

TOKSİKOLOJİ

Akut ve kronik toksisitenin doz tanımlayıcıları
Dose descriptors of acute and chronic toxicity



*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
F. Toksikoloji Anabilim Dalı, Tandoğan, Ankara*



TOKSİSİTE DENEYLERİ

I - Toksikite Ön Araştırmaları

1. Fiziksel ve kimyasal özelliklerin saptanması (Stabilite, yağda ve suda çözünürlük, uçuculuk vb.)

2. Çevredeki davranışın saptanması (Kemodinami)

- Çevrede kimyasal, fotokimyasal ve biyokimyasal reaksiyonlarla uğradığı dönüşümlerin incelenmesi (Parçalanma, degradasyon reaksiyonları; TBS, LAS...).
- Çeşitli koşullarda çevredeki biyolojik ve nonbiyolojik parçalanma hızlarının araştırılması.
- Çevrede (su, toprak ve hava) taşınma, yerleşme ve uzaklaştırma gibi kinetik özelliklerinin araştırılması (DDT).
- Biyosistemde bitokonsantrasyon özelliklerinin araştırılması (Cıva – Metilcıva).

II – Direkt Toksikite Çalışmaları

1. *In vivo* testler

- Akut toksisite testleri.
- Subakut toksisite testleri
- Subkronik toksisite testleri.
- Kronik toksisite testleri.
- Özel toksisite testleri.

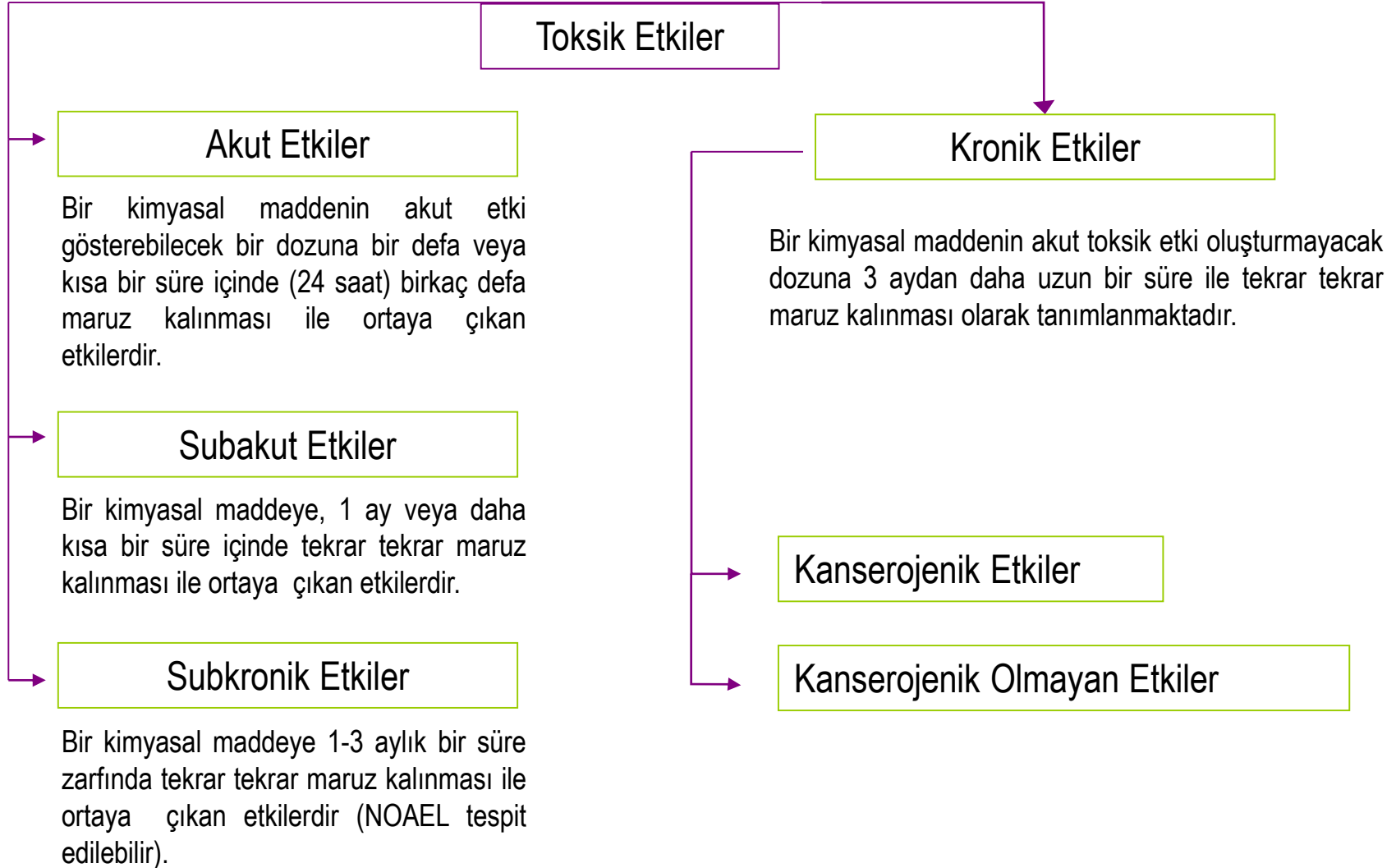
2. *In vitro* testler

Genotoksisite, Mutajenite testleri.

3. Çevre canlılarına toksik etkilerin sahada araştırılması

Pilot ve gerçek alan çalışmaları, Ekotoksisite testleri.

TOKSİK ETKİLERİN SINIFLANDIRILMASI





Akut Toksikite

LD_{50} - LC_{50}

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

Akut Toksikite

LD₅₀ - LC₅₀

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

Akut toksisite nedir...?

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Akut toksisiteyi aşağıdaki şekillerde tanımlamaktadır.

1 – Akut Toksikite (Oral, IV, IP...):

Bir maddenin 24 saat içinde birkaç kere yada tek bir doz oral olarak uygulanmasını takiben oluşan olumsuz (adverse) etkilerdir.

“Oral gavage”
yolu ile “Rosemary”
ekstraktının uygulanması



Akut Toksikite

LD₅₀ - LC₅₀

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

Akut toksisite nedir...?

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Akut toksisiteyi aşağıdaki şekillerde tanımlamaktadır.

1 – Akut Toksikite (Oral, IV, IP...):

Bir maddenin 24 saat içinde birkaç kere yada tek bir doz oral olarak uygulanmasını takiben oluşan olumsuz (adverse) etkilerdir.

İntraperitoniyal
enjeksiyon



Akut Toksikite

LD₅₀ - LC₅₀

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

Akut toksisite nedir...?

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Akut toksisiteyi aşağıdaki şekillerde tanımlamaktadır.

2 – Akut Toksikite (Dermal):

Kısa bir süre boyunca (24 saat yada daha az) bir kimyasal maddeye deri yolu ile sürekli olarak maruz kalınmasını takiben oluşan olumsuz (adverse) etkilerdir.



Akut Toksikite

LD₅₀ - LC₅₀

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

Akut toksisite nedir...?

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Akut toksisiteyi aşağıdaki şekillerde tanımlamaktadır.

3 – Akut Toksikite (İnhalasyon):

Kısa bir süre boyunca (normalde en azından 4 saat) inhale edilebilecek bir kimyasal maddeye inhalasyon yolu ile sürekli olarak maruz kalınmasını takiben oluşan olumsuz (adverse) etkilerdir.



Akut Toksikite

LD₅₀ - LC₅₀

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

Akut toksisite nedir...?

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Akut toksisiteyi aşağıdaki şekillerde tanımlamaktadır.

1 – Akut Toksikite (Oral, IV, IP...):

2 – Akut Toksikite (Dermal):

3 – Akut Toksikite (İnhalasyon):

Akut Toksikite

LD₅₀ - LC₅₀

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

Akut toksisite testlerinde ölüm sebepleri

- Solunum sistemi; solunum durması.
- Kalp damar sistemi; Kalbin durması.
- Beyin tarafından kontrol edilen tüm vücut fonksiyonlarının ve periferel sinir sisteminin durması.

