

QSAR en read-across-modellen voor waterkwaliteit

Astrid Reus, Milou Dingemans, Renske Hoondert (KWR), Corine Houtman (Het Waterlaboratorium), Ron van der Oost (Waternet)

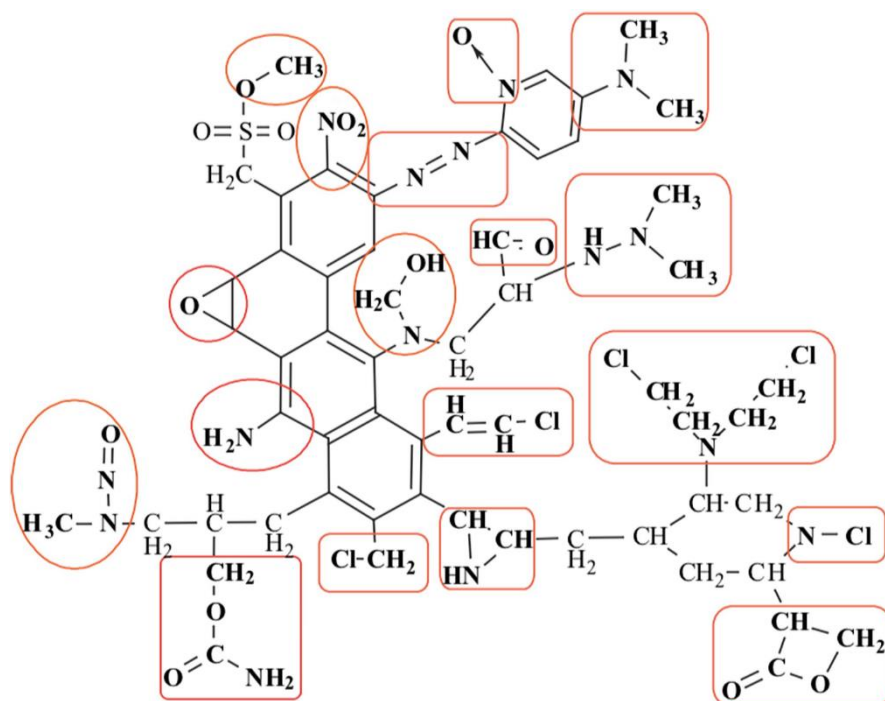
Door een gebrek aan toxicologische informatie voor veel gemeten stoffen is het niet altijd mogelijk om een inschatting te maken van mogelijke risico's voor de volksgezondheid en het milieu. In-silico (computer)modellen gericht op het voorspellen van toxiciteit van stoffen bieden hiervoor uitkomst. Op basis van de chemische structuur wordt ingeschat welke nadelige effecten een stof zou kunnen hebben. Deze informatie draagt bij aan het prioriteren van vervolgonderzoek en biedt handelingsperspectief voor het voorkomen van risico's voor de menselijke gezondheid en het milieu.

