

Wout Slob¹, Lya G. Soeteman-Hernández¹, Wieneke Bil¹, Yvonne C.M. Staal¹, Edryd Stephens², Reinskje Talhout¹

¹National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands

²School of Earth & Environmental Sciences, University of St. Andrews, Scotland, UK

Metoda porównania rakotwórczego działania produktów tytoniowych — przykład porównania podgrzewanego tytoniu z papierosami

A method for comparing the Impact on carcinogenicity of tobacco products: a case study on heated tobacco versus cigarettes

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Slob W, Soeteman-Hernandez LG, Bil W et al. A method for comparing the Impact on carcinogenicity of tobacco products: a case study on heated tobacco versus cigarettes. *Risk Analysis* 2020; 40(7): 1355–1366. DOI: 10.1111/risa.13482.

0272-4332/20/0100-0001\$22.00/1 © 2020 The Authors. *Risk Analysis* published by Wiley Periodicals, Inc. on behalf of Society for Risk Analysis

Niniejsza praca jest objęta międzynarodową licencją Creative Commons Uznanie autorstwa (CC BY 4.0). <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Należy cytować wersję pierwotną.

Adres do korespondencji:

Yvonne Staal

National Institute for

Public Health and the Environment

(RIVM), Centre for Health

Protection

P.O. Box 1, 3720 BA Bilthoven,

The Netherlands

phone: +31 30 274 2592

e-mail: yvonne.staal@rivm.nl

STRESZCZENIE

Porównanie szkodliwych skutków zdrowotnych związanych z dwoma różnymi wyrobami tytoniowymi poprzez zastosowanie podobnych metod oceny ryzyka dla każdego ze związków nastęcza pewne problemy. Autorzy niniejszego artykułu opracowali metodę opartą na ocenie zmiany skumulowanej ekspozycji (CCE) na związki emitowane przez dwa analizowane produkty, pozwalającą uniknąć niektórych z tych ograniczeń. Metoda składa się łącznie z sześciu etapów. Pierwsze trzy obejmują analizę danych dotyczących zachorowań na nowotwory z uwzględnieniem odpowiedzi na określoną dawkę, umożliwiającą określenie względnej siły działania poszczególnych czynników wraz z przedziałami ufności. Na czwartym etapie ocenia się dane dotyczące emisji, co pozwala na określenie przedziałów ufności dla oczekiwanej emisji każdego związku. Na piątym etapie oblicza się probabilistycznie zmianę wartości CCE, co umożliwia określenie przedziału niepewności dla CCE. W trakcie szóstego etapu szacuje się powiązany wpływ na zdrowie poprzez połączenie CCE z odpowiednimi informacjami dotyczącymi odpowiedzi na dawkę. W ramach przykładowego opisu przypadku zastosowano tę metodę do analizy ośmiu czynników rakotwórczych emitowanych zarówno przed wyroby tytoniowe oparte na podgrzewaniu tytoniu (HTP), stanowiące nową klasą wyrobów tytoniowych, jak i znajdujących się w dymie tytoniowym. Obliczono, że CCE była od 10 do 25 razy mniejsza w przypadku stosowania HTP w porównaniu z papierosami. Na podstawie dostępnych danych dotyczących odpowiedzi na dawkę taka zmiana wskazuje na znacznie mniejsze skrócenie oczekiwanej długości życia u palaczy. Jest to jednak wstępny wniosek, ponieważ do tej pory opisaną metodą objęto tylko osiem czynników rakotwórczych. Ponadto stosowanie TTP wiąże się też z niekorzystnym wpływem na zdrowie w porównaniu z całkowitą abstinencją. Opracowana przez autorów metoda dostarcza przydatnych informacji, mogących pomóc decydom w lepszym zrozumieniu potencjalnego wpływu na zdrowie nowych rodzajów tytoniu i produktów, w których są one wykorzystywane. Podobne podejście można zastosować do porównania rakotwórczości innych mieszanin.

Słowa kluczowe: rakotwórczość, skumulowana ekspozycja, podgrzewany tytoń, względna siła działania, produkty tytoniowe

Tłumaczenie: dr n. med. Dariusz Stencel

Copyright © 2021 Via Medica

ISSN 2450-1646

e-ISSN 2450-6567

Onkol Prakt Klin Edu 2021; 7, 2: 53–63

Wprowadzenie

W ostatnich latach na rynku pojawiło się wiele nowych rodzajów wyrobów tytoniowych, z których najbardziej znanymi przykładami są papierosy elektroniczne i produkty oparte na podgrzewaniu tytoniu (HTP, *heated tobacco product*) [1–6]. Wiele z tych nowych wyrobów tytoniowych i powiązanych (TRP, *tobacco and related product*) przedstawia się jako produkty „o zmniejszonej szkodliwości” lub „o zmniejszonym ryzyku” [7]. Niektóre systemy prawne zawierają w odpowiednich przepisach zapisy dotyczące produktów o zmodyfikowanym ryzyku. Na przykład amerykańska ustawa *Family Smoking Prevention and Tobacco Control Act* definiuje „wyrób tytoniowy o zmodyfikowanym ryzyku jako wyrób tytoniowy sprzedawany lub rozprowadzany w celu zmniejszenia szkód lub zmniejszenia ryzyka chorób odtytoniowych związanych z komercyjnie wprowadzanymi na rynek wyrobami tytoniowymi”.

Przykładem HTP określanego jako produkt o zmodyfikowanym ryzyku jest urządzenie IQOS, które służy do podgrzewania paluszków tytoniowych (HEETS) [8], zawierających przetworzony tytoń i dodatki, takie jak nikotyna i aromaty. Uważa się, że powstały w ten sposób i wdychany przez użytkownika dym zawiera mniej szkodliwych związków i dlatego powinien być mniej niebezpieczny dla zdrowia niż tradycyjne papierosy.

Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) [9] wiarygodność domyślnych lub wyraźnie komunikowanych oświadczeń dotyczących następstw zdrowotnych nowych TRP dla indywidualnego użytkownika powinna zostać oceniona przez odpowiednie urzędy rejestracyjne na podstawie różnych kryteriów. Zgodnie z jednym z tych kryteriów nowy TRP musi wykazywać niższe poziomy emisji lub toksyn w głównym strumieniu dymu, mniejsze ogólne narażenie na toksyny i zmniejszenie szkodliwych efektów na poziomie indywidualnego użytkownika w porównaniu z produktem referencyjnym. Należy też ocenić potencjalny wpływ na zdrowie publiczne na poziomie populacyjnym, uwzględniając całkowitą liczbę wszystkich użytkowników TRP, podwójnych użytkowników TRP i papierosów oraz początkowych użytkowników TRP, którzy przechodzą na palenie papierosów (efekt „bramy”).

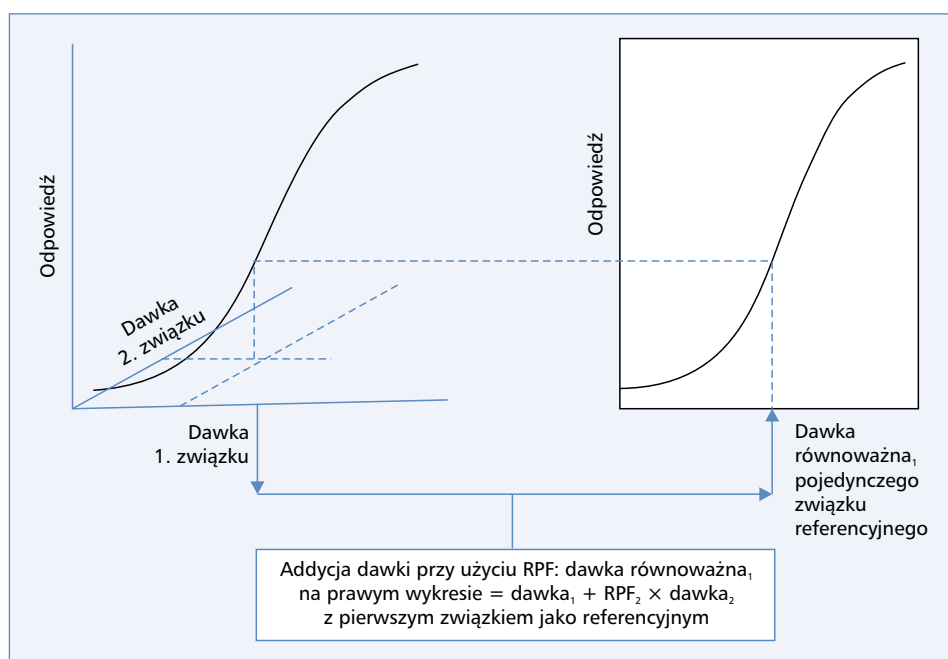
Określenie wpływu palenia papierosów lub alternatywnych wyrobów tytoniowych na zdrowie jest złożoną kwestią. Nowe wyroby tytoniowe często charakteryzują się zmniejszoną emisją, ale nie wiadomo, w jaki sposób przekłada się to na ograniczenie skutków zdrowotnych wywołanych dymem papierosowym. Dym papierosowy jest złożoną mieszaniną zawierającą ponad 7000 związków wywołujących różne następstwa toksykologiczne, z których co najmniej 63 mogą powodować choroby nowotworowe

[10]. Poza różnymi efektami należy też uwzględnić różną siłę działania (dawka, przy której pojawiają się efekty) i różny stopień ciężkości następstw (np. choroba nowotworowa vs. łagodne zmiany w płucach). Zaproponowano kilka metod priorytyzacji zagrożeń i/lub ryzyka będących efektem działania związków zawartych w dymie papierosowym [11–16]. Stephens [17] zaproponował metodę porównywania potencjalnych zagrożeń związanych z produktami alternatywnymi z papierosami wykorzystującą ryzyko związane z jednostką inhalacji, określane także jako współczynniki siły wywoływania choroby nowotworowej (CPF, *cancer potency factor*). Ogólna zasada tej metody oparta na sumowaniu emisji skorygowanych o siłę działania jest uzasadniona, jednak ryzyko związane z jednostką inhalacyjną wykazuje wiele ograniczeń, co autor tej metody przedstawił w swojej publikacji. Jednym z przykładów jest niestandardowy sposób określania tego ryzyka, w wyniku czego — jak można oczekiwać — oszacowanie siły działania każdego składnika produktu, a tym samym całego produktu, jest także nieprecyzyjne. Omówiono to bardziej szczegółowo w dalszej części i zilustrowano niektórymi wynikami (Załącznik C w materiałach uzupełniających: <https://tiny.pl/r23bk>). Innym sposobem oszacowania względnej siły działania jest zastosowanie metody opartej na dawce wzorcowej (BMD, *benchmark dose*), wykazującej solidne podstawy statystyczne i opartej na danych dotyczących odpowiedzi na dawkę, a nie na prostym założeniu, że odpowiedź na dawkę jest liniowa, zaczynając od mniej lub bardziej przypadkowego punktu odniesienia. Istotne jest też uwzględnienie ilościowych niepewności dotyczących początkowych danych (odnoszących się zarówno do narażenia, jak i reakcji na dawkę) i wyraźne określenie ilościowe wynikającej z tego niepewności wyniku, ponieważ w przeciwnym wypadku mogłoby to prowadzić do podejmowania przez decydentów nieuzasadnionych decyzji.

Autorzy niniejszego artykułu opracowali metodę, która wykorzystuje względne oszacowania siły działania na podstawie modelowania odpowiedzi w zależności od dawki i ocenia niepewności w zakresie danych bazowych. Wynikającą z tego zmianę skumulowanej ekspozycji (CCE, *change in cumulative exposure*) można wykorzystać do półilościowej oceny wpływu na zdrowie. Przed bardziej szczegółowym omówieniem metody na podstawie studium przypadku przedstawione zostanie uzasadnienie wprowadzenia metody w kategoriach koncepcyjnych.

Koncepcyjne podsumowanie metody

Proponowana metoda opiera się na podstawowej metodzie addycji dawki, często stosowanej do oceny ryzyka połączonych ekspozycji na wiele związków [18].