Akut toksisite de klinik bulgular

- Solunum güçlüğü
- Motor aktivitede değişiklikler
- Konvülziyon
- Reflekslerde değişiklik veya zayıflama
- Gözlerdeki etkiler
- Kalp damar sistemindeki etkiler
- Dışarıdan uyarılara tepki verebilme
- Salivasyon
- Gastrointestinal fonksiyonlar
- Böbrek fonksiyonları
- Karaciğer fonksiyonları
- Cilt de değişiklikler

Akut Toksikite

LD₅₀ - LC₅₀

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

Akut toksisite testlerinde histopatoloji

- Gereklik değildir, ancak duruma göre >24 saat den sonra hala hayatta kalmış olan hayvanlarda yapılabilir.
- Hangi organların etkilendiği konusunda bilgi sahibi olunabilir.

Akut toksisite testlerinde cinsiyet farkı

- Yapılan literatür araştırmalarına göre (OECD'ye göre) genellikle cinsler arasında önemli farklılıklar olmadığı anlaşılmaktadır.
- Ancak farklılıkların belirgin olduğu durumlarda genellikle dişilerin daha hassas olduğu görülmüştür.



Akut Toksikite

LD₅₀ - LC₅₀

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

Akut toksisite test sonuçları bize hangi bilgileri sağlar?

- Tehlike sınıflaması (Hazard classification) ve etiketleme gereksinimleri (Labelling requirements).
- İnsan sağlığı ve çevre için risk değerlendirmesinde
- Absorbe olup olmadığı ile ilgili bilgi verir.
- Tekrarlanan doz toksisitesi çalışmaları için kullanılacak dozların planlanması için bir başlama noktası sağlar.

Akut Toksikite

LD₅₀, LC₅₀

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

Akut toksisitenin doz tanımlayıcıları

LD₅₀

Bir canlı popülasyonunun istatistiksel olarak % 50 sini öldüren kimyasal maddenin dozuna LD₅₀ (median lethal dose) denir.



LC₅₀

Bir canlı popülasyonunun istatistiksel olarak % 50 sini (belli bir sürede) öldüren kimyasal maddenin konsantrasyonuna LC₅₀ denir.



Akut Toksikite

LD50, LC50

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

En çok kullanılan
deney hayvanları

- ➔ Fare
- ➔ Sıçan
- ➔ Hamster
- ➔ Guinea-pig
- ➔ Tavşan
- ➔ Köpek
- ➔ Kedi
- ➔ Şempanze

Her bir doz grubundaki hayvan
sayıları

10 hayvan

Hayvanlarının
özellikleri

- ➔ Cinsiyet
- ➔ Yaş
- ➔ Ağırlık
- ➔ Sağlıklı olmalı

Uygulama
yolları

- ➔ Oral
- ➔ I.V.
- ➔ I.P.



Akut Toksikite

LD50, LC50

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

En çok kullanılan deney hayvanları

- ➔ Fare
- ➔ Sıçan
- ➔ Hamster
- ➔ Guinea-pig
- ➔ Tavşan
- ➔ Köpek
- ➔ Kedi
- ➔ Şempanze

Her bir doz grubundaki hayvan sayıları

10 hayvan

Hayvanlarının özellikleri

- ➔ Cinsiyet
- ➔ Yaş
- ➔ Ağırlık
- ➔ Sağlıklı olmalı

Uygulama yolları

- ➔ Oral
- ➔ I.V.
- ➔ I.P.

Sonuçların İfade Edilmesi

Oral yolla alınan kimyasal maddeler için bir örnek;
Kloroform için; Sıçanlarda LD_{50} (Oral): 1337 mg/kg

Havadaki toksik gaz veya buharlar için bir örnek;
Kloroform için; Sıçanlarda LC_{50} (4-h): 9770 ppm

Sulardaki toksik kimyasal maddeler için bir örnek;
Diflubenzuron için; (Rainbow Trout) LC_{50} (96-h): 240 mg/l

Akut Toksikite

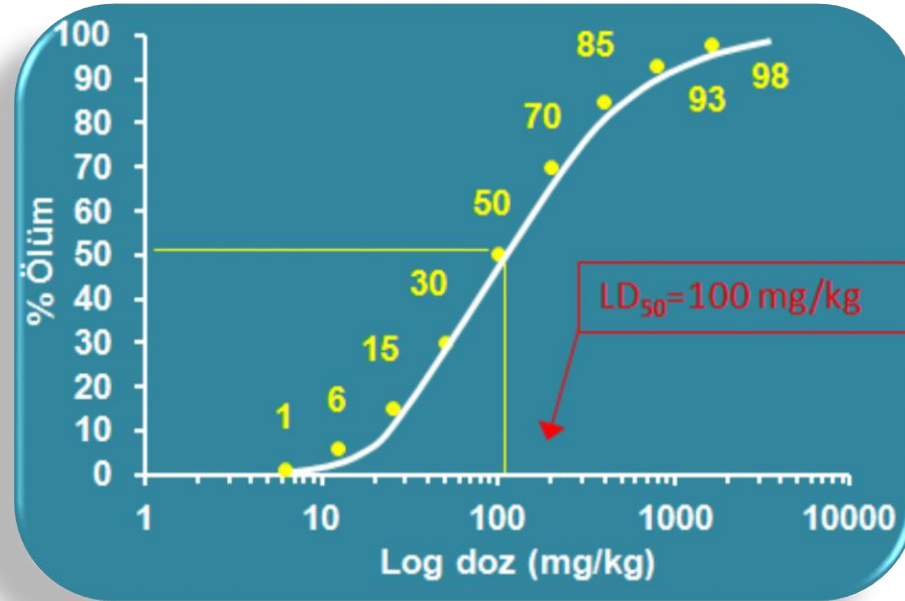
LD50, LC50

Kronik Toksikite

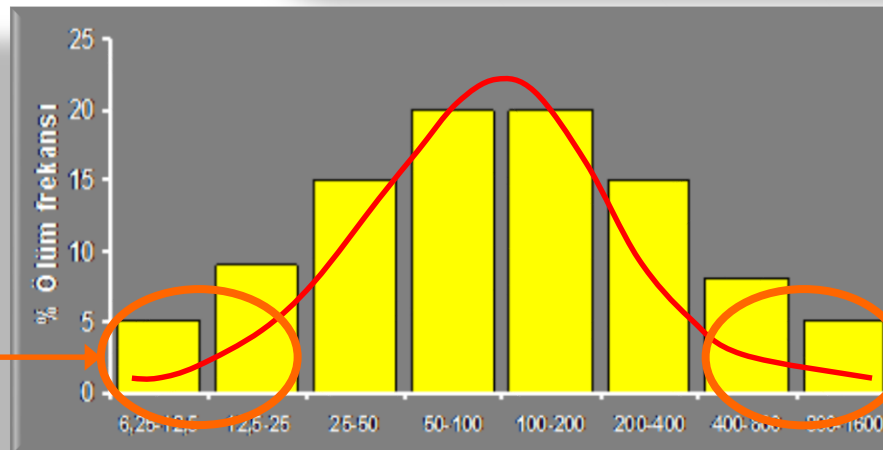
NOAEL

BMD

Dozlar mg/kg	% Ölüm
6.25	1
12.5	6
25	15
50	30
100	50
200	70
400	85
800	93
1600	98