De (drink)watersector kent vele uitdagingen op het gebied van de chemische waterkwaliteit. In zowel oppervlaktewater als grondwater kunnen lage concentraties van veel verschillende stoffen met uiteenlopende fysisch-chemische eigenschappen worden aangetroffen. Voor nieuwe, opkomende stoffen is vaak nauwelijks informatie beschikbaar over toxicologische eigenschappen en mogelijk nadelige effecten voor de menselijke gezondheid en het milieu. Bij een ongebruikelijke situatie of een calamiteit, wanneer water plotseling een hoge concentratie van een chemische stof bevat, is het essentieel om snel een inschatting te kunnen maken van de mogelijke risico's voor de drinkwaterproductie, mensen en het milieu. Doordat drinkwaterbronnen verschillende verontreinigingen kunnen bevatten die mogelijk schadelijk kunnen zijn voor de mens, worden er verschillende behandelingen ingezet om het geschikt te maken als drinkwater. De zuivering van het effluent van rioolwaterzuiveringsinstallaties (RWZI's) is in de eerste plaats gericht op het verwijderen van voedingsstoffen en anorganische deeltjes, maar er wordt in toenemende mate een technologische behandeling ingezet om organische microverontreinigingen te verwijderen. Het is bekend dat er tijdens een dergelijke waterbehandeling in sommige gevallen nog onbekende transformatieproducten kunnen ontstaan. *Non-targetscreening* (NTS)-methoden, waarbij watermonsters breed geanalyseerd worden op de aanwezigheid van stoffen, brengen de chemische structuur van veel onbekende stoffen in beeld [1]. Hoewel zo de identiteit van steeds meer stoffen in water bekend wordt, is de toxiciteit van dergelijke stoffen veelal onbekend. Door dit gebrek aan informatie is het vaak lastig om een inschatting te maken van mogelijke risico's van stoffen in water voor de volksgezondheid en het milieu. Het is vaak wel mogelijk om op een conservatieve manier een veilige drempelwaarde voor de gezondheid af te leiden op basis van de *threshold of toxicological concern* (TTC) [2], [3]. In de praktijk is het echter wenselijk om een nauwkeurigere inschatting van mogelijke risico's te maken op basis van de stoffeigenschappen, zodat onnodige maatregelen en onrust kunnen worden voorkomen.

In-silicotoxicologie

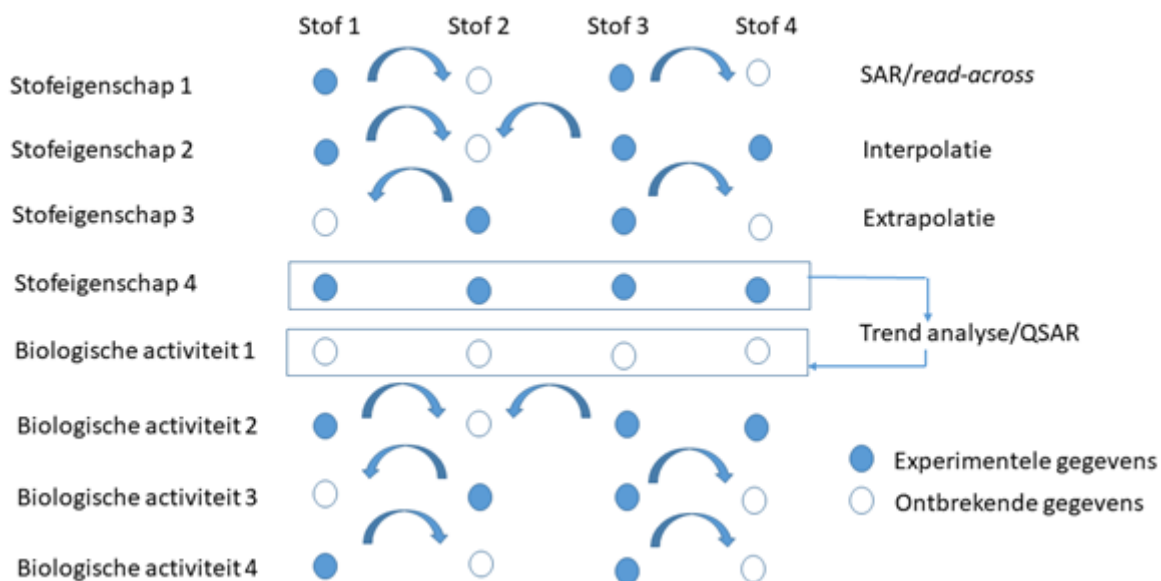
Als de identiteit of structuur van stof(fen) in water bekend is, kunnen in-silico-(computer)modellen gebruikt worden om de toxiciteit van deze stoffen te voorspellen. Computerprogramma's die gebruik maken van in-silicomodellen om de toxiciteit van stoffen in te schatten bevatten databases met experimentele informatie over verschillende nadelige toxische effecten voor een groot aantal

