

**DOSE**  
**RISPOSTA**  
**EFFETTO**  
**LIMITE**

*«Omnia venenum sunt: nec sine veneno quicquam existit. Dosis sola facit, ut venenum non fit»*



## **Paracelso 1493-1541**

«Tutto è veleno: nulla esiste di non velenoso. Solo la dose fa in modo che il veleno non faccia effetto»

A: assorbimento

D: distribuzione

M: metabolismo

E: escrezione

T: tossicità

farmacocinetica

farmacodinamica

# PRINCIPIO DI PRECAUZIONE

**“Quando ci si propone di introdurre nuove sostanze o nuove tecnologie nell’uso quotidiano, bisogna partire dalla presunzione che esse possano avere un effetto nocivo sull’uomo; perciò, prima di commercializzarle e utilizzarle su larga scala, bisogna sottoporle a un’analisi preventiva dei danni e dei benefici che possono procurare alla salute dell’uomo e dell’ambiente in cui l’uomo vive.”**

Conferenza sull’ambiente e lo sviluppo delle Nazioni Unite  
(Earth Summit) di Rio de Janeiro del 1992

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES & DISEASE REGISTRY, PROPRITY LIST OF HAZARDOUS SUBSTANCES 2017  
ON 275 SUBSTANCES

2017 Rank	Substance Name	Total Points	CAS RN
1	ARSENIC	1674	7440-38-2
2	LEAD	1531	7439-92-1
3	MERCURY	1458	7439-97-6
4	VINYL CHLORIDE	1358	75-01-4
5	POLYCHLORINATED BIPHENYLS	1345	1336-36-3
6	BENZENE	1329	71-43-2
7	CADMIUM	1320	7440-43-9
8	BENZO(a)PYRENE	1306	50-32-8
9	POLYCYCLIC AROMATIC HYROCARBONS	1279	130498-29-2
10	BENZO(b)FLUORANTHENE	1251	20599-2
<b>OTHER METALS</b>			
51	COBALT	1013	7440-48-4
57	NICKEL	996	7440-02-0
75	ZINC	915	7440-66-6
78	CHROMIUM	895	7440-47-3
97	URANIUM	832	7440-61-1
118	COPPER	807	7440-50-8
183	ALUMINUM	687	742990-5
200	VANADIUM	650	7440-62-2
<b>OTHER SUBSTANCES</b>			
94	ASBESTOS	841	1332-21-4
155	PERFLUOROCTANOIC ACID	758	335-67-1
224	FORMALDEHYDE	605	50-00-0
275	1,2,3-TRICHLOROPROPANE	537	96-18-4

# **Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)**

## **EPA Reportable Quantity Methodology Used to Establish Toxicity/Environmental Scores for the Substance Priority List**

- 1. IGNABILITY/REACTIVITY**
- 2. AQUATIC TOXICITY**
- 3. MAMMALIAN TOXICITY**
- 4. CHRONIC TOXICITY**
- 5. CARCINOGENICITY**

**PERICOLO**



*proprietà intrinseca* di una sostanza chimica, strumento o procedura che può arrecare danno

**RISCHIO**



*probabilità* che in una **situazione pericolosa** si verifichi un evento dannoso, più o meno grave (*gravità*) ed evidente, per la nostra salute

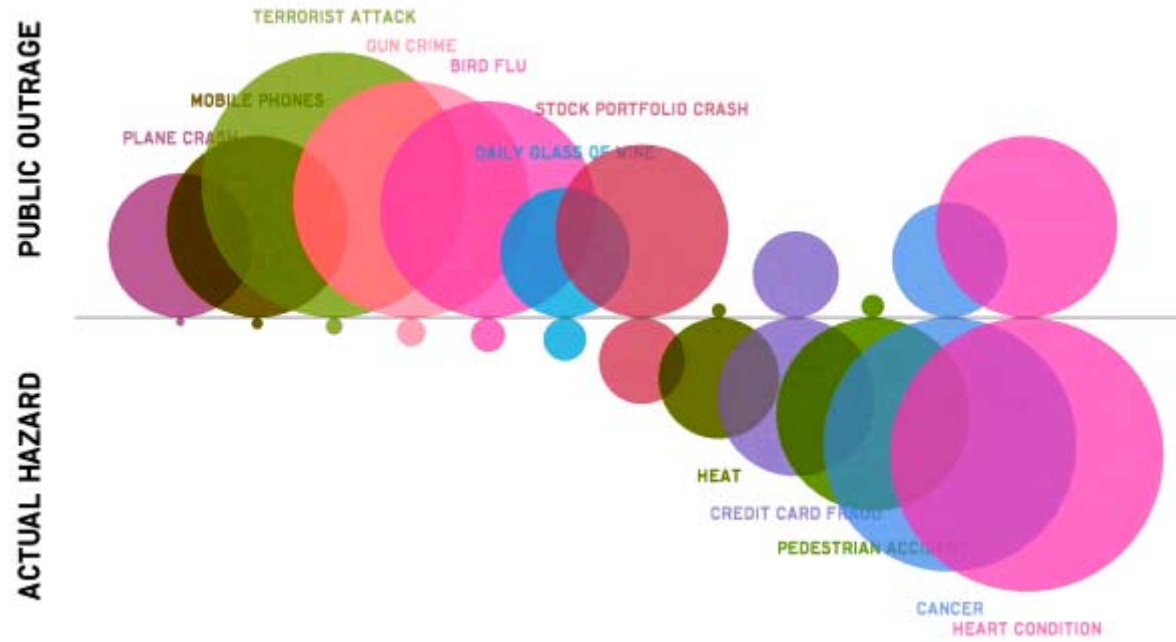
# Perception of Risk

PAUL SLOVIC

Slovic, P. (1987). "Perception of Risk." *Science* 236(17 April): 280-285.

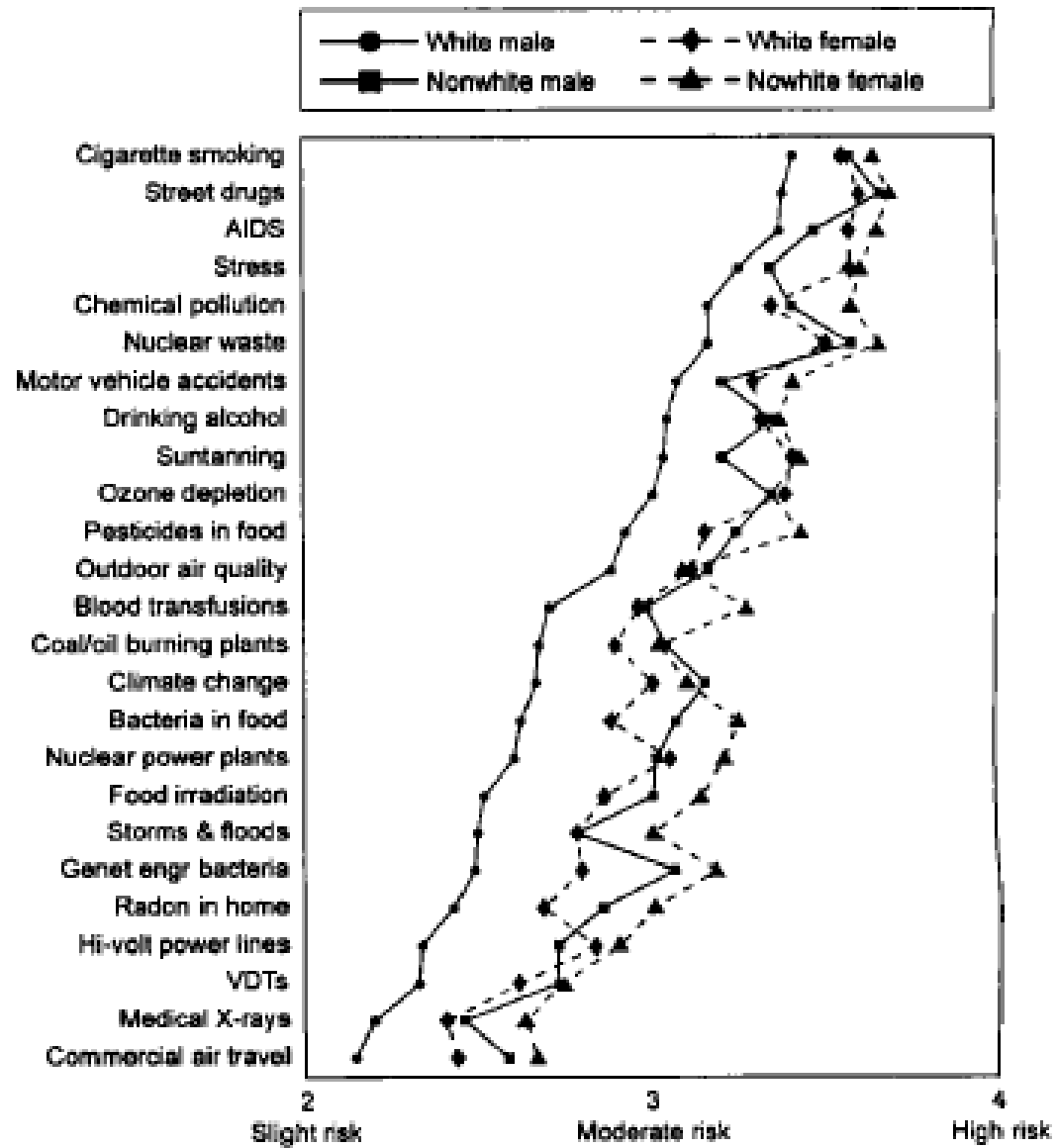


# PERCEZIONE DEL RISCHIO



**Table 1.** Ordering of perceived risk for 30 activities and technologies (22). The ordering is based on the geometric mean risk ratings within each group. Rank 1 represents the most risky activity or technology.

Activity or technology	League of Women Voters	College students	Active club members	Experts
Nuclear power	1	1	8	20
Motor vehicles	2	5	3	1
Handguns	3	2	1	4
Smoking	4	3	4	2
Motorcycles	5	6	2	6
Alcoholic beverages	6	7	5	3
General (private) aviation	7	15	11	12
Police work	8	8	7	17
Pesticides	9	4	15	8
Surgery	10	11	9	5
Fire fighting	11	10	6	18
Large construction	12	14	13	13
Hunting	13	18	10	23
Spray cans	14	13	23	26
Mountain climbing	15	22	12	29
Bicycles	16	24	14	15
Commercial aviation	17	16	18	16
Electric power (non-nuclear)	18	19	19	9
Swimming	19	30	17	10
Contraceptives	20	9	22	11
Skiing	21	25	16	30
X-rays	22	17	24	7
High school and college football	23	26	21	27
Railroads	24	23	29	19
Food preservatives	25	12	28	14
Food coloring	26	20	30	21
Power mowers	27	28	25	28
Prescription antibiotics	28	21	26	24
Home appliances	29	27	27	22
Vaccinations	30	29	29	25



**Fig. 1.** Mean risk-perception ratings by race and gender. Source: Ref. No. 28.

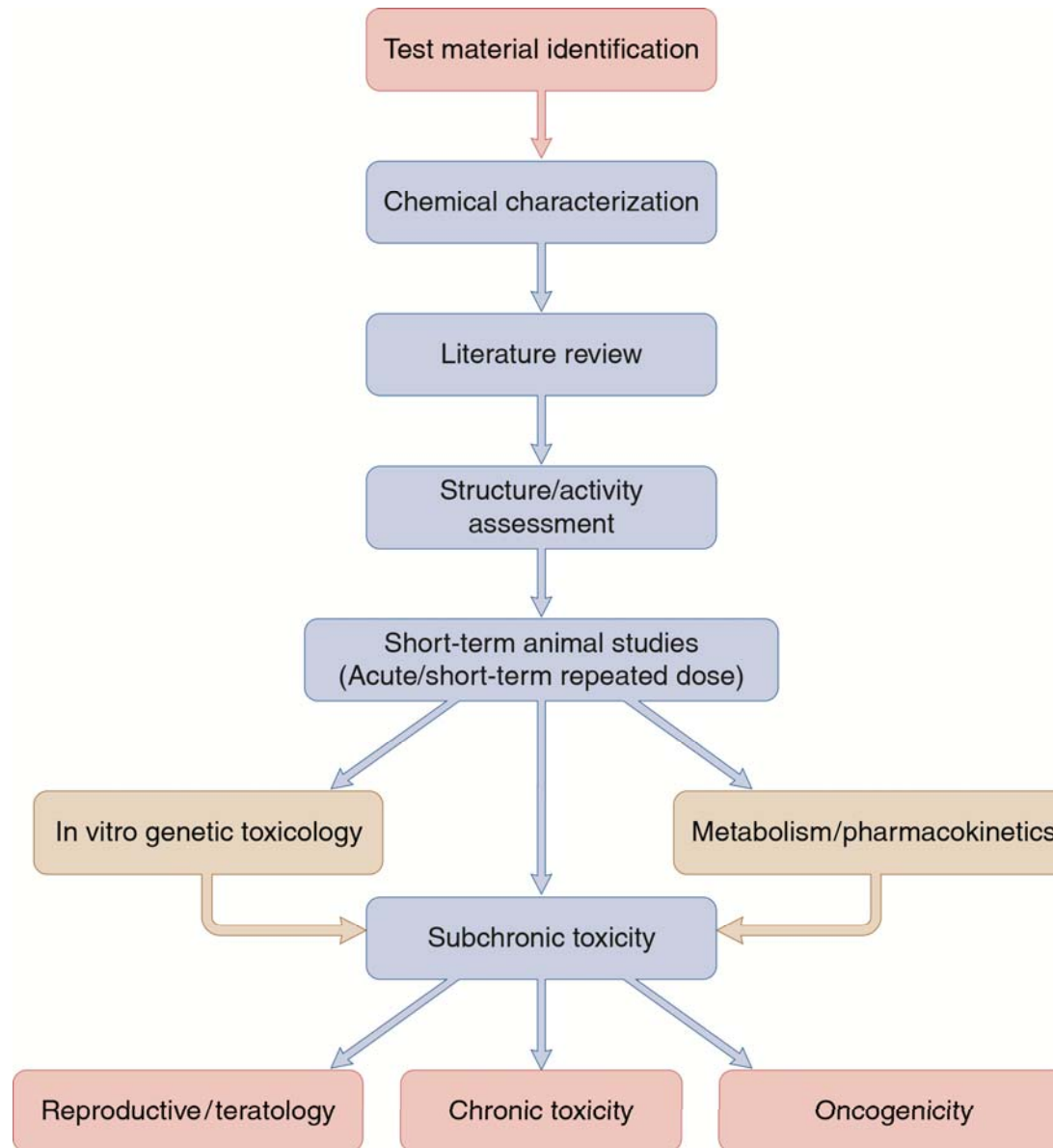


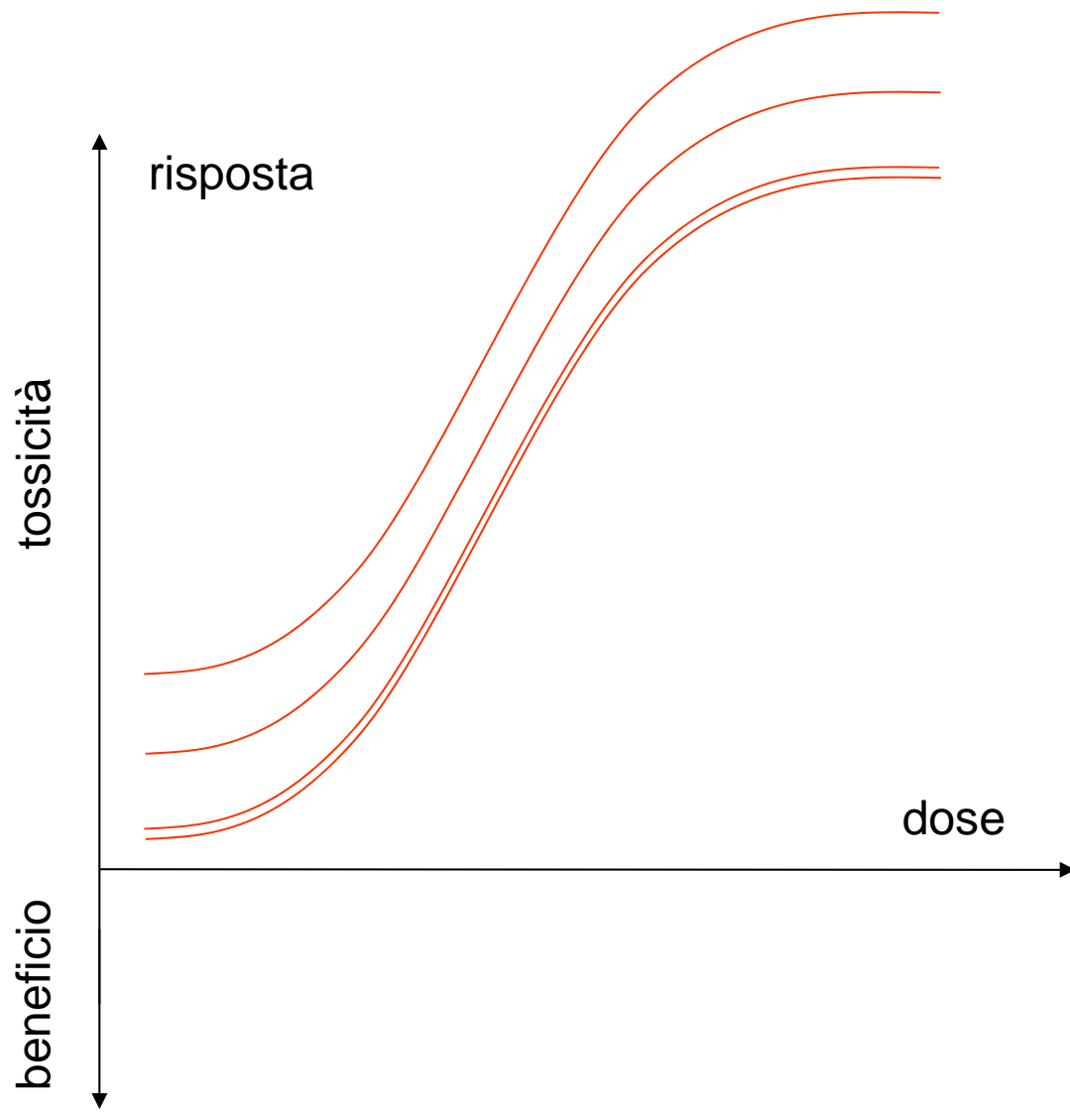
Figure 2-13. Typical tiered testing scheme for the toxicological evaluation of new chemicals.  
(From Wilson *et al.*, 2008, Fig. 19-1, p. 918.)

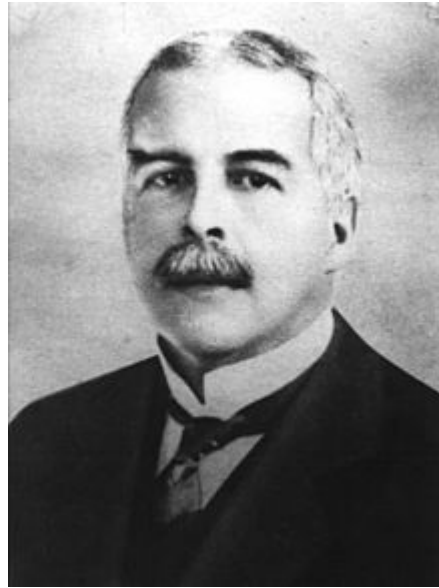
# DOSE-RISPOSTA

1. Forma della curva dose-risposta
2. Risposta a bassi livelli di esposizione
3. Natura degli effetti ad alti livelli
4. Pendenza della parte lineare (indica l'ordine di tossicità) della curva:

ripida → alta tossicità

poco ripida → tossicità relativamente  
modesta





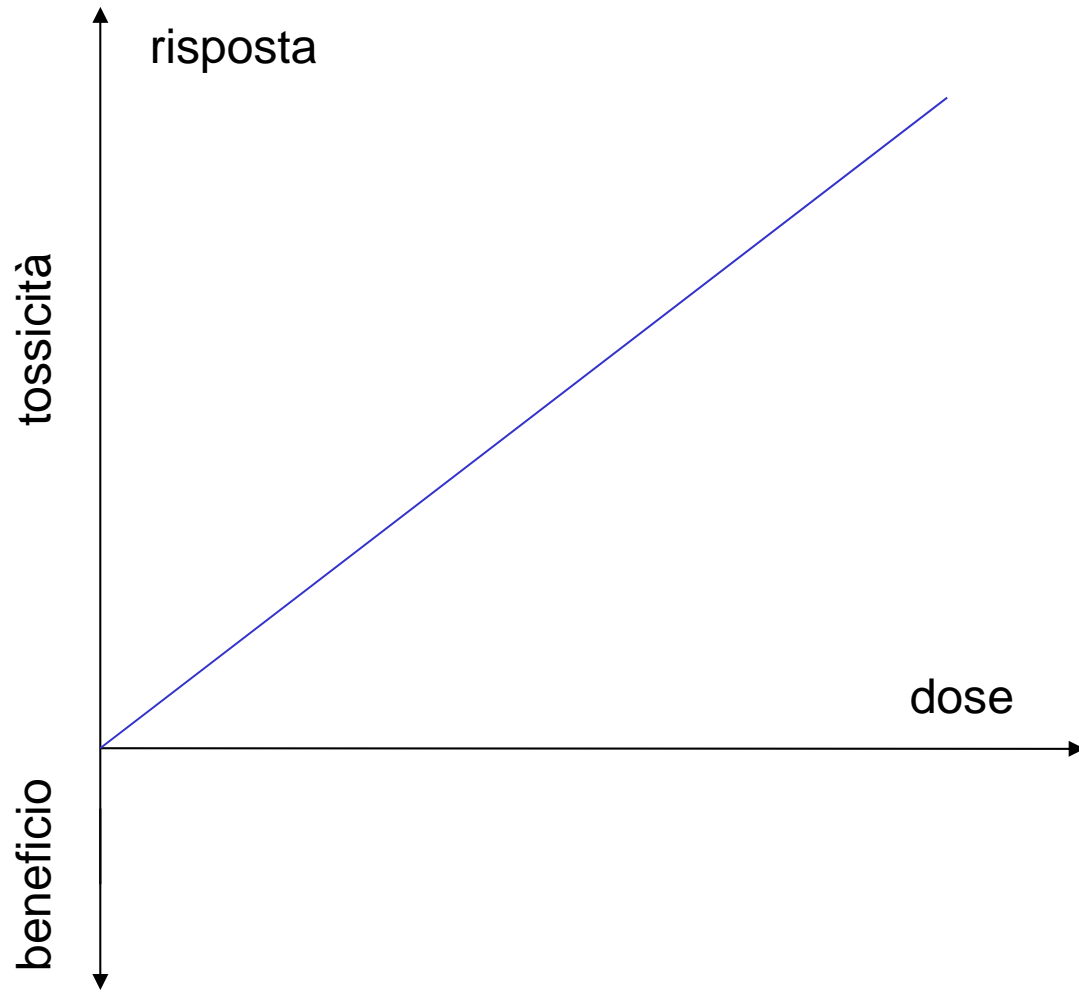
Gilbert Lewis 1875-1946

**1928. Data di nascita LNT**

Nel 1946 vince il Premio Nobel per la Fisiologia e la Medicina **Hermann Joseph Muller** "per la scoperta dell'induzione di mutazioni da parte dei raggi X"







## SAFE DRINKING WATER COMMITTEE (1977)

“Man is never exposed to one carcinogen at a time, but is exposed to low concentrations of many at the same time. Accordingly, we have adopted a “non-threshold” approach for estimating risks from pollutants that have been shown to be carcinogenic in laboratory animals.”

