegels bij de mannetjesratten eveneens ongeveer twee maal zo hoog als bij de vrouwtjes, tabel 4). Het verschil was echter niet significant op de eerste dag van toediening en op de eerste dag na de doseringsvrije periode. Aangezien een verandering in de absorptie binnen het tijdsbestek van experiment BaP05 niet waarschijnlijk is, suggereren deze resultaten, dat het waargenomen sexeverschil wordt veroorzaakt door een verschil in inductie van leverenzymmetabolisme.

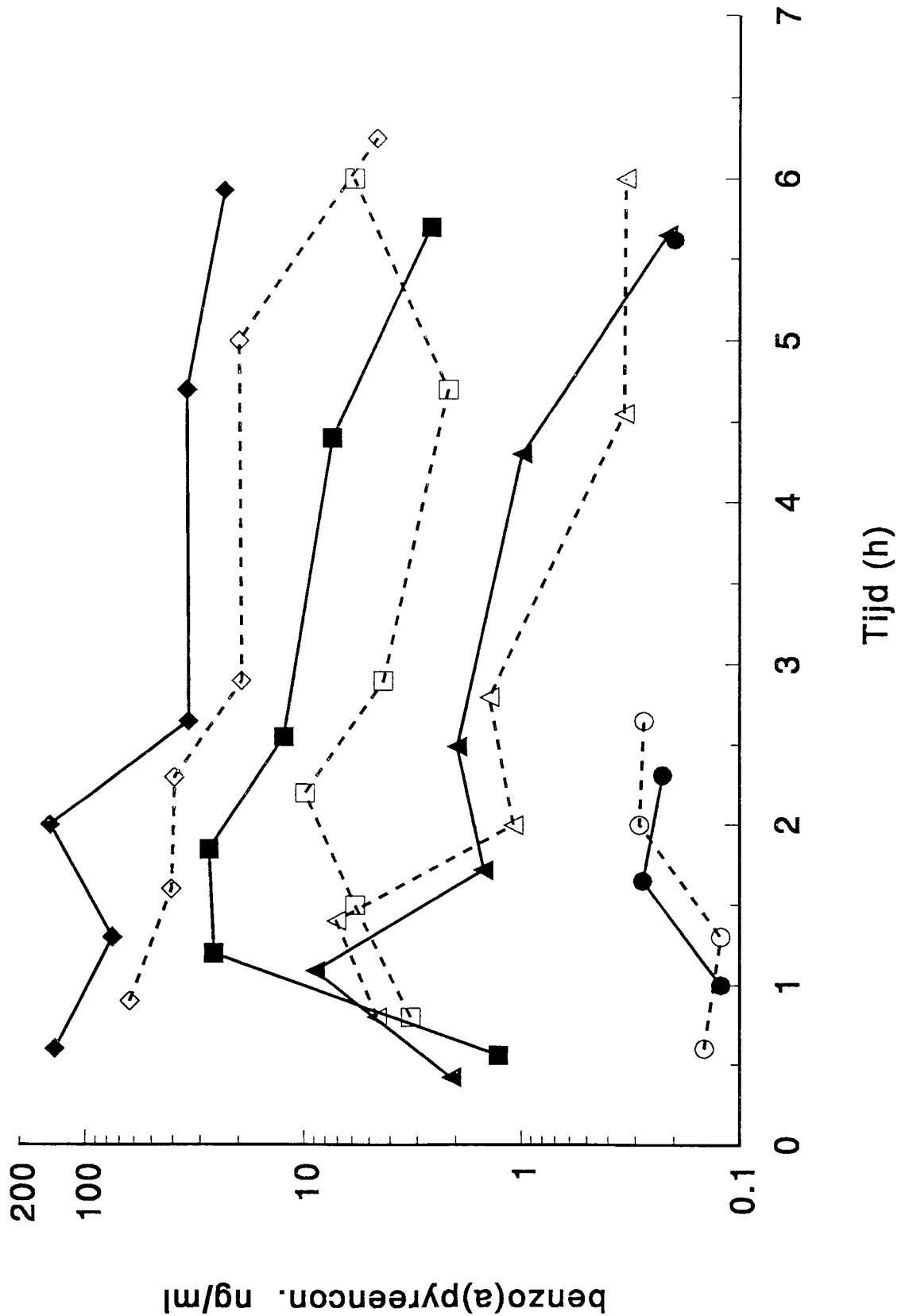
5. CONCLUSIES

1. De gemiddelde AUC-waarde van onveranderd benzo(a)pyreen na 4,5 maand herhaalde toediening, gemeten gedurende de eerste drie dagen van de vijfdaagse doseringsperiode, komt overeen met de gemiddelde AUC waarde verkregen gedurende de eerste twee weken, op de laatste dag van de vijfdaagse doseringsperiode.
2. Het sexeverschil dat in de eerste twee weken, op de laatste dag van de vijfdaagse doseringsperiode werd waargenomen, is ook na 4,5 maand nog aanwezig. Dit sexeverschil leidt tot ongeveer twee maal zo hoge C_{\max} - en AUC-waarden bij de mannetjes dan bij de vrouwtjes, bij de hoogste doses (10 en 30 mg/kg). Bij de lagere doses (0,1 en 3 mg/kg) is geen sexeverschil waarneembaar. Een verschil in blootstelling aan onveranderd benzo(a)pyreen kan wijzen op een verschil in absorptie, of een verschil in metabolisme van benzo(a)pyreen.
3. De exponentiële toename van de AUC- en C_{\max} -waarden kan na 4,5 maand met dezelfde -faktor worden beschreven als na eenmalige toediening (exponent 1,5).