stoffen. Met behulp van (kwantitatieve) structuur-activiteit-relaties ((Q)SARs: (*quantitative structure-activity relationships*)) wordt bekend welke chemische substructuren en/of fysisch-chemische eigenschappen voorspellend zijn voor een bepaald type toxiciteit. Op basis van de chemische structuur kan worden bepaald of een nieuwe stof een 'structural alert' heeft voor dat effect (afbeelding 1). Dit betekent op basis van de chemische structuur wordt verwacht dat een stof een bepaald effect kan vertonen, waarbij geen rekening is gehouden met andere eigenschappen die in de praktijk invloed hebben op de mate van toxiciteit. Voor een betrouwbaardere voorspelling kan de stof door middel van een zogenoemde 'read-across' worden vergeleken met stoffen die vergelijkbare chemische structuur en fysisch-chemische eigenschappen hebben (afbeelding 2). Op deze manier kan worden ingeschat welke nadelige effecten een stof mogelijk (redelijkerwijs aannemelijk) heeft op de menselijke gezondheid en het milieu. Voor individuele stoffen zonder toxiciteitsgegevens is een in-silicobenadering sneller en kostenefficiënter dan de uitvoering van toxicologische studies. \



Afbeelding 1. Virtueel molecuul met meerdere structural alerts voor de potentie om DNA te beschadigen, wat kan leiden tot het ontstaan van kanker, opgesteld door Ashby 1985 [4]

Het toepassen van in-silicomodellen voor toxiciteitsvoorspelling is niet ingewikkeld en de meeste modellen zijn relatief gebruiksvriendelijk. Hierbij is het wel essentieel dat toxicologen en chemici samenwerken, omdat basiskennis van zowel (organische) chemie als toxicologie nodig is. Een gedegen onderbouwing en beoordeling door experts is noodzakelijk voor aanname of afwijzing van de door het model gegenereerde voorspelling. Daarnaast moet worden nagegaan of de door het model geselecteerde stoffen voor de read-across inderdaad voldoende vergelijkbaar zijn met de stof die wordt beoordeeld om een voorspelling op te kunnen baseren.



Afbeelding 2. Schematische weergave van verschillende begrippen met betrekking tot in-silicomodellen [5]

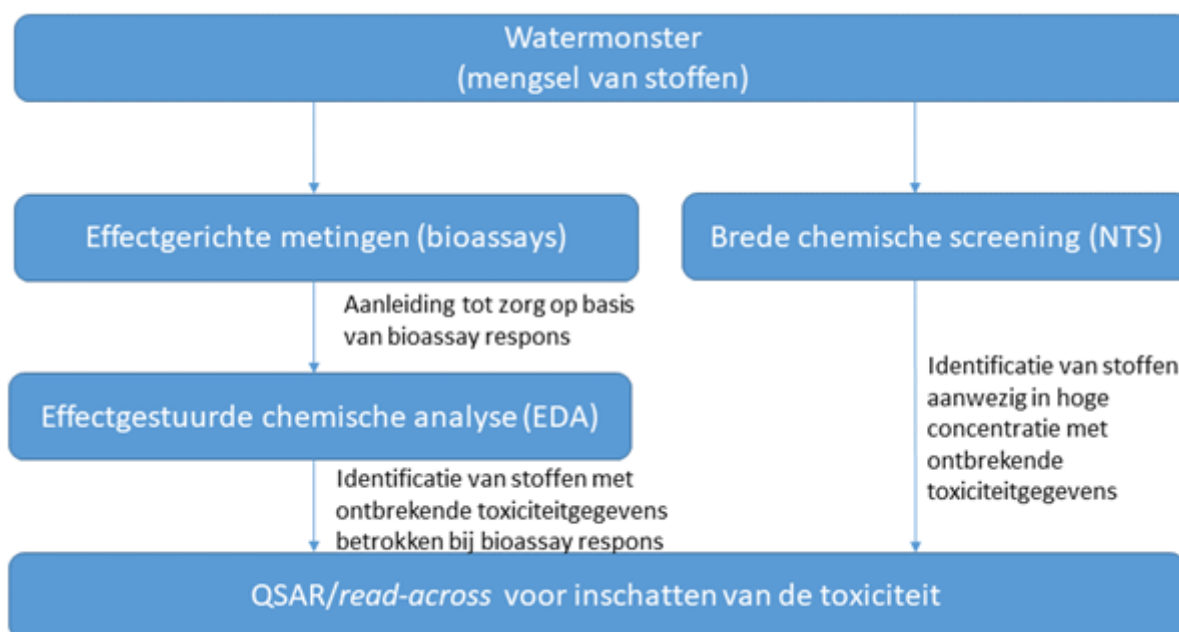
Toepassingen van in-silicomodellen voor waterkwaliteit