“We therefore conclude that, if there is evidence that a particular carcinogen acts by directly causing a mutation in the DNA, it is likely that the dose-response curve for carcinogenesis will not show a threshold and will be linear at low doses.”



ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

## Environmental Research

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/envres](http://www.elsevier.com/locate/envres)



Obituary notice: LNT dead at 89 years, a life in the spotlight

Edward J. Calabrese

*Department of Environmental Health Sciences, Morrill I, N344, University of Massachusetts, Amherst, MA 01003, USA*



The linear dose-response relationship for carcinogen risk assessment, otherwise known as the linear-no-threshold (nicknamed LNT) model died on January 10, 2017 due to an academic version of multiple system failure.

LNT was finally put to rest in a grave outside Washington, DC. The ceremony was surprisingly well attended by numerous inconsolable consultants and governmental regulators who made their economic livelihoods based on the tenets and applications of LNT in cancer risk assessment.

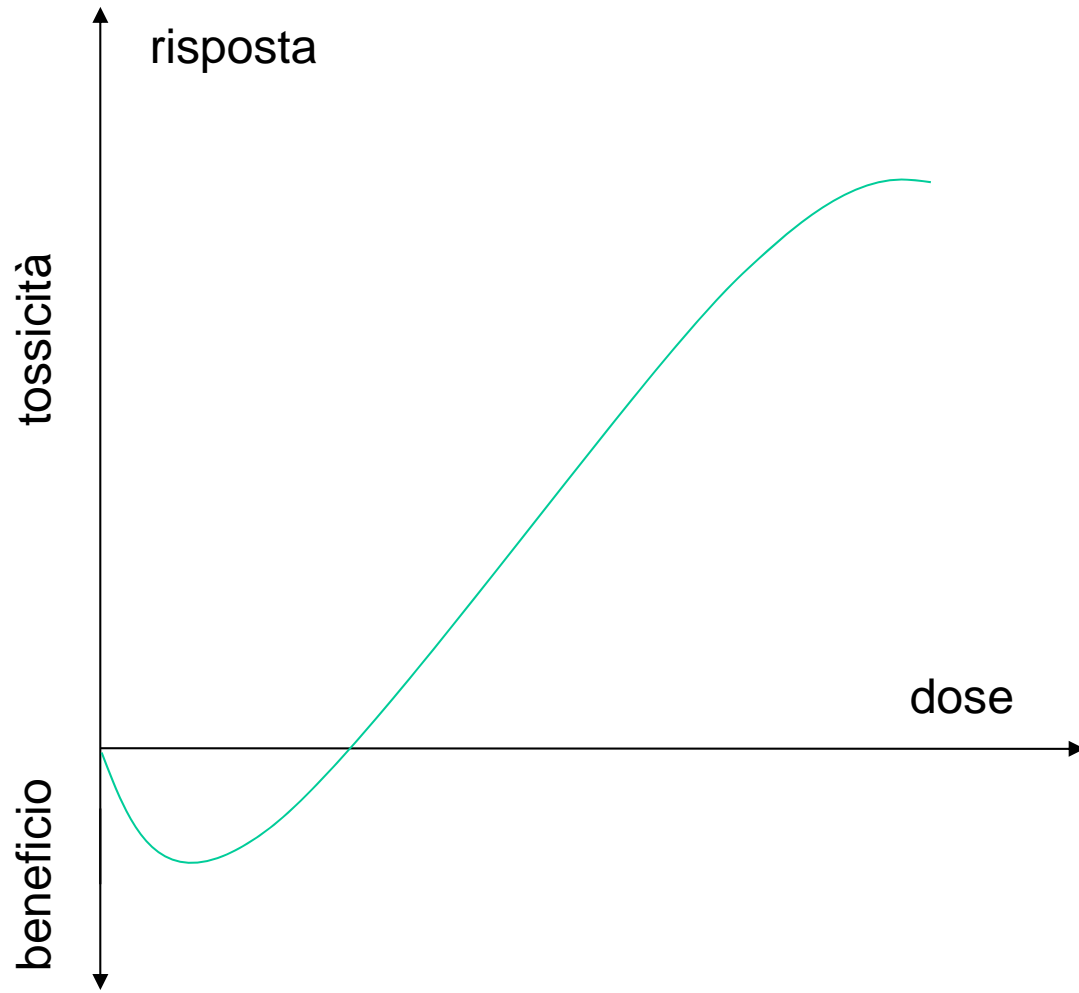
«Stimoli di debole intensità accelerano modestamente l'attività vitale, di media intensità la incrementano, di forte intensità la bloccano in parte, di elevatissima intensità la sopprimono completamente»

Hugo Schultz



Rudolph Arndt

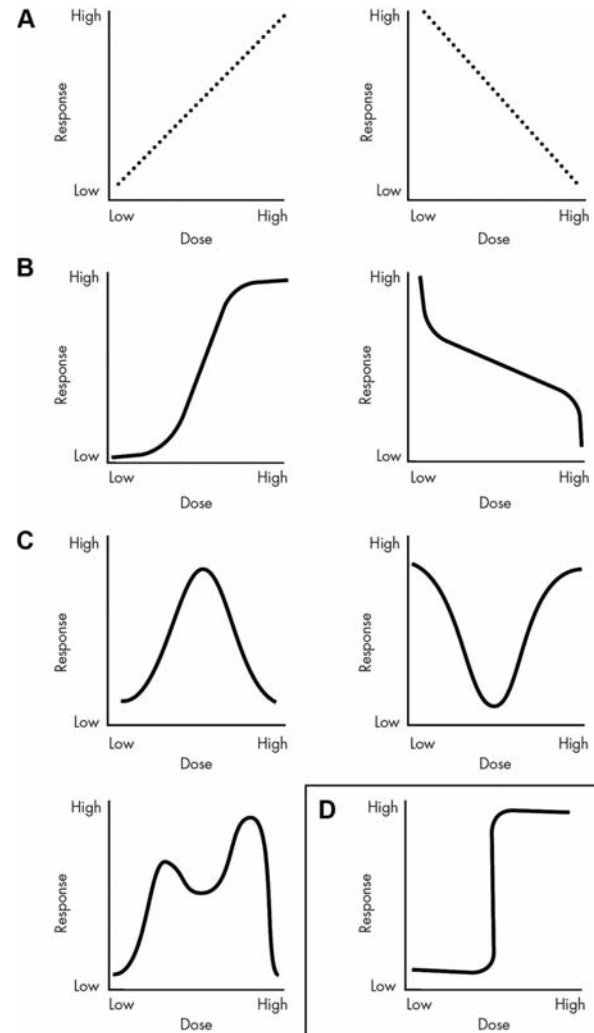




Agents that displayed hormetic dose/concentration response relationships mediated via a specific cell signaling mechanism.

Arsenic  
Bisphenol A  
Cadmium  
Ethanol  
Genistein  
Morphine  
Resveratrol  
X-Rays

## Examples of dose-response curves.

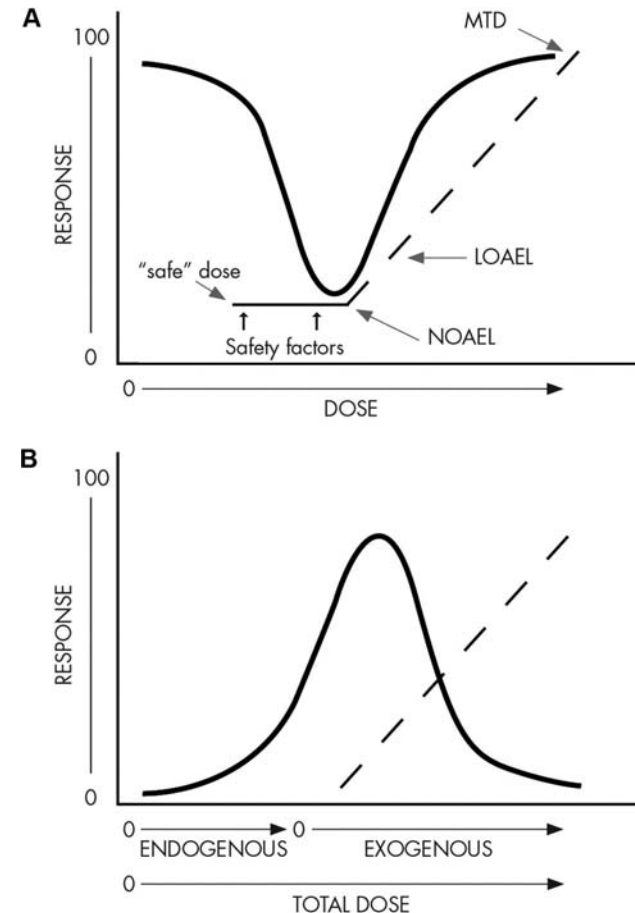


Vandenberg L N et al. Endocrine Reviews 2012;33:378-455

## NOAEL, LOAEL, and calculation of a safe reference dose

Nei test di tossicologia tradizionale, sono testate alte dosi per ottenere la dose massima tollerata (MTD), il LOAEL, e il NOAEL. Diversi fattori di sicurezza vengono poi applicati per derivare la dose di riferimento, cioè la dose alla quale un'esposizione è ritenuto sicuro. Questa dose di riferimento è raramente verificata direttamente. Eppure, quando prodotti chimici o ormoni producono una non-monotonica-dose-risposta-curve (NMDRC), effetti avversi possono essere osservati in corrispondenza o al di sotto della dose di riferimento. Qui, le dosi che sarebbero testate sono indicate da una linea tratteggiata, e la dose sicura calcolata è indicata da una linea spessa. La risposta reale, una NMDRC a forma di U rovesciata, è indicata da una linea continua sottile.

Dati sperimentali indicano che i distruttori endocrini e gli ormoni non hanno NOAEL o dosi di soglia, e quindi nessuna dose può mai essere considerato sicuro. Questo perché un ormone esogeno (o distruttore endocrino) potrebbe avere una risposta lineare nell'intervallo testato (linea tratteggiata), ma poiché gli ormoni endogeni sono presenti (linea continua sottile), gli effetti dell'ormone esogeno sono sempre osservati nel contesto di una sistema ormonale complessivo.





# **DISTRUTTORI ENDOCRINI**

Cosa sono i distruttori endocrini?

Sono un eterogeneo gruppo di sostanze esogene caratterizzate dalla capacità di interferire con il funzionamento del sistema endocrino, causando effetti dannosi su un organismo o sulla sua progenie.

# DISTRUTTORI ENDOCRINI

Gli effetti indesiderati dei distruttori endocrini finora osservati, mediante studi *in vivo* e *in vitro*, sono:

- la compromissione della capacità riproduttiva
- la presenza di difetti morfologici o funzionali alla nascita
- lo sviluppo del cancro
- alcune alterazioni del sistema immunitario e altri effetti

# Endocrine disruption: Fact or urban legend?

Gerhard J. Nohynek<sup>a,\*</sup>, Christopher J. Borgert<sup>b</sup>, Daniel Dietrich<sup>c</sup>, Karl K. Rozman<sup>d</sup>

*G.J. Nohynek et al. / Toxicology Letters 223 (2013) 295–305*






299

**Table 1**

Comparative oestrogenic potency of natural or synthetic substances in the rodent uterotrophic assay after oral doses (adapted from Golden et al., 2005; Nilsson, 2000; Witorsch and Thomas, 2010).

Substance	Use/Origin	Effective dose (mg/kg/day)	Relative potency
Diethylstilbestrol (DES)	Drug	0.0001	3,000,000
Ethinylestradiol	Contraceptive pill	0.0003	1,000,000
Estrone	Human oestrogen	0.0012	250,000
Coumestrol	Legumes (clover)	0.03	10,000
Genistein	Soybeans	8	37
Daidzein	Soybeans	12	25
4-MBC	UV filter	300	1.0
Butylparaben	Preservative	600 <sup>a</sup>	0.5
Benzylparaben	Preservative	2500	0.12

<sup>a</sup> Subcutaneous doses, rats.

SUBSTANCE	POTENCY / POWER	EXAMPLE
Ethinyl estradiol (oral contraceptive)	1,000,000	
Coumestrol (clover)	10,000	
Genistein (soy beans)	37	
Butylparaben (preservative)	0.5	
Benzylparaben (preservative)	0.1	

## BENCHMARK DOSE (dose di riferimento):

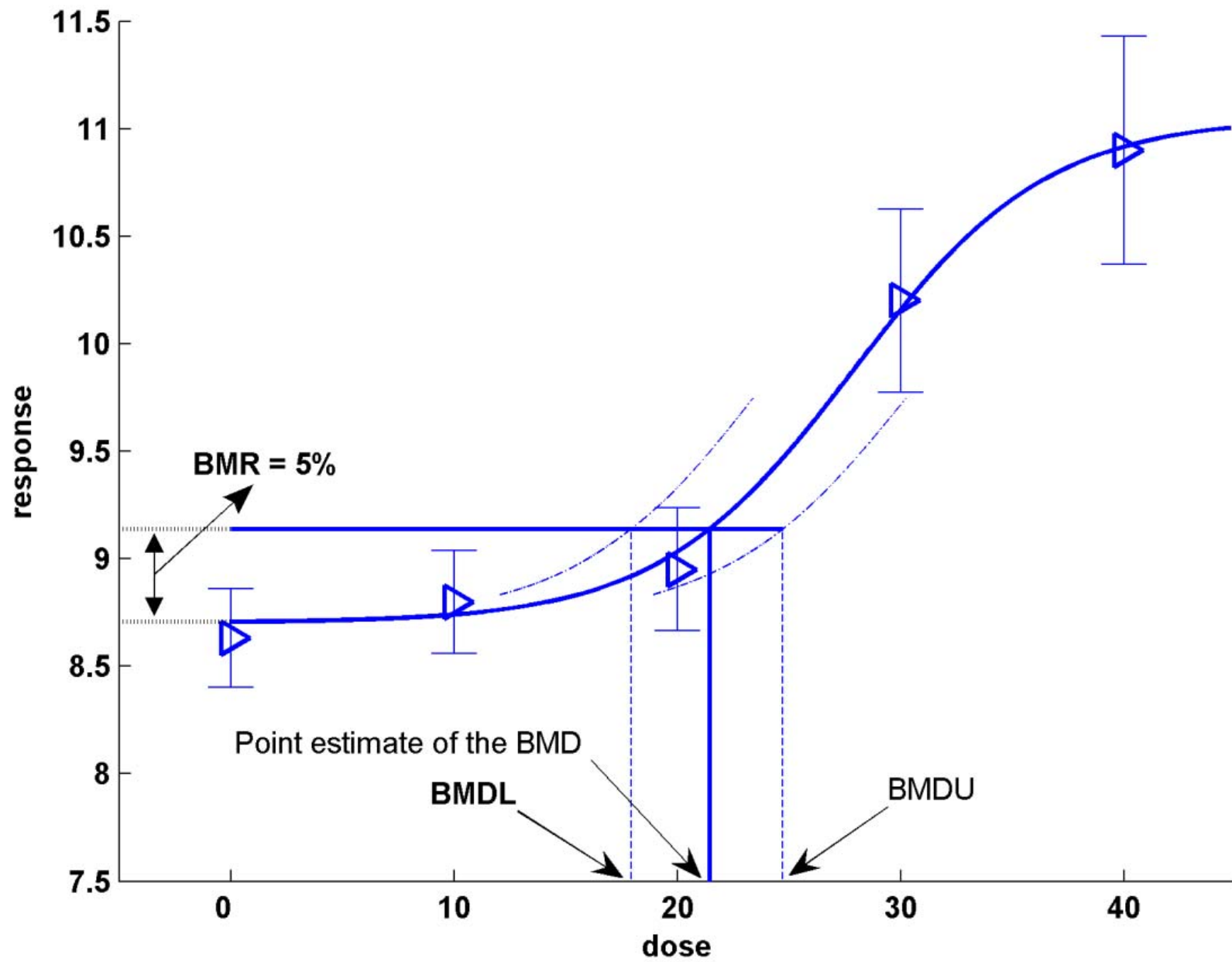
è il limite di confidenza inferiore di una dose corrispondente ad uno specifico livello di rischio. In altre parole, è l'esposizione che corrisponde ad una determinata variazione nella risposta (di un indicatore) rispetto al background o dose che corrisponde ad uno specifico livello di incremento della risposta. In pratica, è definita come l'esposizione che corrisponde ad uno specifico incremento (BMR) della probabilità di un effetto avverso quando messa a confronto con un background 0. Il più basso livello di confidenza del 95% legato alla BMD è stato suggerito per rimpiazzare il NOAEL.

Si 'fitta' la curva dose-risposta in base ai dati sperimentali.

Si estrapola la dose associata ad un effetto in una determinata percentuale di animali (1, 5 o 10%) (o ad un effetto pari al 1, 5 o 10% dell'effetto massimo). Si calcola l'**intervallo di confidenza di questa dose**.

**Il limite inferiore dell'intervallo di confidenza è la *benchmark dose (BMD o BMD-L)*.**

Questa dose viene poi divisa per un fattore di incertezza (può essere minore rispetto a quello utilizzato con NOAEL).



The observed mean responses (triangles) are plotted, together with their confidence intervals. The solid curve is a fitted dose-response model. This curve determines the BMD (point estimate), which is generally defined as a dose that corresponds to a low but measurable change in response, denoted the benchmark response (BMR). The dashed curves represent respectively the upper and lower 95%-confidence bounds (one sided) for the effect size as a function of dose. Their intersections with the horizontal line are at the lower and upper bounds of the BMD, denoted BMDL and BMDU, respectively. It should be noted that the BMR is not defined as a change with regard to the observed mean background response, but with regard to the background response predicted by the fitted model. This distinction is important because, in general, the fitted curve does not hit the observed background response exactly (so that adding the BMR to the observed background response will in general not provide the correct intersection with the dose-response at the BMD). In the Figure, the BMD corresponds to a 5% change in response relative to background (BMR = 5%). The fitted curve yields an estimated background response of 8.7, and a 5% increase of that equals 9.14 ( $8.7 + 0.05 \cdot 8.7 = 9.14$ ). Thus, the BMD<sub>05</sub>, of 21.50, is obtained from the intersection of the horizontal line, at a response of 9.14, with the fitted dose-response model. In this example, the BMDL<sub>05</sub> has a value of 18.