Rycina 1. Schematyczne przedstawienie koncepcji addycji dawki. Dawki wielu składników mieszaniny (lewy wykres; na trójwymiarowej rycinie przedstawiono tylko dwa związki; w rzeczywistości ocenia się raczej powierzchnię odpowiedzi, a nie krzywą) przekłada się na równoważną dawkę jednego ze składników, określanego dalej jako związek referencyjny (prawy wykres). Należy podkreślić, że krzywa dawka-odpowiedź na tych wykresach może być nieznaną; niemniej jednak można założyć, że reakcja przy dawce mieszaniny będzie podobna do odpowiedzi przy pojedynczej dawce związku referencyjnego

Zakłada się, że odpowiedzi na dawkę (dla tego samego rodzaju efektu) zaangażowanych związków wchodzących w skład mieszaniny są równoległe (w skali logarytm-dawki). Założenie to wydaje się zasadniczo słuszne [19] i można je analizować z perspektywy czasu, oceniając wyniki analizy odpowiedzi w zależności od dawki (materiał uzupełniający SM2: <https://tiny.pl/r23bs>). Możliwe, że niektóre związki zawarte w dymie tytoniowym odbiegają od zasady dawki dodanej i wykazują działanie synergistyczne lub antagonistyczne. Jednak interakcja między związkami chemicznymi wydaje się rzadka [19], a nawet gdyby wystąpiła, wynikające z tego niedoszacowanie lub przeszacowanie ryzyka dotyczyłoby obu porównywanych produktów. Wobec ilościowego określenia stosunku skumulowanych ekspozycji w każdym produkcie, przeszacowania lub niedoszacowania wynikające z interakcji przynajmniej częściowo zrównoważą się [patrz: wyrażenie (1)].

Addycja dawki polega na wyrażeniu dawki mieszaniny obejmującej poszczególne składowe, z których każda ma określoną własną dawkę, jako równoważnej dawki jednego ze składników (określonego jako związek referencyjny). Na rycinie 1 przedstawiono schematyczną ilustrację. Przy użyciu tej metody możliwe jest przekształcenie problemu posiadania wyrobu tytoniowego z wieloma związkami w hipotetyczny produkt zawierający tylko związek referencyjny w dawce (emisji), która dawałaby ten sam efekt jak mieszanka w rzeczywistym wyrobie tytoniowym. W ten sposób trudność

w znalezieniu odpowiedzi na wiele związków w wyrobie tytoniowym ogranicza się do znalezienia odpowiedzi na pojedynczą dawkę w odniesieniu do pojedynczego związku. Tę ostatnią pojedynczą dawkę określa się dalej jako skumulowaną ekspozycję.

Drugim sposobem ograniczenia problemu badawczego do bardziej przewidywalnego zakresu jest uwzględnienie stosunku skumulowanej ekspozycji związanej ze stosowaniem jednego produktu (np. HTP) do ekspozycji związanej z innym produktem (np. palonym papierosem). Ten stosunek wyraża CCE między obydwojema produktami. Pierwszą zaletą takiej metodologii jest to, że CCE nie zależy od wyboru związku referencyjnego. Ogromną zaletą CCE jest to, że, określając przybliżony wpływ zmiany produktów tytoniowych na zdrowie, można wyciągać wnioski bezpośrednio na podstawie informacji dotyczących odpowiedzi na dawkę u ludzi związanych z paleniem papierosów, jak to omówiono w opisie etapu 6. W ten sposób można uniknąć ekstrapolacji odpowiedzi na dawkę u zwierząt na odpowiedź u ludzi i związanych z tym niepewności. W takim przypadku konieczne jest założenie, że współczynniki względnej siły działania (RPF, *relative potency factor*), oszacowane na podstawie danych dotyczących zwierząt, można na podstawie racjonalnych przesłanek przyjąć w przybliżeniu jako RPF u ludzi. W ocenach ryzyka mieszanin opartych na addycji dawki założenie to jest zawsze domyślnie przyjmowane.

Trzecim aspektem metody jest ocena niepewności w zakresie danych bazowych, wynikających z ograniczeń lub innych słabości dostępnych danych. Są to niepewności dotyczące szacunkowych emisji związków składowych (ze względu na ograniczenia pomiarowe), a także niepewności dotyczące szacowanych RPF (ze względu na ograniczenia danych dotyczących odpowiedzi na dawkę). Niepewności przekładają się na wynikającą z nich niepewność dotyczącą końcowego wyniku: szacunkową wartość CCE. Aby zilustrować znaczenie znajomości tej drugiej niepewności, warto podkreślić, że CCE szacuje się jako 20-krotny spadek skumulowanego narażenia na dany innowacyjny wyrób tytoniowy.

Gdyby jednak ocena niepewności dotyczącej wartości dała wynik w przedziale od 1,3- do 120-krotności, nie byłoby zbyt wiele podstaw do podejmowania decyzji na podstawie wartości oszacowania równej 20-krotności: nie można by wykluczyć dość małej wartości CCE wynoszącej 30%. Jeśli jednak ustalono, że zakres niepewności mieści się w przedziale od 10- do 40-krotności, oznaczałoby to potwierdzenie, że produkt alternatywny rzeczywiście wywołuje (znaczący) korzystny wpływ na zdrowie.

Metodę obejmującą 6 etapów przedstawiono schematycznie na rycinie 2.

Przykładowe studium przypadku

W celu zilustrowania działania tej metody w praktycznej analizie, zastosowano ją w odniesieniu do ośmiu czynników rakotwórczych wspólnych zarówno dla HTP, jak i papierosów, dla których dostępne były dane dotyczące emisji oraz odpowiedzi rakotwórczej na dawkę. W tej części nieco bardziej szczegółowo omówiono sześć etapów metody. Więcej informacji umieszczono w materiałach uzupełniających.

Etap 1. Dane dotyczące rakotwórczości i kategorii stopnia ciężkości następstw

Dane dotyczące rakotwórczości uzyskano z bazy danych o potencjale rakotwórczym [20] oraz z bazy danych *US National Toxicology Program* [21]. Oprócz ośmiu związków bezpośrednio objętych analizą, przeprowadzono też ocenę odpowiedzi na dawkę na etapach 2 i 3 (patrz: dalsza część artykułu) z uwzględnieniem dodatkowych dziewięciu związków z dostępnymi danymi dotyczącymi rakotwórczego efektu ich wdychania dla okresu narażenia dłuższego niż 96 tygodni. Te dziewięć związków uwzględniono dodatkowo w analizie BMD, w celu zmniejszenia niepewności dotyczących szacowanych RPF, ze względu na dokładniejsze oszacowanie parametru stromości w modelu dawka-odpowieź, w którym więcej związków dostarcza informacji o tej

wartości (jako rodzaj podejścia przekrojowego; w celu zapoznania się z wyjaśnieniem tej zasady [patrz: 22, s. 288]). Wszystkie związki użyte w analizach dawka-odpowieź wymieniono w tabeli 1.