KWR gebruikt computerprogramma's die gebruik maken van in-silicomodellen voor het voorspellen van toxiciteit, zoals QSAR Toolbox [6], VEGA-QSAR [7], [8] en Toxtree [9], [10], voor verschillende doeleinden. Denk aan het prioriteren van stoffen voor studies naar zuiveringsefficiëntie, het verkrijgen van inzicht in mogelijke effecten van onbekende stoffen die worden aangetroffen in (drink)waterbronnen en voor toxicologische risicobeoordelingen (al dan niet in combinatie met bioassays). In-silicomodellen beperken zich niet tot het voorspellen van toxiciteit van stoffen, maar bieden ook de mogelijkheid om fysisch-chemische eigenschappen van een stof en het gedrag in het milieu te voorspellen. KWR heeft de Aqua Priori-tool [11], [12], [13] ontwikkeld om de mate van verwijdering van organische microverontreinigingen in de zuivering te voorspellen op basis van QSARs.

Ook buiten het waterkwaliteitsonderzoek worden in-silicomodellen toegepast, bijvoorbeeld voor het selecteren van stoffen voor doorontwikkeling in de farmaceutische industrie. Ook in gedegen risicobeoordelingen van stoffen voor wet- en regelgeving wordt in toenemende mate kennis uit alternatieve, dierproefvrije methoden, zoals in-vitrotesten en in-silicomethoden, meegewogen. Bij het integreren van verschillende typen informatie is het gebruikelijk om deze informatie te bundelen, de betrouwbaarheid, relevantie en consistentie ervan te wegen en het gezamenlijke bewijs te integreren. Verschillende manieren om dit aan te pakken zijn beschreven in ondersteunende documenten van autoriteiten zoals de Europese Autoriteit voor voedselveiligheid (EFSA) en het Europees Agentschap voor chemische stoffen (ECHA). Welke aanpak het beste past hangt af van het doel van de betreffende beoordeling. Op deze manier wordt verzekerd dat door het gebruik van innovatieve methoden niet onbedoeld lagere eisen worden gesteld aan de veiligheid van een stof voor mens en milieu.

Vaak worden chemische analyses (doelstof of non-target) toegepast om de chemische waterkwaliteit te beoordelen. Daarnaast kunnen effectgerichte metingen (bioassays) worden uitgevoerd waarbij biologische effecten van stoffen in water op levende organismen worden onderzocht. Dit kan gebruikmakend van bacteriën en cellijnen (in vitro) of levende organismen zoals watervlooien en