# FATTORI DI RISCHIO

Componenti genetiche o ereditarie

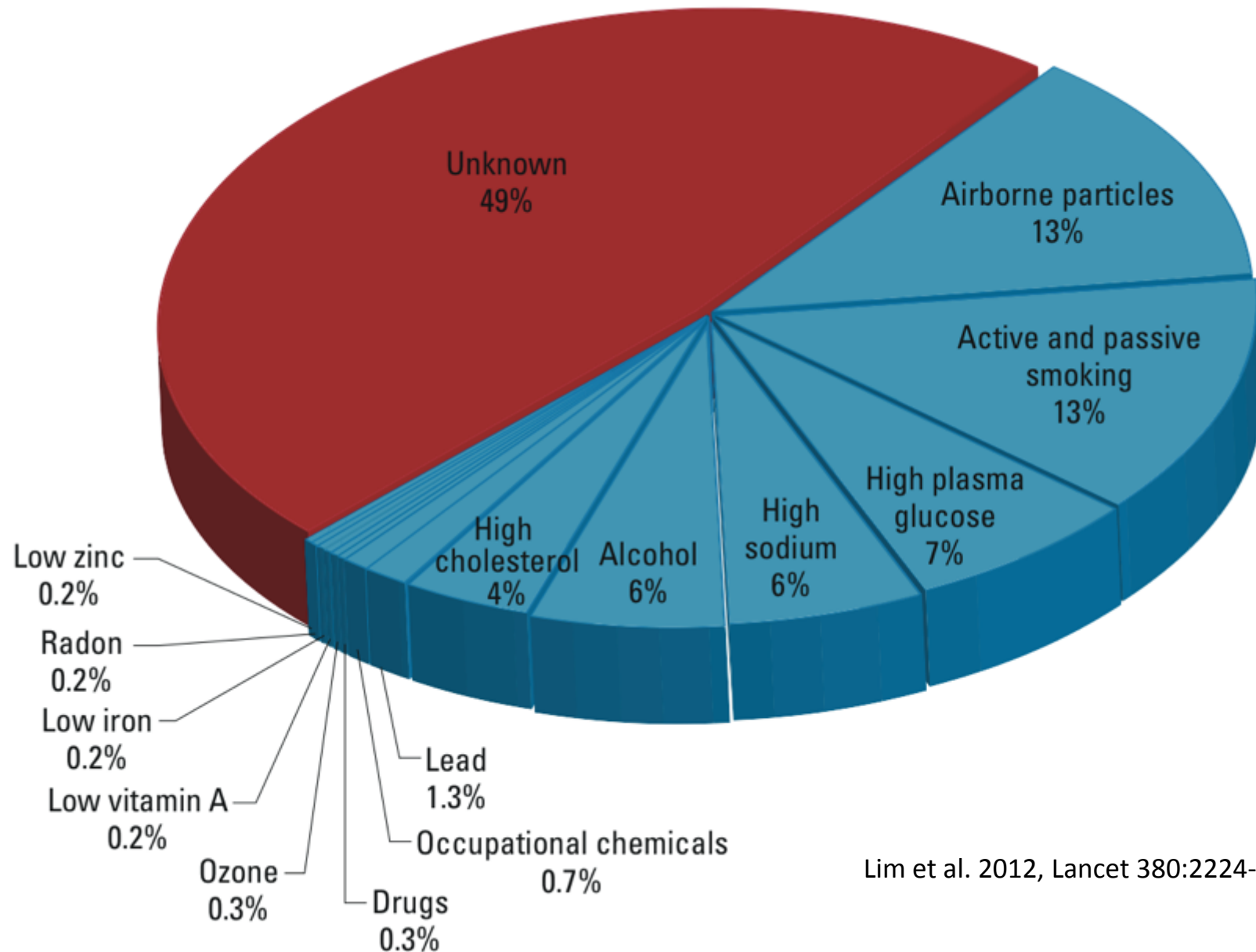
Componenti ambientali

Fattori nocivi presenti nei luoghi di lavoro

Abitudini individuali



# RISK FACTORS FOR EXPOSURES THAT CONTRIBUTE TO CHRONIC DISEASE MORTALITY



Lim et al. 2012, Lancet 380:2224-2260

### **Effetto deterministico**

prevedibile

dose e tempo dipendente

presente nella maggior parte degli esposti

riproducibile sperimentalmente

### **Effetto probabilistico (stocastico)**

non prevedibile

indipendente dalla dose e dal tempo

sporadico

non riproducibile sperimentalmente

# DOSE-EFFETTO

## 1. Tossicità acuta → endpoint: morte

durata 24 ore: viene contato il numero di morti e i sopravvissuti rimessi in gabbia e osservati per i seguenti 14 giorni

## 2. Tossicità subacuta e subcronica:

durata 21-90 giorni

## 3. Tossicità cronica:

durata 1-2 anni

## 4. Recovery:

osservazione da 1 a 3 mesi dopo la fine del trattamento

## CLASSI DI TOSSICITÀ: SCALA DI HODGE & STERNE

		DL50 p.o.	LC50	LD50 cute	
grado	definizione	dose singola ratti mg/kg	esposizione per 4 ore ratti ppm	applicazione singola coniglio mg/kg	probabile DL per l'uomo
1	estremamente tossico	$\leq 1$	$\leq 10$	$\leq 5$	una goccia
2	altamente tossico	1-50	10-100	5-43	4 ml
3	moderatamente tossico	50-500	100-1000	44-340	30 ml
4	lievemente tossico	500-5000	1000-10000	350-2810	600 ml
5	praticamente atossico	5000-15000	10000-100000	2820-22590	1 L
6	relativamente innocuo	$\geq 15000$	$\geq 100000$	$\geq 22600$	1 L

<b>Toxicity Classes: Hodge and Sterner Scale</b>					
		Routes of Administration			
		Oral LD50	Inhalation LC50	Dermal LD50	
<b>Toxicity Rating</b>	<b>Commonly Used Term</b>	<b>(single dose to rats) mg/kg</b>	<b>(exposure of rats for 4 hours) ppm</b>	<b>(single application to skin of rabbits) mg/kg</b>	<b>Probable Lethal Dose for Man</b>
1	Extremely Toxic	1 or less	10 or less	5 or less	1 grain (a taste, a drop)
2	Highly Toxic	1-50	10-100	5-43	4 ml (1 tsp)
3	Moderately Toxic	50-500	100-1000	44-340	30 ml (1 fl. oz.)
4	Slightly Toxic	500-5000	1000-10,000	350-2810	600 ml (1 pint)
5	Practically Non-toxic	5000-15,000	10,000-100,000	2820-22,590	1 litre (or 1 quart)
6	Relatively Harmless	15,000 or more	100,000	22,600 or more	1 litre (or 1 quart)

grain= 1/7000 lb= 65 mg; tsp= 4.9 ml; fl. oz= 29,6 ml; 1 pint= 473 ml; 1 quart= 946.4 ml

### Toxicity Classes: Gosselin, Smith and Hodge

Probable Oral Lethal Dose (Human)

Toxicity Rating or Class	Dose	For 70-kg person (150 lbs)
6 Super Toxic	Less than 5 mg/kg	1 grain (a taste - less than 7 drops)
5 Extremely Toxic	5-50 mg/kg	4 ml (between 7 drops and 1 tsp)
4 Very Toxic	50-500 mg/kg	30 ml (between 1 tsp and 1 fl ounce)
3 Moderately Toxic	0.5-5 g/kg	30-600 ml (between 1 fl oz and 1 pint)
2 Slightly Toxic	5-15 g/kg	600-1200 ml (between 1 pint to 1 quart)
1 Practically Non-Toxic	Above 15 g/kg	More than 1200 ml (more than 1 quart)

## DL<sub>50</sub> di alcune tossine testate sui topi

tossina	nome comune	DL <sub>50</sub> µg/kg
<i>Clostridium botulinum</i>	tossina botulinica	0,0003
<i>Crotalus viridis helleri</i>	serpente a sonagli sud-Pacifico	1,3
<i>Crotalus adamanteus</i>	diamondback dell'est	1,5
<i>Oxyuranus scutellatus</i>	serpente bruno gigante (Australia)	2
<i>Crotalus atrox</i>	diamondback dell'ovest	2,2
<i>Agkistrodon piscivorus</i>	mocassino d'acqua dell'Est	4
<i>Agkistrodon contortrix</i>	mocassino testa di rame	11
<i>Androctonus australis</i>	scorpione nord-Africano	17
<i>Notechis scutatus</i>	serpente tigre Australiano	25
<i>Naja siamensis</i>	cobra Indocinese (che sputa)	75

Specie	peso (kg)	area corporea (m <sup>2</sup> )	Km
Uomo			
adulto	60	1,6	37
bambino	20	0,8	25
Babbuino	12	0,6	20
Cane	10	0,5	20
Scimmia	3	0,24	12
Coniglio	1,8	0,15	12
Cavia	0,4	0,05	8
Ratto	0,15	0,025	6
Criceto	0,08	0,02	5
Topo	0,02	0,007	3



## Formula di trasformazione

$$\text{Human equivalent dose (mg/kg)} = \text{animal dose (mg/kg)} \times \frac{\text{animal Km}}{\text{human Km}}$$

# DOSE-RISPOSTA

**LD<sub>50</sub>**: definita come la dose che porta a morte il 50% degli animali trattati nelle 24 ore seguenti il trattamento

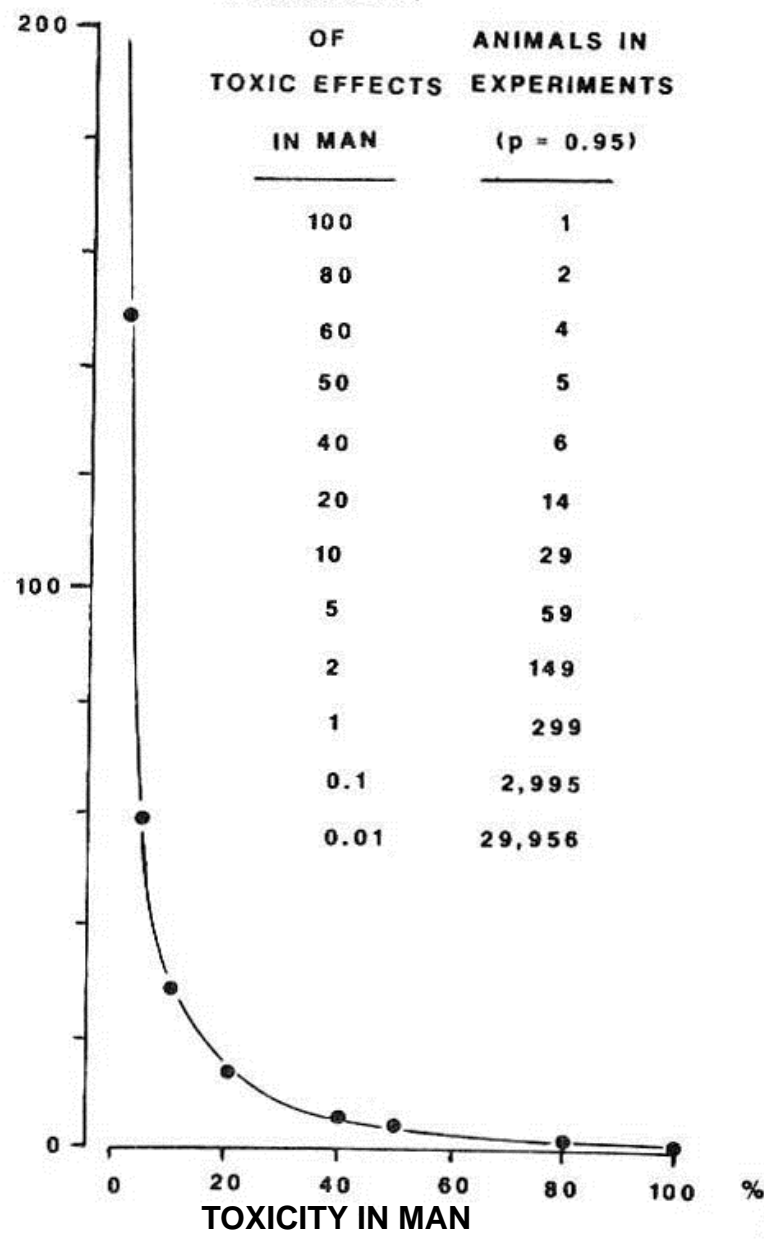
**Indice terapeutico (TI)**: il rapporto della dose richiesta per produrre un effetto tossico e la dose necessaria per la risposta terapeutica richiesta. L'indice di effetto, se favorevole o sfavorevole, è la dose mediana, cioè la dose richiesta per una risposta nel 50% della popolazione (o per causare il 50% di una risposta massimale):

$$TI = \frac{LD_{50} \text{ (dose letale)}}{ED_{50} \text{ (dose effettiva)}}$$

# DOSE-RISPOSTA

1. Via di somministrazione
2. Range di dosaggio (3: alto, medio, basso)
  - 1 gruppo di controllo
  - 3 gruppi trattati (alto, medio, basso)
3. Frequenza di somministrazione (n. dosi)
4. Numero di animali (è in relazione alla probabilità di un effetto tossico per l'uomo)

NUMBER OF ANIMALS NEEDED TO FIND ONE WITH TOXICITY



# **STRATEGIA EUROPEA PER UNA POLITICA SULLE SOSTANZE CHIMICHE**

**EU COM 2001 WHITE PAPER:**

## **STRATEGY FOR A FUTURE CHEMICAL POLICY**

# **1. METODI DI VALUTAZIONE**

**OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme**

- 1. Registrazione di tutte le sostanze chimiche;**
- 2. procedure di valutazione nelle industrie e sviluppo di test;**
- 3. regolamentazione delle autorizzazioni per le sostanze ad alto rischio (cancerogeni, mutageni, genotossici);**
- 4. fondazione di una nuova agenzia Europea per la regolamentazione delle sostanze chimiche.**

# 1. METODI DI VALUTAZIONE

**OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme**

**Lo scopo è quello di ridurre il numero di animali per i test di tossicità acuta. Sono state licenziate 86 linee guida.**

**Tra quelle più significative troviamo la 420, 423 e 425 sulla tossicità orale acuta.**

**Si parte dall'evidenza che i consueti test per definire la  $DL_{50}$  richiedono almeno 20 animali.**

# 1. METODI DI VALUTAZIONE

**OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme**

## **Test Guideline 420 (proposta UK)**

**Non richiede più di 4 animali. Per prevenire la morte dell'animale i tossicologi valutano la situazione garantendo che una dose letale non venga somministrata.**

**FDP (fixed dose procedure):**

**vengono prefissate delle dosi: 5, 50, 300, 2000 (5000) mg/kg.**



# 1. METODI DI VALUTAZIONE

**OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme**

## **Test Guideline 420 (proposta UK)**

**Si comincia con 1 dose basata sulle informazioni circa la sostanza o le conoscenze su sostanze strutturalmente correlate. La dose deve essere idonea a causare alcuni segni di tossicità, ma non mortalità.**

**In assenza di informazioni si inizia da una dose di 300 mg/kg con 1 animale. Un secondo animale può essere trattato con una dose superiore o inferiore.**

**Lo studio è completo quando una decisione sulla dose di partenza può essere presa o quando l'animale muore alla dose più bassa fissata.**

# 1. METODI DI VALUTAZIONE

**OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme**

## **Test Guideline 423 (proposta Germania)**

**Un singolo animale riceve una dose, se del caso da aumentare. L'effetto può essere o no la morte. Se l'animale sopravvive, ne vengono reclutati altri due per confermare il test.**

**Si utilizzano 3 dosi con 1 animale per dose, utilizzando una dose prefissata di partenza.**

# 1. METODI DI VALUTAZIONE

**OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme**

## **Test Guideline 423 (proposta Germania)**

**La morte o meno dell'animale ad una dose determinerà la successiva:**

- 1. Non sono necessarie ulteriori dosi**
- 2. Trattare altri 3 animali con la stessa dose**
- 3. Trattare altri 3 animali alla successiva dose (più alta o più bassa).**

# 1. METODI DI VALUTAZIONE

**OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme**

## **Test Guideline 423 (proposta Germania)**

**Con tale metodica si utilizza il 70% in meno di animali rispetto alla determinazione della DL<sub>50</sub>.**

**Le sostanze testate (30) variano dall'ALDICARB (DL<sub>50</sub> 1 mg/kg) all'ETILENGLICOLE (DL<sub>50</sub> >5000 mg/kg).**

**Si usano 3 dosi di partenza: 25, 200 o 2000 mg/kg.**

# 1. METODI DI VALUTAZIONE

**OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme**

## **Test Guideline 425 (proposta USA)**

**Le dosi vengono aumentate o ridotte per giudicare la reazione dell'animale.**

**9 animali sono richiesti per il test e verosimilmente metà degli animali muore prima del completamento dell'esperimento.**

# 1. METODI DI VALUTAZIONE

**OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme**

## **Test Guideline 451 (cancerogenicity testing)**

**La decisione per attuare un test di cancerogenicità dipende:**

- 1) risultati dei test di genotossicità;**
- 2) structure-activity relationship;**
- 3) evidenza, durante studi di tossicità sistemica, di effetti rilevanti per la possibile insorgenza di neoplasia se si attuassero studi a lungo termine.**

# 1. METODI DI VALUTAZIONE

OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme

**Test Guideline 451 (cancerogenicity testing)**

## COMPOSTI GENOTOSSICI

Numerosi cancerogeni agiscono come genotossici ed è prudente considerare i genotossici come cancerogeni se non sono presenti prove chiaramente contrarie. Risultati chiaramente negativi sono sufficienti per negare un potenziale cancerogeno con meccanismo genotossico.

# 1. METODI DI VALUTAZIONE

OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme

**Test Guideline 451 (cancerogenicity testing)**

## COMPOSTI NON GENOTOSSICI

Generalmente si crede che i composti non-genotossici abbiano una dose soglia per le neoplasie e quindi non è necessario testarli per la cancerogenicità.

Possono però essere necessari alcuni test se:



# 1. METODI DI VALUTAZIONE

**OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme**

**Test Guideline 451 (cancerogenicity testing)**

## COMPOSTI NON GENOTOSSICI

**Il composto appartiene ad una classe chimica nota per essere cancerogena;**

**gli studi disponibili di tossicità sistemica hanno identificato un potenziale preneoplastico;**

**gli studi di tossicità sistemica indicano che il composto può essere associato con effetti correlabili a meccanismi epigenetici, rilevanti per l'uomo.**

# 1. METODI DI VALUTAZIONE

OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme

**Test Guideline 451 (cancerogenicity testing)**

## TEST DI CANCEROGENICITA' IN VIVO

### 1. Selezione di specie per test a lungo termine

sono richiesti studi a 2 anni sui ratti o a 18 mesi sui topi. Gli studi possono essere limitati ad una sola specie di roditori (ratti). Una risposta positiva dovrebbe essere considerata come indicazione di potenziale cancerogeno.

# 1. METODI DI VALUTAZIONE

OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme

**Test Guideline 451 (cancerogenicity testing)**

## TEST DI CANCEROGENICITA' IN VIVO

### 2. Numero di animali e vie di somministrazione

un numero di 50 ratti o topi per dose e per sesso. La via di somministrazione è generalmente quella orale, ma possono essere utilizzate altre vie.

# 1. METODI DI VALUTAZIONE

**OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme**

**Test Guideline 451 (cancerogenicity testing)**

## TEST DI CANCEROGENICITA' IN VIVO

### 3. Scelta della dose

almeno 3 dosi. La dose più alta deve dimostrare un effetto tossico senza influenzare la sopravvivenza dovuta ad effetti diversi dal cancro. La dimostrazione di un effetto tossico senza compromissione della sopravvivenza o dell'omeostasi fisiologica, conferma che gli animali sono sufficientemente stimolati e forniscono quindi una certa valenza ai risultati negativi.

# 1. METODI DI VALUTAZIONE

OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme

**Test Guideline 451 (cancerogenicity testing)**

## TEST DI CANCEROGENICITA' IN VIVO

### 3. Scelta della dose

per stabilire le altre dosi si considerano fattori quali la farmacocinetica, la saturazione della via metabolica, i possibili livelli di esposizione umana, la farmacodinamica nella specie test, il potenziale per gli effetti soglia nella specie test, la disponibilità di informazioni meccanicistiche e la predicibilità della progressione della tossicità osservata in studi a breve termine nei roditori.

# 1. METODI DI VALUTAZIONE

OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development. Test Guideline Programme

**Test Guideline 451 (cancerogenicity testing)**

## OSSERVAZIONI ED ESAME ISTOLOGICO

Oltre agli organi più comuni, debbono essere osservati anche i seguenti tessuti:

clitoride e gh. prepuziali (nei roditori), gh. di Harder, gh. lacrimali, nervo ottico, cavità nasale, faringe, laringe, gh. di Zymbal.

La patologia (chimica) clinica non è ritenuta necessaria.

# **1. METODI DI VALUTAZIONE**

**ECVAM: European Centre for the Validation of Alternative Methods**

**Valutazione di test alternativi (in vitro e altro) nel campo della tossicologia.**

## 2. (Q)SAR

(quantitative)structure-activity relationship

Si basa su: **struttura, solubilità, stabilità, sensibilità al pH, elettrofilicità, reattività chimica** della molecola.

E' ritenuto efficace per specifici effetti tossici quali: **irritazione, sensibilizzazione e mutagenicità**.

E' la procedura stabilita per il 10-20% di tutte le notifiche delle nuove sostanze chimiche. Il prerequisito è l'analogia della sostanza chimica per struttura molecolare e proprietà chimico-fisiche.

**“Risultati ottenuti da appropriati modelli (Q)SAR possono predire ..... una certa proprietà pericolosa”.**



## **READ-ACROSS ASSESSMENT FRAMEWORK**

E' un approccio sviluppato dall'ECHA per predire proprietà rilevanti per il REACH delle sostanze in relazione al pericolo per la salute umana, al pericolo per l'ambiente e al destino ambientale.

