

Istituto superiore per la Ricerca e la
Protezione Ambientale



Ministero del Lavoro, Salute e
Politiche Sociali

In collaborazione con:

Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare

Ministero dello Sviluppo Economico


Istituto Superiore di Sanità

INTRODUZIONE ALLA TOSSICOLOGIA E ALLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO

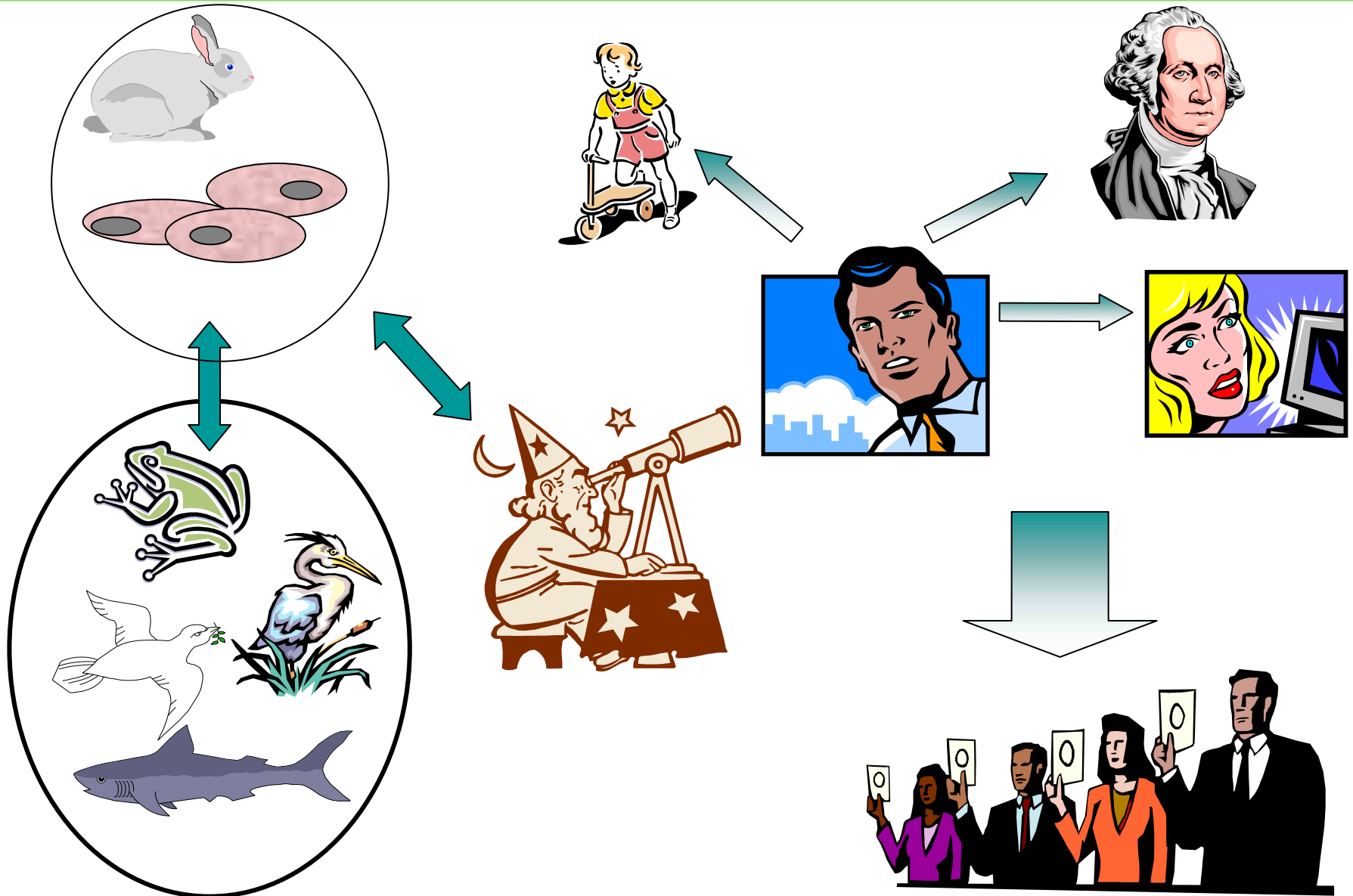
Emanuela Testai

Istituto Superiore di Sanità

Indice

1. Definizione e principi generali di tossicologia
2. La valutazione del rischio tossicologico
3. Test di tossicità
- 4. Biomarcatori di esposizione, effetto e suscettibilità
5. Case studies

Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH



Differenze e similitudini tra modelli animali e uomo

L'attività biologica di una sostanza chimica (es: l'azione farmacodinamica di un farmaco) è in genere simile nell'uomo e negli animali

Le maggiori diversità tra le specie sono dovute alla farmacocinetica di uno xenobiotico nell'organismo, e specialmente al metabolismo

Le differenze di specie sono dovute :

- ✓ Diversa espressione genica degli enzimi coinvolti
- ✓ Diversi parametri cinetici, specificità di substrato e risposta ad attivatori/inibitori degli enzimi coinvolti

Perché gli xenobiotici vengono metabolizzati?

La funzione delle reazioni di biotrasformazione è quella di aumentare la idrosolubilità degli xenobiotici, evitandone l'accumulo negli organismi favorendone l'escrezione in

ambiente acquoso

Reazioni di fase I: inseriscono o smascherano gruppi funzionali (-OH, -NH₂)

Reazioni di fase II: coniugano al parentale o al prodotto di reazione della fase I molecole endogene altamente solubili

Metabolismo degli xenobiotici

Gli xenobiotici vengono trasformati dal sistema enzimatico per il metabolismo in:

- Metaboliti con attività < o nulla rispetto al parentale: detossificazione (es: β -bloccante metaprololo; pesticidi organofosforici)
- Metaboliti con attività biologica > del composto parentale: bioattivazione (codeina-effetto analgesico della morfina pesticidi organofosforici)

La conoscenza dei parametri tossicocinetici permette di capire/ stimare/ anticipare:

- differenze interspecifiche nella tossicità (rilevanza della specie testata)
- differenze Intraspecifiche nella tossicità (suscettibilità di gruppi a rischio)
- Possibili interazioni con altri xenobiotici

TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT FOR PREPARING THE CHEMICAL SAFETY ASSESSMENT

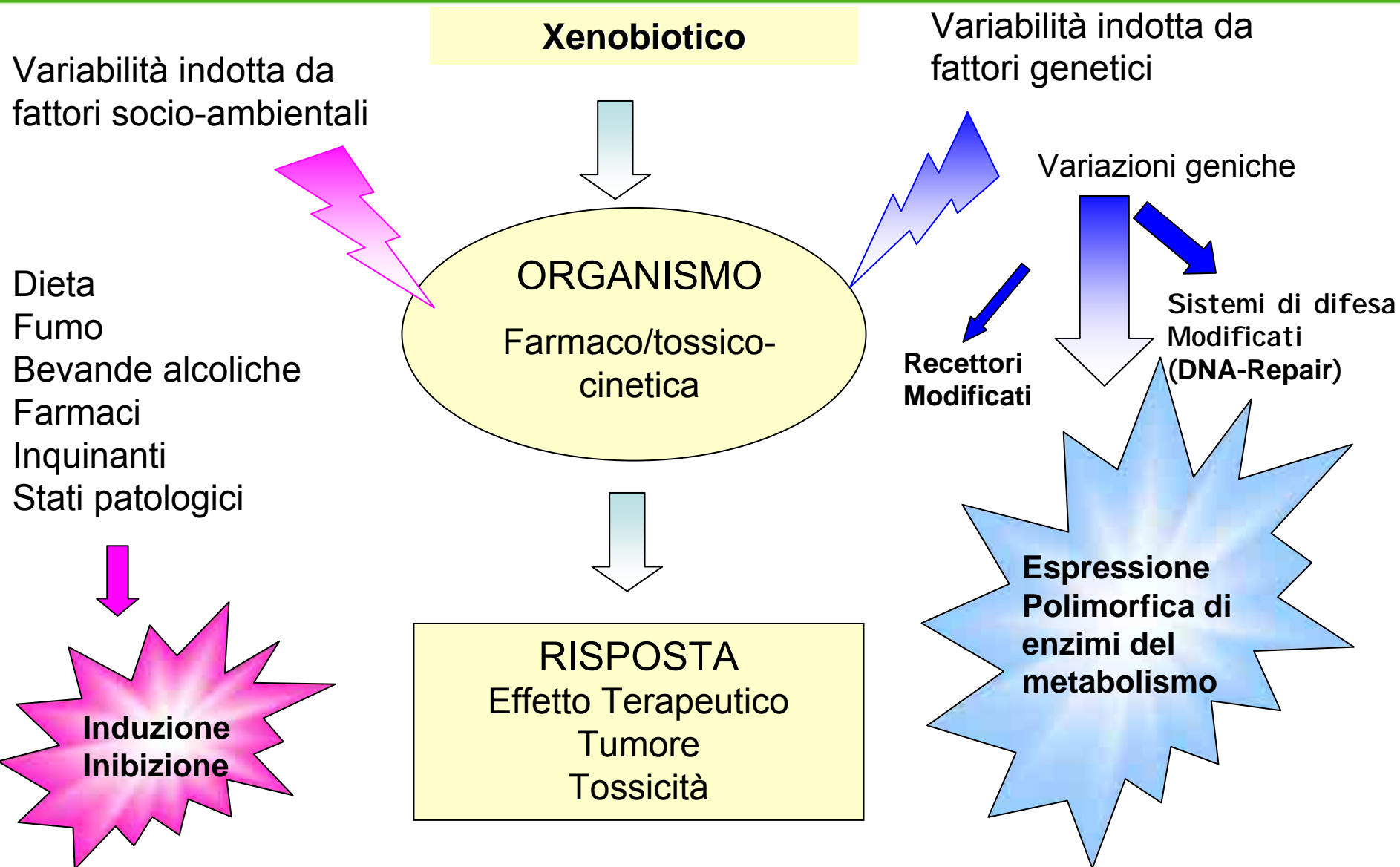
Chapter R.4: Evaluation of available information