6. LITERATUUR

1. International Agency for Research on Cancer (1983). IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, vol.32, Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1, Lyon.
2. R. Klaassen, K.J. Lusthof en M. Olling (jan.1994). Een bepalingsmethode van benzo(a)pyreen in ratteplasma met behulp van hogedrukvlloeistofchromatografie, RIVM rapport 658603001.
3. K.J. Lusthof, M. Olling,, E.D. Kroese, J. Beenen, M.J. Poelen, H.A.M.G. Vaessen en C.G. v.d. Kamp (mei 1993). Farmacokinetiek en biologische beschikbaarheid van benzo(a)pyreen (BaP) in de Riv:TOX rat, RIVM rapport 658603002.
4. A. Rahman, J.A. Barrowman and A. Rahimtula (1986). The influence of bile on the bioavailability of polynuclear aromatic hydrocarbons from the rat intestine. *Can.J.Physiol.Pharmacol.*64:1214-1218.
5. J.M. Laher, M.W. Rigler, R.D. Vetter, J.A. Barrowman and J.S. Patton (1984). Similar bioavailability and lymphatic transport of benzo(a)pyrene when administered to rats in different amounts of dietary fat. *J.Lipid Res.*25:1337-1342.

Figuur 1. Plasmaconcentraties van benzo(a)pyreen (n=2 per tijdstip) na 4,5 maand herhaalde orale toediening (een maal daags, vijf dagen per week) bij vier verschillende doses, aan mannetjes- en vrouwtjesratten. Gesloten symbolen: mannetjes; open symbolen: vrouwtjes.
 Doses: ● : 0,1 mg/kg; ▲ : 3 mg/kg; ■ : 10 mg/kg; ◆ : 30 mg/kg.



Tabel 1. Toegediende doses van benzo(a)pyreen

groep	geslacht	Datum: 5 april 1993		Datum: 6 en 7 april 1993	
		nominale dosis (mg/kg)	werkelijke dosis (mg/kg)	nominale dosis (mg/kg)	werkelijke dosis (mg/kg)
2	F	0,1	0,10	0,1	0,10
3	F	3	2,98	3	3,08
4	F	10	9,73	10	10,3
5	F	30	29,0	30	30,2
2	M	0,1	0,10	0,1	0,10
3	M	3	2,76	3	2,78
4	M	10	10,1	10	10,5
5	M	30	28,6	30	29,9

Tabel 2. Plasmaconcentraties van benzo(a)pyreen (n=2 per tijdstip) na 4,5 maand herhaalde orale toediening (eenmaal daags, 5 dagen/week) bij vier verschillende doses, aan mannetjes- en vrouwtjesratten.

Dosis (mg- /kg)	Mannetjes			Vrouwtjes		
	Tijd (min)	Conc (mg/l)	Diernrs.	Tijd (min)	Conc (mg/l)	Diernrs.
0,1	22	0,00	2363/2364	36	0,14	2351/2352
0,1	58	0,12	2365/2366	76	0,12	2353/2354
0,1	99	0,28	2367/2368	116	0,29	2355/2356
0,1	140	0,22	2363/2364	160	0,27	2351/2352
0,1	264	0,00	2365/2366	282	0,00	2353/2354
0,1	339	0,20	2367/2368	358	0,00	2355/2356
3	25	2,09	2391/2392	46	4,60	2379/2380
3	65	8,88	2387/2388	86	7,10	2375/2376
3	104	1,49	2389/2390	124	1,08	2377/2378
3	148	1,97	2391/2392	170	1,40	2379/2380
3	258	0,99	2387/2388	273	0,34	2375/2376
3	339	0,21	2389/2390	356	0,33	2377/2378
10	34	1,27	2413/2314	50	3,22	2401/2402
10	72	26,0	2415/2416	88	5,82	2403/2404
10	110	27,4	2411/2412	131	9,93	2399/2400
10	153	12,4	2413/2414	172	4,31	2401/2402
10	264	7,44	2415/2416	280	2,17	2403/2404
10	341	2,60	2411/2412	359	5,89	2399/2400
30	35	137,3	2435/2436	54	62,9	2423/2424
30	76	75,4	2437/2438	94	40,8	2425/2426
30	120	144,9	2439/2440	141	39,4	2427/2428
30	158	34,0	2435/2436	176	19,4	2423/2424
30	282	34,6	2437/2438	300	20,0	2425/2426
30	356	23,3	2439/2440	375	4,62	2427/2428

Tabel 3. Farmacokinetische parameters van benzo(a)pyreen na 4,5 maand herhaalde orale toediening (een maal daags, vijf dagen per week) bij vier verschillende doses.

Dosis (mg/kg)	Geslacht	C _{max} (ng/ml)	t _{max} (h)	AUC _{0-6h} (mg.h/l)
0,1	M	0,28	1,65	0,7
3,0	M	8,88	1,08	12,3
10	M	27,4	1,84	65,3
30	M	145	1,99	357
0,1	F	0,29	1,94	0,8
3,0	F	7,10	1,42	11,1
10	F	9,93	2,18	25,8
30	F	62,94	0,91	167

Tabel 4. AUC-waarden (mg.h/l) na herhaalde orale toediening van benzo(a)pyreen, 30 mg/kg, een maal daags, vijf dagen per week.

	Mannetjes	Vrouwtjes
Eerste toediening *	1,23 ± 0,24 *	1,11 ± 0,28 *
Vijfde toediening	0,38 ± 0,32	0,15 ± 0,08
Tiende toediening	0,40 ± 0,13	0,23 ± 0,08
Elfde toediening *	0,69 ± 0,34 *	0,57 ± 0,32 *
Laatste toediening (4,5 maand)*	0,36 *	0,17 *

* = dosering direct na doseringsvrije periode.