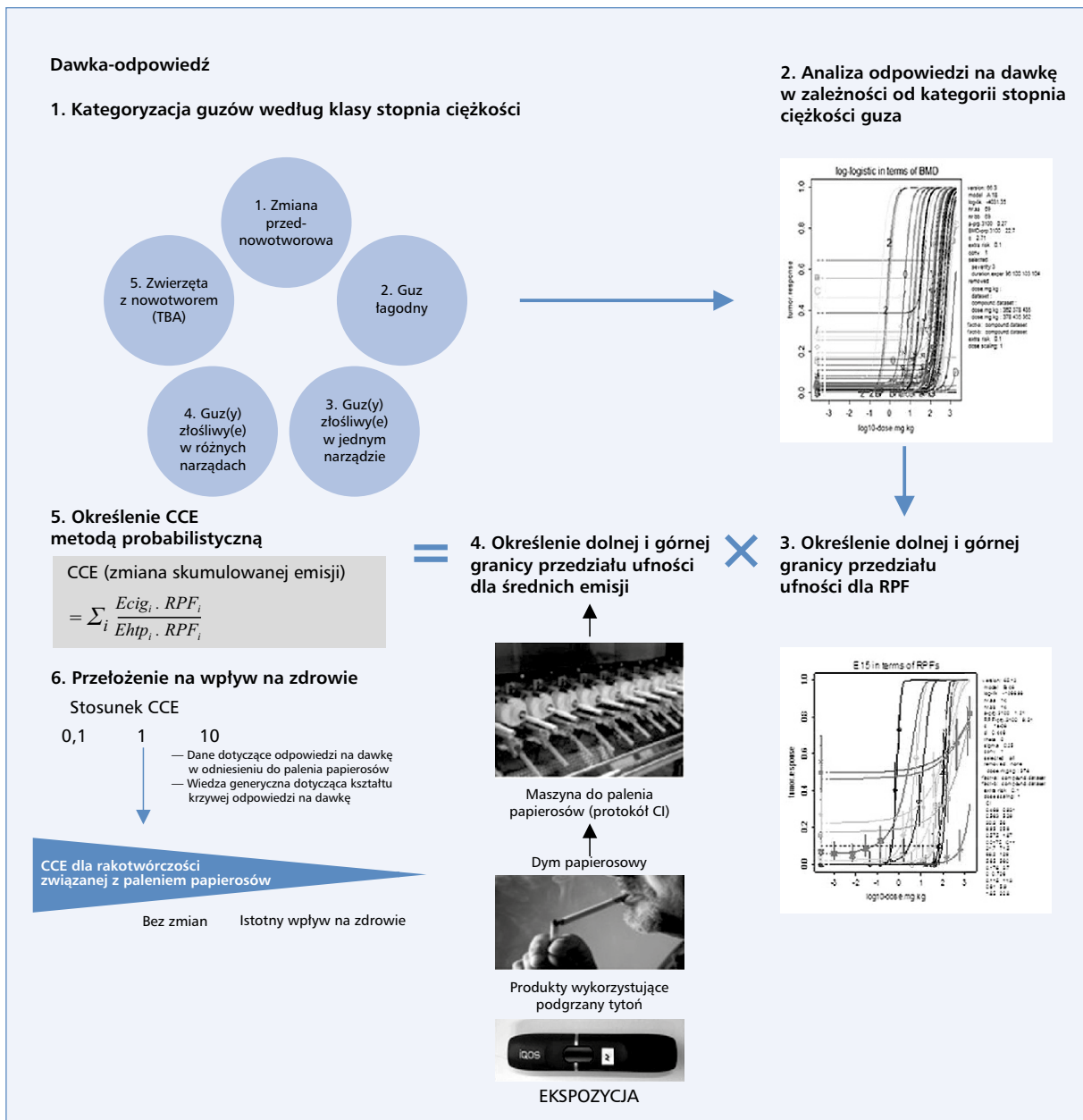
Kategorie stopnia ciężkości przypisano każdemu mierzonemu punktowi końcowemu, ponieważ dane dotyczące odpowiedzi rakotwórczej na dawkę mogą odnosić się do różnych punktów końcowych, odzwierciedlających różne etapy karcynogenezy, związane z różnymi stopniami ciężkości. Oczywiście, dawka, która powoduje zwiększenie odsetka zwierząt ze zmianami przednowotworowymi (np. hiperplazją) o 10%, nie jest równoważna dawce, która powoduje zwiększenie odsetka zwierząt z nowotworem złośliwym o 10%. Przypisano jedną z następujących „kategorii zmian” do każdego punktu końcowego w naszej bazie danych: (1) zmiana przednowotworowa, (2) guz(y) łagodny(e), (3) guz(y) złośliwy(e) w jednym narządzie, (4) guzy złośliwe (przerzutowe) w różnych narządach i (5) zwierzęta z guzami (*tumor bearing animal*) [23]. Przydział do poszczególnych kategorii opierał się na pełnej liście możliwych punktów końcowych w badaniach nad rakiem, opracowanej przez doświadczonego patologa. Opisane poniżej etapy 2 i 3 przeprowadzono osobno dla każdej kategorii stopnia ciężkości 2–5.

Etap 2. Wybór zestawów danych z najniższą BMD dla każdego związku

Do analizy odpowiedzi na dawkę zastosowano oprogramowanie BMD PROAST (patrz: www.proast.nl), wersja 65.12. Na tym etapie przeprowadzono analizę odpowiedzi na dawkę w celu określenia indywidualnego zestawu danych z najniższą oszacowaną wartością BMD dla każdego związku. Indywidualny zestaw danych zdefiniowano jako taki, w którym wszystkie powiązane czynniki były na tym samym poziomie (ten sam związek, tkanka, płeć, typ guza, czas trwania ekspozycji, czas trwania badania). Wyniki tej pierwszej analizy odpowiedzi na dawkę przedstawiono w materiałach uzupełniających (SM2).