Quando I dati suggeriscono che **un effetto possa essere specie specifico** (vale a dire che gli effetti visti nella specie testata hanno una scarsa possibilità di manifestarsi in altre specie, specialmente nell'uomo), **è necessario che sia presentata evidenza documentata e scientificamente per concludere che l'effetto non è rilevante per l'uomo**

Esempi:

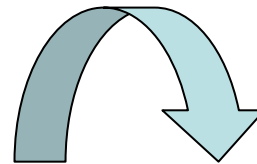
- nefropatia indotta nel ratto maschio per la presenza della proteina specie specifica $\alpha_2\mu$.
- Cancerogenesi indotta con meccanismo legato alla proliferazione dei perossisomi, tipica dei roditori. Il meccanismo inizia dal legame con un recettore PPAR α , espresso nell'uomo a livelli trascurabili
- Tumori tiroidei indotti dalla induzione della UDPGT aumento del metabolismo di T3 e T4 \Rightarrow feedback alla tiroide per sintesi di T3 e T4 \Rightarrow ipertrofia tiroidea \Rightarrow tumori. Il meccanismo nell'uomo è limitato

Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH



Il polimorfismo enzimatico

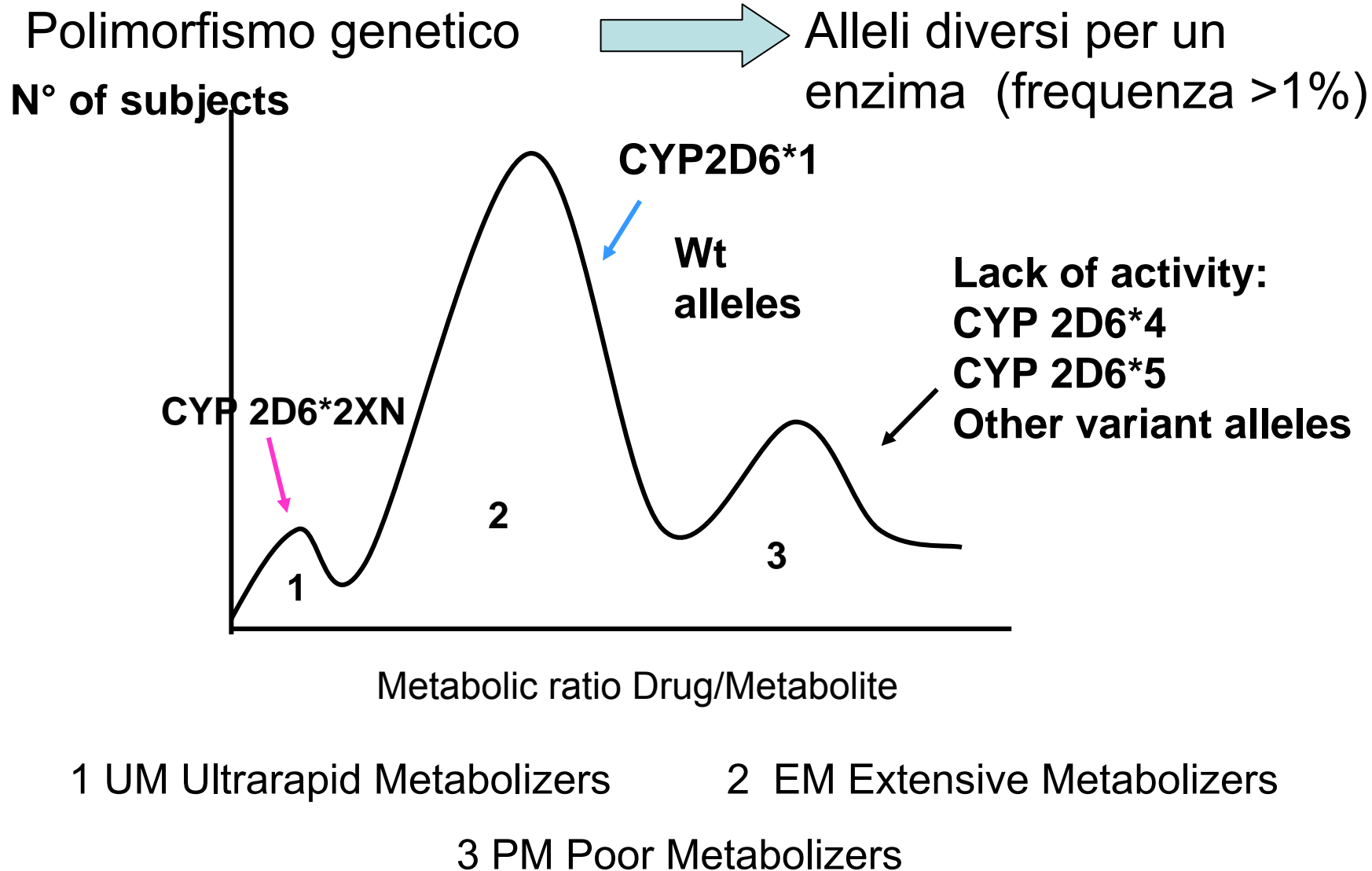
- è un carattere ereditabile stabile
- ha una frequenza nella popolazione $> 1\%$
- non interessa prodotti genici coinvolti in funzioni vitali, nel comportamento sessuale e nello sviluppo
- i geni codificanti per gli enzimi del metabolismo e del riparo del DNA sono in gran parte polimorfici