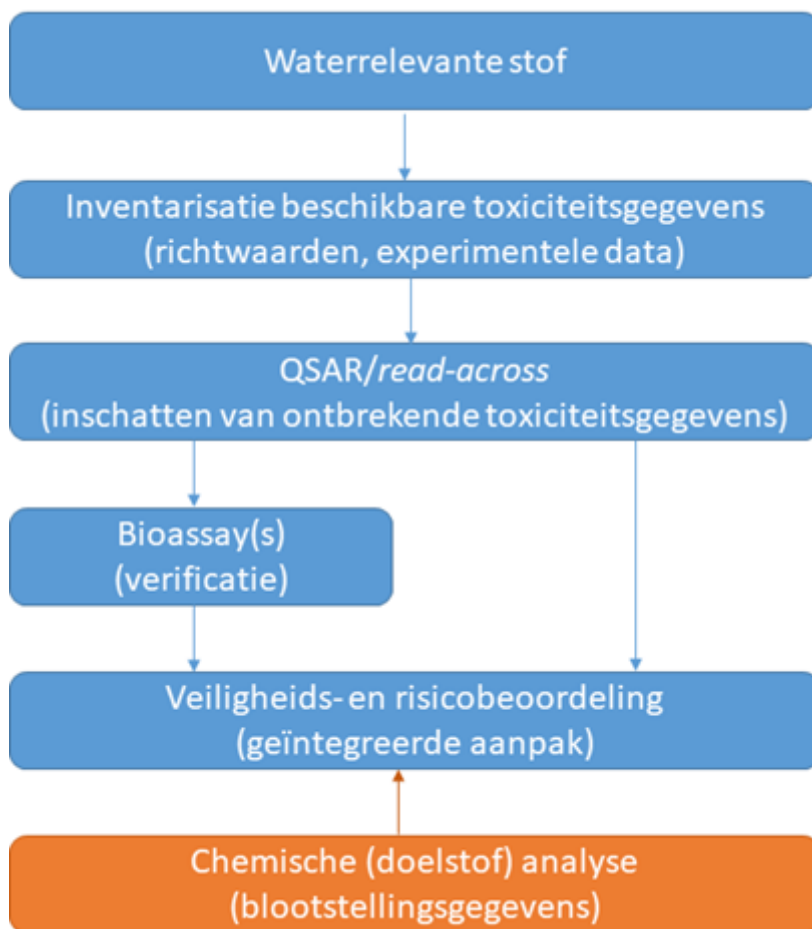
algen (in vivo). Belangrijke toepassingen van in-silicomodellen voor waterkwaliteitsmonitoring zijn het prioriteren van stoffen voor vervolgonderzoek en ondersteuning bij de risicoanalyse van effectgerichte metingen (bioassays) en chemische analyses (doelstof of NTS) (afbeelding 3). Wanneer er op basis van effectgerichte metingen (bioassayresponsen) aanleiding is om mogelijke risico's voor mens en milieu nader te onderzoeken, kan met behulp van effectgestuurde chemische analyse (*effect-directed analysis*, EDA), waarbij waterextracten worden gefractioneerd, gericht gezocht worden naar de chemische identiteit (stofnaam en chemische structuur) van de stoffen die deze respons veroorzaakt hebben [14], [15]. Steeds meer bioassays kunnen gecombineerd worden met EDA. Voor de geïdentificeerde stoffen waarvan toxiciteitsgegevens ontbreken, kan met behulp van QSAR en read-across een inschatting worden gemaakt van de mogelijke risico's. Na NTS op een watermonster, kunnen ook stoffen worden geïdentificeerd die in hoge concentraties aanwezig zijn en waarvoor toxiciteitsgegevens ontbreken, om vervolgens met QSAR en read-across mogelijke risico's voor mens en milieu in te schatten. Stoffen die uit EDA of NTS naar voren komen, kunnen dus op basis hiervan worden geprioriteerd voor kwantitatieve concentratiemetingen (inclusief chemisch-analytische methodeontwikkeling wanneer nodig) en nadere risicobeoordeling. De uitkomsten van de QSAR en read-across kunnen worden geverifieerd door de individuele stoffen te testen met bioassays.



Afbeelding 3. Schematische weergave van toepassingen van in-silicomodellen voor het prioriteren van stoffen voor vervolgonderzoek en interpretatie van chemische analyses in het kader van waterkwaliteitsmonitoring

Een andere belangrijke toepassing van in-silicomodellen voor waterkwaliteitsmonitoring is informatie leveren voor risicobeoordeling van individuele stoffen (afbeelding 4). Als snel behoefte is aan een inschatting van gevaar en mogelijke risico's, zoals wanneer een 'nieuwe' stof onverwacht in hoge concentraties in water wordt aangetroffen, kan een read-across worden uitgevoerd. Waar de focus bij prioriteren voor vervolgonderzoek ligt op de analyse en het vergelijken van meerdere stoffen tegelijk (het watermonster als mengsel) ligt bij read-across de focus op individuele stoffen. Door middel van een geïntegreerde aanpak waarin verschillende resultaten uit experimentele studies en

modellen worden meegewogen (*weight of evidence*) kunnen er uitspraken worden gedaan over mogelijk gevaar en risico's van een specifieke stof.