Hassas
Bireyler



Dirençli
Bireyler

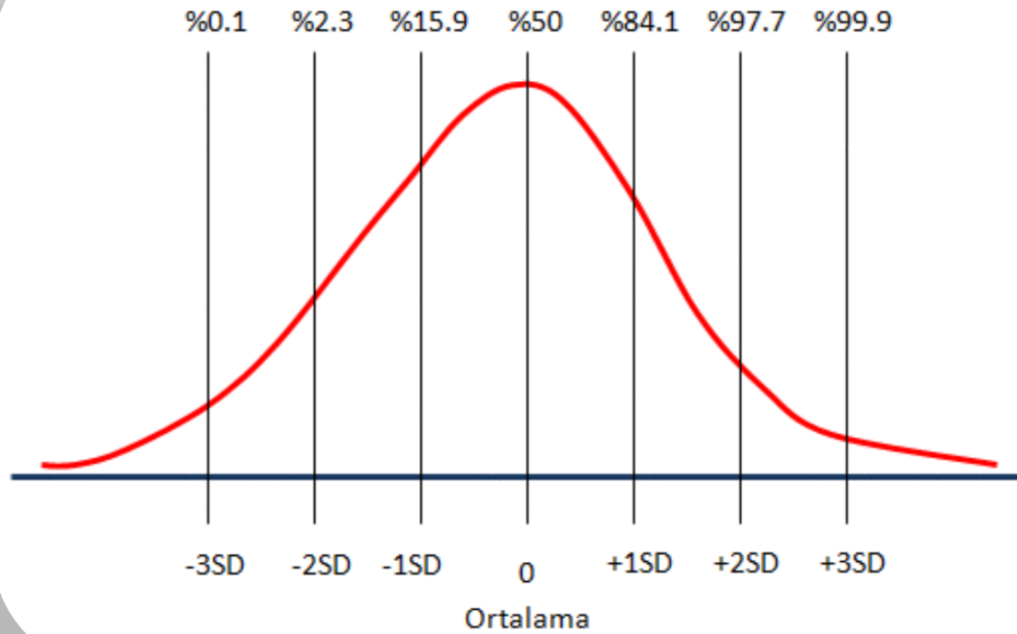
Akut Toksikite

LD50, LC50

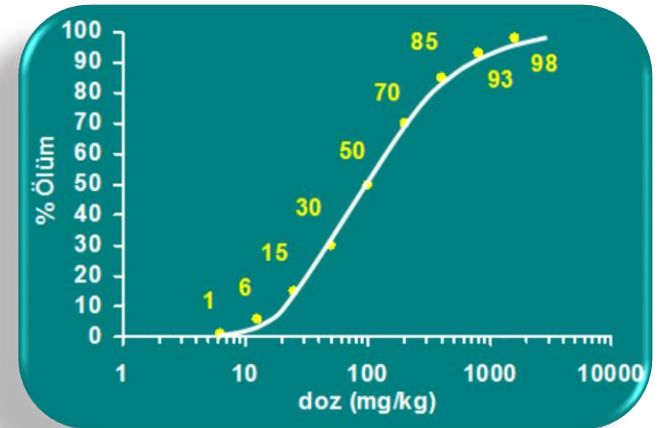
Kronik Toksikite

NOAEL

BMD



% Ölüm	NED	Probit
99.9	+3	8
97.7	+2	7
84.1	+1	6
50	0	5
15.9	-1	4
2.3	-2	3
0.1	-3	2



Akut Toksikite

LD50, LC50

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

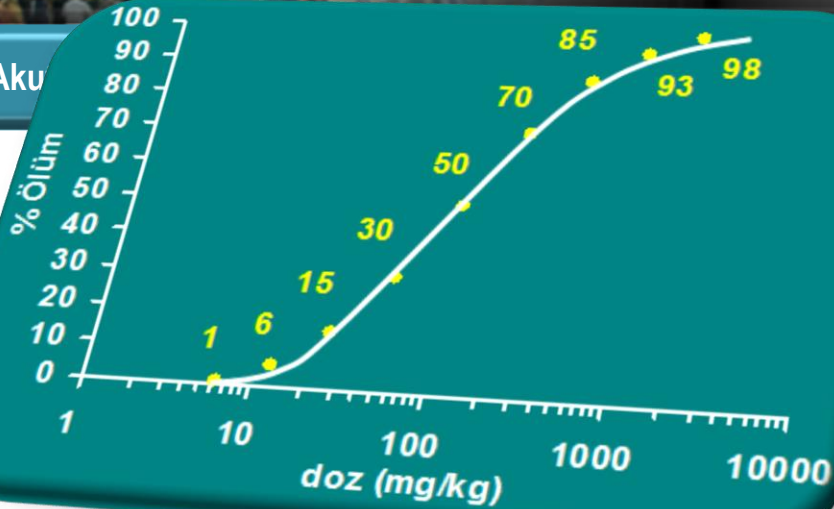
P	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0		2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,8	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33

Aku

oksiste

NOAEL

BMD



% Ölüm	Probit
98	7.05
93	6.48
85	6.04
70	5.52
50	5.00
30	4.48
15	3.96
6	3.45
1	2.67

P	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0		2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,8	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33

Akut Toksikite

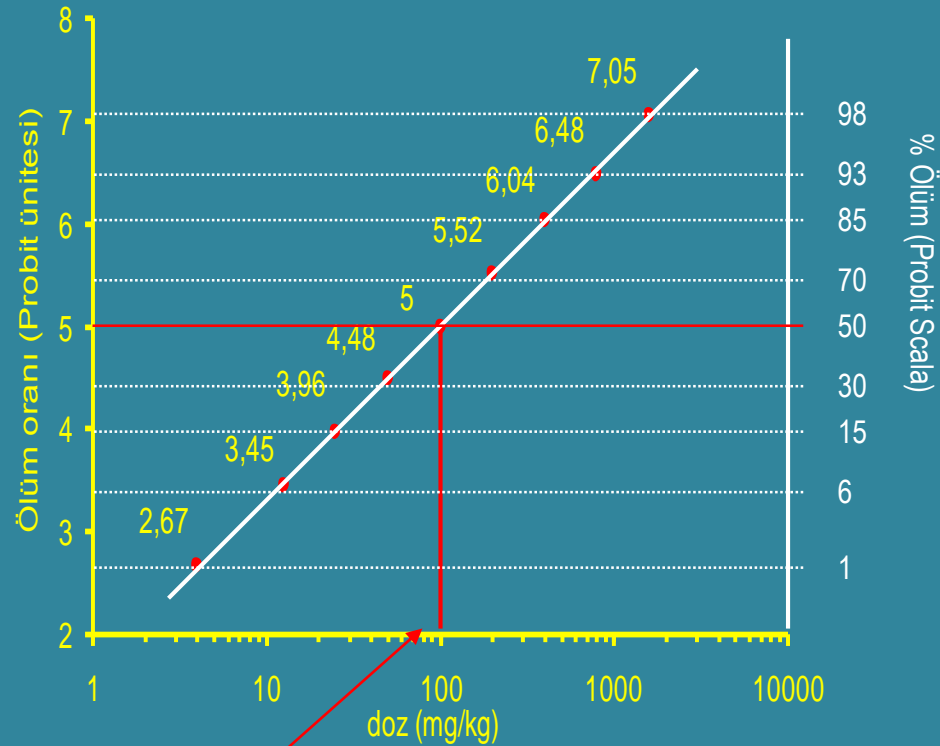
LD50, LC50

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

% Ölüm	Probit
98	7.05
93	6.48
85	6.04
70	5.52
50	5.00
30	4.48
15	3.96
6	3.45
1	2.67