Forte vantaggio evolutivo

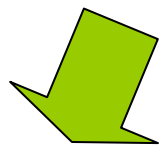


biodiversità nella risposta



Conseguenze del polimorfismo metabolico

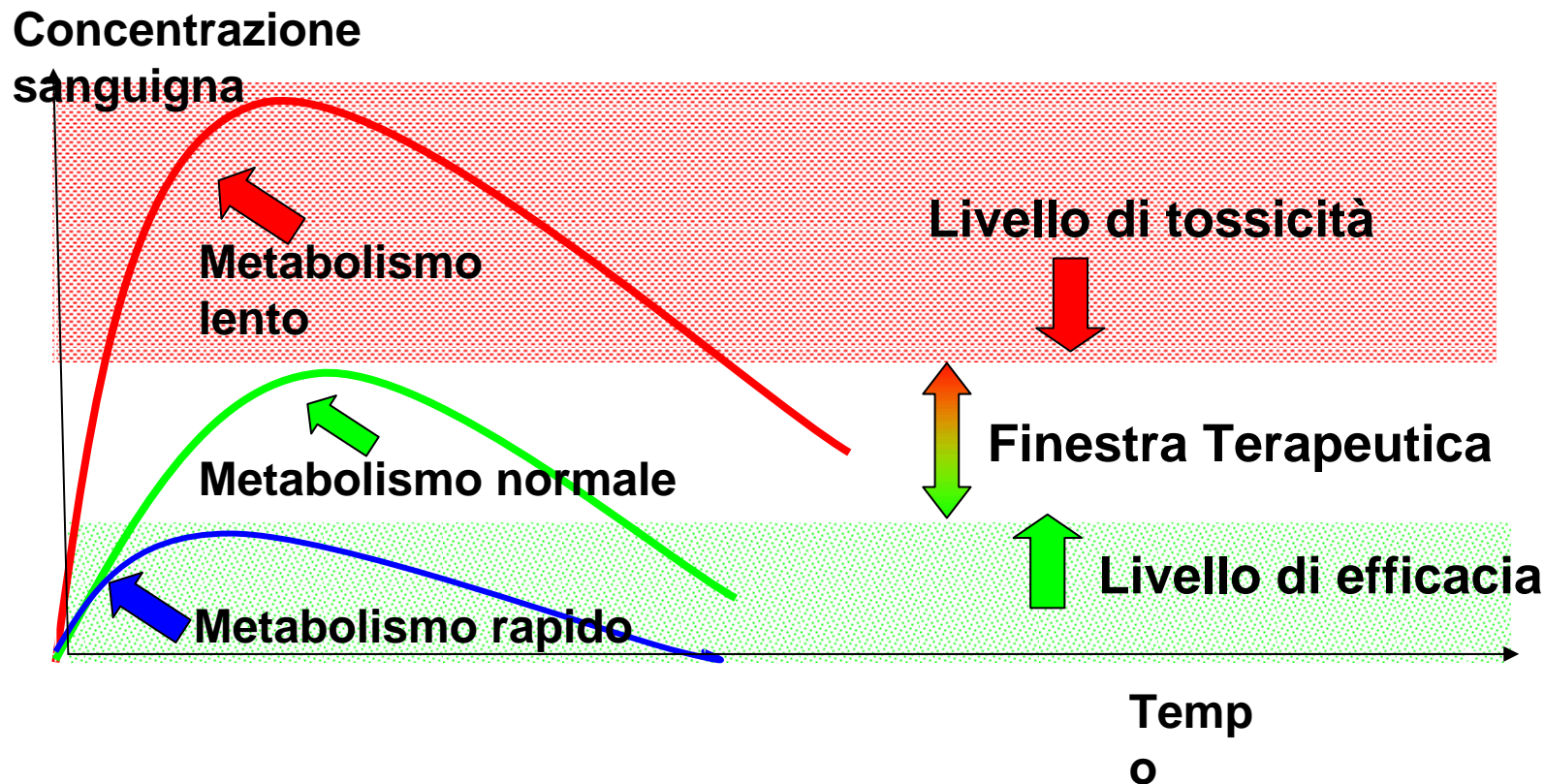
Inadeguatezza delle
terapie
farmacologiche



Assenza di
terapia



Comparsa di effetti
collaterali



Esempi : antidepressivi; codeina (CYP2D6)

Inibitori re-uptake serotonina; β -bloccanti (CYP2C19)

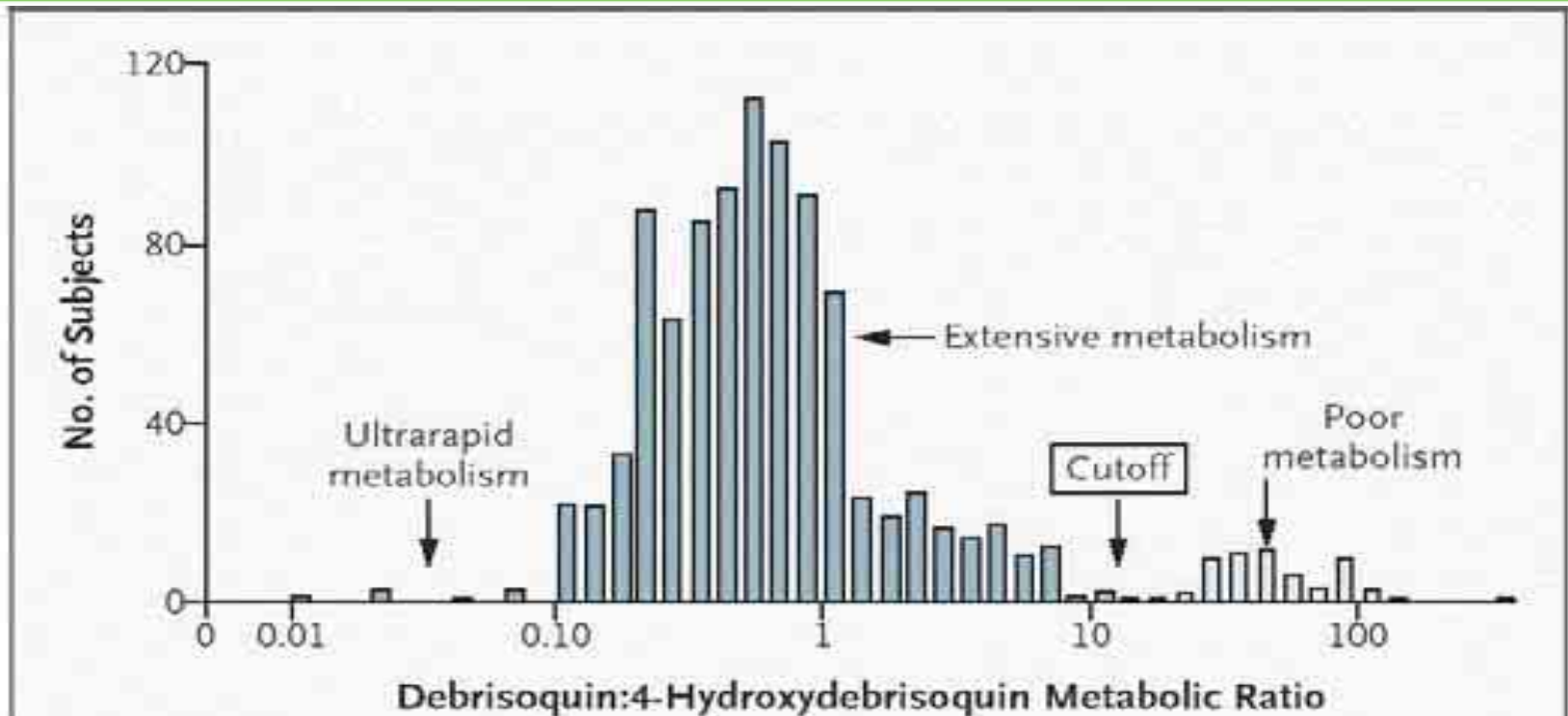


Figure 3. Pharmacogenetics of CYP2D6.

Urinary metabolic ratios of debrisoquin to its metabolite, 4-hydroxydebrisoquin, are shown for 1011 Swedish subjects. The Cutoff box indicates the cut-off point between subjects with poor metabolism as a result of decreased or absent CYP2D6 activity and subjects with extensive metabolism. Modified from Bertilsson et al.¹⁷ with the permission of the publisher.

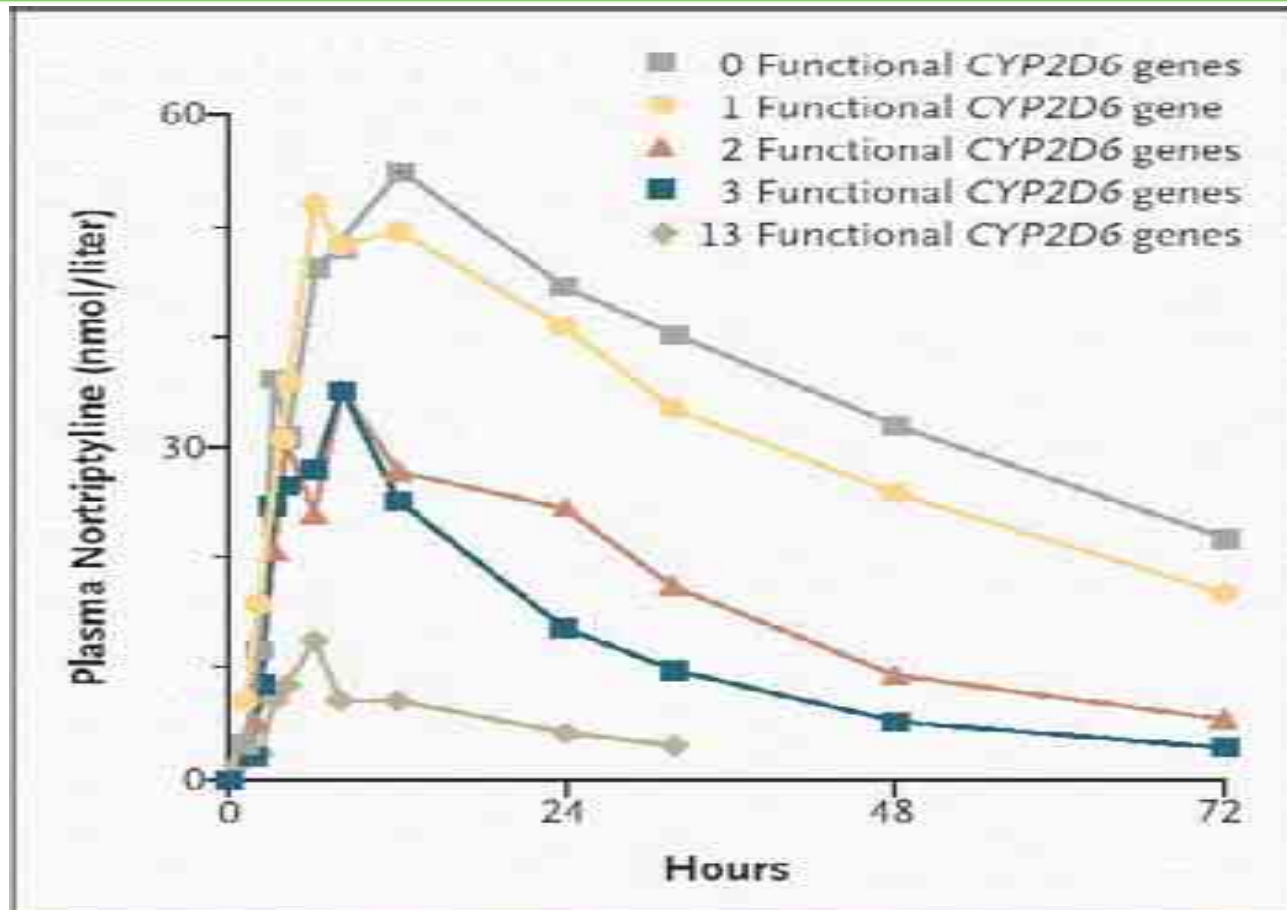


Figure 4. Pharmacogenetics of Nortriptyline.