Si basa su 6 specifici scenari:

**approccio per analogia:**

da una singola sostanza fonte a una singola sostanza bersaglio simile

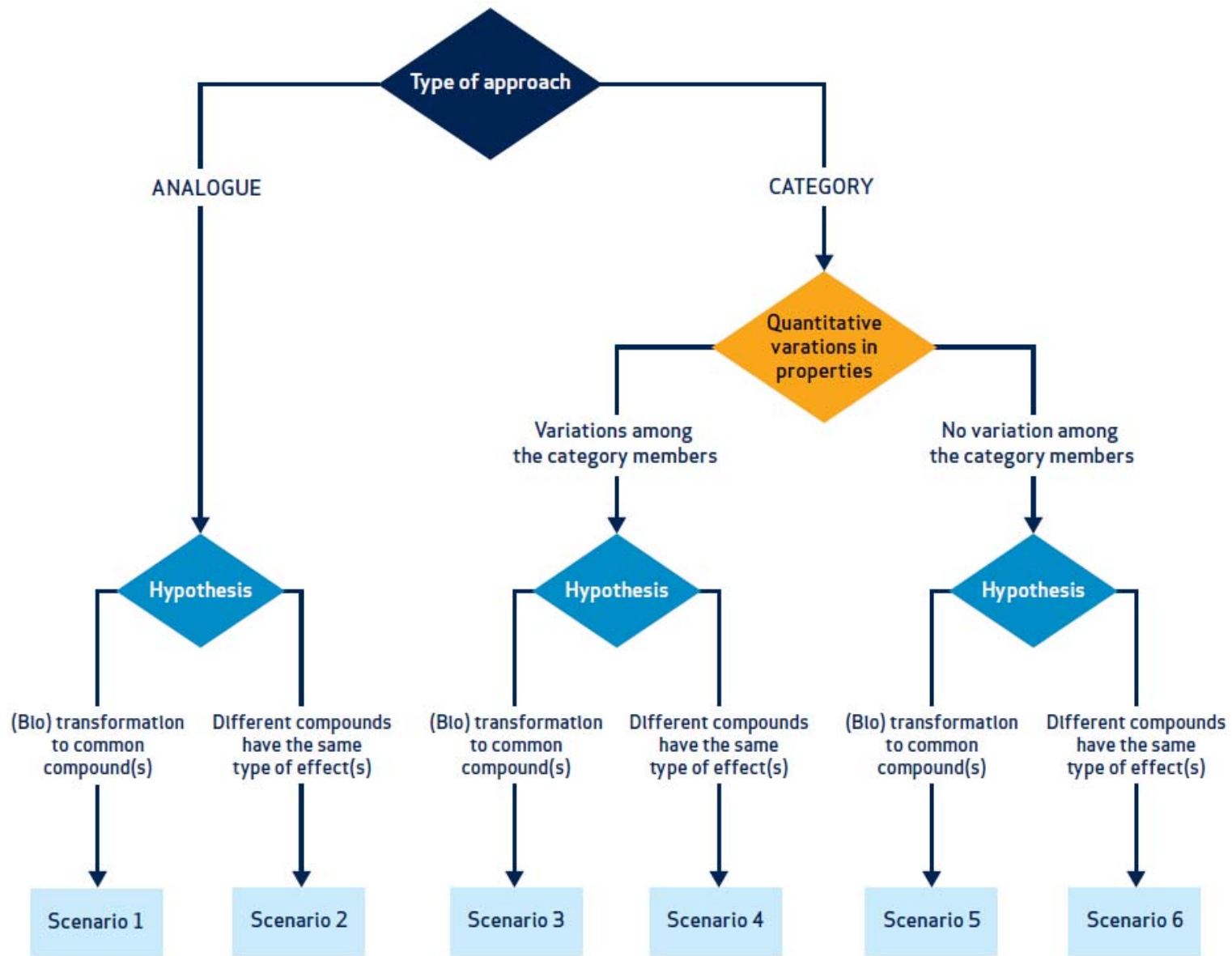
**approccio per categoria:**

tra sostanze strutturalmente simili, cioè con simili proprietà chimico-fisiche, tossicologiche e ecotossicologiche o che seguono un modello regolare

Table 1: Overview for scenario selection

SCENARIO	APPROACH	READ-ACROSS HYPOTHESIS BASED ON	QUANTITATIVE VARIATIONS
1	Analogue	(Bio)transformation to common compound(s)	Property of the target substance predicted to be quantitatively equal to those of the source substance or prediction based on a worst-case approach.
2	Analogue	Different compounds have qualitatively similar properties	Properties of the target substance predicted to be quantitatively equal to those of the source substance or prediction based on a worst-case approach.
3	Category	(Bio)transformation to common compound(s)	Variations in the properties observed among source substances. Prediction based on a regular pattern or on a worst-case approach.
4	Category	Different compounds have qualitatively similar properties	Variations in the properties observed among source substances. Prediction based on a regular pattern or on a worst-case approach.
5	Category	(Bio)transformation to common compound(s)	No relevant variations in properties observed among source substances and the same strength predicted for the target substance.
6	Category	Different compounds have qualitatively similar properties	No relevant variations in properties observed among source substances and the same strength predicted for the target substance

by ECHA

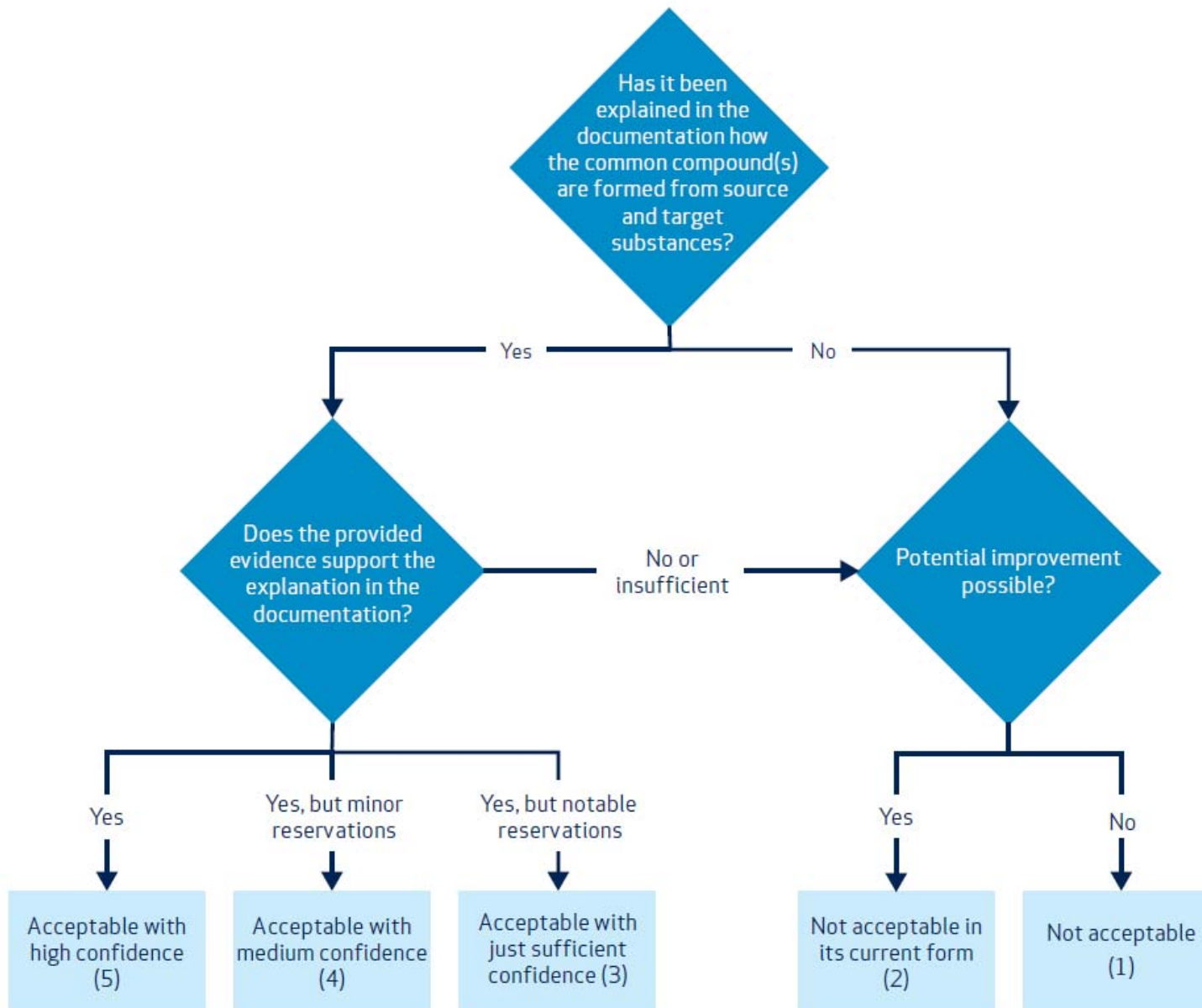


by ECHA

## Overview of the assessment options (AOs)

SCORES	AOS	MEANING OF THE AOS
5	Acceptable with high confidence	Acceptance without reservations in the scientific explanation and documentation addressing the scientific aspects of the AE.
4	Acceptable with medium confidence	Acceptance with minor reservations about the scientific explanation and documentation addressing the scientific aspects of the AE.
3	Acceptable with just sufficient confidence	Acceptance with notable reservations. Minimum level of confidence in the scientific explanation provided in the documentation and addressing the scientific aspects of the AE.
2	Not acceptable in its current form	Acceptance for the AE under consideration may become possible if improved explanations and/or supporting evidence is made available by the registrant.
1	Not acceptable	A major flaw in the approach for the AE under consideration, which is not expected to be resolved by the addition of supporting information.

by ECHA



by ECHA

## Overview of the analogue common AEs (scenarios 1 and 2)

<b>AE A.1</b>	Identity and characterisation of the source substance
<b>AE A.2</b>	Link of structural similarities and differences with the proposed prediction
<b>AE A.3</b>	Reliability and adequacy of the source study
<b>AE A.4</b>	Bias that influences the prediction

	<b>PARENT SUBSTANCES</b>	<b>(BIO)TRANSFORMATION</b>	<b>COMMON COMPOUND</b>	<b>NON-COMMON COMPOUNDS</b>
<b>SOURCE</b>	AY	$AY \rightarrow A + Y$	A	Y
<b>TARGET</b>	AZ	$AZ \rightarrow A + Z$	A	Z

	<b>PARENT SUBSTANCES</b>	<b>(BIO)TRANSFORMATION</b>	<b>COMMON COMPOUNDS</b>	<b>NON-COMMON COMPOUNDS</b>
<b>SOURCE</b>	A	$A \rightarrow$ not transformed	A	-
<b>TARGET</b>	B	$B \rightarrow A$	A	-

by ECHA

## Overview of the category common AEs

<b>AE C.1</b>	Substance characterisation
<b>AE C.2</b>	Structural similarity and differences within the category
<b>AE C.3</b>	Link of structural similarities and structural differences with the proposed regular pattern
<b>AE C.4</b>	Consistency of effects in the data matrix
<b>AE C.5</b>	Reliability and adequacy of the source study(ies)
<b>AE C.6</b>	Bias that influences the prediction

	<b>PARENT SUBSTANCES</b>	<b>(BIO)TRANSFORMATION</b>	<b>COMMON COMPOUND</b>	<b>NON-COMMON COMPOUNDS</b>
<b>SOURCE</b>	AZ	$AZ \rightarrow A + Z$	Z	A
<b>SOURCE</b>	BZ	$BZ \rightarrow B + Z$	Z	B
<b>TARGET</b>	CZ	$CZ \rightarrow C + Z$	Z	C
<b>SOURCE</b>	DZ	$DZ \rightarrow D + Z$	Z	D

by ECHA



## REACH (EU)

Registration, Evaluation and Authorization of Chemical

Annex V: substances produced and imported in quantities from 1 to 10 t/y. Registration deadline 11 years.

Toxicological data on:

skin and eye irritation in vitro

skin sensitization

bacterial mutagenicity

# REACH (EU)

Registration, Evaluation and Authorization of Chemical

Annex VI: substances produced and imported in quantities from 10 to 100 t/y. Registration deadline 11 years.

Toxicological data on:

Annex V

skin and eye irritation in vivo

genotoxicity in vitro in mammalian cells

acute toxicity

repeated dose toxicity (28 days)

reproductive toxicity

toxicokinetic assessment

## REACH (EU)

Registration, Evaluation and Authorization of Chemical

Annex VII: substances produced and imported in quantities 100-1000 t/y. Registration deadline 6 years.

Toxicological data on (Annex VII):

Annex V+VI

90-day subchronic toxicity study

studies on reproductive toxicity

## REACH (EU)

Registration, Evaluation and Authorization of Chemical

Annex VIII: substances produced and imported in quantities over 1000 t/y. Registration deadline 3 years.

Toxicological data on (Annex VIII):

Annex V-VII

long-term repeated toxicity study ( $\geq 12$  m)

carcinogenicity study

1. Pare prioritaria la riduzione dei costi e la protezione degli animali, secondaria la protezione della salute umana
2. Gli studi in vitro permettono l'identificazione di specifiche proprietà pericolose che possono essere rilevate da uno specifico sistema test, mentre non possono essere ottenute informazioni appropriate sulla dose-risposta, sull'identificazione della soglia e il NOAEL, essenziali per la caratterizzazione del rischio
3. L'identificazione di tutte le proprietà pericolose possono essere definite solo sull'animale intero

## THRESHOLD OF TOXICOLOGICAL CONCERN (TTC)

Cramer class	n. substances	mg/kg/day	µg/day
I	137	0.03	1800
II	28	0.009	540
III	448	0.0015	90

es. class I: acetone, styrene

es. class II: allyl alcohol, acrylic acid

es. class III: acrylamide, tetrachloroethylene, trichloroethylene

### Class I

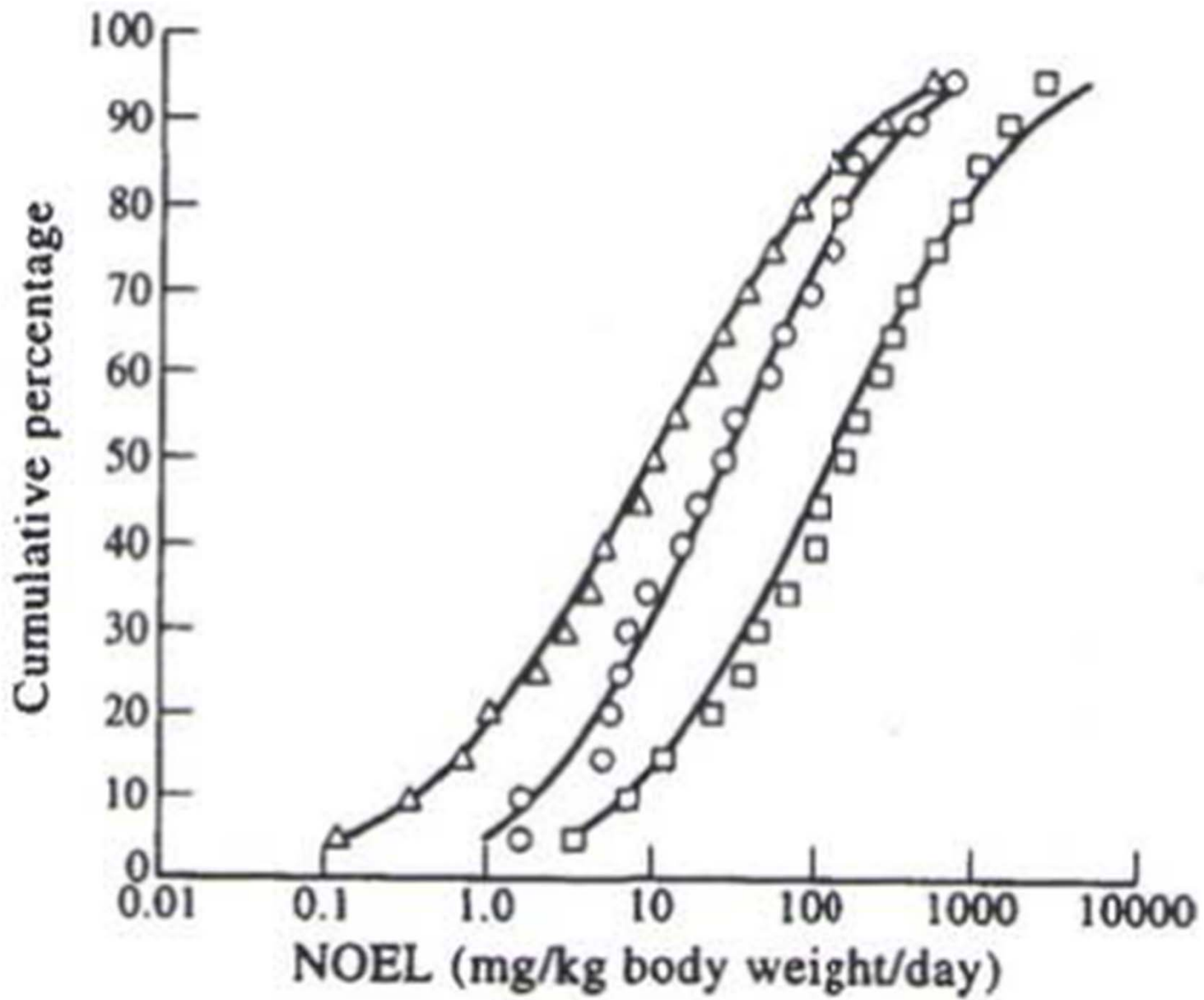
Substances of simple chemical structure and efficient modes of metabolism that would suggest a low order of oral toxicity (e.g. L-glutamic acid, mannitol or propylene glycol).

### Class II

Substances that are in a structural class in which there is less knowledge of the metabolism, pharmacology and toxicology, but for which there is no clear indication of toxicity (e.g.  $\beta$ -carotene, diallyl phthalate or maltol). Most substances in Class II belong to either of two categories; one includes substances with functional groups that are similar to, but somewhat more reactive than functional groups in Class I (e.g. allyl and alkyne); the other includes substances with more complex structures than substances in Class I, but that are common components of food.

### Class III

Substances of a chemical structure that permit no strong initial presumption of safety, or that may even suggest significant toxicity (e.g. acetonitrile, 2,4-dinitrotoluene, chlorobenzene or p-aminophenol).



Munro et al., 1996



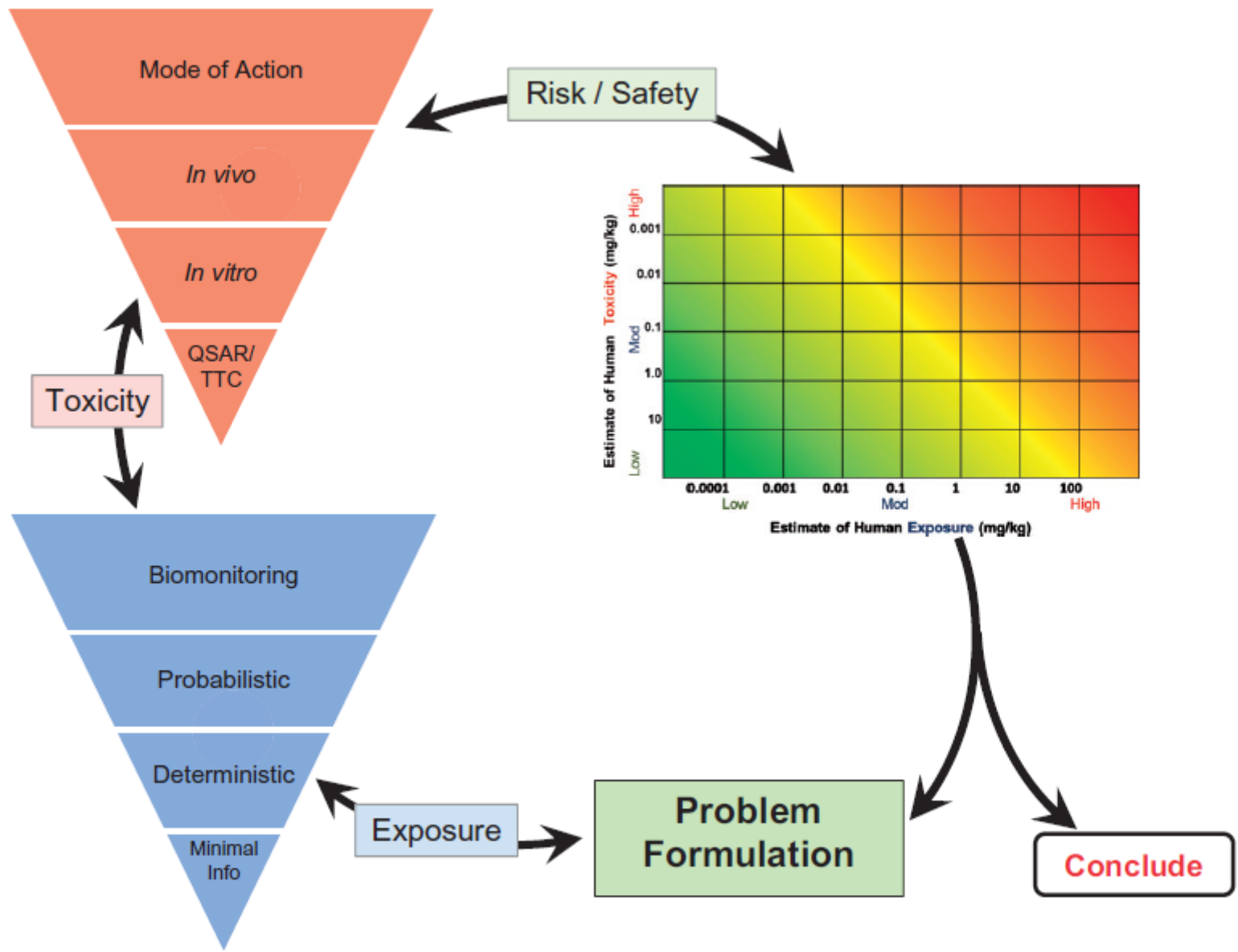


Figure 1. General conceptual framework of the RISK21 approach (Embry et al. 2014).