$LD_{50} = 100 \text{ mg/kg}$

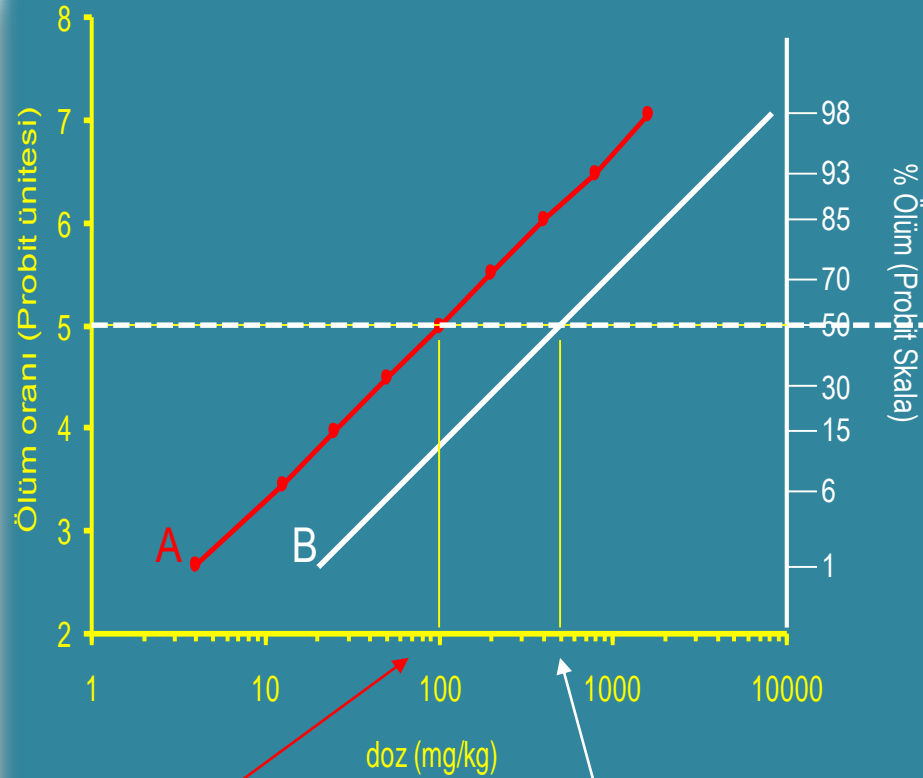
Akut Toksikite

LD₅₀, LC₅₀

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD



A için LD₅₀: 100 mg/kg

B için LD₅₀: 500 mg/kg

A maddesinin LD₅₀ değeri B maddesinin LD₅₀ değerinden daha düşüktür. Bu nedenle A maddesi B maddesinden daha toksiktir (Toxicity).

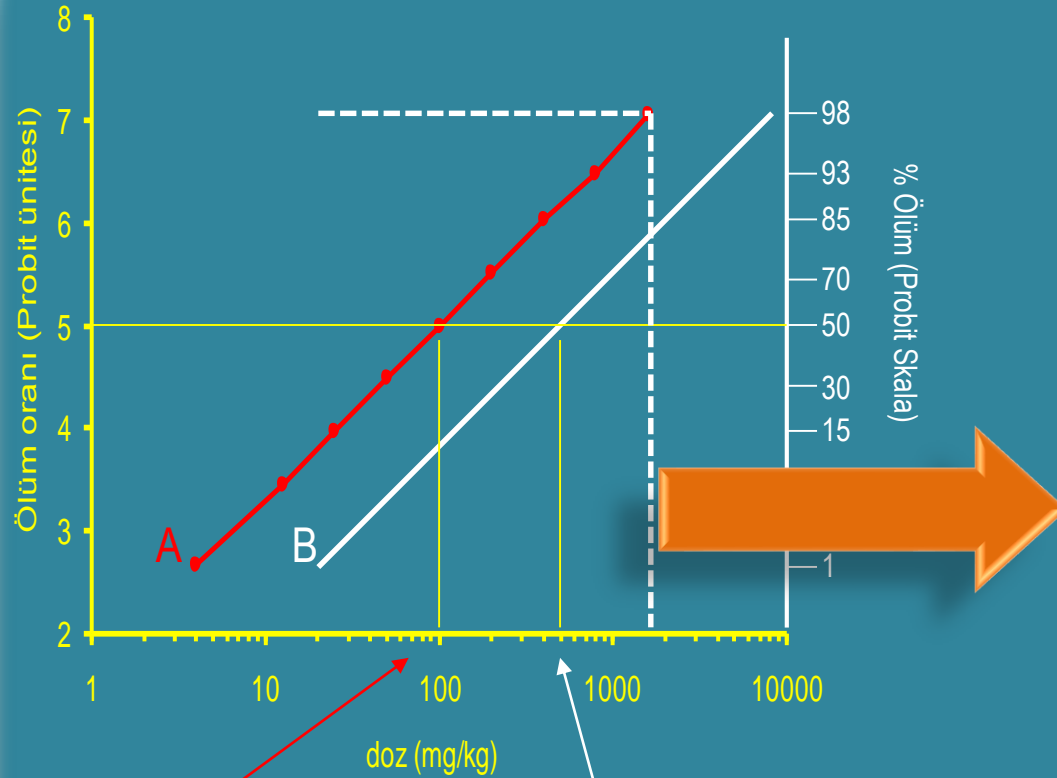
Akut Toksikite

LD₅₀, LC₅₀

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD



A için LD₅₀: 100 mg/kg

B için LD₅₀: 500 mg/kg

A maddesi maksimum etkinliğe B maddesinden daha düşük bir dozda ulaşmaktadır. Bu nedenle A maddesi B maddesinden daha potentdir. (Potency).

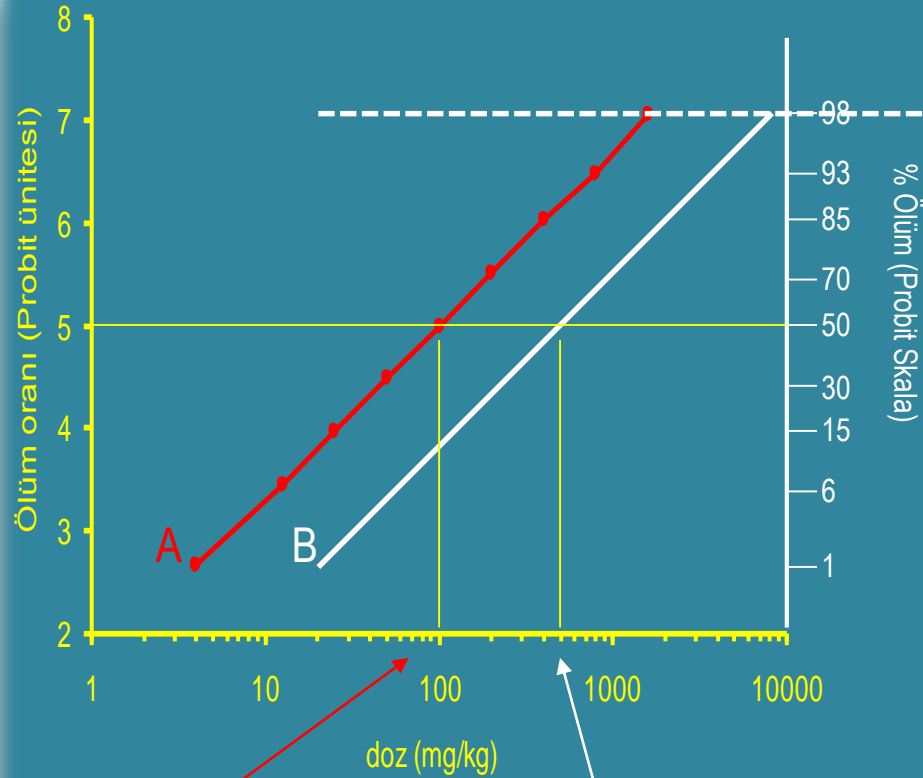
Akut Toksikite

LD₅₀, LC₅₀

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD



A ve B eşit etkinliğe sahiptir
(Equal Maximum Efficacy).

A için LD₅₀: 100 mg/kg

B için LD₅₀: 500 mg/kg

Akut Toksisite

LD50, LC50

Kronik Toksisite

NOAEL

BMD

OECD-420 Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure

OECD-423 Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method

OECD-425 Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP)

Akut Toksisite

LD50, LC50

Kronik Toksisite





NOAEL

BMD

OECD-420 A

OECD-423 A

OECD-425 A

Maruz kalma yolu		Kategori 1	Kategori 2	Kategori 3	Kategori 4	Kategori 5
						
Akut oral toksisite	Uyarı kelimesi (Signal word)	TEHLİKE (DANGER)	TEHLİKE (DANGER)	TEHLİKE (DANGER)	DİKKAT (WARNING)	
	Tehlike ifadesi (Hazard statement)	Yutulması ölümcül (Fatal if swallowed)	Yutulması ölümcül (Fatal if swallowed)	Yutulursa zehirlidir (Toxic if swallowed)	Yutulursa zararlıdır (Harmful if swallowed)	
Oral (mg/kg bw)		5	50	300	2000	5000
Dermal (mg/kg bw)		50	200	1000	2000	
Gazlar (ppmV)		100	500	2500	20000	
Buharlar (Vapours) (mg/l)		0.5	2.0	10	20	
Toz ve sis (Dusts and mists) (mg/l)		0.05	0.5	1.0	5	