Mean plasma concentrations of nortriptyline after a single 25-mg oral dose are shown in subjects with 0, 1, 2, 3, or 13 functional *CYP2D6* genes. Modified from Dalén et al.²³ with the permission of the publisher.

Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH

Table 1. Pharmacogenetics of Phase I Drug Metabolism.

Drug-Metabolizing Enzyme	Frequency of Variant Poor-Metabolism Phenotype	Representative Drugs Metabolized	Effect of Polymorphism
Cytochrome P-450 2D6 (CYP2D6)	6.8% in Sweden 1% in China ¹⁷	Debrisoquin ¹⁵ Sparteine ¹⁶ Nortriptyline ²³ Codeine ^{27,28}	Enhanced drug effect Enhanced drug effect Enhanced drug effect Decreased drug effect
Cytochrome P-450 2C9 (CYP2C9)	Approximately 3% in England ²⁹ (those homozygous for the *2 and *3 alleles)	Warfarin ^{29,30} Phenytoin ^{31,32}	Enhanced drug effect ²⁹⁻³²
Cytochrome P-450 2C19 (CYP2C19)	2.7% among white Americans ³³ 3.3% in Sweden 14.6% in China ¹⁷ 18% in Japan ³³	Omeprazole ^{34,35}	Enhanced drug effect ^{36,37}
Dihydropyrimidine dehydrogenase	Approximately 1% of population is heterozygous ³⁸	Fluorouracil ^{39,40}	Enhanced drug effect ^{39,40}
Butyrylcholinesterase (pseudocholinesterase)	Approximately 1 in 3500 Europeans ⁴¹	Succinylcholine ^{9,41}	Enhanced drug effect ^{9,41}

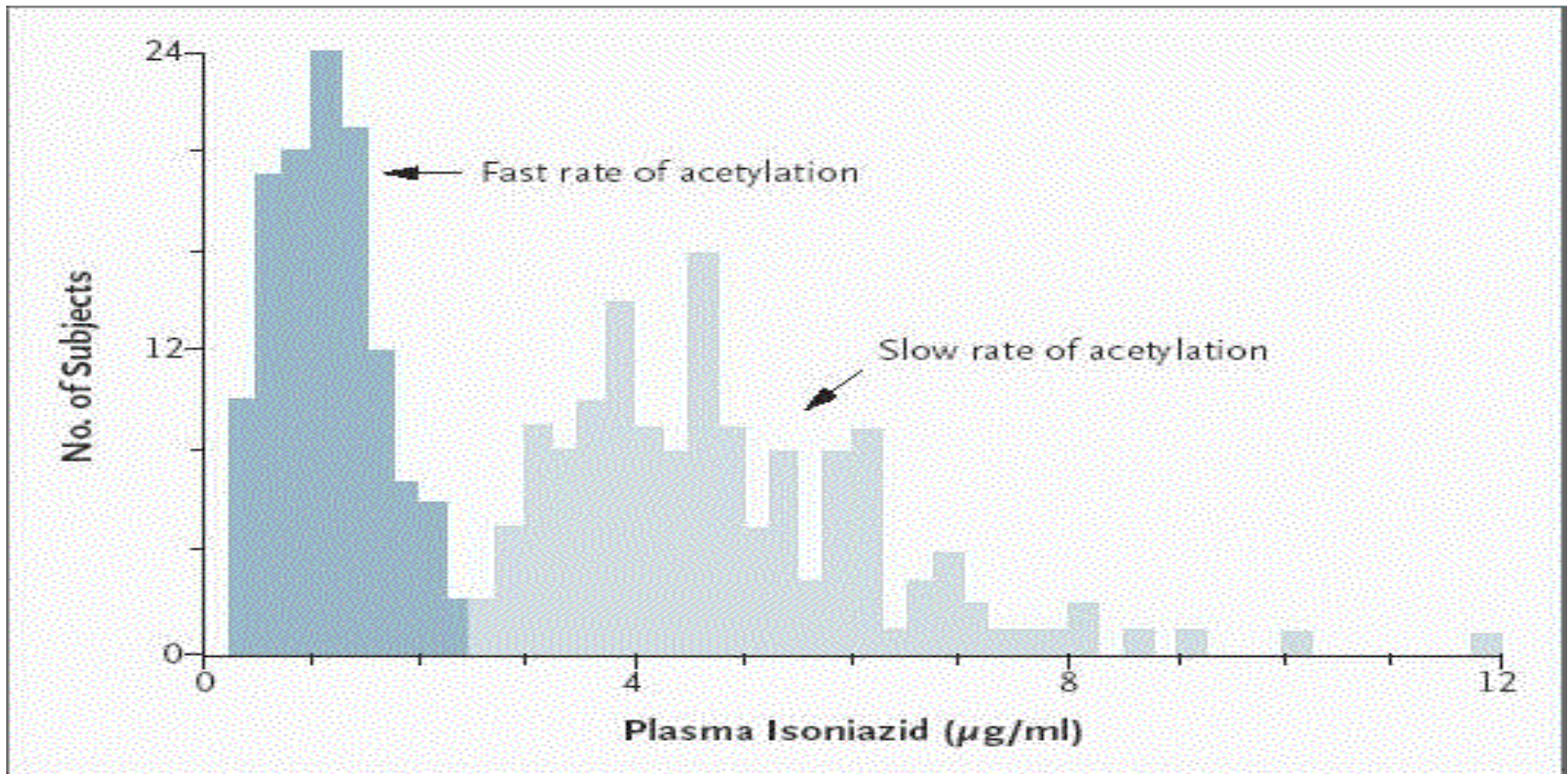


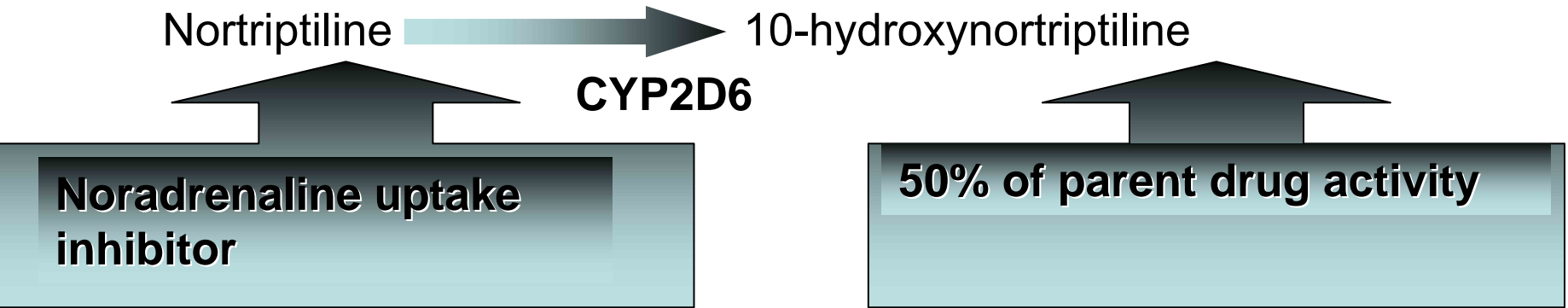
Figure 2. Pharmacogenetics of Acetylation.

Plasma isoniazid concentrations were measured in 267 subjects six hours after an oral dose. The bimodal distribution in the rate of acetylation is due to genetic polymorphisms within the *N*-acetyltransferase 2 gene. Modified from Price Evans et al.¹⁰ with the permission of the publisher.

Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH

Table 2. Pharmacogenetics of Phase II Drug Metabolism.