Etap 3. Określenie RPF

Na etapie 3 połączono krytyczne zestawy danych (dla każdej kategorii stopnia ciężkości) dla przeprowadzenia analizy BMD w celu określenia RPF dla każdego związku. Krzywe dawka-odpowieź dla różnych związków można przedstawić przy użyciu równoległych krzywych dawka-odpowieź (w skali logarytm-dawka), a odległość między każdą parą tych krzywych jest logarytmem RPF. Współczynnik względnej siły działania można określić na podstawie stosunku BMD dla obu związków chemicznych. Ze względu na równoległy przebieg krzywych na skali logarytm-dawka, współczynnik BMD nie zależy od wartości BMR (należy podkreślić, że stosunek zamienia



Rycina 2. Graficzna ilustracja sposobu uzyskania CCE [CCE — zmiana skumulowanej emisji; E_{cig} — emisja papierosów; E_{htp} — emisja podgrzewanego wyrobu tytoniowego (lub alternatywnego wyrobu tytoniowego); RPF — współczynnik względnej siły działania] Etap 1. Kategoryzacja guzów według klasy stopnia ciężkości: dla każdego badania nad chorobami nowotworowymi obserwowane zmiany sklasyfikowano jako zmiany przednowotworowe, guzy łagodne, guzy złośliwe w jednym narządzie, guzy złośliwe z przerzutami do różnych narządów, lub zwierzęta z nowotworem, zgodnie z sugestią doświadczonego patologa Etap 2. Dla każdej kategorii stopnia ciężkości guza analizę odpowiedzi na dawkę przeprowadzono dla każdego indywidualnego zestawu danych (ta sama tkanka, płuć, typ guza, czas trwania ekspozycji i czas trwania badania) Etap 3. Dla każdej kategorii stopnia ciężkości guza wybrano krytyczny zestaw danych dla każdego związku na podstawie najniższej szacunkowej wartości BMD; analizę BMD przeprowadzono na połączonych zestawach danych krytycznych (po jednym na związek), uzyskując przedziały ufności dla RPF. Wyniki dla różnych kategorii stopnia ciężkości połączono w sposób opisany w końcowej części materiału uzupełniającego SM2 Etap 4. Wyznaczanie przedziałów ufności dla średnich emisji na podstawie danych z badań z użyciem maszyn do palenia papierosów Etap 5. Zmianę skumulowanej emisji (CCE) uzyskano na podstawie niepewności RPF i emisji między papierosami a HTP, co daje w wyniku zakres niepewności dla CCE Etap 6. Wartość (zakres niepewności) CCE przekłada się na oszacowanie wpływu na zdrowie na podstawie dostępnych danych dotyczących reakcji na dawkę u palaczy oraz ogólną wiedzę o stromości reakcji na dawkę. CCE wynosząca 1 wiązałaby się z brakiem zmiany wpływu na zdrowie, natomiast można oczekiwać, że współczynnik wynoszący 10 lub więcej spowoduje znaczne zmniejszenie szkód, gdy użytkownik przestawi się z papierosów na HTP. CCE (znacznie) mniejsza niż 1 wskazywałaby na zwiększenie zakresu szkód

Tabela 1. Spis związków z danymi dotyczącymi emisji, rakotwórczości i ryzyka związanego z jednostką inhalacji

Związek	Skrót	Kategoria IARC	Dane dotyczące emisji (CS i HTP)	Dane dotyczące rakotwórczości	Dane dotyczące ryzyka związanego z jednostką inhalacji
Akrylonitryl	can	2B	✓	✓	✓
Aldehyd octowy ^a	ald	2B	✓	✓	✓
3-Butadien ^a	but	1	✓	✓	✓
Tlenek etylenu	eox	1	✓	✓	✓
Formaldehyd ^a	fal	1	✓	✓	✓
Benzo(a)piren ^a	bap	1	✓	✓	✓
Nitrobenzen	nbz	2B	✓	✓	✓
Tlenek propylenu	prp	2B	✓	✓	✓
Eter allilowo-glicydylowy	age	NC		✓	
Alfa-metylostyren	ams	2B		✓	
2-dibromo-3-chloropropan	dbcp	2B		✓	✓
2-dibromoetan	dbe	2A		✓	✓
Dekalina	dcn	NC		✓	
Hydrazyna	hyr	2A		✓	✓
Azotyn izobutyli	isn	2B		✓	✓
Naftalen	nap	2B		✓	✓
Eter mono-t-butyłowy glikolu propylenowego	pge	2B		✓	

^aWHO TobReg lista składników dymu do obowiązkowego obniżenia [11]. CS — dym papierosowy; HTP — produkt oparty na podgrzewaniu tytoniu; NC — nieklasyfikowany przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem (IARC, *International Agency for Research on Cancer*)

się w różnicę lub odległość na skali logarytmicznej). Jako związek referencyjny wybrano 1,3-butadien (but), ponieważ dane dotyczące odpowiedzi na dawkę były dostępne dla wszystkich kategorii stopnia ciężkości 2–5. Powodem wyboru tego samego związku referencyjnego dla każdej kategorii stopnia ciężkości było to, że BMD mogą systematycznie różnić się między tymi kategoriami, natomiast szacunkowe RPF mogą być mniej zależne od kategorii. Do oszacowania RPF dla każdej z kategorii stopnia ciężkości 2–5 zastosowano model wykładniczy (patrz: materiały uzupełniające SM2). Umożliwiło to określenie RPF dla związków 9, 13, 4 i 13, związanych odpowiednio z kategoriami stopnia ciężkości 2–5. Przełożono je na pojedynczy przedział ufności RPF dla każdego związku (patrz: materiały uzupełniające SM2), uzyskując przedziały ufności przedstawione w tabeli 2.