Akut Toksikite

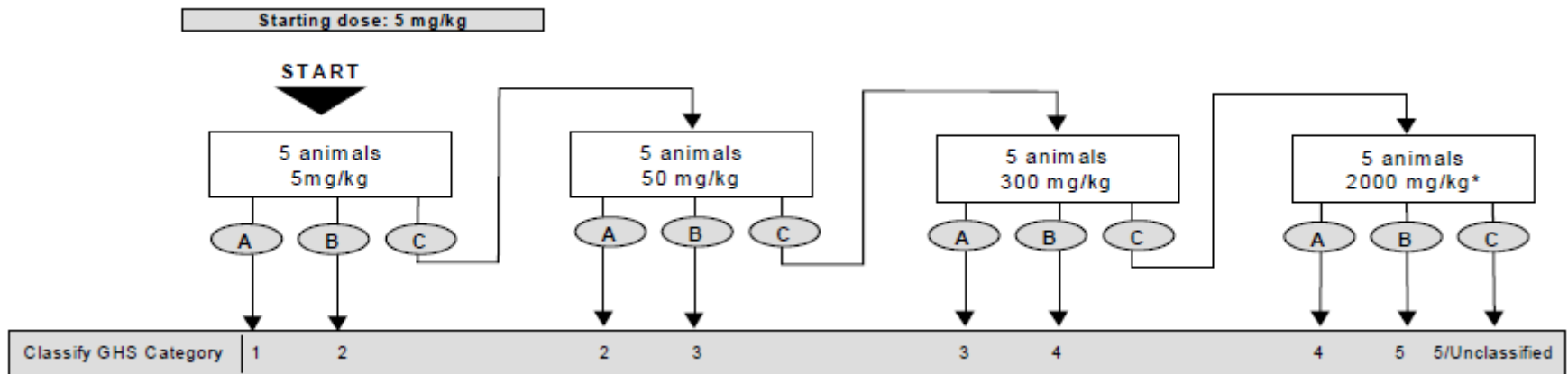
LD50, LC50

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

OECD-420 Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure



Outcome

- A ≥ 2 deaths
- B ≥ 1 death
- C No toxicity

Akut Toksikite

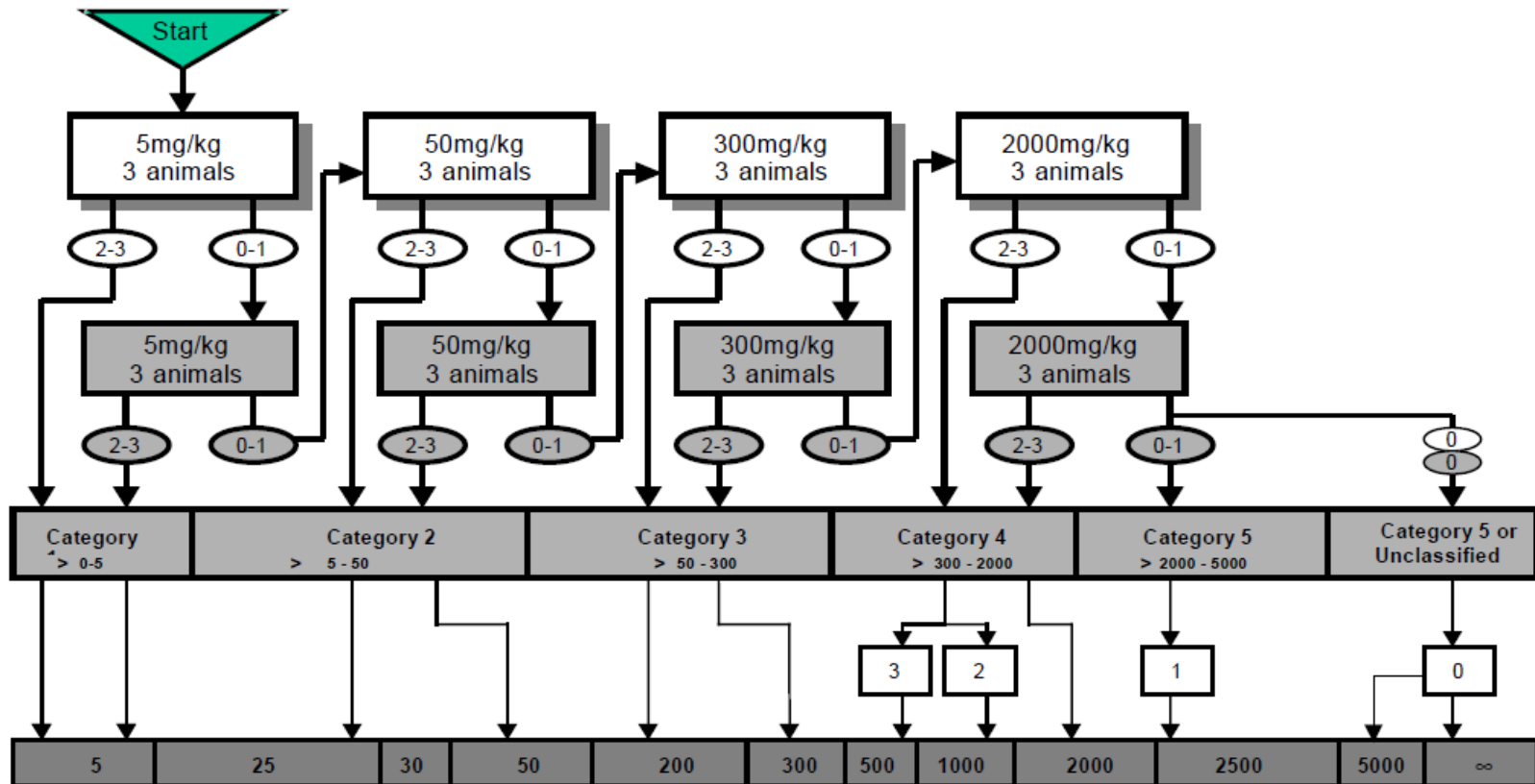
LD50, LC50

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

OECD-423 Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method



Akut Toksikite

LD50, LC50

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

OECD-425 Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP)

Doz aralığı belirleyicisi: 3.2

1.75 - 5.5 - 17.5 – 55 – 175 – 550 - 2000 mg/kg

X – Öldü

O – Ölmedi

X – 175 mg/kg

X – 55 mg/kg

O – 17.5 mg/kg

X – 55 mg/kg

O – 17.5 mg/kg

X – 55 mg/kg

O – 17.5 mg/kg

Akut Toksikite

LD50, LC50

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

Kronik toksisite nedir...?

Bir kimyasal maddenin akut toksik etki oluşturmayacak dozuna 3 aydan daha uzun bir süre ile tekrar tekrar maruz kalınması olarak tanımlanmaktadır.

Akut Toksikite

LD50, LC50

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

Akut toksisite testlerinden temel farklılıkları nelerdir...?

- Akut etki oluşturmayacak kadar düşük dozlar test edilir.
- Test süresi çok uzundur (genelde deney hayvanının ömrü ile sınırlanır).
- Toksik etkinin gözlenmediği en yüksek doz tespit edilir (NOAEL, BMD...).

Akut Toksikite

LD50, LC50

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

Kronik toksisite testlerinin temel amaçları nelerdir...?

- Kimyasal maddenin tehlikeli (hazardous) özelliklerinin ortaya çıkarılması
- Hedef organların belirlenmesi
- Doz – cevap ilişkisinin karakterizasyonu
- Sapma noktasının tespiti (Point of Departure, POD), NOAEL yada BMD
- İnsanların maruz kaldığı dozlarda kronik toksik etkilerin tahmin edilmesi
- Toksik etki mekanizması ile ilgili veri sağlanması

Akut Toksisite

LD50, LC50

Kronik Toksisite

NOAEL

BMD

Hangi dozlar test edilir...?