Drug-Metabolizing Enzyme	Frequency of Variant Poor-Metabolism Phenotype	Representative Drugs Metabolized	Effect of Polymorphism
N-Acetyltransferase 2	52% among white Americans ¹⁰ 17% of Japanese ⁵⁸	Isoniazid ¹⁰ Hydralazine ¹¹ Procainamide ¹²	Enhanced drug effect ¹³
Uridine diphosphate–glucuronosyltransferase 1A1 (TATA-box polymorphism)	10.9% among whites ⁵⁹ 4% of Chinese ⁶⁰ 1% of Japanese ⁶⁰	Irinotecan ⁶¹ Bilirubin ⁶²	Enhanced drug effect ⁶³ Gilbert's syndrome ⁶²
Thiopurine S-methyltransferase	Approximately 1 in 300 whites ^{50,57} Approximately 1 in 2500 Asians ⁵⁷	Mercaptopurine ⁵¹ Azathioprine	Enhanced drug effect (toxicity) ⁵¹⁻⁵³
Catechol O-methyltransferase	Approximately 25% of whites ^{51,64}	Levodopa ^{51,65}	Enhanced drug effect ^{51,65}



PMs have high plasma levels of NT and experience adverse effects. The standard dose is between 25 - 150 mg/kg

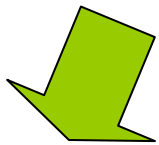
On the basis of TK studies on PM, EM & UM the treatment dose should be adjusted to reach tailor made prescription:

PM 50% EM 100-120% UM 230% of standard dose

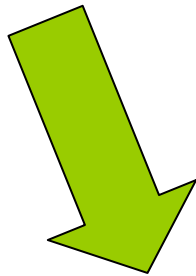
It is necessary to carry out Therapeutic Drug Monitoring to fine tuning the correct dose for UM to reach therapeutic effects

Conseguenze del polimorfismo metabolico

Inadeguatezza delle terapie
farmacologiche

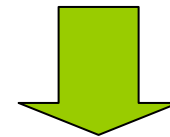


Assenza di terapia



Comparsa di effetti
collaterali

Maggiore (o minore)
susceptibilità individuale a
effetti tossici e stati
patologici ad etiologia
ambientale

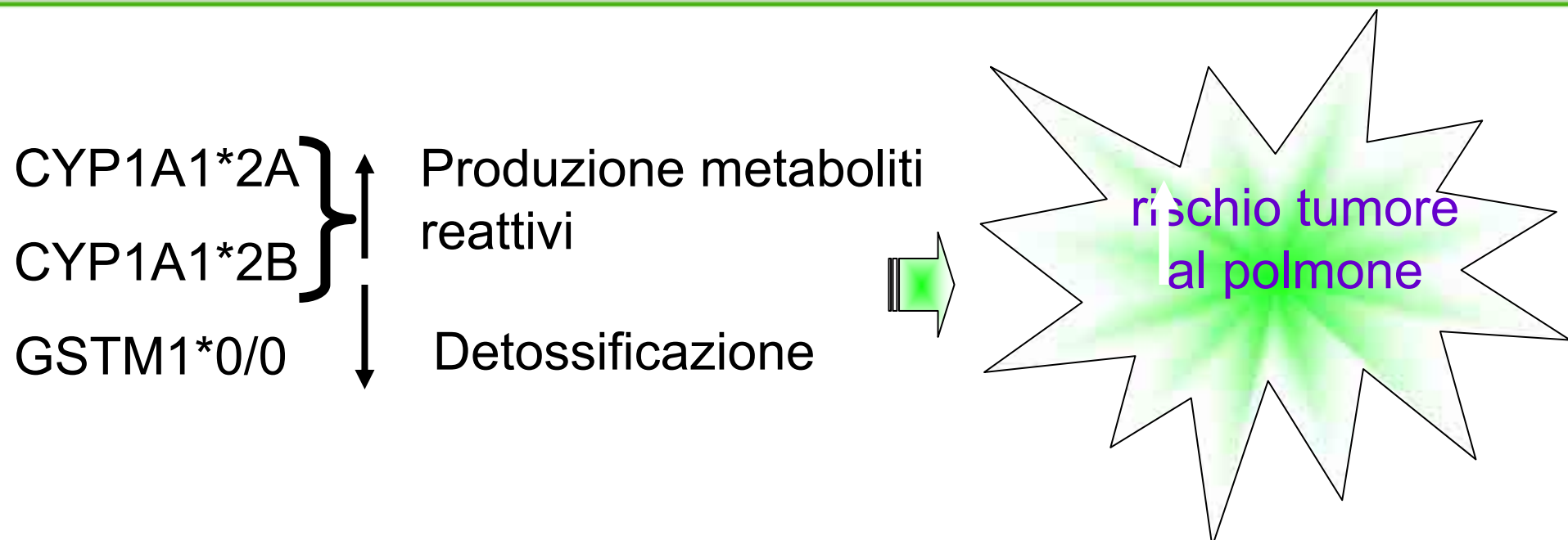


Identificazione di gruppi a
rischio nella popolazione
esposta

Tumore al Polmone e polimorfismi

Causa principale	→	Fumo di sigaretta
Aumento del rischio	→	N° di sigarette/giorno N° anni esposizione
Composti responsabili	→	IPA NNK (nitrosammine)

L'attivazione di IPA e NNK modula l'insorgenza di tumore?



Correlazione positiva negli Orientali (Hayashi,'92 - Kihara,'95)

Correlazione mai dimostrata nei Caucasici (rischio aumentato per altri tumori)

Interazione gene-ambiente: ↑ esposizione bassa (1 gene pol.)
↑ esposizione alta (pol.multiplo)

Polimorfismi enzimatici e suscettibilità

- geni a bassa penetranza
- rischio individuale basso ma potenzialmente alto per la popolazione
- interazione gene-ambiente (conoscenza del pattern metabolico dell'agente etiologico)

Biomarcatori di suscettibilità

Possibile predisposizione di piani di prevenzione

Epidemiologia Molecolare

definizione

una integrazione dell'epidemiologia classica che prevede l'impiego di una serie di indicatori biologici o biomarcatori che permettono di definire la relazione tra esposizione umana a composti tossici e malattia.

scopo

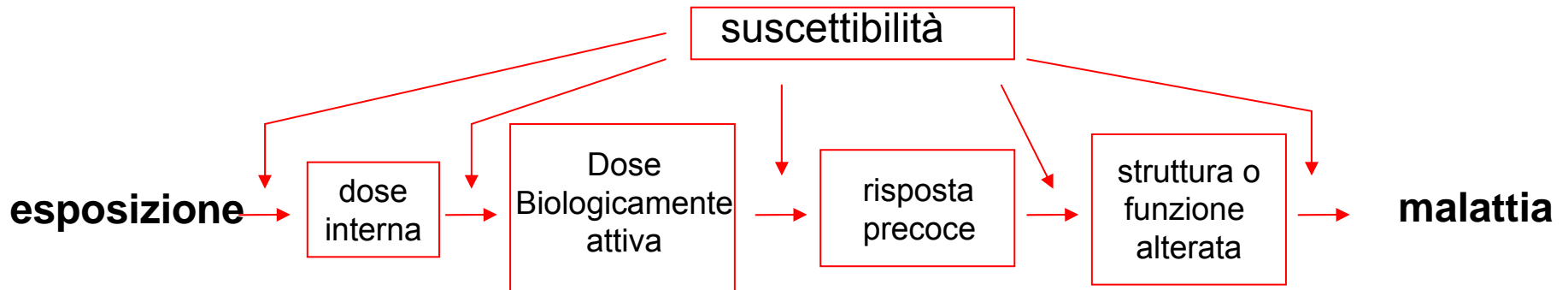
identificare, a livello individuale, fattori genetici e/o ambientali capaci di influenzare il rischio per la salute ed individuare possibili strategie di prevenzione.