Etap 4. Ocena danych dotyczących emisji

Inwentaryzację sporządzono z uwzględnieniem składników dymu mierzonych w przypadku HTP i konwencjonalnych papierosów [24–29]. Z uwagi na to, że przedmiotem zainteresowania była względna zmiana emisji między HTP a papierosem, wybrano badanie przeprowadzone przez Schaller i wsp. [28], ponieważ zmierzli oni emisje w podobnych warunkach w obu produktach, stosując podobne założenia dotyczące zachowań związanych z paleniem. Ewentualną znajomość różnych zachowań związanych z paleniem w przypadku

Tabela 2. Przedziały ufności dla RPF dla każdego związku w odniesieniu do 1,3-butadienu, oszacowane na podstawie analizy BMD danych dotyczących odpowiedzi na dawkę dostępnych do badań nad rakotwórczością inhalowanych substancji. Bardziej szczegółowe dane dotyczące kategorii stopnia ciężkości oraz sposobu ich integracji w jeden pojedynczy przedział ufności dla każdego związku przedstawiono w materiałach uzupełniających SM2

Substancja	LB	UB
1,3-Butadien ^{**a} (BMD)	30,3	56
Akrylonitryl ^a	5,76	192
Eter allilowo-glicydylowy	0,089	2,69
Aldehyd octowy ^a	0,469	0,931
Alfa-metylostyren	0,583	5,39
Benzo(a)piren ^a	29,3	187
1,2-dibromo-3-chloropropan	8,95	26,6
1,2-dibromoetan	0,575	1,67
Dekalina	0,0175	0,11
Tlenek etylenu ^a	21,7	71,5
Formaldehyd ^b	68,2	129
Hydrazyna	5,65	560
Azotyn izobutyli	0,176	3,7
Naftalen	0,339	0,726
Nitrobenzen ^a	0,115	11,3
Eter mono-t-butyłowy glikolu propylenowego	0,61	5,9
Tlenek propylenu ^a	1,85	22,8

^aDostępne są również dane dotyczące emisji; LB — 5% dolna granica niepewności; UB — 95% górna granica niepewności

Tabela 3. Granice niepewności dla (geometrycznej) średniej emisji na wkład (HTP) lub na papierosa na podstawie danych z badania Schaller i wsp. [30]

Związek	Emisja HTP ($\mu\text{g}/\text{wkład}$)		Emisja papierosa ($\mu\text{g}/\text{papierosa}$)	
	LB	UB	LB	UB
Akrylonitryl	0,142	0,320	30,82	32,71
Aldehyd octowy	143	321	1048	2358
Benzo(a)piren	0,00092	0,00207	0,0093	0,0209
1,3-Butadien	0,212	0,477	51,02	114,79
Tlenek etylenu	0,162	0,364	21,14	47,56
Formaldehyd	3,560	8,010	41,53	93,45
Nitrobenzen	0,00006	0,00051	0,00015	0,0327
Tlenek propylenu	0,102	0,229	1,005	2,260

HTP — produkt oparty na podgrzewaniu tytoniu; LB — 5% dolna granica niepewności; UB — 95% górna granica niepewności

obu produktów (np. kiedy liczba zaciągnięć na minutę jest większa w jednym produkcie) należy uwzględnić w przedstawionej metodzie, jak pokazano w Załączniku A w materiałach uzupełniających.

Stężenia określone w pracy Schaller i wsp. [30] porównano z innymi publikacjami opisującymi dane dotyczące emisji HTP [26, 27, 29, 31], aby upewnić się, że były one w tym samym zakresie. Stwierdzono pewne różnice, które można wyjaśnić różnymi stosowanymi schematami palenia; jednak to nie same emisje, ale stosunek między emisjami wpływa na szacunkową wartość CCE. Zakładając, że oba produkty były mierzone w ten sam, prawidłowy sposób, stosunek pomiarów powinien dostarczać odpowiednich informacji.

W tabeli 3 przedstawiono niepewność średnich emisji dla każdego z obu produktów wyrażoną jako (dwustronne) 90-procentowe przedziały ufności (CI, *confidence interval*) na podstawie powtórzonych pomiarów (patrz: materiały uzupełniające SM2).

Etap 5. Określenie zmiany skumulowanej emisji

Skumulowaną emisję ośmiu związków zarówno dla papierosa, jak i HTP obliczono z uwzględnieniem RPF (w stosunku do 1,3-butadienu) dla każdego związku. Umożliwiło to oszacowanie skumulowanej emisji, wyrażonej w ilościach 1,3-butadienu. Stosunek dwóch szacunkowych wartości odzwierciedla zmianę łącznej emisji alternatywnego produktu (np. HTP) w porównaniu z papierosem:

$$CCE = \text{zmiana skumulowanej emisji} = \frac{\sum_i E_{cig_i} \cdot RPF_i}{\sum_i E_{htp_i} \cdot RPF_i} \quad (1)$$

gdzie i w indeksie dolnym oznacza określony związek, a E_{cig} i E_{htp} emisję odpowiednio w $\mu\text{g}/\text{papierosa}$ i $\mu\text{g}/\text{wkład}$ HTP. Wartość CCE większa niż 1 wskazuje

na zmniejszenie skumulowanej emisji w stosunku do dymu papierosowego i odwrotnie. Należy zauważyć, że wybranie innego związku referencyjnego skutkowałoby takim samym oszacowaniem CCE.

Połączono przedziały ufności dla emisji ośmiu związków (w papierosach i HTP) z przedziałami ufności dla RPF i zastosowano to w podejściu probabilistycznym do obliczenia całkowitej niepewności w oszacowanej CCE. Oceny probabilistycznej dokonuje się poprzez zdefiniowanie (logarytmiczno-normalnego) rozkładu dla E_{cig} , E_{rpf} i RPF, na podstawie ich dolnej i górnej (dwustronnej) granicy 90% CI, przedstawionej w tabelach 2 i 3. Następnie dla każdego z tych trzech rozkładów próbkowana jest duża liczba (n) wartości i dla każdej kombinacji trzech losowo próbkowanych wartości obliczana jest ekspresja, co daje n wartości CCE. Razem wartości te tworzą rozkład niepewności dla CCE, którego 5. i 95. percentyl określają dwustronny 90% CI dla CCE.