- Oral olarak yem ile verilen kimyasal maddelerde kimyasal madde miktarı deney hayvanının günlük gıdasında %5'lik bir konsantrasyonu aşmayacak şekilde bulunabilir.
- Oral gavage olarak uygulandığında verilen doz 1000 mg/kg vücut ağırlığını aşmamalıdır. İlaçlar için bu üst sınır 1500 mg/kg olarak kabul edilmektedir.
- Uygulanan en yüksek doz test hayvanında toksik etki oluşturmamalı ve yaşam süresini düşürmemelidir. Bu doz, daha önceden yapılmış olan tekrarlanan doz toksisitesi testleri ile tespit edilir (Maksimum tolere edilebilen doz, MTD).
- MTD; deney hayvanlarının normal yaşam süreçleri içinde normal kilo alımlarını %10 dan fazla azaltmayan, doku nekrozuna sebep olmayan, metabolik saturasyona sebep olmayan ve deney hayvanının yaşam süresini azaltmayan dozdur.
- Kronik toksisite testinde kullanılacak dozlar: MTD, MTD/2, MTD/4, MTD/8

Akut Toksisite

LD50, LC50

Kronik Toksisite

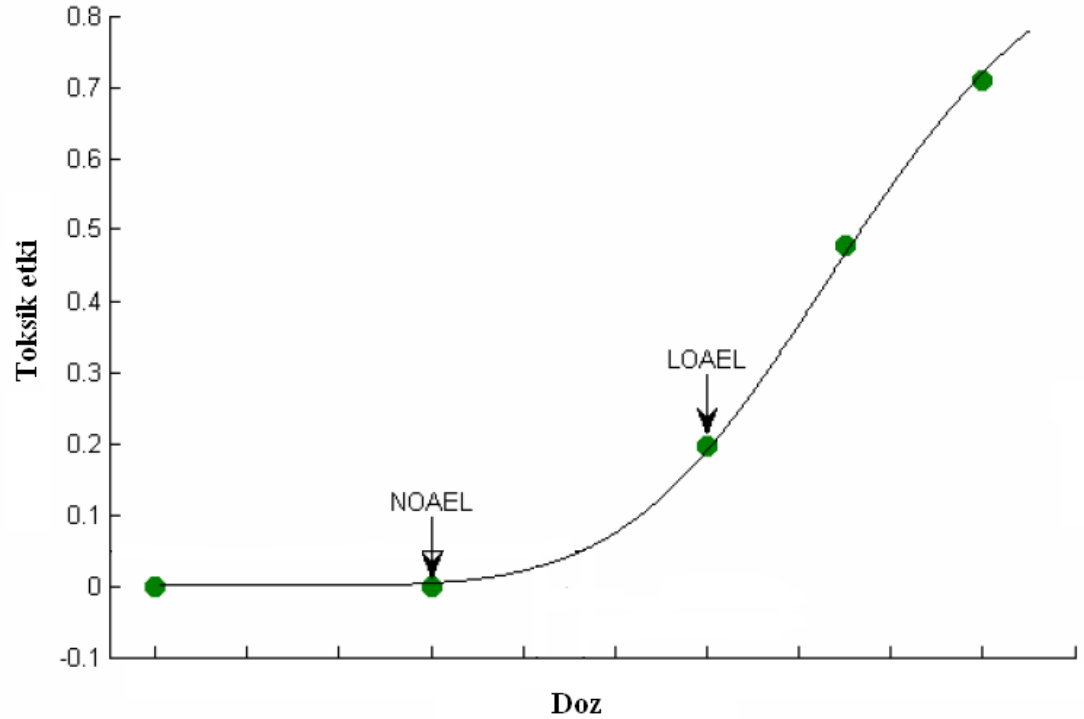
NOAEL

BMD

NOAEL nedir...?

Hiçbir toksik etkinin gözlenmediği doz.
No Observed Adverse Effect Level.

NOAEL ve LOAEL kimyasal risk değerlendirmesinde kullanılabilir doz tanımlayıcılarıdır. Ancak kronik toksisite testinde NOAEL belirlenememiş ise LOAEL değeri risk karakterizasyonunda kullanılabilir (ilave güvenlik faktörü ekleyerek).



Akut Toksikite

LD50, LC50

Kronik Toksikite

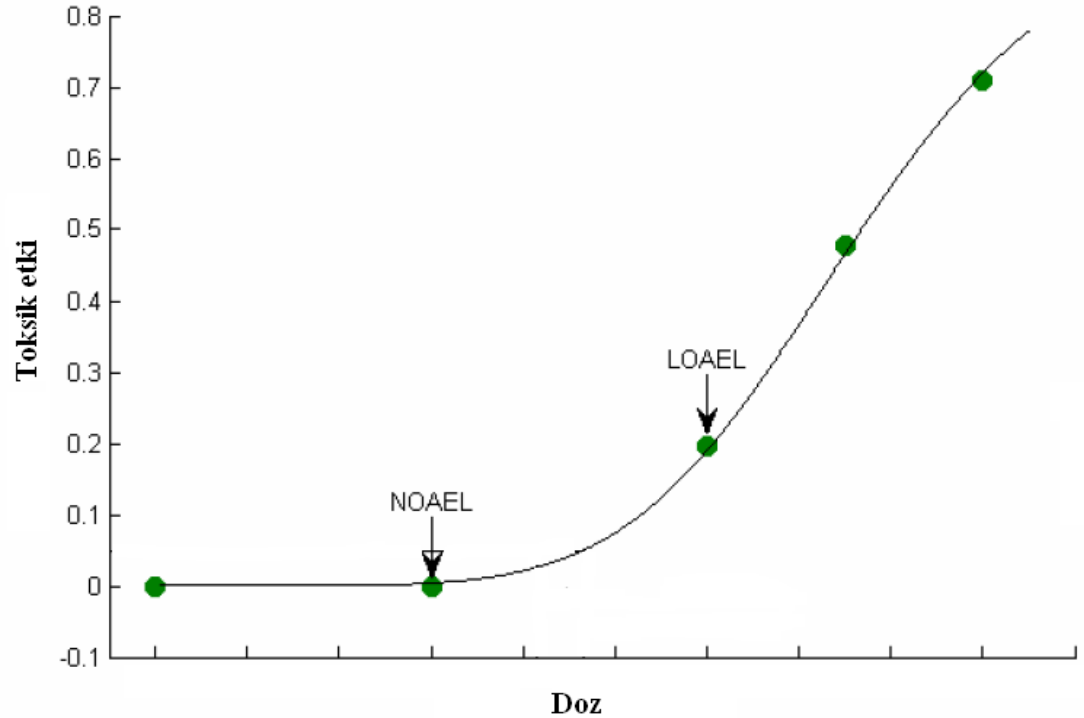
NOAEL

BMD

NOAEL nedir...?

Hiçbir toksik etkinin gözlenmediği doz.
No Observed Adverse Effect Level.

NOAEL değeri kullanılarak, genotoksik etkili kanserojenik maddeler dışındaki kimyasal maddeler için Reference Dose (RfD), Acceptible Daily Intake (ADI) ve Tolerable Daily Intake (TDI) değerleri hesaplanabilir.