Epidemiologia Molecolare

↪ epidemiologia classica



↪ epidemiologia molecolare



BIOMARCATORI ⇒ alterazioni biochimiche o molecolari misurabili in campioni umani

- **biomarcatori di esposizione:** “sostanza esogena o un suo metabolita o il prodotto dell’interazione tra uno xenobiotico ed una molecola o cellula bersaglio, misurati in un compartimento dell’organismo”. (es. livelli urinari o plasmatici di composti esogeni e/o dei loro metaboliti)
- **biomarcatori di dose biologicamente efficace** rappresentano una misura dell’esposizione più vicina al bersaglio, (es. addotti al DNA o alle proteine del sangue di composti esogeni)

- **biomarcatori di effetti biologici:** “un’alterazione biochimica, fisiologica o di altro tipo misurabile in un organismo che, a seguito dell’esposizione ad un determinato fattore di rischio e a seconda dell’entità, indica un danno effettivo o potenziale alla salute o una vera e propria malattia” (es. aberrazioni cromosomiche , scambio di cromatidi fratelli, micronuclei)
- **biomarcatori di suscettibilità** :“intrinseca o acquisita diminuzione della capacità di un organismo di rispondere ai possibili effetti conseguenti l’esposizione ad un determinato xenobiotico” (es. studio dei genotipi che caratterizzano il polimorfismo di enzimi coinvolti nel metabolismo dei composti tossici e/o cancerogeni)

Istituto superiore per la Ricerca e la
Protezione Ambientale



Ministero del Lavoro, Salute e
Politiche Sociali

In collaborazione con:

Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare

Ministero dello Sviluppo Economico


Istituto Superiore di Sanità

INTRODUZIONE ALLA TOSSICOLOGIA E ALLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO

Emanuela Testai

Istituto Superiore di Sanità

Indice

1. Definizione e principi generali di tossicologia
2. La valutazione del rischio tossicologico
3. Test di tossicità
4. Biomarcatori di esposizione, effetto e suscettibilità
- 5. Case studies

QUATS da valutare come s.a. biocidi :

DDAC

ATMAC

Bardap 26

ADBAC

Dossier completo per il **DDAC** (Didecyldimethyl-ammonium chloride)

Richiesta di **read across** per alcuni endpoint per **ATMAC** (Coco Alkyltrimethylammonium Chloride) e **BARDAP26** (Didecylmethyl-poly1-4(oxyethyl)ammonium propionate).

ADBAC (Alkyldimethylbenzylammonium Chloride): richiesta di read across solo per assorbimento cutaneo : la struttura chimica differente (presenza di un anello aromatico) può influenzare il processo ⇒ read across non concesso e richiesta di uno studio specifico

Bardap 26

Il **Read across** dai dati del DDAC è richiesto per:

- Metabolismo e TK,
- Tossicità della riproduzione/teratogenesi,
- Tossicità cronica/cancerogenesi.

Il **read across** è stato supportato da una serie di **bridging studies** a dimostrazione della similitudine tra le proprietà fisico-chimiche e alcune proprietà tossicologiche dei due sali di ammonio quaternario.

Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH

Physical chemical prop.	DDAC	Bardap 26
Physical state (at ntp)	Light-coloured solid	Yellow liquid
Melting temperature	Melted at 188 - 205°C followed by decomposition at ca 280°C.	<-50°C. No a melting point or a freezing point down to -50°C.
Boiling temperature	Decomposition at ca 280°C	180 - 195°C
Relative density	0.902 at 20°C	0.942 at 20°C
Vapour pressure	5.9 x 10 ⁻⁶ Pa, 20 °C	1.8 x 10 ⁻⁶ Pa, 20°C
Henry's Law constant	4.27E-09 Pa•m ³ /mol	H _{monomer} = 3.03E-11 Pa.m ³ /mol
Partition coefficient	Not determined as substance is ionic and surface active (~ 1)	Not determined as the substance is ionic and surface active (~ 1)
Water solubility	500 g/l (20°C pH ca 2.2-9.2)	Completely miscible with water (> 500 g/l)
Dissociation constant	Not applicable, the substance is irreversibly ionised.	Not applicable, the sub-stance is irreversibly ionised.
Surface tension	27.0 mN/m at 20°C (1g/l)	30.5 mN/m at 20°C (1g/l)
Solubility in ethanol	> 250 g/l at 20°C	> 250 g/l at 20°C
Solubility in octanol	> 250 g/l at 20°C	>250 g/l at 20°C
Flammability	Not highly flammable	Not highly flammable
Self ignition temperature	ca. 195°C	> 400°C
Explosive properties	Non explosive	Non explosive
Oxidising properties	Non oxidising	Non oxidising
Reactivity towards container materials	Non-reactive to metals and plastics	Non-reactive to metals and plastics

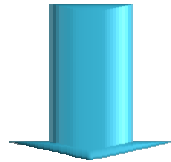
Il **meccanismo di azione** di Bardap e DDAC (e dei QUATS in genere) dipende da **effetti locali** caratterizzati da irritazione severa e danno tissutale primario, dovuto alla azione corrosiva sugli epitelii nel sito di applicazione. Gli effetti sistemici sono considerati secondari rispetto alla corrosione.

- La conduzione di test di tossicità inalatoria e test di irritazione oculare non è eticamente giustificabile
- Bardap and DDAC hanno NOEL subcronici simili e non hanno potenziale genotossico nella batteria di test disponibili
- DDAC e ADBAC hanno valori di NOEL comparabili per la tossicità cronica e della riproduzione/sviluppo

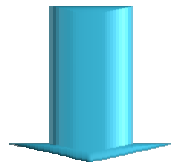
Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH

Bridging studies	DDAC	Bardap 26
Acute toxicity LD50 oral rat LD50 dermal rabbit	238 mg/kg >2000 mg/kg	788 mg/kg read across
Skin irritation rabbit Eye irritation rabbit	corrosive corrosive	corrosive read across
Sensitization (Buehler) (M+K)	not sensitizing not sensitizing	not sensitizing
Subchronic tox NOAEL 90 day oral rats NOAEL 90 day oral mice NOAEL 8 weeks oral dogs NOAEL 90 day dermal rats	61 mg/kg/d 107 mg/kg/d 30 mg/kg/d 12 mg/kg/d	90 mg/kg/d
Mutagenicity Ames Mouse lymphoma cells Chromosome aberration	negative negative negative	negative negative negative

Gli studi disponibili sui vari QUATs in particolare per DDAC e BARDAP mostrano un comportamento molto simile : assorbimento orale e cutaneo limitato e simile (circa 10%), escrezione attraverso le feci (come materiale non assorbito), metabolismo limitato, nessun bioaccumulo.



Sulla base di queste considerazioni può essere ragionevolmente assunto che Bardap 26 abbia lo stesso comportamento cinetico e proprietà tossicologiche simili al DDAC



Il read across dai dati del DDAC è accettabile

Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH

Endpoint	DDAC	ADBAC	Bardap 26
Developmental toxicity Rats, oral: NOAEL maternal toxicity NOAEL teratogenicity Rabbits, oral: NOAEL maternal toxicity NOAEL teratogenicity	10 mg/kg/d >20 mg/kg/d 10 mg/kg/d >20 mg/kg/d	10 mg/kg/d >100 mg/kg/d 3 mg/kg/d >9 mg/kg/d	read across
2-Generations, rats NOAEL parental NOAEL F1 NOAEL F2	no effects 750 ppm 750 ppm 750 ppm	no effects 1000 ppm 1000 ppm 1000 ppm	read across
Chronic toxicity 104 weeks, rats NOAEL 52 weeks, dog NOAEL	37 mg/kg/d 10 mg/kg/d	44 mg/kg/d 13 mg/kg/d	read across
Carcinogenicity 104 weeks combined, rats 78 weeks, mice	no effects no effects	no effects no effects	read across
ADME, rats	<2.5% urine 89-99% faeces <1% in tissues	5-8% urine 87-99% faeces <1% in tissues	read across

BARDAP 26 :TK

ADBAC \Rightarrow composto altamente ionico, molto idrosolubile.
Assorbimento orale \Rightarrow \approx 10% basato su 5-8% di ADBAC somministrato eliminato nelle urine + residui nei tessuti (< 1% della dose 7 gg dopo dose singola e ripetuta). 90% escreto nelle feci. Il pattern non cambia dopo dosi ripetute (nessun potenziale di bioaccumulo).
Assorbimento cutaneo \Rightarrow 8.3% (studio in vitro con human skin)

BARDAP 26: Tossicità Acuta

Oral rat LD₅₀ = 344 mg/kg. Nessun segno clinico e decesso fino a che non siano raggiunte dosi/concentrazioni che danneggiano la mucosa g.i. per gli effetti corrosivi.

Rabbit acute dermal LD₅₀ = 2730 mg/kg bw (evidenti segni di irritazione al sito di applicazione).

Inhalation: Pressione di vapore: $< 1 \times 10^{-3}$ Pa at 50°C; il testing non è ammesso per le sostanze corrosive, l'inalazione non è una via di esposizione potenziale. **Accettata la deroga a non presentare lo studio**

ADBAC è un corrosivo per la pelle (**lo studio di irritazione oculare non è necessario**) ed è classificato 'Corrosive' (R34, may cause burns). Non è un sensibilizzante cutaneo

BARDAP 26: Tossicità ripetuta

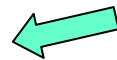
Stessi effetti visti in acuta: irritazione e corrosività sono gli effetti principali; segni sistemici (diminuzione del consumo di cibo, del peso corporeo e segni clinici) secondari all'irritazione.

I NO(A)EL subcronici (via orale) sono:

85 mg/kg/day in mice,

31 mg/kg/day in rats and

13.1 mg/kg/day in dogs



Taken forward to RC

I NO(A)EL cronici (via orale) per gli effetti non neoplastici sono:

44 mg/kg/day for rats and 73 mg/kg/day for mice.