Jak przedstawiono w tabeli 1, było osiem związków, dla których dostępne były zarówno dane dotyczące emisji, jak i szacunki dotyczące RPF. Na podstawie tych ośmiu związków zakres niepewności określony w probabilistycznej ocenie CCE [patrz: wyrażenie (1)] wyniósł 9,6–26. Innymi słowy, szacuje się, że skumulowana emisja dla tej mieszanki składającej się z ośmiu związków jest od 10 do 25 razy mniejsza (po zaokrągleniu) w przypadku wypalenia takiej samej liczby HTP zamiast papierosów (przy podobnych zachowaniach związanych z paleniem dla obu produktów).

Etap 6. Wpływ CCE na zdrowie

Ostatnie pytanie, na które należy odpowiedzieć, dotyczy tego, jaki (indywidualny) wpływ na zdrowie może mieć zmniejszenie (skumulowanej) ekspozycji na czynnik o około 10 do 25 razy. Jedną z zalet proponowa-

nej metody jest to, że 10–25-krotne CCE odnosi się do całej mieszaniny (analizowanej) lub, równoważnie, do dowolnego pojedynczego związku traktowanego jako referencyjny (ryc. 1). W związku z tym można wykorzystać ogólną wiedzę na temat typowej stromości zależności toksykologicznej między dawką a odpowiedzią dla pojedynczego związku, aby wyciągnąć wnioski na temat jego wpływu na zdrowie. Na podstawie stromości odpowiedzi na dawkę można wnioskować, czy 10- lub 25-krotne zmniejszenie dawki doprowadzi do niewielkiego lub znacznego ograniczenia efektu. Ilościowe zależności między dawką a odpowiedzią (opisujące częstość występowania efektu jako funkcję dawki) nie są jednak odpowiednie do tego celu, ponieważ będą bardziej strome u zwierząt niż u ludzi, z uwagi na fakt, że zwierzęta, u których wykonuje się badania toksyczności, są znacznie bardziej jednorodne niż ludzie. Zależności między dawką a odpowiedzią o charakterze ciągłym nie są wrażliwe na zmienność międzyosobniczą i nie ma powodu, aby różniły się kształtem wśród zwierząt, także wśród ludzi. Potwierdza to ponowna analiza dużej liczby zestawów danych dotyczących odpowiedzi na dawkę uzyskanych u szczurów i myszy [32]. Z ogólnego doświadczenia i przeglądów systematycznych [22] wiadomo, że odpowiedzi na dawkę związane z punktami końcowymi o charakterze ciągłym są ogólnie dość jednorodne pod względem stromości: stosunek między BMD10 i BMD05 (dawki związane z wielkością efektu 10% i 5%) wynosi zwykle około lub poniżej 2. W przypadku odpowiedzi na dawkę wyrażonej jako czas do rozwoju nowotworu opisanej w badaniu na dużych szczurach [33] stwierdzono, że stosunek BMD10/BMD05 mieścił się w przedziale ufności między 2 a 2,6 [22]. W przypadku wartości CCE w przedziale od 2 do 2,6 skrócenie długości życia szczurów zmniejszyłyby się zatem z 10% do 5%. Oznacza to, że CCE między 10 a 25 powinno wiązać się z jeszcze większym (korzystnym) wpływem na długość życia.

Innym podejściem do powiązania CCE z wpływem na zdrowie jest wykorzystanie informacji na temat reakcji na dawkę u palaczy. Na przykład w przeprowadzonym ostatnio badaniu [34] porównano osoby palące rzadziej niż codziennie i palące codziennie (50 vs. 600 papierów miesięcznie) i stwierdzono, że oczekiwana długość życia w obu grupach zmniejszyła się odpowiednio o 5 i 10 lat. Różnica w ekspozycji na dym papierosowy (tj. nieco ponad 10-krotna) wyraźnie wiązała się ze zwiększeniem oczekiwanej długości życia o 5 lat. Ponieważ różnica w ekspozycji pomiędzy palącymi rzadziej niż codziennie i palącymi codziennie jest porównywalna z 10-krotną wartością CCE (granica dolna) między HTP a papierosem, można wywnioskować, że wpływ tej wielkości CCE na zdrowie jest znaczny. Jednocześnie odnotowano, że osoby

niepalące codziennie żyją 5 lat krócej w porównaniu z osobami niepalącymi, co wskazuje, że HTP nadal wiązałyby się ze znacznym skróceniem życia (wynoszącym około 5 lat).

Wynik badania na szczurach wykazał, że zmniejszenie skrócenia zdrowego życia z 10% do 5% wiązałyby się ze zmniejszeniem dawki od 2 do 2,6 raza, natomiast w badaniu przeprowadzonym u palaczy stwierdzono, że przybliżona zmiana długości życia wiązałyby się ze zmniejszeniem ekspozycji o współczynnik wynoszący około 10. Wydaje się to zaprzeczać poczynionemu właśnie założeniu, że odpowiedzi na dawki (o charakterze ciągłym) są równie strome dla różnych gatunków. Można to jednak wytłumaczyć faktem, że obserwowana reakcja na dawkę w odniesieniu do oczekiwanej długości życia u osób (nie)palących codziennie obejmuje różne rodzaje efektów, w tym choroby nowotworowe i układu sercowo-naczyniowego, co może prowadzić do mniej stromej odpowiedzi na dawkę w zakresie ogólnej oczekiwanej długości życia.

Podsumowując, wydaje się, że uzasadniony jest wniosek, iż stosowanie HTP zamiast papierosów będzie się wiązało ze znacznym wydłużeniem oczekiwanej długości życia w podgrupie palaczy, którzy umarliby z powodu choroby nowotworowej. Oczekuje się jednak, że spożywanie HTP będzie miało znaczący negatywny wpływ na zdrowie w porównaniu z całkowitą abstynencją od wyrobów tytoniowych.