Afbeelding 4. Schematische weergave van de toepassing van in-silicomodellen voor veiligheids- en risicobeoordeling van individuele waterrelevante stoffen

Conclusie

Samenvattend zijn de meeste in-silicotools relatief gebruiksvriendelijk, maar vereist de interpretatie van de resultaten beoordeling door experts. In-silicotools maken inzichtelijk welke microverontreinigingen in water een mogelijk risico voor de gezondheid en het milieu vormen. Daardoor hebben ze een duidelijke toegevoegde waarde voor het oplossen van verschillende waterkwaliteitsvraagstukken rondom prioriteren voor vervolgonderzoek en veiligheids- en risicobeoordeling. Maatregelen en besluitvorming om deze risico's in te perken kunnen hiermee doelgericht worden gekozen en ingezet.

Dit artikel is tot stand gekomen met bijdragen van BTO Chemische Veiligheid.

Referenties

1. Bajema, B. et al. (2022). 'Nieuw kwaliteitskader voor een brede chemische screening van opkomende stoffen in water'. *H2O-online*, 7 februari 2022.
2. Kroes, R., Kleiner, J., Renwick, A. (2005). 'The threshold of toxicological concern concept in risk assessment'. *Toxicol Sci.* 2005 Aug; 86(2):226-30. doi: 10.1093/toxsci/kfi169. Epub 2005 Apr 13. PMID: 15829616.
3. Munro, I.C., Renwick, A.G., Danielewska-Nikiel, B. (2008). 'The Threshold of Toxicological Concern (TTC) in risk assessment'. *Toxicol Lett.*;180(2):151-6. doi: 10.1016/j.toxlet.2008.05.006. Epub 2008 May 22. PMID: 18573621.
4. Bettis, J.L. (2019). *An Introduction to (Q)SAR with Respect to Regulatory Submissions. In: Integrated Safety and Risk Assessment for Medical Devices and Combination Products*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-35241-7_8
5. Lehmann, D. et al. (2010). *Predicting the Toxicities of Chemicals to Aquatic Animal Species*. 10.13140/RG.2.1.1882.6002.
6. QSAR Toolbox, www.qsartoolbox.org
7. VEGA-QSAR, <https://www.vegahub.eu/portfolio-item/vega-qsar/>
8. Benfenati, E., Manganaro, A., Gini, G. (2013). 'VEGA-QSAR: AI inside a platform for predictive toxicology'. *Proceedings of the workshop "Popularize Artificial Intelligence 2013"*. December 5th 2013, Turin, Italy. Published on CEUR Workshop Proceedings Vol-1107.
9. Toxtree, <http://toxtree.sourceforge.net/>
10. Patlewicz, G., Jeliakova, N., Safford, R.J., Worth, A.P., Aleksiev, B. (2008) 'An evaluation of the implementation of the Cramer classification scheme in the Toxtree software'. *SAR QSAR Environ Res.*;19(5-6):495-524.
11. Wols, B.A., Vries, D. (2012). 'On a QSAR approach for the prediction of priority compound degradation by water treatment processes'. *Water Sci Technol.* 66(7):1446-53. doi: 10.2166/wst.2012.328. PMID: 22864429.
12. [AquaPriori - KWR \(kwrwater.nl\)](http://www.kwrwater.nl)
13. Hofman, R., Hoek, J.P. van der (2014). 'De droom van elke waterbehandeling: QSARs?', *H2O-Online*, 6 januari 2015.
14. Brekelmans, S., Slootweg, T., Houtman, C.J. (2021). 'Effect Directed Analysis achterhaalt verantwoordelijke stoffen voor bioassayrespons'. *H2O-online*, 7 oktober 2021.
15. Houtman, C.J. et al. (2020). 'High resolution effect-directed analysis of steroid hormone (ant)agonists in surface and wastewater quality monitoring'. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 80:103460.