I NOAEL subcronici e cronici sono dello stesso ordine di grandezza

ADBAC non è genotossico, non ha potenziale cancerogeno, teratogeno e non induce effetti tossici dello sviluppo. Non è neurotossico.

Selection of Assessment Factors (AFs)

AF = 100 :

10 per differenze interspecie (estrapolazione animali uomo)

e

10 per variabilità inter-individuale

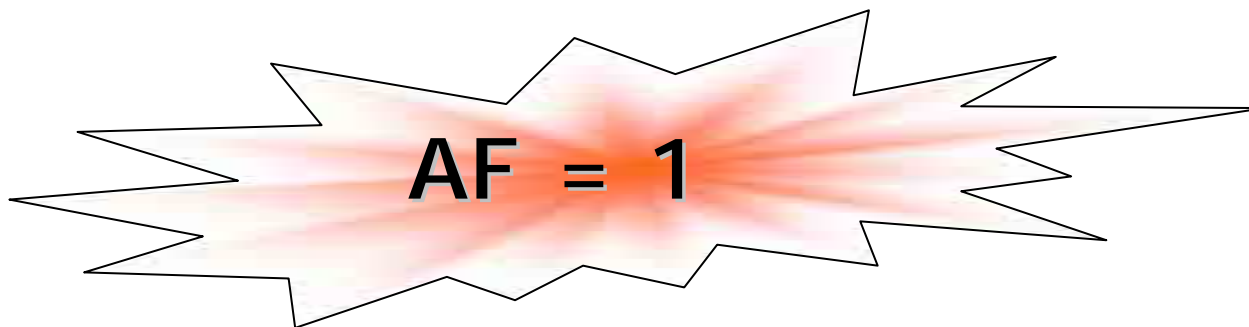
- La correzione per la dose interna non è stata considerata appropriata per la scarsa biodisponibilità sistemica
- I valori simili dei NOAEL subcronici e cronici giustificano la non necessità di usare un fattore per la tossicità cronica dal momento che il NOEL più basso deriva dallo studio 1 anno cane.

Rame: rischio acuto

- Studi acuti (rame nell'acqua potabile) su **healthy volunteers** (Araya *et al*, 2001 & 2003) ⇒ il NOAEL è basato sulla comparsa di sintomi g.i. (nausea): =4 mg Cu/L DW, corrispondenti a una **dose bolo di 0.8 mg rame**.
- L'esposizione acuta è stata stimata considerando 200-400 ml di consumo di acqua in prima mattina (1-2 bicchieri quando il contenuto di Cu è più alto)

Rame: rischio acuto

- La qualità degli studi è buona
- Nessun AF per estrapolazione animali-uomo
- Il n° dei soggetti è piuttosto alto e sono inclusi individui con caratteristiche diverse (età, genere) da coprire le possibili differenze interindividuali.
- Nessun AF per la variabilità intraspecifica



TK data: derivazione della dose interna

Inalazione

Animal data & Human data: informazioni insufficienti.



Uso di modellistica per identificare la deposizione delle particelle nelle varie zone dell'albero respiratorio : Multiple Path Model of Particle Deposition (MPPD), che dipende dal diametro delle particelle (MMAD), identificate nelle condizioni di uso.

La frazione che si deposita nell' upper respiratory tract (frazione extratoracica e tracheobronchiale) è trasferita al tratto g.i.. Per la frazione polmonare si assume un assorbimento del 100%.

TK data: derivazione della dose interna

Cutanea

Animal data: non disponibili

Human data: Studi *in vitro* . Assorbimento cutaneo = 0.3% per composti del rame insolubili e solubili in sospensione e soluzione.

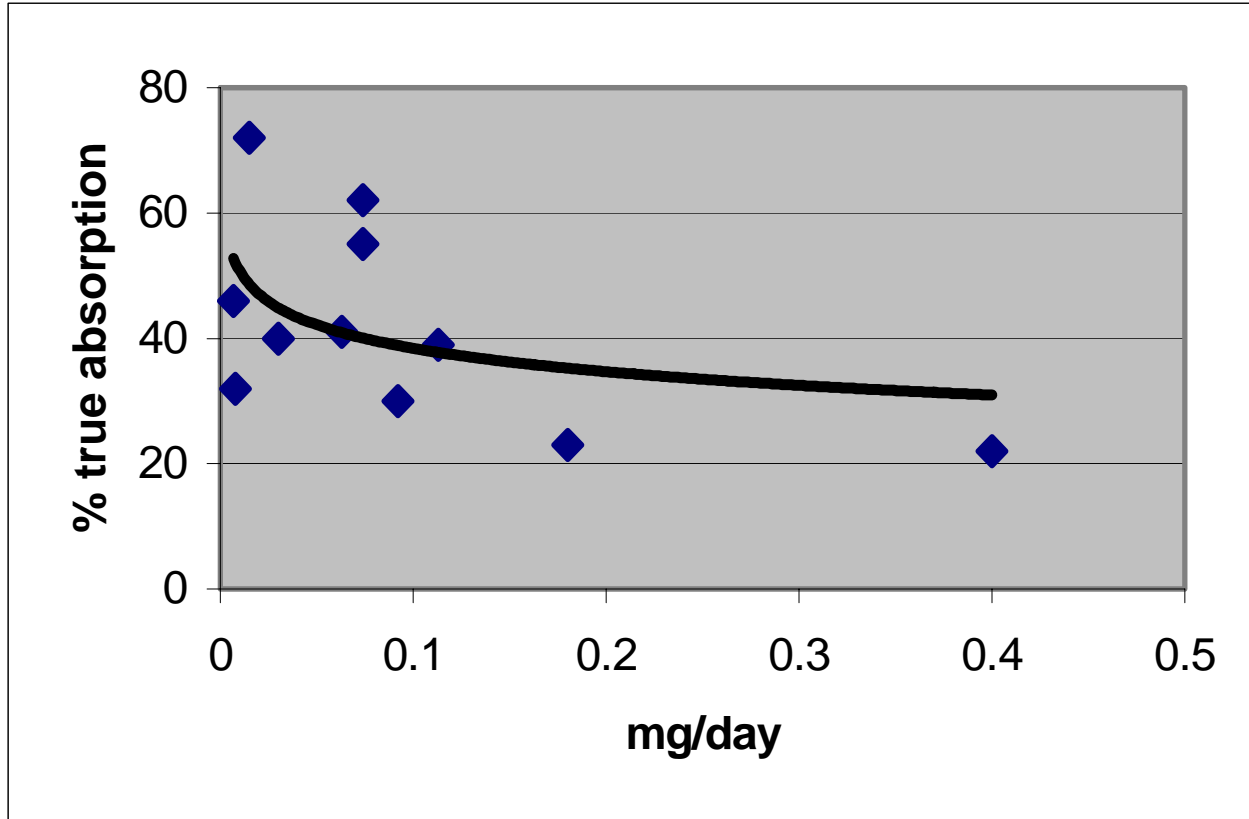
Per i composti del rame non in soluzione un fattore di default per un assorbimento 10 volte inferiore è stato proposto (0.03%).