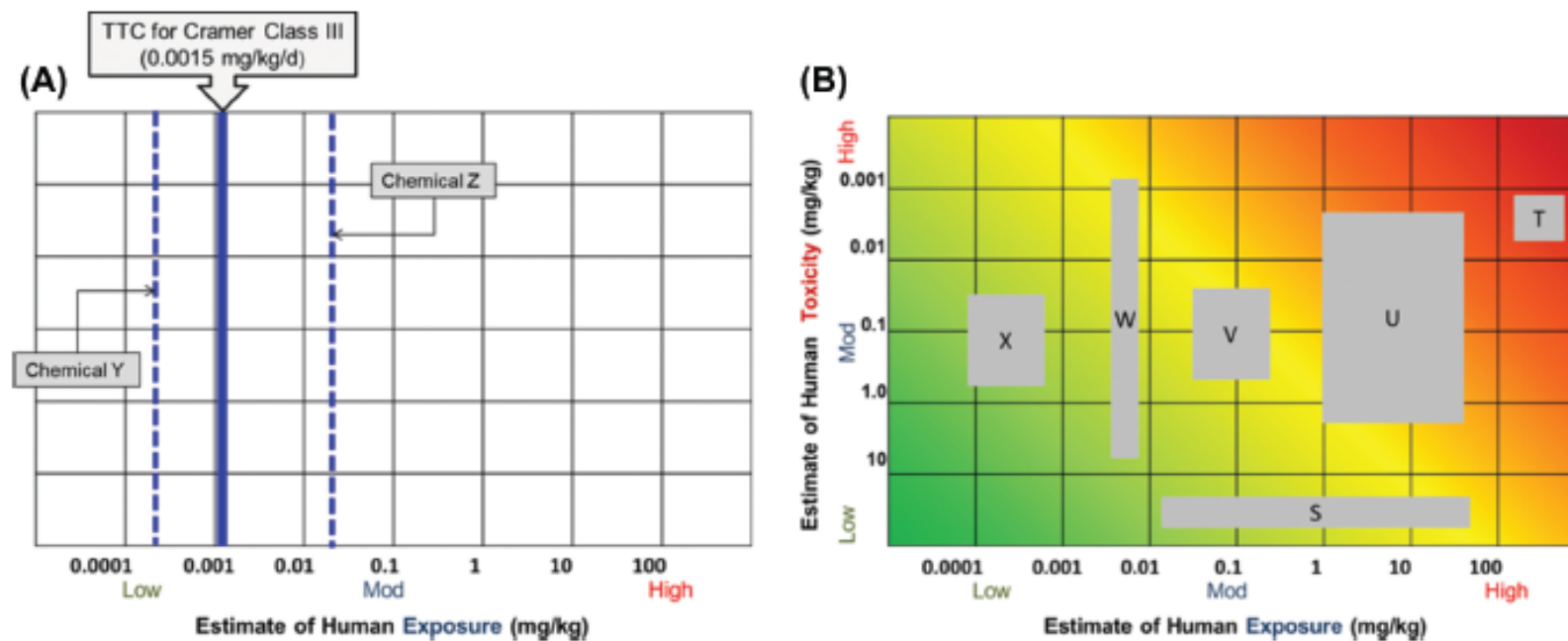


Figure 8. Illustrative examples of the RISK21 visualization matrix used for priority setting. (A) Adaptation of the matrix to apply the Threshold of Toxicological Concern (TTC) as a low-tier prioritization and screening approach, using only chemical structure and exposure information; (B) Illustrative example of how the RISK21 matrix could be used for six chemicals for which both exposure and toxicity information is available.

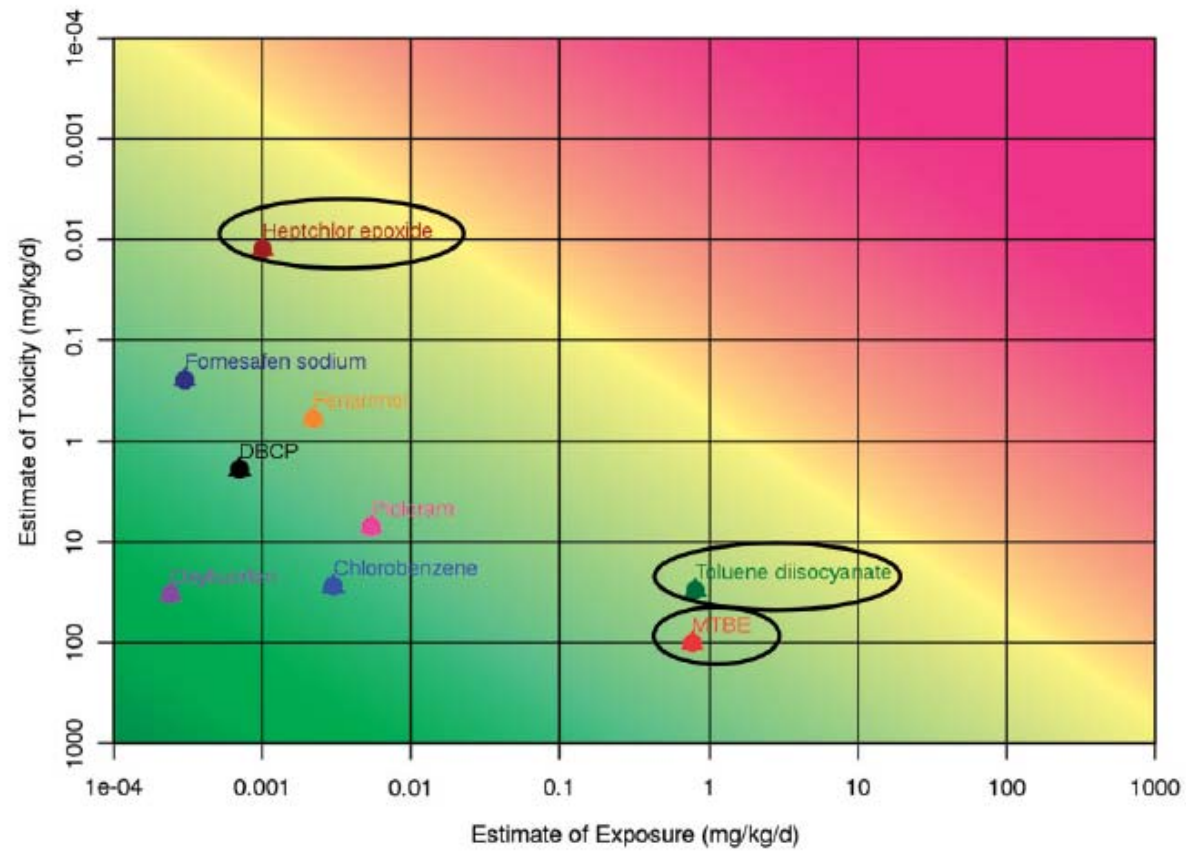


Figure 4. Third evaluation. Matrix plot of the nine remaining chemicals (point estimates for both exposure and toxicity). Those circled are the three designated high priority for further evaluation based on proximity to the yellow zone.

### **3. ESPERIENZA UMANA**

Si basa su: **STUDI EPIDEMIOLOGICI**

Da mettere in risalto:

**risultati negativi di uno studio epidemiologico non provano l'assenza dell'intrinseca pericolosità di una sostanza.**

# TEST TOSSICOLOGICI

1. test in vivo
2. test in vitro
3. test ex vivo
4. in silico



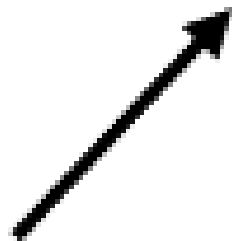
In vivo  
characterise toxic effects in  
animal experiments  
(e.g. determine LOEL)

*take  
exposure situation  
into account*



assess hazards  
for the human

extrapolation from in vitro to in vivo



in vitro  
analyse sensitivities  
of animal cells, tissues  
(e.g. from target tissue)  
to test compound

*interspecies  
extrapolation*

in vitro  
analyse sensitivities  
of human cells, tissues  
(e.g. from biopsies)  
to test compounds

## PHYSIOLOGICALLY-BASED PHARMACOKINETIC (PBPK) MODELING

Il modello farmacocinetico ha il potenziale di stimare il time-course del prodotto di partenza e i metaboliti sotto differenti condizioni espositive.

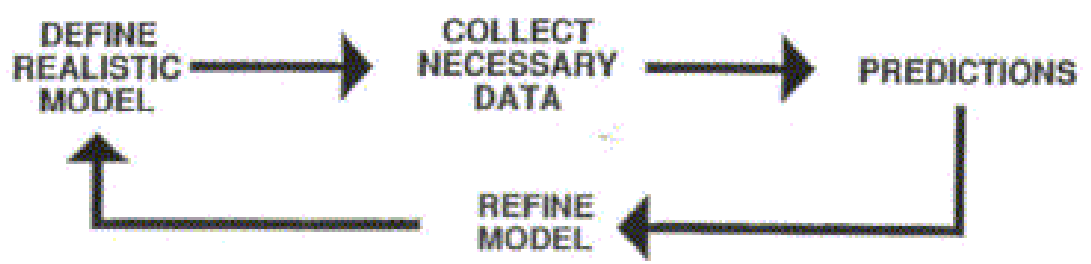
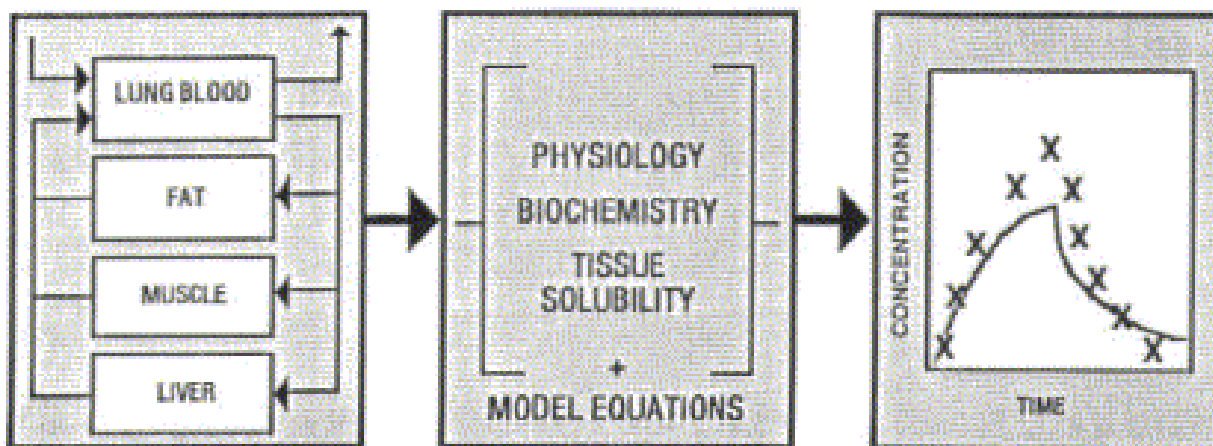
Il PBPK è molto utile per calcolare la dose tissutale degli xenobiotici e i loro metaboliti per ampi range di esposizione in specie differenti.

Nel modello, i comparti corrispondono a distinti tessuti o gruppi di tessuti con volume appropriato, flusso ematico e vie metaboliche degli xenobiotici.

Vengono inserite costanti biochimiche e fisico-chimiche per metabolismo e solubilità nei tessuti, direttamente incorporati nella descrizione di ciascun comparto tissutale.

E' compresa la via di somministrazione e sono tenuti in considerazione i differenti scenari espositivi.

Ciascun comparto è descritto da una equazione differenziale, risolta da un integrale per predire il time-course del composto e dei suoi metaboliti



Anderson, Toxicol Lett 138: 9-27, 2003



# PHYSIOLOGICALLY-BASED PHARMACOKINETIC (PBPK) MODELING

I punti cardine:

1. anestesia per inalazione
2. farmacocinetica compartimentale
3. ingegneria chimica
4. computer science

# METODI IN VITRO

1. CITOTOSSICITA': potenziale di un composto di indurre morte cellulare. La maggior parte dei test misura la **necrosi**, ma non va dimenticata l'**apoptosi**. Si basa sul calcolo della  $TC_{50}$ .

2. RISPOSTA CELLULARE:

**genomica**: sequenziamento del DNA

**transcrittomica**: espressione genica

**proteomica**: studio delle proteine espresse da un genoma

**metabonomica**: misura quantitativa di una risposta metabolica multiparametrica tempo-correlata di un sistema vivente a stimoli patofisiologici o modificazioni genetiche

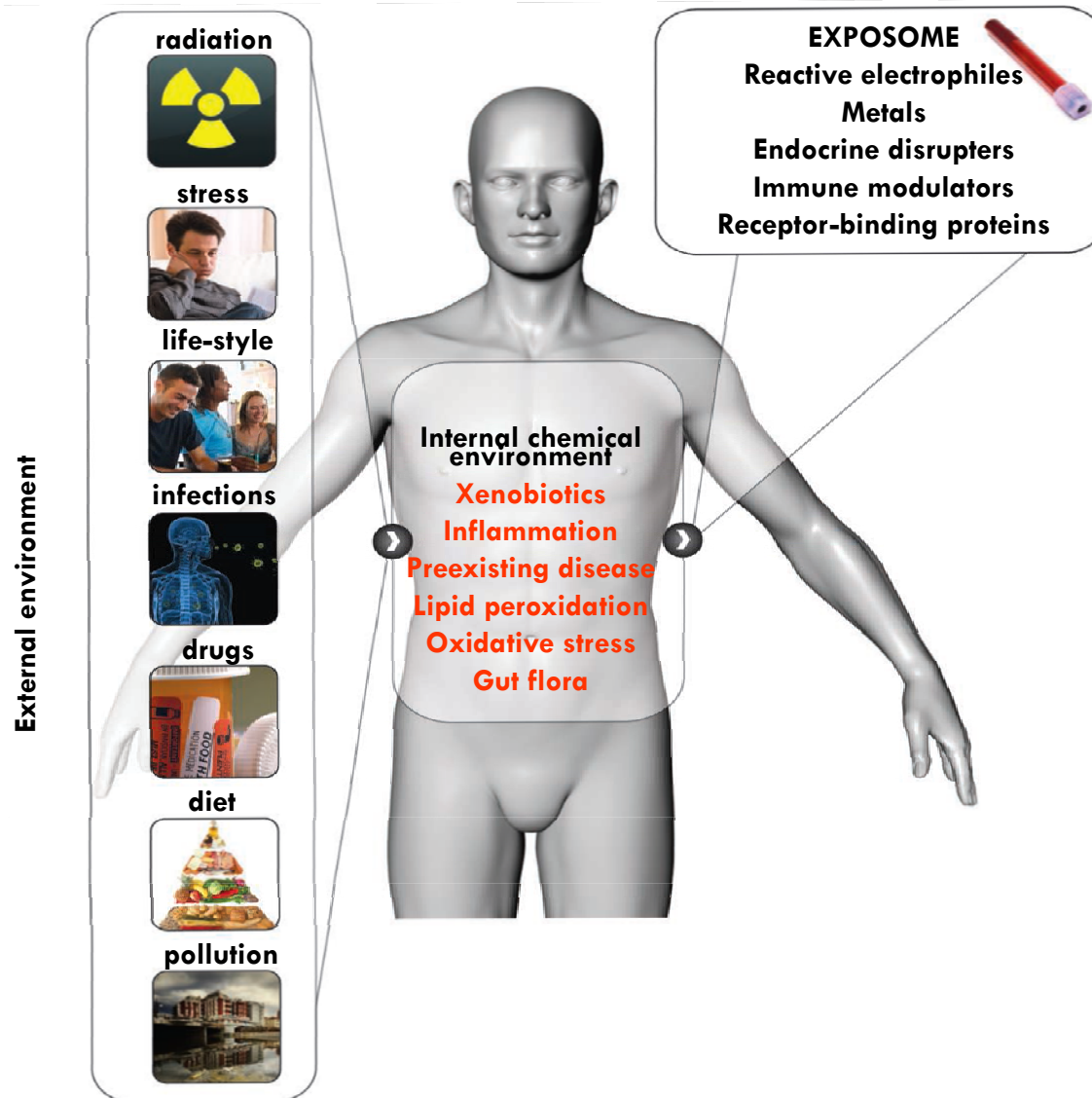
**bioinformatica**: interfaccia tra scienze biologiche e computer science

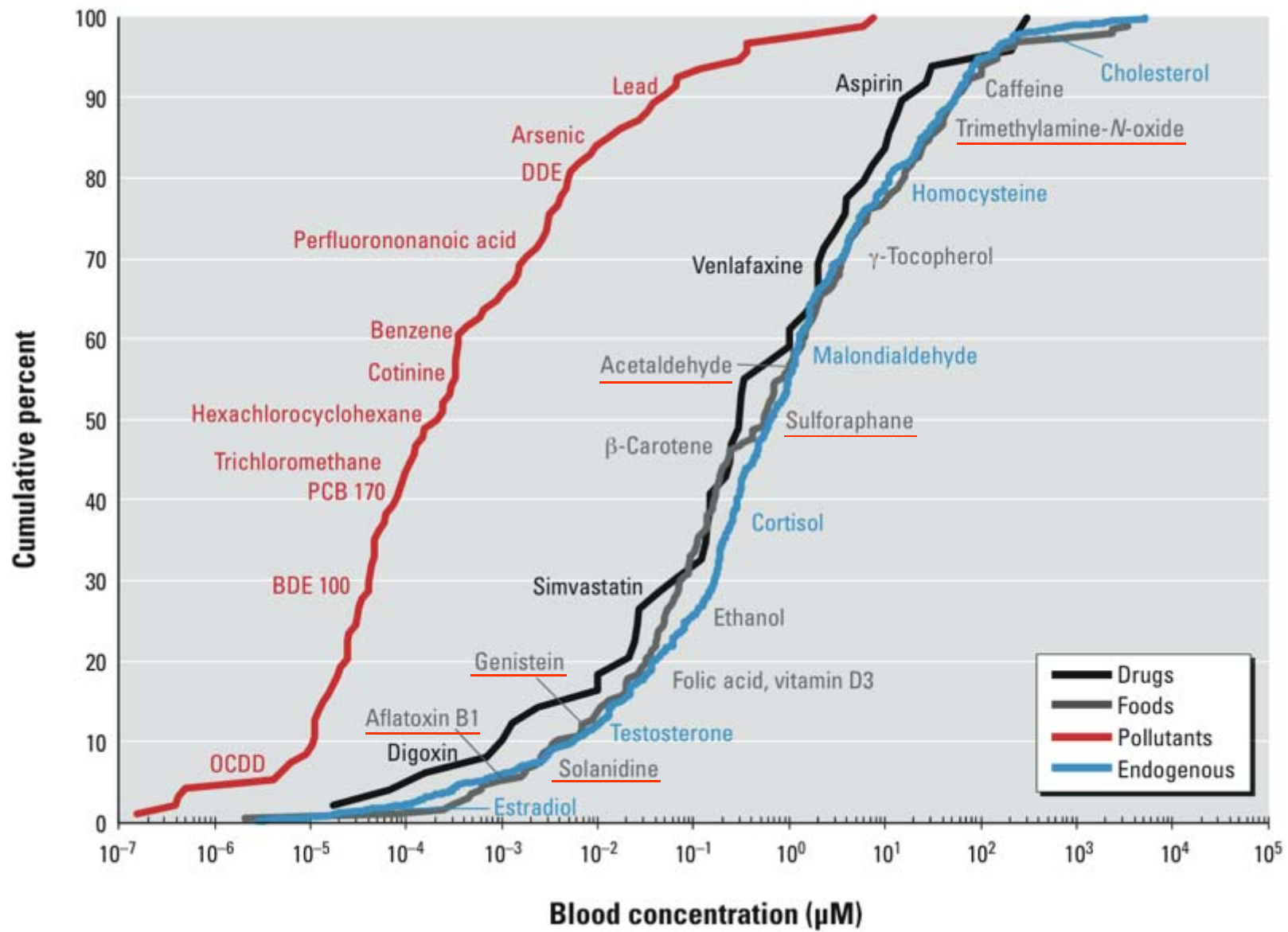
3. PBPK E MODELLI DI TOSSICOCINETICA E METABOLISMO

4. GENOTOSSICITA' E CANCEROGENICITA'

studio dei proto-oncogeni e dei tumor suppressor genes.