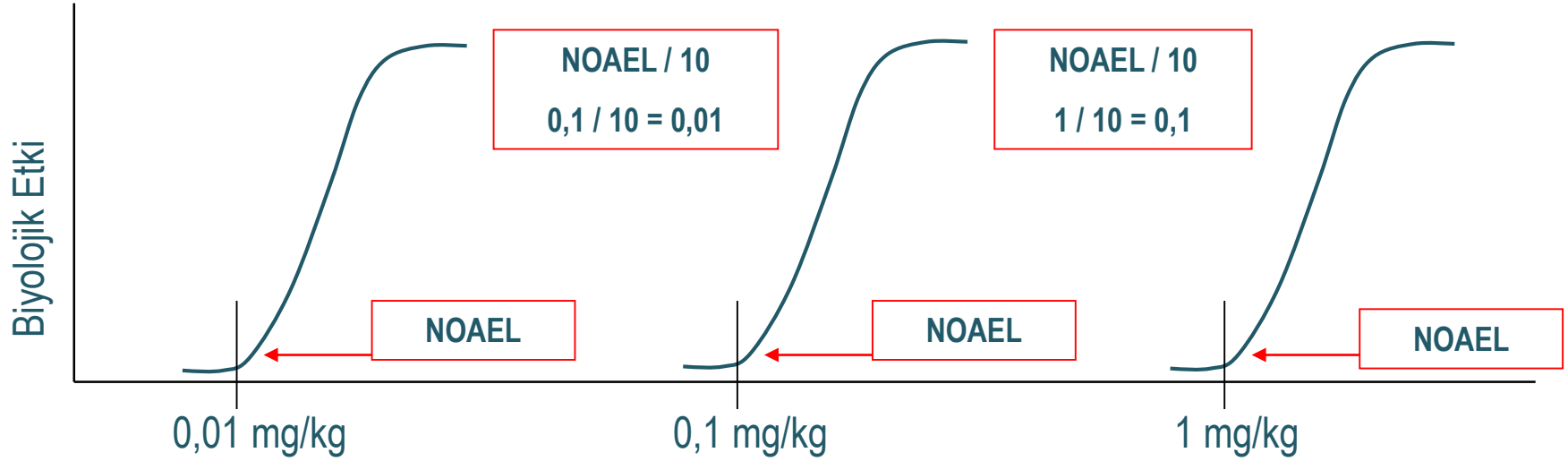
Akut Toksikite

LD50, LC50

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD



Safety Factors (Güvenlik Faktörü);

10 : Türler arası farklılık nedeni ile.

10 : İnsanlar arasındaki bireysel farklılıklar nedeni ile.

$$ADI = \frac{NOAEL}{Güvenlik Faktörü} = \frac{1}{10 \times 10}$$

$$ADI = 0,01 \text{ mg/kg/gün}$$

Acceptable daily intake (ADI) = Kabul edilebilir günlük alım.

Kayda değer hiçbir sağlık riski olmadan, hayat boyu günlük olarak vücut ağırlığı başına alınan kimyasal maddenin tahmini miktarıdır (mg/kg/gün).

Akut Toksisite

LD50, LC50

Kronik Toksisite

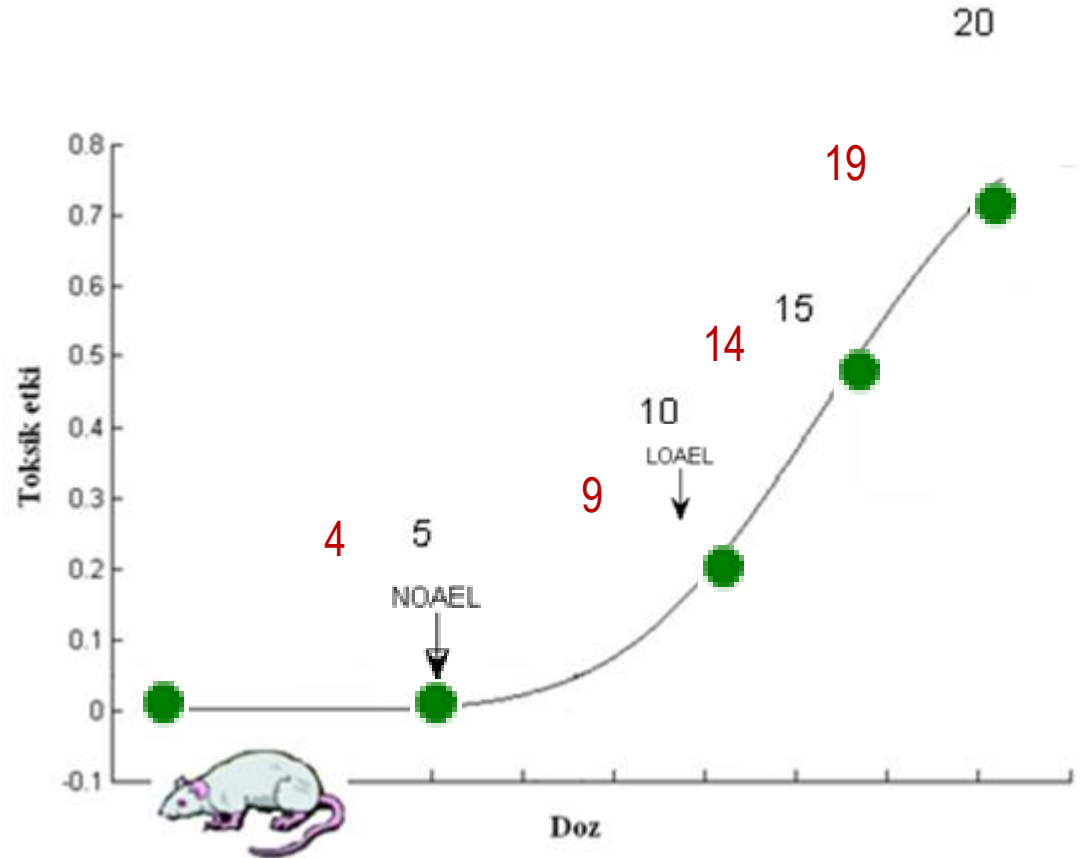
NOAEL

BMD

NOAEL nedir...?

NOAEL'in eleştirildiği yönleri...

1. NOAEL değeri, test dizayn edilirken seçilmiş olan dozlara doğrudan bağlıdır ve istatistiksel bir değer değildir. Bu nedenle NOAEL seçilmiş olan dozlardan biri olmak zorundadır.



Akut Toksikite

LD50, LC50

Kronik Toksikite

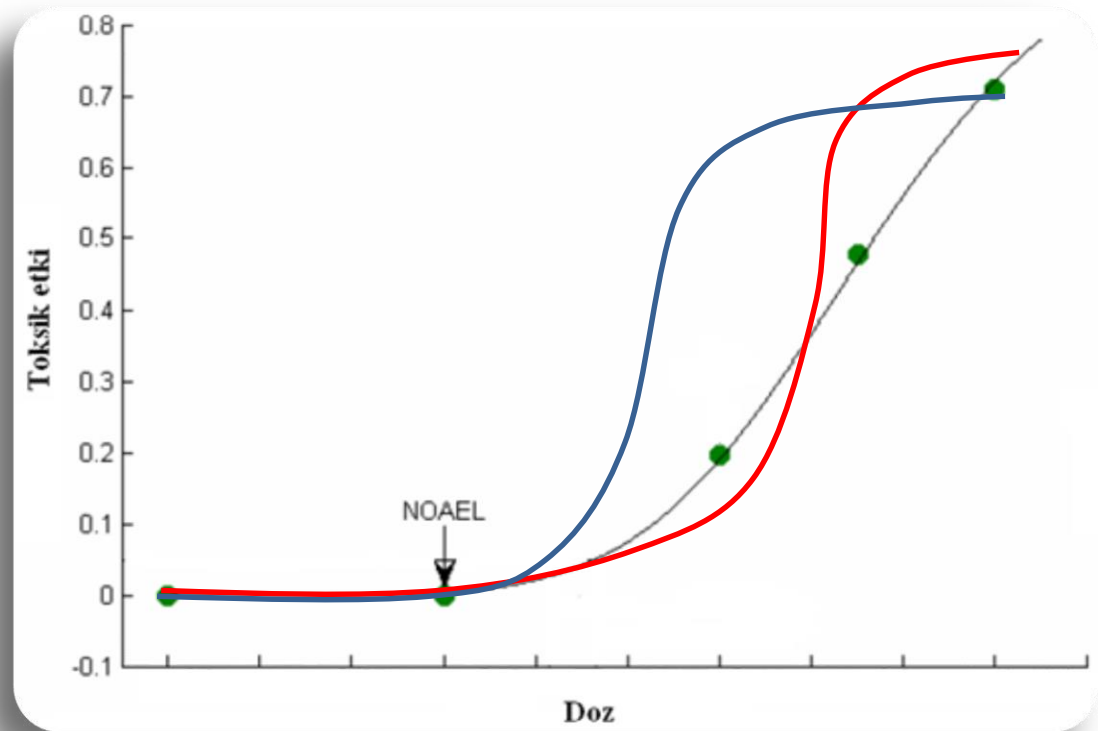
NOAEL

BMD

NOAEL nedir...?