TK data: derivazione della dose interna

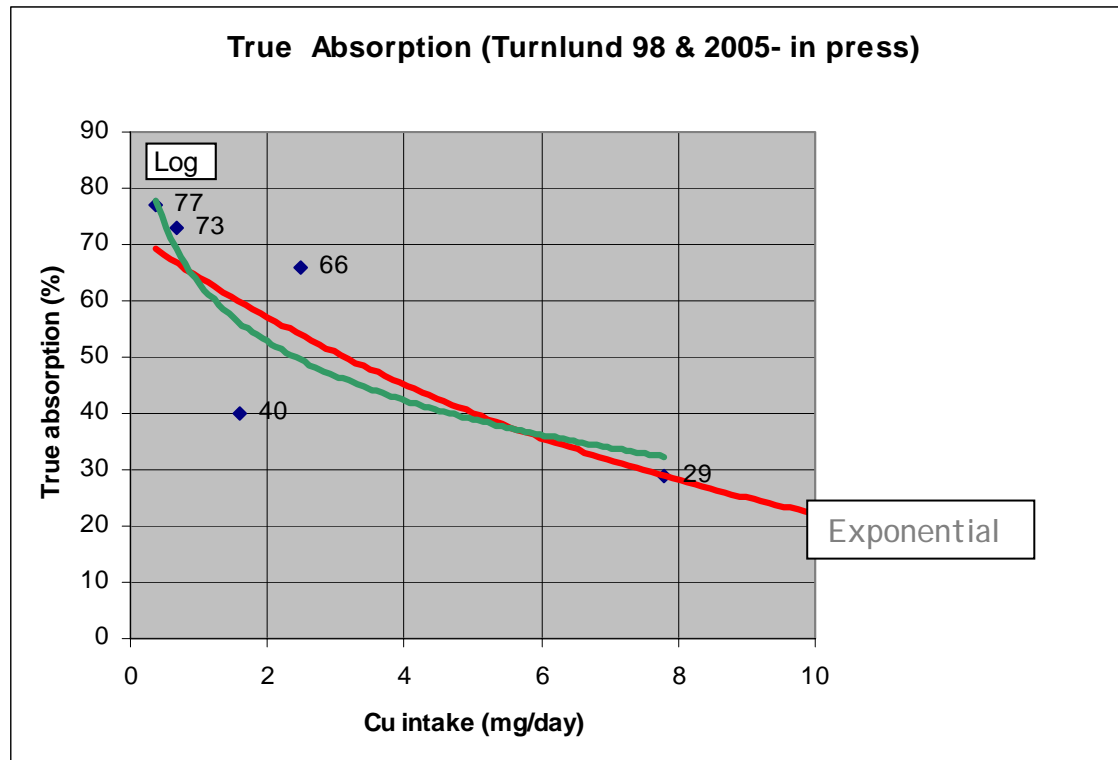
Oral

Dati disponibili su solfato di rame, il più solubile tra i composti del rame da valutare, come indicato da alcuni dati di biodisponibilità. Usati I dati del solfato anche per gli altri come caso peggiore, in assenza di dati specifici).

Animal data : molti dati disponibili, grande variabilità per tecniche di determinazione diverse e per dipendenza dalla dose: il Cu è un elemento essenziale I sono presenti nell'organismo meccanismi di omeostasi che ne regolano l'assorbimento



Human data: I vari dati disponibili indicano una dipendenza dalla dose; i dati riportati in grafico sono i seguenti



Orale

Sono state derivate specifiche funzioni che descrivono il range di valori di assorbimento che permettono di derivare valori specifici di assorbimento alle dosi dei test di tossicità.



Nel range di dosi testate negli studi di tossicità ripetuta l'assorbimento orale nell'uomo e nel ratto è simile e corrisponde al 25 % della dose somministrata.

Rame: rischio cronico

➤ Studi di repeated toxicity :

1. **90-days rat**: CuSO_4 nella dieta (Hébert *et al* 1993).
NOAEL= 16.3 mg Cu/kg bw/d (dose esterna)
basato su effetti epatici (fegato =organo bersaglio)
Oral Absorption= 25% \Rightarrow dose interna \Rightarrow
NOAEL corretto =4.08 mg Cu/kg bw/d.

Studio di buona qualità

Il ratto è più sensibile del topo.

Rame: rischio cronico

2. **2 generations rat** 10 weeks: CuSO_4 nella dieta
NOAEL = 15.2 –26.7 mg Cu/kg/d (OECD TG)
3. **Study on 8 volunteers** (Pratt *et al* 1985): dieta supplementata con 10 mg Cu/d (considerando il consumo di background, intake totale= 11-12 mg Cu/d) per 3 settimane \Rightarrow nessuna alterazione in parametri biochimici
N° di soggetti e durata dello studio troppo limitati, scarsa qualità. Reporting scarso. Una sola dose testata.

Rame: rischio cronico

- Rat study =key study; human study= supporting
- AF =10 per estrapolare animali \Rightarrow uomo : Assorbimento orale uomo e ratto =25 %. Nessuna significativa \neq nel metabolismo \Rightarrow il fattore TK può essere modificato. AF=5
- AF per la variabilità intraspecifica =10.
- Fattore addizionale =2 per mancanza dello studio di tossicità cronica

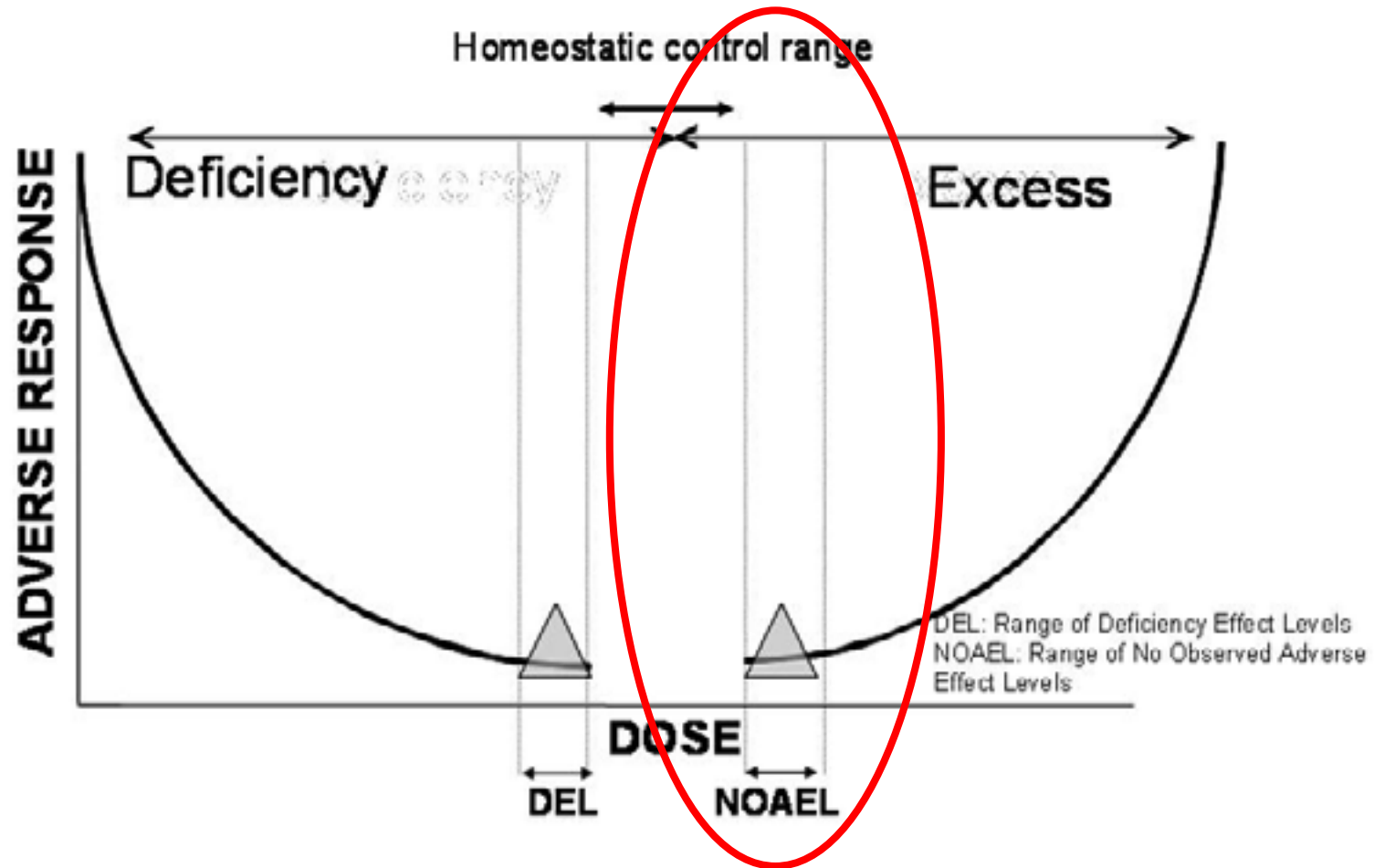
Total AF= 50-100 (workers; general population)

Rame: rischio cronico

- Con $AF = 100$ il $NOEL_{rat}/AF$ è compatibile con il dato osservato nello studio sull'uomo
- $$\frac{NOAEL}{AF} = \frac{16 \text{ mg Cu/kg bw}}{100} = 0.16 \text{ mg/kg} = DNEL$$
- Human NOAEL dallo studio di Pratt : 10 mg Cu/d diviso per 60 kg bw = 0.166 mg/kg
- Nessun fattore di correzione per la dose interna è stato applicato nel confronto perché la % è la stessa.

Rame: rischio cronico

- Con AF =200 (più conservativo):
- $NOEL = 16.3 \text{ (mg/kg /d)}/200 \times 60\text{Kg} = \mathbf{5.7 \text{ mg/d}}$ ossia 1/2 NOEL derivato dallo studio sull'uomo.
- 5.7 mg/d è un valore molto vicino al Valore Guida dell'OMS (WHO GV) stabilito come concentrazione nell'acqua potabile.
- AF troppo elevati potrebbero risultare in un intake troppo limitato, vicino o all'interno del range nel quale gli effetti dovuti alla deficienza di rame possono fare la loro comparsa
- Valori di AF più alti per i bambini non sono giustificati perché il fabbisogno giornaliero di rame nei bambini è più alto di quello degli adulti.



“there is greater risk of health effects from deficiency of copper intake than from excess copper intake” (IPCS, 1998).