Per i cancerogeni non-genotossici valutazione della citotossicità persistente con rigenerazione proliferativa e della infiammazione cronica







Mutation Research 447 (2000) 3–13



Fundamental and Molecular  
Mechanisms of Mutagenesis

[www.elsevier.com/locate/molmut](http://www.elsevier.com/locate/molmut)

Community address: [www.elsevier.com/locate/mutres](http://www.elsevier.com/locate/mutres)

Mutation Research Frontiers

## Paracelsus to parascience: the environmental cancer distraction

Bruce N. Ames <sup>\*</sup>, Lois Swirsky Gold

*Division of Biochemistry and Molecular Biology and National Institutes of Environmental Health Sciences Center, University of California at Berkeley and Lawrence Berkeley National Laboratory Berkeley, Berkeley, CA 94720, USA*

**DA PARACELSO ALLA PARASCIENZA:  
LA DOSE (TRACEE) FA IL VELENO**

I test standard di cancerogenesi sono effettuati con dosi vicino a quella tossica (MDT)

Dosi elevate causano una lesione cronica dei tessuti, morte cellulare e conseguente «cronica» divisione cellulare delle cellule «vicine» che è un fattore di rischio cancerogeno

Alle basse dosi di sostanze chimiche sintetiche cui siamo abitualmente esposti, l'aumento della divisione cellulare non avviene

Il processo di mutagenesi/cancerogenesi è complesso poiché coinvolge vari fattori: lesione del DNA, DNA repair, divisione cellulare, instabilità clonale, apoptosi e p53

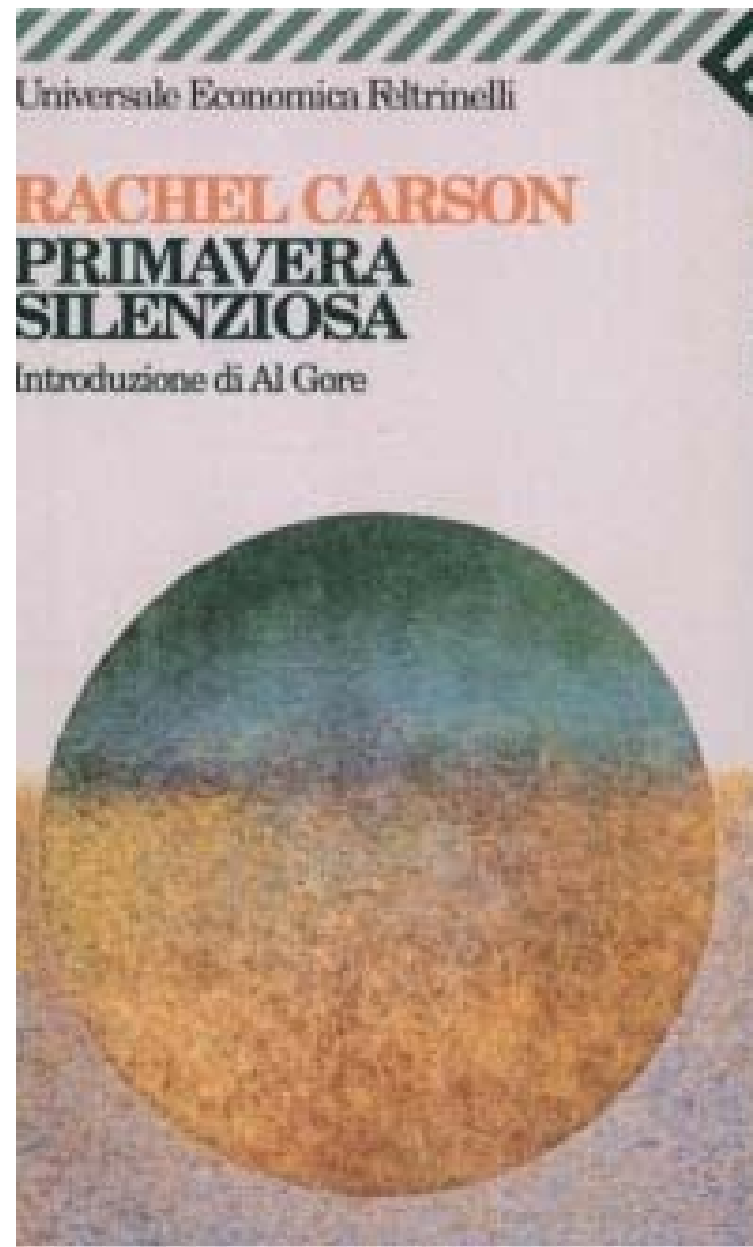
I tessuti danneggiati rispondono con una reazione infiammatoria che coinvolge l'attivazione delle cellule bianche che rilasciano ossidanti mutageni (perossinitrito, ipoclorito, perossido di idrogeno)

**«dose virtualmente sicura» = rischio di 1 nuova neoplasia /1.000.000**

La LDR o LNT quindi appare poco credibile a causa dell'attivazione di numerose difese enzimatiche che vengono attivate alle basse dosi di sostanza chimiche di sintesi



**ANCHE RACHEL CARSON ERA FATTA DI  
SOSTANZE CHIMICHE:  
SOSTANZE CHIMICHE NATURALI vs  
QUELLE SINTETICHE**



Rachel Carson, 1962

# AGENTI CANCEROGENI

il 99,9% delle sostanze chimiche che l'uomo assume sono naturali

gli americani ingeriscono **OGNI GIORNO**  $\approx$ 1500 mg di pesticidi naturali e solo 0.09 mg di residui di pesticidi sintetici

37 dei 71 pesticidi naturali testati fino al 2000 sono cancerogeni per i roditori, ubiquitari nella frutta, nella verdura, in vari tipi di erbe e nelle spezie

Ames & Gold, 2000

## Carcinogenicity in rodents of natural chemicals in roasted coffee<sup>a</sup>

---

Positive: $N = 21$	Acetaldehyde, benzaldehyde, <u>benzene</u> , benzofuran, <u>benzo(a)pyrene</u> , caffeic acid, catechol, 1,2,5,6-dibenzanthracene, ethanol, ethylbenzene, <u>formaldehyde</u> , furan, furfural, hydrogen peroxide, hydroquinone, isoprene, limonene, 4-methylcatechol, <u>styrene</u> , <u>toluene</u> , <u>xylene</u>
Not positive: $N = 8$	Acrolein, biphenyl, choline, eugenol, nicotinamide, nicotinic acid, phenol, piperidine
Uncertain	Caffeine
Yet to test	~ 1000 chemicals

---

cited by Ames & Gold, 2000 from the  
Carcinogenic Potency Database

# OBIEZIONE

**LE SOSTANZE CHIMICHE NATURALI FANNO PARTE DELLA STORIA EVOLUZIONISTICA UMANA, MENTRE LE SOSTANZE CHIMICHE DI SINTESI HANNO UNA STORIA RECENTE E I MECCANISMI CHE SI SONO EVOLUTI NEGLI ANIMALI PER PROTEGGERLI CONTRO LE SOSTANZE CHIMICHE NATURALI NON LI PROTEGGONO ALTRETTANTO BENE CONTRO LE SOSTANZE CHIMICHE DI SINTESI**

Ames & Gold, 2000

# MA.....

1

L'uomo ha molte difese naturali che lo proteggono dalle tossine, generali, ma anche contro specifici xenobiotici. Queste difese agiscono SIA contro le sostanze chimiche naturali CHE contro quelle di sintesi.

Esempi

DNA repair

Esfolazione cellule tratto gastroenterico, cute, polmoni (ogni pochi giorni)

Enzimi detossificanti del fegato (e altri organi)

**LE DIFESE UMANE SONO QUINDI SIA GENERALI CHE SPECIFICHE**

## 2

Molte tossine naturali accompagnano l'evoluzione dei vertebrati, ciononostante possono causare il cancro

Es: aflatossina

Sali metallici sono presenti nell'evoluzione umana, ma sono cancerogeni

Es: Cd, Ni, Cr, As, Be

Masticare betel e tabacco causa cancro della mucosa orale

**DRINK UP SOCRATES, IT'S NATURAL**

### 3

L'uomo non ha avuto il tempo per evolvere una «ARMONIA TOSSICA» con tutte le piante della sua dieta, che è cambiato notevolmente nel corso dei millenni.

Poche piante che l'uomo mangia oggi erano presenti nella dieta dei cacciatori-raccoglitori

La selezione naturale è troppo lenta per evolvere specifiche resistenze alle tossine alimentari delle nuove piante introdotte nella dieta (patate e pomodori su tutte)



# 4

Il DDT è spesso visto come il pesticida sintetico «pericoloso» poiché si concentra nel tessuto adiposo e persiste per anni.

Il DDT è il primo pesticida sintetico che ha eradicato la malaria da molte parti del mondo

National Academy of Sciences (1970): «**IN POCO PIÙ DI DUE DECADI IL DDT HA EVITATO 500 MILIONI DI CAUSE DI MORTE PER MALARIA, CHE SAREBBERO STATE INEVITABILI**»

# 5

Le piante necessitano di difese chimiche, sia naturali che sintetiche per sopravvivere all'attacco delle «pesti»

Lo sviluppo di piante più resistenti agli insetti può portare ad un aumento degli insetticidi naturali

Es. l'introduzione sul mercato di una nuova varietà di sedano resistente agli insetti ha causato la comparsa di rash cutanei durante l'esposizione al sole

L'analisi ha dimostrato la presenza di 6200 ppb di psoraleni (cancerogeni e mutageni) rispetto alle 800 ppb del sedano comune

**ERRORI DI OMISSIONE:  
L'INADEGUATEZZA DI  
MICRONUTRIENTI E' GENOTOSSICA**

# CAUSE PRINCIPALI DI CANCRO

1. ORMONI ENDOGENI
2. SQUILIBRI NELLA DIETA
3. INFIAMMAZIONE (p.e. DA INFEZIONI)
4. FATTORI GENETICI

NESSUNO DI QUESTI MECCANISMI COINVOLGE  
CANCEROGENI CHIMICI

Review of epidemiological studies on cancer showing protection by consumption of fruits and vegetables<sup>a</sup>

Cancer site	Fraction of studies showing significant cancer protection	Median relative risk of low quarter vs. high quarter of consumption
<i>Epithelial</i>		
Lung	24/25	2.2
Oral	9/9	2.0
Larynx	4/4	2.3
Esophagus	15/16	2.0
Stomach	17/19	2.5
Pancreas	9/11	2.8
Cervix	7/8	2.0
Bladder	3/5	2.1
Colorectal	20/35	1.9
Miscellaneous	6/8	—
<i>Hormone-dependent</i>		
Breast	8/14	1.3
Ovary/endometrium	3/4	1.8
Prostate	4/14	1.3
Total	129/172	

# MICRONUTRIENTI FONDAMENTALI DELLA DIETA

1. acido folico, 2. niacina (o nicotinamide o vitamina PP), 3. vitamina B6, 4. vitamina B12, 5. vitamina C, 6. vitamina E (tocoferolo), 7. Fe, 8. Zn e 9. Se

La carenza anche di uno solo di questi mima gli effetti delle radiazioni ionizzanti con rotture del DNA e dei cromosomi o causando danno ossidativo del DNA o entrambi gli eventi

**DANNO PER DISTRAZIONE:  
REGOLAMENTANDO RISCHI BASSI E  
IPOTETICI**

Nel 1991, l'EPA ha calcolato che il costo regolatorio entro il 1997 sarebbe stato di 140 miliardi di dollari, pari al 2,6% del prodotto interno lordo

Mediamente, il programma di controllo delle tossine costa 146 volte di più per anno di vita salvato di un programma di intervento medico





Contents lists available at [ScienceDirect](#)

## Toxicology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/toxicol](http://www.elsevier.com/locate/toxicol)



### An appeal for the integrity of science and public policy



We, scientists and signatories of this appeal assert our concern for the erosion of scientific principles in the purported validation of experimental evidence, which is manifest in arguments disguised as true science. Such arguments are used to simulate and exaggerate hazards and risks that justify official intervention policies in health, safety and environmental issues. This erodes public confidence in science and government, leads to misallocation of public resources, cause massive economic distortions, and strains court adjudications.

# METALLOMICA

studio dei metalli e delle specie metalliche

la loro interazione, trasformazione e funzione

nei sistemi biologici

la complementarità tra metalli e il mezzo metallico (liberi o legati)

è noto come

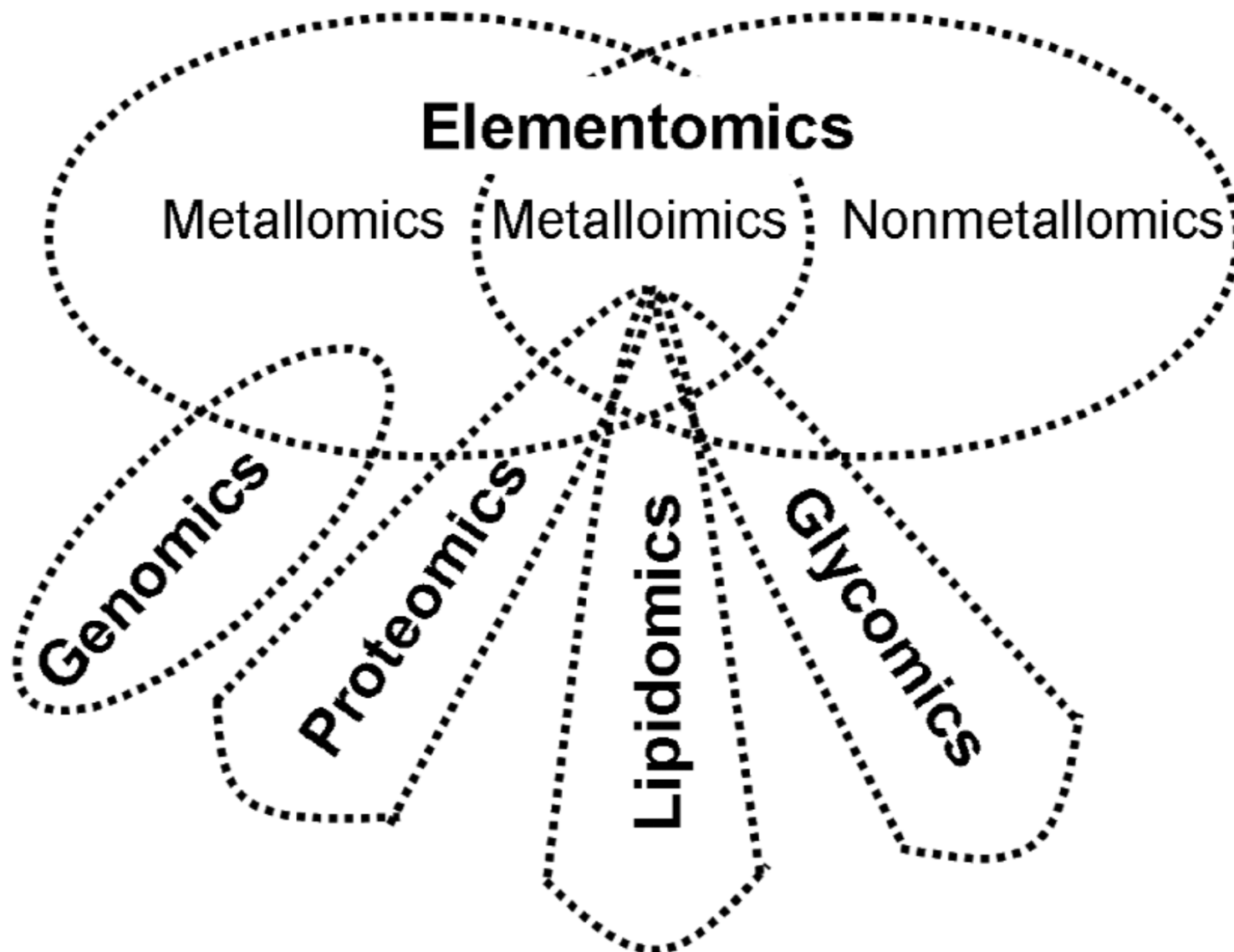
# METALLOMA

ELEMENTOMICA: speciazione degli elementi biologici

NONMETALLOMICA: studio degli elementi non metallici

METALLOIMICA: studio degli elementi metallici

Studi sui complessi e le interazioni METALLO-GENI, METALLO-ZUCCHERI e METALLO-LIPIDI e i termini METALLO-GENOMICA, METALLO GLICOMICA e METALLO-LIPIDOMICA vengono usati per coprire le differenti aree di sovrapposizione tra metalli e geni, zuccheri e lipidi



Gli endpoint e i POD usati per definire una risposta avversa al trattamento variano sostanzialmente tra le specie:

uomo: sono tratti dai trial clinici sui chemioterapici. In questi studi la  $MTD_H$  (massima dose tollerata per l'uomo) è definita su 5 giorni di trattamento come "IL LIVELLO DI DOSE AL QUALE NON PIU' DI 1 SU 6 PAZIENTI TRATTATI PRESENTA UN EFFETTO AVVERSO RISPETTO ALLA DOSE IMMEDIATAMENTE SUCCESSIVA (PIU' ALTA) CHE CAUSA UN EFFETTO AVVERSO IN DUE O PIU' PAZIENTI"

scimmia e cane: l'endpoint tossicità nei non roditori è definito come la dose più bassa che causa tossicità (TDL) o la massima dose tollerata negli animali ( $MTD_A$ )

ratto e topo: l'endpoint è la  $LD_{10}$  ovvero la dose che causa il 10% di mortalità nella popolazione del gruppo trattato

TDL (toxic low dose) è la dose più bassa che causa alterazioni patologiche negli endpoint ematologici, clinici, chimici o morfologici; anche raddoppiandola non causa mortalità

MTD<sub>A</sub> (maximun tolerated dose in animals) è definita come la dose più alta che riduce la crescita in peso di non più del 10% in studi sub-cronici

l'assorbimento attraverso la cute dei ratti è generalmente 3-4 volte maggiore che attraverso quella umana.

# MASSIMA DOSE TOLLERATA

## Obiezioni:

un sovraccarico metabolico può avvenire per alte dosi portando ad una anomala biotrasformazione del composto test; ad esempio, metaboliti tossici potrebbero produrre una saturazione delle vie detossificanti

Una esposizione sperimentale produce un livello classicamente definito come **assunzione giornaliera accettabile (ADI)** che rappresenta un livello giornaliero di assunzione di una sostanza xenobiotica da parte dell'uomo, associata ad un rischio minimo o assente di effetto avverso.

**E' espresso in mg di sostanza per kg di peso per die.**



E' anche definito come:

## Dose di riferimento di rischio (RfD)

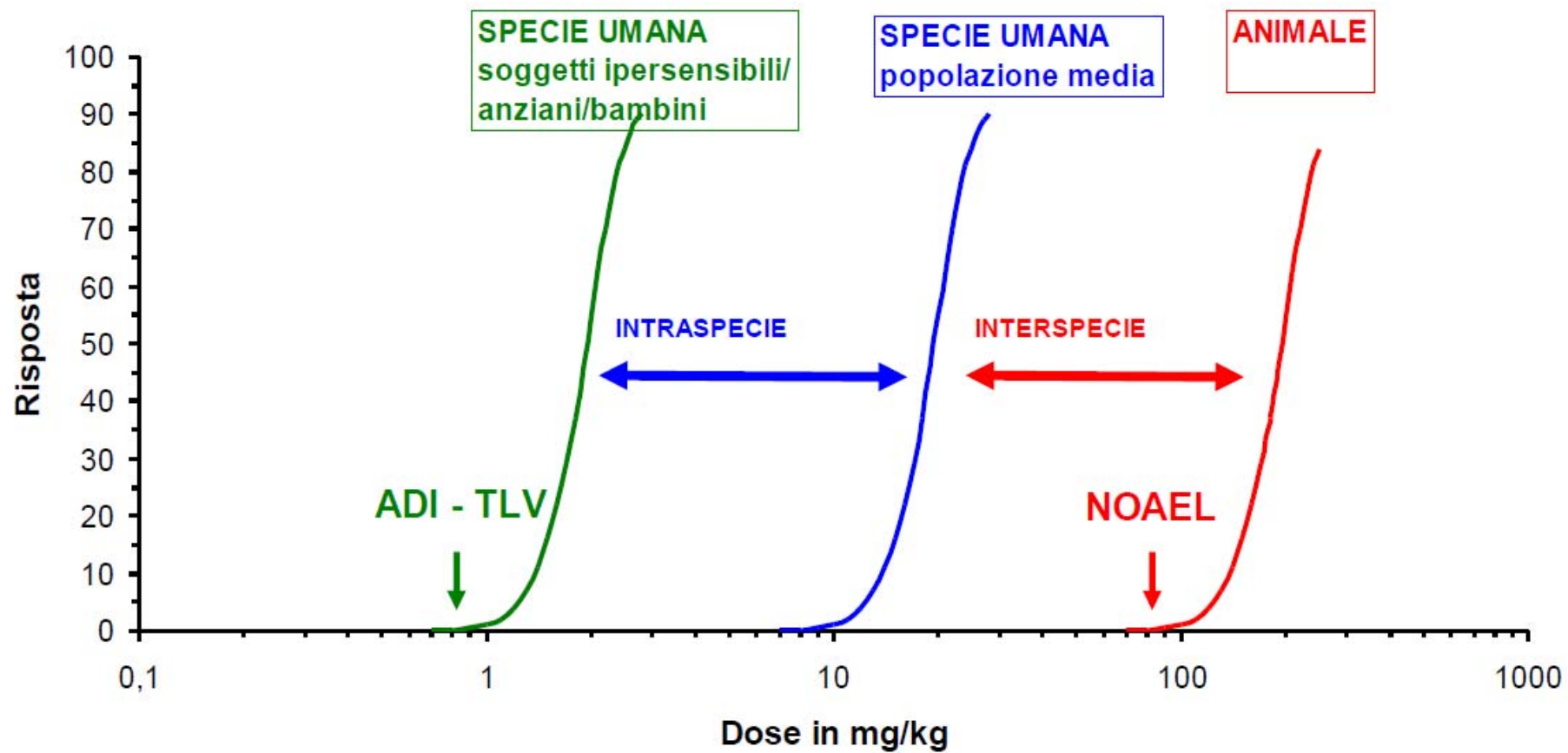
$$\text{RfD} = \frac{\text{NOAEL}_{\text{critical effects}}}{\text{UF}_{\text{interspecies}} \times \text{UF}_{\text{intraspecies}} \times \text{MF}}$$

10:  
4: tossicocinetica  
2,5: tossicodinamica

10: suscettibilità

The diagram illustrates the components of the Risk Reference Dose (RfD) calculation. The denominator of the equation consists of three multiplicative factors: UF<sub>interspecies</sub>, UF<sub>intraspecies</sub>, and MF. Arrows indicate the breakdown of these factors into specific numerical values and their corresponding scientific justifications: UF<sub>interspecies</sub> is composed of 10 (toxicokinetic), 4 (toxicodynamic), and 2.5 (susceptibility); UF<sub>intraspecies</sub> is composed of 10 (susceptibility); and MF is composed of 10 (susceptibility).