NOAEL'in eleştirildiği yönleri...

1. NOAEL değeri, test dizayn edilirken seçilmiş olan dozlara doğrudan bağlıdır ve istatistiksel bir değer değildir. Bu nedenle NOAEL seçilmiş olan dozlardan biri olmak zorundadır.
2. NOAEL, doz-cevap eğrisinin eğimini ve dolayısıyla testte kullanılan diğer dozlardan bağımsızdır.



Akut Toksikite

LD50, LC50

Kronik Toksikite

NOAEL

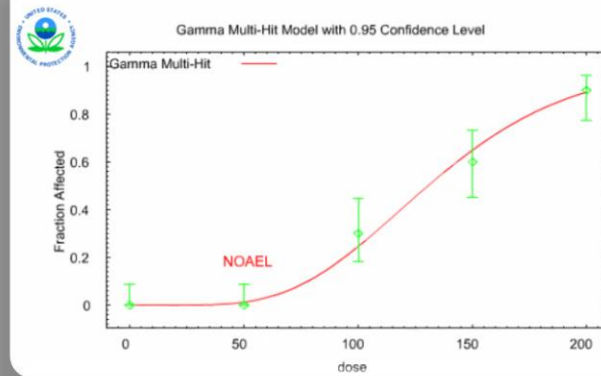
BMD

NOAEL nedir...?

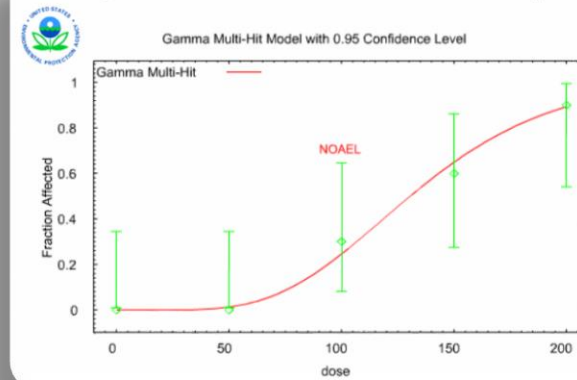
NOAEL'in eleştirildiği yönleri...

1. NOAEL değeri, test dizayn edilirken seçilmiş olan dozlara doğrudan bağlıdır ve istatistiksel bir değer değildir. Bu nedenle NOAEL seçilmiş olan dozlardan biri olmak zorundadır.
2. NOAEL, doz-cevap eğrisinin eğimini ve dolayısıyla testte kullanılan diğer dozlardan bağımsızdır.
3. NOAEL, kronik toksisite testinde, doz gruplarında kullanılan hayvan sayılarından etkilenebilir.

Study Conducted with 50 Animals per Dose



Study Conducted with 10 Animals per Dose



Akut Toksisite

LD50, LC50

Kronik Toksisite

NOAEL

BMD

BMD nedir...?

Öngörülen “Benchmark Response (BMR)” seviyesine karşılık gelen dozdur.

BMR: Kontrole kıyasla önceden öngörülmüş seviyede değişen cevap.

BMDL: Benchmark Dose Lower Bound (Benchmark dose alt güvenlik sınırı)
Öngörülen BMR'dan daha büyük bir etki gösterme ihtimali olmayan dozu temsil eder.

Pek çok çalışmanın ortalamasına göre; NOAEL dozunda görülen etkinin büyüklüğünün;
Continuous responses (sürekli cevaplarda): %5
Quantal responses (kuantal cevaplarda): %10
olduğu görülmüştür.

Bu açıklamalara göre BMR'un %5 olması öngörülen çalışmalarda BMDL5, BMR'un %10 olması öngörülen çalışmalarda BMDL10 kullanılır.

Akut Toksikite

LD50, LC50

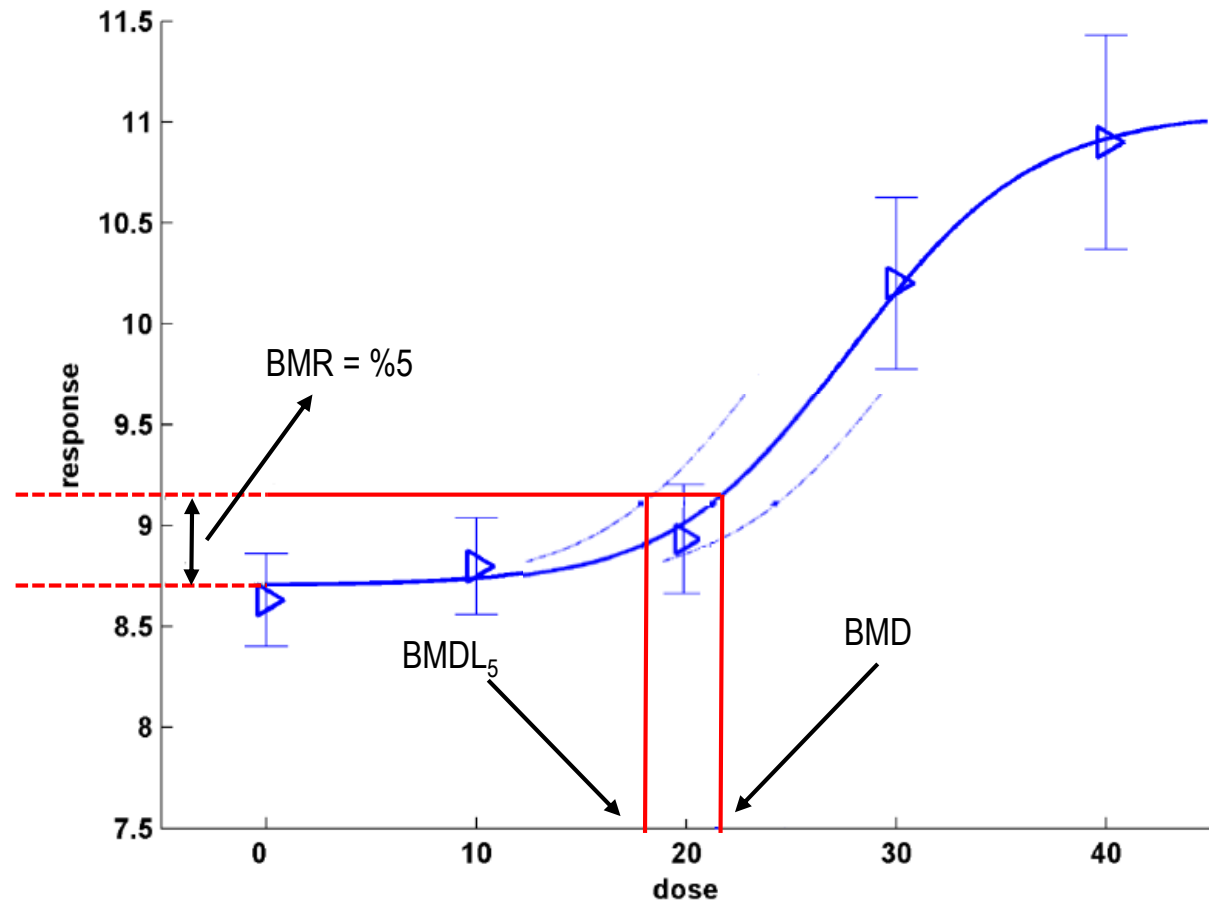
Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

BMD: Önceden belirlenmiş değişikliklere (BMR) sebep olan doz

BMDL: BMD'un %95 alt güvenlik sınırı



Akut Toksikite

LD50, LC50

Kronik Toksikite

NOAEL

BMD

ADI (RfD)

Margin of Exposure (MOE)

NOAEL

BMDL

100
(Güvenlik
Faktörü)

100
(Güvenlik
Faktörü)

NOAEL

BMDL

(mg/kg/gün)

(mg/kg/gün)

Tahmini maruz kalma
(mg/kg/gün)

Tahmini maruz kalma
(mg/kg/gün)

MOE \geq 100 GÜVENLİ

MOE $<$ 100 GÜVENLİ DEĞİL