## curva dose-risposta: dall'animale all'uomo



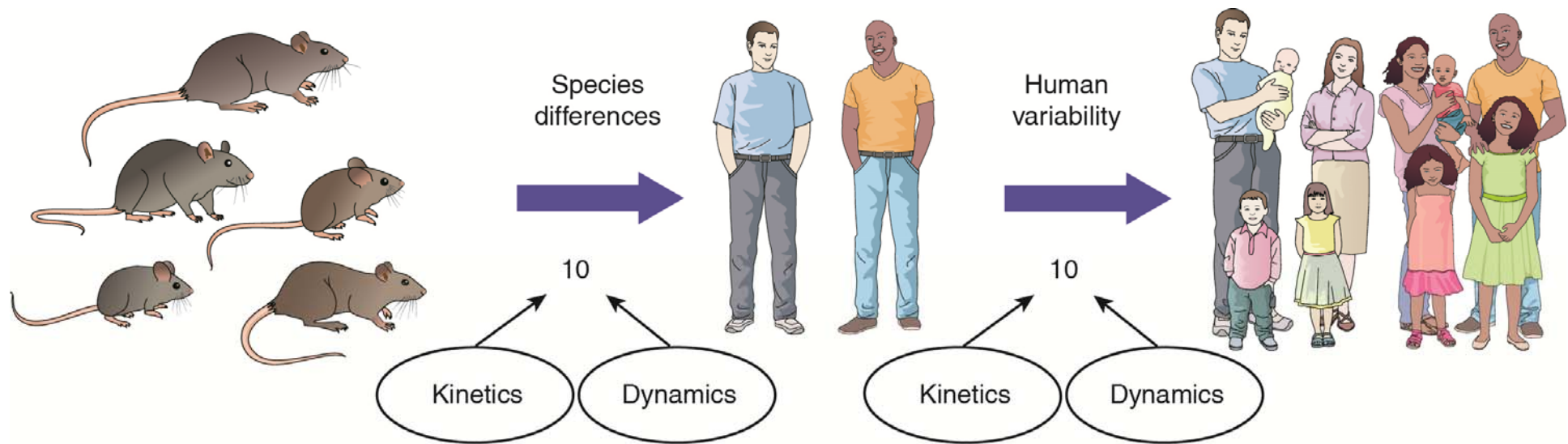


Figure 4-4. Toxicokinetic (TK) and toxicodynamic (TD) considerations inherent in interspecies and interindividual extrapolations. TK refers to the processes of absorption, distribution, elimination, and metabolism of a toxicant. TD refers to the actions and interactions of the toxicant within the organism and describes processes at organ, tissue, cellular, and molecular levels. This figure shows how uncertainty in extrapolation both across and within species can be considered as being due to 2 key factors: a kinetic component and a dynamic component. Challenges remain for extrapolating information on human variation to specific populations (NRC, 2009). Refer to the text for detailed explanations.

# FATTORI DI INCERTEZZA

Sono stati identificati 5 fattori di incertezza (EPA):

**H:** fattore di incertezza di 10 volte che tiene conto delle **variazioni umane** dovute alla suscettibilità. E' l'unico fattore che definisce il **NOAEL** (no-observed-adverse-effect level).

## FATTORI DI INCERTEZZA

**A:** un fattore di incertezza di 10 volte che estrapola i dati dall'animale all'uomo.

Si basa sul fatto che l'uomo può essere più suscettibile dell'**animale da esperimento** a particolari sostanze e che l'ordine di grandezza della incrementata suscettibilità è all'interno di un fattore 10.

# FATTORI DI INCERTEZZA

**S:** un fattore di incertezza 10 che estrapola i dati da una esposizione **subcronica** ad una esposizione cronica.

Si basa sulla presunzione che se la sostanza xenobiotica è stata somministrata per tutta la vita, una quantità più piccola dovrebbe rientrare nello stesso NOAEL.

# FATTORI DI INCERTEZZA

**L:** un fattore di incertezza tra 1 e 10 per poter estrapolare dalla **LOAEL (lowest-observed-adverse-effect level)** alla **NOAEL**.

E' usato per studi in cui il **NOAEL** non è stato identificato ed è basato sulla presunzione che una dose che sia **1/10** del **LOAEL** dovrebbe rientrare nel **NOAEL**.

# FATTORI DI INCERTEZZA

**D:** tale fattore può essere applicato quando il **database** è incompleto.

Si basa sulla presunzione che quando il database per una sostanza xenobiotica è limitato, si potrebbe definire un NOAEL più basso se fossero effettuati degli studi più completi.



# **FATTORI DI INCERTEZZA**

**Due studi cronici definiscono completo un database:**

- 1. Studio multigenerazionale sui mammiferi**
- 2. Studio di tossicità dello sviluppo sui mammiferi**

**Se tali studi sono disponibili, esiste un alto grado di probabilità che almeno uno abbia avvicinato il NOAEL più basso.**

# FATTORI DI INCERTEZZA

Teoricamente, se si applica il valore 10 a ogni singolo fattore di incertezza (H, A, S, L e D) si raggiunge il valore di 100.000.

Realisticamente, il fattore totale di incertezza è stato così calcolato:

1. Presente in 4 casi → 3000
2. Presente in 5 casi → 10.000

# FATTORI DI INCERTEZZA

Sebbene 10 sia il fattore base, a seconda delle informazioni disponibili possono essere utilizzati fattori inferiori a seconda delle informazioni disponibili.

Es.: nessun fattore di incertezza è usato per il fluoro perché il NOAEL per l'effetto critico (fluorosi dentale) è stato osservato nella popolazione sensibile (bambini) per una sufficiente durata dell'esposizione.

## FATTORI DI MODIFICA

Un fattore di modifica (MF)  $>0$  e  $\leq 10$  può essere utilizzato per fattori di incertezza non assimilabili ad altri fattori.

Es.: l'uso di un ampio numero di animali da esperimento può accrescere la certezza nella RfD, portando all'uso di un MF  $<1$  e  $>0$ . Al contrario, quando un RfD è basato su un numero limitato di animali da esperimento, può essere applicato un MF  $>1$  ma  $\leq 10$ .

**ECHA:** EUROPEAN CHEMICALS AGENCY

**REACH:** REGISTRATION, EVALUATION AND  
AUTHORIZATION OF CHEMICALS

**ECETOC:** EUROPEAN CENTRE FOR  
ECOTOXICOLOGY AND TOXICOLOGY OF CHEMICALS

**SCOEL:** SCIENTIFIC COMMITTEE ON OCCUPATIONAL  
EXPOSURE LIMIT

**CHEMICAL SAFETY ASESMENT**

**EXPOSURE SCENARIOS**

**DERIVED NO-EFFECT LEVELS**

**(DNEL)**

- acute or repeated exposure
- different exposure routes
- systemic and local effects
- workplace/general population exposure

point of departure (POD)

assessment factors (AF)

## FATTORI DI CORREZIONE

gli studi di tossicologia inalatoria negli animali sono condotti per 6 h/die

lavoratori 8 h/die

ambiente 24 h/die

lavoratori 0,75 (6 vs 8 h/die)

ambiente 0,25 (6 vs 24 h/die) + 0,71 (5 giorni vs 7 giorni/settimana)

inoltre: gli animali sono a riposo durante l'esposizione mentre i lavoratori sono sottoposti se non altro ad una leggera attività fisica

si applica quindi un fattore di 0,67 (volume respiratorio a riposo per 8 h = 6,7 m<sup>3</sup>/persona, durante attività leggera per 8 h = 10 m<sup>3</sup>/persona) (una attività leggera comporta una ventilazione di circa 20 lt/min)

tali fattori non si applicano per gli irritanti e per l'esposizione di 24 h della popolazione generale

## parametri AF (assessment factors)

1. estrapolazione interspecie, assumendo che l'uomo è 4 volte più suscettibile del ratto
2. durata dell'esposizione sperimentale in relazione alla durata dell'esposizione umana (p.e. sub-cronica vs cronica)
3. variazioni nella specie
4. natura e gravità degli effetti
5. qualità del database



l'uso moltiplicativo di tutti gli AF di default proposto dal REACH può portare alla formulazione di un DNEL eccessivamente conservativo

### esempio

DNEL calcolato per una sostanza a bassa tossicità, cioè con un NOAEL di 1000 mg/kg definito in studi di tossicità orale sub-acuta nel ratto:

peso medio uomo: 70 kg

volume respiratorio per turno: 10 m<sup>3</sup> (lavoro leggero)

POD (point of departure):  $1000 \text{ mg} \times 70/10 = 7000 \text{ mg/m}^3$

AF di default: route-to route 2 (orale 50%, inalatoria 100%)

graduazione allometrica: 4 (ratti vs umani)

addizionali fattori di incertezza: 2,5

intraspecie (lavoratori): 5

durata esposizione: sub-acuta vs cronica 6

dose-risposta: 1

qualità dei dati: 1

di conseguenza i risultanti AF dovrebbero essere:

600

cioè

$2 \times 4 \times 2,5 \times 5 \times 6 \times 1 \times 1$

corrispondenti a un DNEL long-term worker=

$$7000/600 = 12 \text{ mg/m}^3$$

ma le OECD TG definiscono 1000 mg/kg/die il limite di dose che non richiede ulteriori valutazioni.

L'assunto è che le sostanze che non producono effetti alla dose soglia non sono considerate pericolose.

## IL CONCETTO DI SCALA ALLOMETRICA

I piccoli animali hanno un metabolismo più veloce rispetto all'uomo che quindi dovrebbe essere meno efficace nella detossificazione e nell'escrezione degli xenobiotici e quindi più vulnerabili.

Il REACH propone un fattore di 5 (invece di 4 per la tossicocinetica) per l'aggiustamento interspecie per i lavoratori, portando a un fattore totale di 12,5 ( $5 \times 2,5$ ), mentre l'ECETOC propone un fattore di 3.

La scelta della variabilità nella specie per definire gli AF non è una decisione “**science-based**” ma di “**science policy**” dopo aver definito i livelli conservativi ritenuti necessari.

Tanto è vero che gli AF intraspecie proposti da REACH e ECETOC sono diversi:

	lavoratori	popolazione generale
REACH	5	10
ECETOC	3	5

I neonati hanno una clearance dei farmaci con un'emivita da 3 a 9 volte più lunga degli adulti, ma questa differenza scompare all'età di 2-6 mesi. Un fattore di 3,2 sarebbe quindi sufficiente.

Il REACH propone un fattore residuale interspecie (ciò che rimane dopo la valutazione allometrica) di 2,5. Questo fattore aggiuntivo non è “**science-based**” ma “**science policy**”.

## DURATA DELL'ESPOSIZIONE

	fattore
sub-cronica vs cronica	2
sub-acuta vs cronica	6
sub-acuta vs sub-cronica	3

Per sostanze con una breve emivita (<15 ore) l'ECETOC ritiene che durate espositive >28 giorni non abbiano significativi effetti sul NOAEL

## ESTRAPOLAZIONE LOAEL/NOAEL

fattore 3 (come minimo, maggioranza dei casi)

fattore 10 (come massimo, in casi eccezionali)

WHO 2000 considera come NOAEL la BMD5%

*Default assessment factors from animal data*

Assessment factors – accounting for differences in: (page numbers in brackets refer to the REACH TGD)		Systemic effects		Local effects (inhalation)	
		REACH TGD	ECETOC	REACH TGD	ECETOC
Route-to-route extrapolation (p. 24-28)	Oral to inhalation	2			
	Inhalation to oral	1	(no proposal)		
	Oral to dermal	1			
	Dermal to inhalation	} case-by-case			
	Inhalation to dermal				
Interspecies (p. 29-33)	Correction for differences in metabolic rate (allometric factor)	Rat → humans 4 Mice → humans 7	4 7	1	1
	'Remaining differences'	2.5	in total allometry	2.5	1
Intraspecies (p. 33-34)	Worker	5	3	5	3
	General population	10	5	10	5
Exposure duration (p. 34-35)	Sub-acute to sub-chronic*	3	3	3	1
	Sub-chronic to chronic	2	2	2	1
	Sub-acute to chronic	6	6	6	1
Dose-response (p. 35-36)	Reliability of dose-response, LOAEL/NAEL extrapolation and severity of effect	≥1 3 (in majority of cases) → 10 (in exceptional cases)	3	≥1	
Quality of whole database (p. 36-37)	Completeness and consistency of available data	≥1		≥1	
	Reliability of alternative data (e.g. read-across)	≥1		≥1	

\* These factors are implied

*Typical assessment factors applied to human data*

	Nature of assessment factor	AF* applied to account for deficiency
Intraspecies	- worker to worker	1
	- worker to general population	2
	- general population to general population	1
Duration of exposure	- sub/semi-chronic to chronic	2
	- chronic to lifetime	1
Dose-response (issues related to reliability of dose-	- LOAEL / NOAEL extrapolation	2**
	- steep dose-response curve	2
Quality of whole database	- issues related to completeness of available data	***
	- issues related to consistency of available data	****
	- issues related to reliability of available data	2
	- study substantially influenced by healthy worker effect	2
	- small study size	3

\* AF is typical factor applied rather than default for all situations

\*\* Typically a value of 2 is sufficient, but if information on the dose-response curve is available a more appropriate AF should be used.

\*\*\* No general AF can be recommended; expert judgement is required on a case-by-case basis.

\*\*\*\* No general AF can be recommended; if the human data are inconsistent, refer to animal data.



*Table 2: Allometric scaling factors (cited in ECHA, 2008, Table R. 8-3)*

Species	Body weight (kg)	Metabolic rate vs. humans*
Rat	0.250	4
Mouse	0.03	7
Hamster	0.11	5
Guinea pig	0.8	3
Rabbit	2	2.4
Monkey	4	2
Dog	18	1.4

\* assuming the human body weight is 70kg

**TABLE 3: Comparison of assessment factors used by SCOEL with the default factors proposed in the REACH TGD and by ECETOC. For further details see APPENDIX A.**

*Key information discussed by SCOEL to derive IOELV: animal data – systemic effects*

Compound	SCOEL Assessment Factors	REACH TGD Assessment Factors	ECETOC Assessment Factors
		Total Factors (RtR <sup>a</sup> x AS <sup>b</sup> x RD <sup>c</sup> x IS <sup>d</sup> x ED <sup>e</sup> x DR <sup>f</sup> )	Total Factors (RtR <sup>a</sup> x AS <sup>b</sup> x RD <sup>c</sup> x IS <sup>d</sup> x ED <sup>e</sup> x DR <sup>f</sup> )
Cyanamide	1.4	35 $2^a \times 1.4^b \times 2.5^c \times 5^d \times 1^e \times 1^f$	4.2 $1^a \times 1.4^b \times 1^c \times 3^d \times 1^e \times 1^f$
N,N-Dimethylformamid (DMF)	1	12.5 $(1)^a \times (1)^b \times 2.5^c \times 5^d \times 1^e \times 1^f$	3 $(1)^a \times 1^b \times 1^c \times 3^d \times 1^e \times 1^f$
((2-(2-Methoxyethoxy) ethanol) (DEGME)	5	60 $2^a \times 2.4^b \times 2.5^c \times 5^d \times 1^e \times 1^f$	7.2 $1^a \times 2.4^b \times 1^c \times 3^d \times 1^e \times 1^f$
Mono-chlorobenzene	10	75 $(1)^a \times (1)^b \times 2.5^c \times 5^d \times 2^e \times 3^f$	18 $(1)^a \times (1)^b \times 1^c \times 3^d \times 2^e \times 3^f$
Pentanes	3	12.5 $(1)^a \times (1)^b \times 2.5^c \times 5^d \times 1^e \times 1^f$	3 $(1)^a \times 1^b \times 1^c \times 3^d \times 1^e \times 1^f$
Pyrethrum	50	100 $2^a \times 4^b \times 2.5^c \times 5^d \times 1^e \times 1^f$	12 $1^a \times 4^b \times 1^c \times 3^d \times 1^e \times 1^f$

a Route-to-route extrapolation (RtR)

b Interspecies differences; allometric scaling (AS)

c Interspecies differences; remaining differences (RD)

d Intraspecies differences (IS)

e Exposure duration (ED)

f Dose response ; LOAEL  $\geq$  NOAEL (DR)

(1): AF not applicable

**TABLE 4: Comparison of assessment factors used by SCOEL with the default factors proposed in the REACH TGD and by ECETOC. For further details see APPENDIX A. Key information discussed by SCOEL to derive IOELV: animal data – local effects**

Compound	SCOEL Assessment Factors	REACH TGD	ECETOC
		Assessment Factors Total Factors (RtR <sup>a</sup> x AS <sup>b</sup> x RD <sup>c</sup> x IS <sup>d</sup> x ED <sup>e</sup> x DR <sup>f</sup> )	Assessment Factors Total Factors (RtR <sup>a</sup> x AS <sup>b</sup> x RD <sup>c</sup> x IS <sup>d</sup> x ED <sup>e</sup> x DR <sup>f</sup> )
Bisphenol A	1	25 (1) <sup>a</sup> x (1) <sup>b</sup> x 2.5 <sup>c</sup> x 5 <sup>d</sup> x 2 <sup>e</sup> x 1 <sup>f</sup>	3 (1) <sup>a</sup> x (1) <sup>b</sup> x 1 <sup>c</sup> x 3 <sup>d</sup> x 1 <sup>e</sup> x 1 <sup>f</sup>
((2-(2- Butoxyethoxy) ethanol) (DEGBE)	1	25 (1) <sup>a</sup> x (1) <sup>b</sup> x 2.5 <sup>c</sup> x 5 <sup>d</sup> x 2 <sup>e</sup> x 1 <sup>f</sup>	3 (1) <sup>a</sup> x (1) <sup>b</sup> x 1 <sup>c</sup> x 3 <sup>d</sup> x 1 <sup>e</sup> x 1 <sup>f</sup>
Ethyl acrylate	1	12.5 (1) <sup>a</sup> x (1) <sup>b</sup> x 2.5 <sup>c</sup> x 5 <sup>d</sup> x 1 <sup>e</sup> x 1 <sup>f</sup>	3 (1) <sup>a</sup> x (1) <sup>b</sup> x 1 <sup>c</sup> x 3 <sup>d</sup> x 1 <sup>e</sup> x 1 <sup>f</sup>
Hydrogen sulphide	2	41.3 (1) <sup>a</sup> x (1) <sup>b</sup> x 2.5 <sup>c</sup> x 5 <sup>d</sup> x 3.3 <sup>e</sup> x 1 <sup>f</sup>	3 (1) <sup>a</sup> x (1) <sup>b</sup> x 1 <sup>c</sup> x 3 <sup>d</sup> x 1 <sup>e</sup> x 1 <sup>f</sup>
Methyl acrylate	3	37.5 (1) <sup>a</sup> x (1) <sup>b</sup> x 2.5 <sup>c</sup> x 5 <sup>d</sup> x 3 <sup>e</sup> x 1 <sup>f</sup>	9 (1) <sup>a</sup> x (1) <sup>b</sup> x 1 <sup>c</sup> x 3 <sup>d</sup> x 1 <sup>e</sup> x 3 <sup>f</sup>
Phenol	2	25 (1) <sup>a</sup> x (1) <sup>b</sup> x 2.5 <sup>c</sup> x 5 <sup>d</sup> x 2 <sup>e</sup> x 1 <sup>f</sup>	3 (1) <sup>a</sup> x (1) <sup>b</sup> x 1 <sup>c</sup> x 3 <sup>d</sup> x 1 <sup>e</sup> x 1 <sup>f</sup>

<sup>a</sup> Route-to-route extrapolation (RtR)

<sup>b</sup> Interspecies differences; allometric scaling (AS)

<sup>c</sup> Interspecies differences; remaining differences (RD)

<sup>d</sup> Intraspecies differences (IS)

<sup>e</sup> Exposure duration (ED)

<sup>f</sup> Dose response ; LOAEL ≥ NOAEL (DR)

(1): AF not applicable

MODELLO A SOGLIA (contaminanti non cancerogeni)

HI (hazard index) = dose / RfD

MODELLO LINEARE (contaminanti cancerogeni)

CR (cancer risk) = dose x SF

ove SF è lo slope factor o rischio unitario, definito per numerose sostanze

Per la legislazione Italiana (D.Lgs 152/2006)

HI < 1 è accettabile

R < 10<sup>-5</sup> definisce la concentrazione soglia di rischio

La sostanza XY è un inquinante il cui limite nell'acqua potabile è di 10  $\mu\text{g/l}$ .

N.B.: si assume che si bevano 2 litri/die e che il peso medio sia di 70 kg.

La sostanza XY in esame è nota sia per la tossicità acuta e cronica sia per il potenziale cancerogeno.

Debbono essere quindi applicati sia il modello a soglia, sia il modello lineare.

L'analisi dell'acqua ha evidenziato che la concentrazione della sostanza XY è di 100 µg/l.

Dal punto di vista legislativo l'acqua supera la **Concentrazione Soglia di Contaminazione**

L'acqua è quindi, a norma di legge, **CONTAMINATA**

**TALE LIVELLO DI CONTAMINAZIONE PUO' DEFINIRSI UN RISCHIO PER LA SALUTE?**

I parametri noti della sostanza XY sono:

Dose di riferimento (RfD):  $6 \times 10^{-3}$  mg/kg/die (modello a soglia)

Slope factor (SF):  $2 \times 10^{-3}$  (mg/kg/die)<sup>-1</sup> (modello lineare)

Minimal risk level (MRL): 50 µg/kg/die ovvero 3500 µg/die (tossicità acuta)

## 1. TOSSICITA' ACUTA

Se la sostanza XY ha una concentrazione di 100 µg/l, e la MRL è 50 µg/kg/die (3500 µg/die) l'assunzione giornaliera viene calcolata come di seguito:

$$100 \mu\text{g/l} \times 2 \text{ litri} = 200 \mu\text{g/die}/70 = 2,9 \mu\text{g/kg/die}$$

CONCLUSIONE:

**NON VI E' RISCHIO DI TOSSICITA' ACUTA**

## 2. TOSSICITA' CRONICA

L'assunzione giornaliera è quella già calcolata al punto 1:

$$100 \mu\text{g/l} \times 2 \text{ litri} = 200 \mu\text{g/die}/70 = 2,9 \mu\text{g/kg/die}$$

La dose di riferimento (RfD) è di  $6 \mu\text{g/kg/die}$

L'indice di pericolo (HI) è fornito dalla formula:

$$\text{HI} = \text{dose giornaliera} / \text{dose di riferimento}$$

$$\text{Quindi: } 2,9 \mu\text{g/kg/die} / 6 \mu\text{g/kg/die}; \text{ HI} = 0,48$$

CONCLUSIONE:

**NON VI E' RISCHIO DI TOSSICITA' CRONICA POICHE' HI < 1**



### 3. POTENZIALE CANCEROGENO

L'assunzione giornaliera è quella già calcolata al punto 1:

$$100 \mu\text{g/l} \times 2 \text{ litri} = 200 \mu\text{g/die}/70 = 2,9 \mu\text{g/kg/die}$$

Lo slope factor (SF) è di  $2 \times 10^{-3} (\text{mg/kg/die})^{-1}$

Il rischio cancerogeno (CR) è fornito dalla formula:

$$\text{CR} = \text{dose giornaliera} \times \text{SF}$$

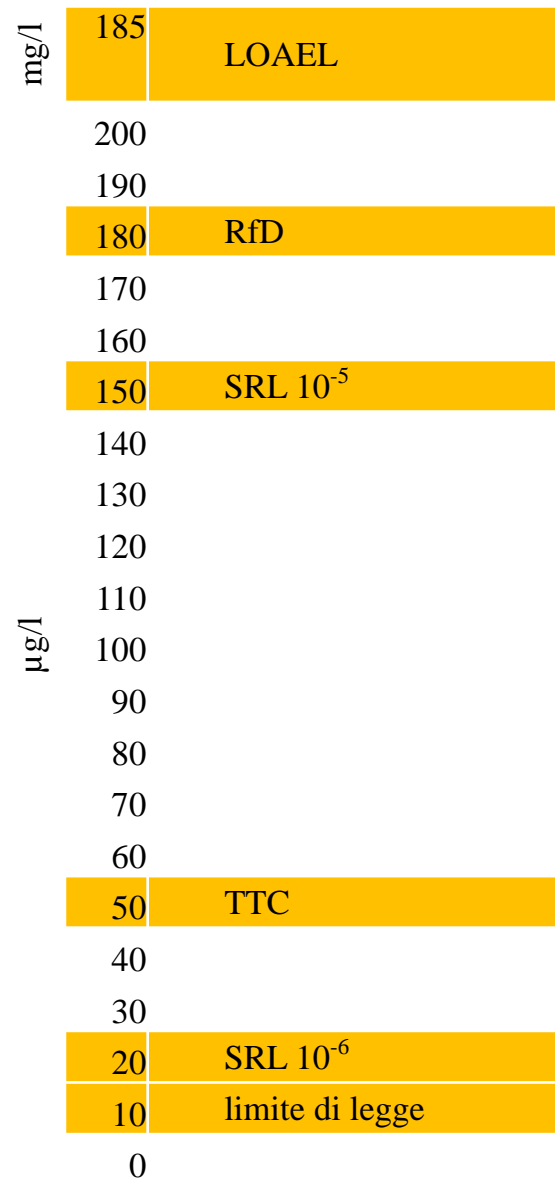
$$\text{Quindi: } 2,9 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/die} \times 2 \times 10^{-3} (\text{mg/kg/die})^{-1}; \text{ CR} = 5,8 \times 10^{-6}$$

Il rischio specifico della dose (RSD) per un extra rischio accettabile di 1 su 100.000 espresso in  $\mu\text{g/kg/die}$  è dato dalla formula:

$$\text{RSD} = 1 \times 10^{-5} / \text{SF} = 0,00001 / 0,002 = 0,005 \text{ mg/kg/die} \text{ pari ad una concentrazione nell'acqua di } 150 \mu\text{g/l}$$

CONCLUSIONE:

**NON VI E' RISCHIO CANCEROGENO POICHE' LA CONCENTRAZIONE MISURATA E' INFERIORE AL RSD**

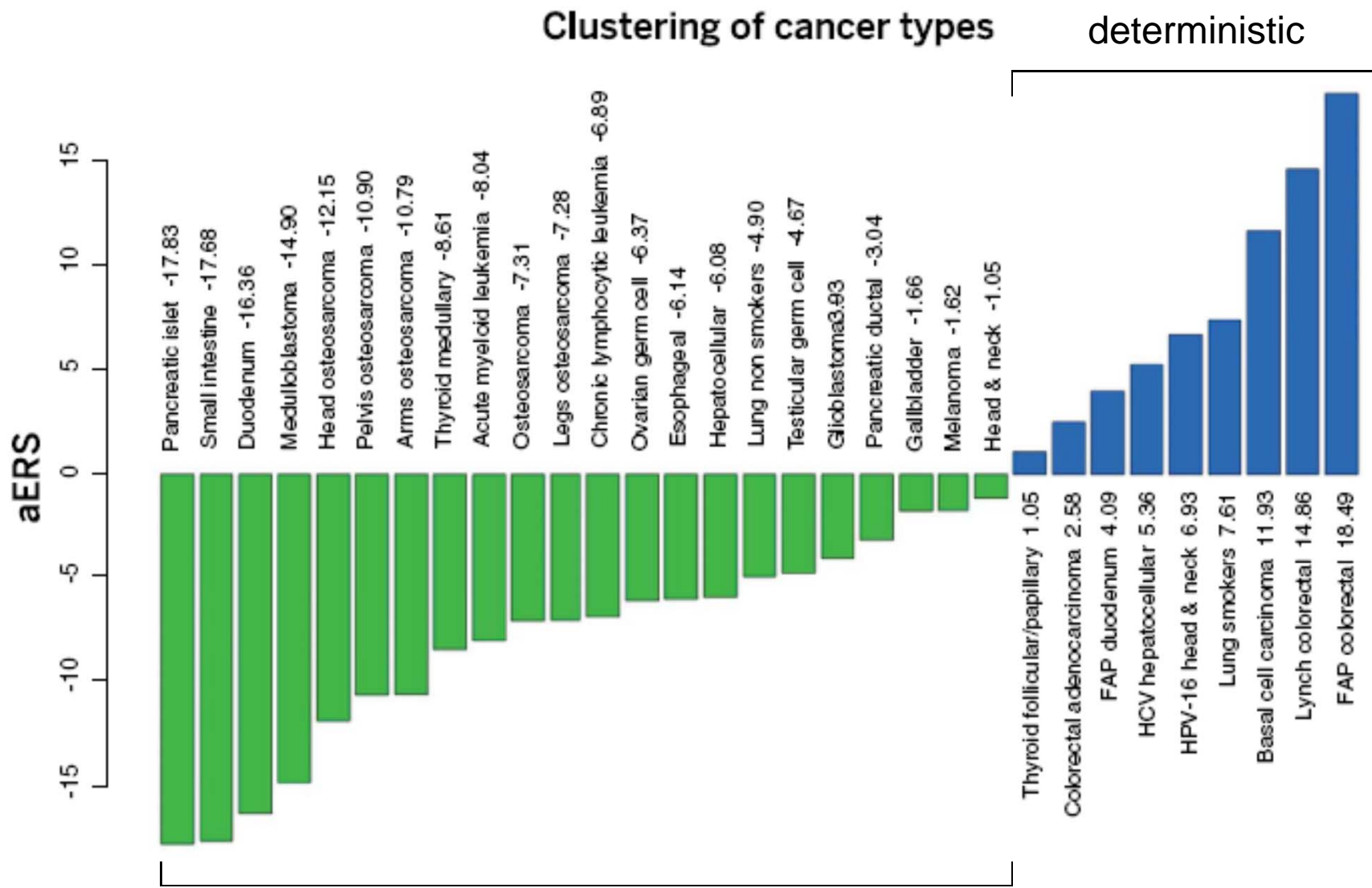


**CANCER ETIOLOGY**

# **Variation in cancer risk among tissues can be explained by the number of stem cell divisions**

**Cristian Tomasetti<sup>1\*</sup> and Bert Vogelstein<sup>2\*</sup>**

Science 347: 78-81, 2015



Science 347: 78-81, 2015

## **VALUTAZIONE DEL RISCHIO**

Processo sistematico per la stima di tutti i fattori di rischio significativi che intervengono in uno scenario di esposizione causato dalla presenza di pericoli

ovvero

La stima delle conseguenze sulla salute umana di un evento potenzialmente dannoso, in termini di probabilità che le stesse conseguenze si verifichino

# TLVs

(threshold limit values)

1. TLV-TWA (time weighted average)
2. TLV-STEL (short-term exposure level)
3. TLV-C (ceiling)
4. TLV-miscele

# TLVs

(threshold limit values)

1. Si applica per esposizione a sostanze xenobiotiche il cui unico effetto è di tipo cronico
2. Si applica per esposizione a sostanze xenobiotiche in grado di causare effetti cronici nel lungo periodo, ma anche effetti acuti
3. Si applica per esposizione a sostanze xenobiotiche note essenzialmente per gli effetti acuti
4. Si applica per esposizioni multiple

# TLVs

(threshold limit values)

1. Non sono permesse concentrazioni ambientali dell'inquinante che superino il TWA di **cinque volte**; valori superiori di **tre volte** il TWA non devono essere rilevati per più di 30 minuti/die
2. Si calcola su un periodo di campionamento di 15 minuti e in una giornata lavorativa non sono ammessi più di **quattro picchi** vicini allo STEL
3. Non può mai essere superato



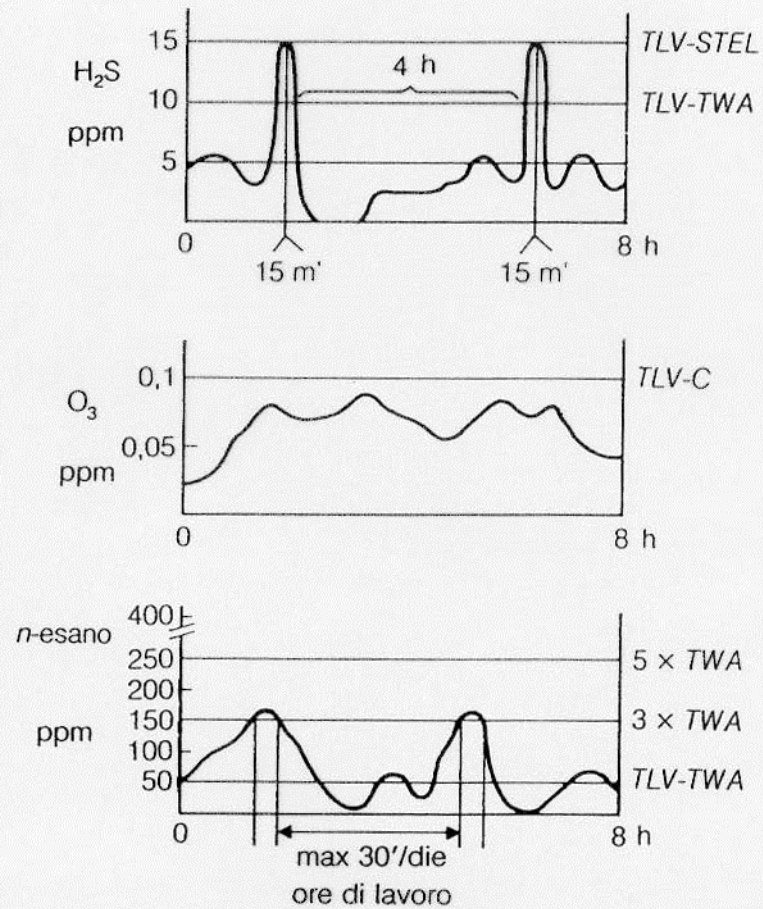


Fig. 1.20. - Esempio di ottemperanza alle concentrazioni limite di tre tipi di inquinanti.

# TLVs

(threshold limit values)

L'annotazione **skin** indica il possibile assorbimento per via cutanea

Substance	[CAS #]	ADOPTED VALUES				Substance	[CAS #]	ADOPTED VALUES			
		TWA ppm <sup>(1)</sup>	mg/m <sup>(3a)</sup>	STEL ppm <sup>(1)</sup>	mg/m <sup>(3a)</sup>			TWA ppm <sup>(1)</sup>	mg/m <sup>(3a)</sup>	STEL ppm <sup>(1)</sup>	mg/m <sup>(3a)</sup>
■4-Aminodiphenyl [92-67-1] — Skin (1972) . . . . .	—	—	(A1)	—	—	Barium [7440-39-3], soluble compounds, as Ba (1977)	—	0.5	—	—	—
2-Aminoethanol, see Ethanolamine						Barium sulfate [7727-43-7] (1986) . . . . .	—	10 <sup>(e)</sup>	—	—	—
2-Aminopyridine [504-29-0] (1986) . . . . .	0.5	1.9	—	—	Benomyl [17804-35-2] (1986) . . . . .	0.84	10	—	—	—	
3-Amino-1,2,4-triazole, see Amitrole					† Benzene [71-43-2] (1987) . . . . .	(10)(A2)	(32)(A2)	—	—	—	
■Amitrole [61-82-5] (1986) . . . . .	—	0.2	—	—	■Benzidine [92-87-5] — Skin (1982) . . . . .	—	(A1)	—	—	—	
Ammonia [7664-41-7] (1976) . . . . .	25	17	35	24	■Benzo[b]fluoranthene [205-99-2] (1992) . . . . .	—	(A2)	—	—	—	
Ammonium chloride fume [12125-02-9] (1976) . . . . .	—	10	—	20	p-Benzoquinone, see Quinone						
Ammonium perfluorooctano- ate [3825-26-1] (1988) . . . . .	—	0.1	—	—	Benzoyl peroxide [94-36-0] (1977) . . . . .	—	5	—	—	—	
Ammonium sulfamate [7773-06-0] (1986) . . . . .	—	10	—	—	■Benzo(a)pyrene [50-32-8] (1976)	—	(A2)	—	—	—	
Amosite, see Asbestos					■Benzyl chloride [100-44-7] (1977)	1	5.2	—	—	—	
n-Amyl acetate [628-63-7] (1987)	100	532	—	—	■Beryllium [7440-41-7] and compounds, as Be (1979)	—	0.002(A2)	—	—	—	
sec-Amyl acetate [626-38-0] (1987) . . . . .	125	665	—	—	Biphenyl [92-52-4] (1987) . . . . .	0.2	1.3	—	—	—	
■Aniline [62-53-3] and homologues — Skin (1986)	2	7.6	—	—	Bismuth telluride, as Bi <sub>2</sub> Te <sub>3</sub> Undoped [1304-82-1] (1986)	—	10	—	—	—	
■Anisidine [29191-52-4] (o-, p- isomers) — Skin (1977) . . . . .	0.1	0.5	—	—	Se-doped (1986) . . . . .	—	5	—	—	—	
Antimony [7440-36-0] and compounds, as Sb (1980)	—	0.5	—	—	Borates, tetra, sodium salts [1303-96-4] . . . . .	—	1	—	—	—	
■Antimony trioxide [1309-64-4] Handling and use, as Sb (1978) . . . . .	—	0.5	—	—	Anhydrous (1977) . . . . .	—	1	—	—	—	
Production (1980) . . . . .	—	(A2)	—	—	Decahydrate (1977) . . . . .	—	5	—	—	—	
ANTU [96-88-4] (1986) . . . . .	—	0.3	—	—	Pentahydrate (1977) . . . . .	—	1	—	—	—	
Argon [7440-37-1] (1981) . . . . .	— <sup>(c)</sup>	—	—	—	Boron oxide [1303-86-2] (1986)	—	10	—	—	—	
■Arsenic [7440-38-2] and soluble compounds, as As (1980) . . . . .	—	(0.2)	—	—	Boron tribromide [10294-33-4] (1986) . . . . .	C 1	C 10	—	—	—	
†Arsenic trioxide production [1327-53-3] (1980) . . . . .	—	(A2)	—	—	Boron trifluoride [7637-07-2] (1977) . . . . .	C 1	C 2.8	—	—	—	
■Arsine [7784-42-1] (1977) . . . . .	0.05	0.16	—	—	Bromacil [314-40-9] (1986) . . . . .	—	10	—	—	—	
■Asbestos <sup>(d)</sup>					Bromine [7726-95-6] (1976) . . . . .	0.1	0.66	0.3	2.0	—	
‡ Amosite [12172-73-5] (1980)		(0.5 fiber/cc, (A1))			Bromine pentafluoride [7789-30-2] (1986) . . . . .	0.1	0.72	—	—	—	
‡ Chrysotile [12001-29-5] (1980)		(2 fibers/cc, (A1))			Bromochloromethane, see Chlorobromomethane						
‡ Crocidolite [12001-28-4] (1980)		(0.2 fiber/cc, (A1))			Bromoform [75-25-2] — Skin (1977) . . . . .	0.5	5.2	—	—	—	
‡ Other forms (1980) . . . . .		(2 fibers/cc, (A1))			■1,3-Butadiene [106-99-0] (1986)	10(A2)	22(A2)	—	—	—	
Asphalt (petroleum) fumes [8052-42-4] (1987) . . . . .	—	5	—	—	Butane [106-97-8] (1981) . . . . .	800	1900	—	—	—	
Atrazine [1912-24-9] (1983) . . . . .	—	5	—	—	Butanethiol, see Butyl mercaptan						
■Azinphos-methyl [86-50-0] — Skin (1986) . . . . .	—	0.2	—	—	2-Butanone, see Methyl ethyl ketone (MEK)						
					2-Butoxyethanol (EGBE) [111-76-2] — Skin (1987) . . . . .	25	121	—	—	—	
					†n-Butyl acetate [123-86-4] (1976)	(150)	(713)	(200)	(950)	—	
					sec-Butyl acetate [105-46-4] (1987) . . . . .	200	950	—	—	—	

12

13

## Legenda

○ A1 cancerogeni certi, A2 cancerogeni sospetti

Skin possibilità di assorbimento cutaneo

— indicato anche il limite STEL

— — sostanze con limite C (ceiling), molto pericolose

I valori messi tra parentesi stanno ad indicare che è proposto un cambiamento del valore indicato.

# TLVs

(threshold limit values)

$$\text{TLV mg/mc} = \frac{\text{TLV ppm} \times \text{P.M. sostanza}}{24,45}$$

$$\text{TLV ppm} = \frac{\text{TLV mg/mc} \times 24,45}{\text{P.M. sostanza}}$$

ove 24,45=volume molare di aria in litri a temperatura (25°C)  
e pressione (760 torr) normali

# TLVs

(threshold limit values)

**TLV-miscela: salvo prova contraria, l'effetto tossico di due sostanze contemporaneamente presenti nell'ambiente di lavoro va considerato **additivo**.**

# TLVs

(threshold limit values)

$$\text{TLV-miscele} = \frac{C_1}{\text{TLV}_1} + \frac{C_2}{\text{TLV}_2} + \dots + \frac{C_n}{\text{TLV}_n}$$

Se il valore è superiore a 1, il TLV miscela è superato

# TLVs

(threshold limit values)

rischio lieve	$<1/4$ TLV
rischio controllato	$>1/4$ e $<3/4$ TLV
rischio potenziale	$>3/4$ e $<TLV$
non consentito	$>TLV$

**Criteria ACGIH per la valutazione degli effetti nocivi delle sostanze chimiche nell'uomo e nell'animale da esperimento, che servono da base per la formulazione dei TLVs:**

**MORFOLOGICI**

**effetti su sistemi e organi**

**FUNZIONALI**

**cambiamenti nelle funzioni  
d'organo**

**BIOCHIMICI**

**cambiamenti nelle quantità  
di costituenti biochimici  
e/o ematologici**

**MISCELLANEA**

**fastidio, visibilità,  
alterazioni cosmetiche ed  
estetiche, benessere**