Dyskusja

Autorzy niniejszej pracy opracowali metodologię oceny potencjalnej wielkości wpływu na zdrowie podczas porównywania palenia papierosów ze stosowaniem alternatywnego produktu tytoniowego (przy podobnym schemacie konsumpcji; patrz: Załącznik A w materiałach uzupełniających, w przypadku kiedy wiadomo, że wzorzec konsumpcji jest inny). Zaproponowana metoda została zastosowana do chorób nowotworowych, ale autorzy zamierzają ocenić, czy można ją dostosować do innych rodzajów efektów zdrowotnych (np. w zakresie układu sercowo-naczyniowego), które mogą być spowodowane używaniem wyrobów tytoniowych. Metodę tę można również zastosować do oceny rakotwórczości innych złożonych mieszanin. Przedstawiona metoda nie uwzględnia potencjalnego wpływu produktu alternatywnego na zdrowie publiczne na poziomie populacyjnym. Konieczne informacje (np. całkowite liczba wszystkich użytkowników TRP, podwójnych użytkowników TRP i papierosów oraz osób pierwotnie stosujących TRP, które przechodzą na palenie papierosów) nie są dostępne w czasie wprowadzania nowego TRP na rynek i można je oszacować jedynie na podstawie informacji z innych rynków, podobnych produktów lub szacowanej

atrakcyjności produktu dla kilku odpowiednich grup użytkowników.

Oszacowanie ryzyka rozwoju choroby nowotworowej (jako jednego potencjalnego rodzaju efektów, jakie może wywołać palenie tytoniu) poprzez zastosowanie obecnie dostępnych metod oceny ryzyka związanego z każdym pojedynczym składnikiem mieszaniny jest prawie niemożliwe ze względu na dużą liczbę związków obecnych w dymie papierosowym oraz z uwagi na fakt, że aktualnie stosowane metody mają na celu raczej ocenę bezpieczeństwa niż szacowanie skutków zdrowotnych. Ponadto wykazano, że wartości ryzyka jednostki inhalacyjnej (jedna z obecnie stosowanych metod oceny ryzyka rozwoju choroby nowotworowej) nie dostarczają (lub prawie nie dostarczają) informacji na temat (względnej) siły działania związków (patrz: Załącznik C w materiałach uzupełniających). Zamiast tego oszacowano względne siły działania związków na podstawie modelowania odpowiedzi na dawkę, które jest (statystycznie) odpowiednią metodą do tego celu. Koncentrując się na szacowaniu CCE, pominięto różne trudności, które pojawiają się przy stosowaniu obecnych metod oceny ryzyka związanego z każdym poszczególnym związkiem. Jak wykazano w dyskusji dotyczącej 6. etapu w studium przypadku, o wiele łatwiej jest wyciągnąć wnioski na temat wpływu na zdrowie na podstawie CCE w stosunku do papierosów. Główne założenie w przedstawionych obliczeniach dotyczących CCE jest takie, że względne siły działania związków oszacowane na podstawie danych dotyczących zwierząt są w przybliżeniu takie same dla ludzi. Na podstawie CCE wnioski dotyczące wpływu na zdrowie można sformułować na podstawie ogólnych informacji na temat reakcji na dawkę obejmujących ogólnie stromość krzywych dawka-odpowiedź lub dostępne informacje dotyczące reakcji na dawkę u osób palących z różną intensywnością. W związku z tym stwierdzono, że współczynnik CCE najprawdopodobniej mieści się w granicach między 10 a 25, kiedy porównuje się główne rodzaje HTP z papierosami i że nawet dolna granica tego zakresu niepewności wiązałaby się ze znacznym wpływem na zdrowie na korzyść HTP. Oczywiście, największy wpływ na zdrowie będzie dotyczył nałogowych palaczy, którzy przestawili się na HTP w młodym wieku.

Niektóre zalety metod

Główną zaletą proponowanego podejścia jest uwzględnienie niepewności w ostatecznym oszacowaniu CCE, co nie jest możliwe przy zastosowaniu metod opartych na ryzyku jednostki inhalacyjnej. Jak wykazało probabilistyczne obliczenie CCE, niepewność tej wartości (w zakresie od 10 do 25 razy) w tym konkretnym studium przypadku jest stosunkowo niewielka i pozwala na stwierdzenie, że redukcja skumulowanej emisji jest znaczna, nawet dla dolnej granicy szacunkowej wartości

CCE. Jednak w innych przypadkach, na przykład gdy dane dla niektórych związków są bardziej ograniczone, oszacowana CCE może charakteryzować się znacznie większą niepewnością. W takich przypadkach pojedyncza wartość punktowa, bez zakresu niepewności, może rzeczywiście wprowadzać w błąd i łatwo można wyciągnąć błędne wnioski.

Charakterystycznym elementem 2. i 3. etapu jest zastosowanie analizy odpowiedzi na dawkę do połączonych zestawów danych dostępnych dla jednego dopasowania modelu. Metoda ta pozwala na oszacowanie RPF dla czynników rakotwórczych o niewielkiej ilości dostępnych danych lub czynników rakotwórczych nie wykazujących znaczącego wzrostu częstości występowania nowotworów wraz ze zwiększeniem dawki; jest to możliwe dzięki zastosowaniu podejścia opartego na współzmiennych w analizie odpowiedzi na dawkę [35]. Takie ubogie lub słabe zbiory danych mogły prowadzić do uzyskania przedziałów ufności RPF z dolną granicą = 0 i górną granicą = nieskończoność, tj. nie dających żadnych informacji. W podejściu opartym na współzmiennych nawet zbiory danych z nieistotnym trendem umożliwią uzyskanie użytecznego przedziału ufności RPF (z dolną granicą wynoszącą 0, ale ze skończoną wartością górnej granicy), a niepewność można oszacować na podstawie probabilistycznej oceny CCE. W ten sposób niepewność wynikająca ze słabych zbiorów danych jest przenoszona na niepewność końcowej wartości CCE. Należy podkreślić, że bardzo małe wartości RPF prawie nie zmieniają wartości CCE.

Liczba uwzględnionych związków

Przedstawiona analiza opiera się tylko na ośmiu rakotwórczych składnikach dymu, podczas gdy znajduje się w nim znacznie więcej czynników rakotwórczych. Gdyby jednak założyć, że te osiem związków jest reprezentatywną próbką wszystkich czynników rakotwórczych występujących w dymie, to zwiększenie liczby związków w analizie spowoduje, że oszacowanie CCE będzie bardziej wiarygodne, ale najprawdopodobniej nie będzie diametralnie różne. Niemniej jednak lepiej byłoby uwzględnić więcej czynników rakotwórczych w analizie, jeśli dostępne są odpowiednie dane. Na przykład niektóre związki mogą wykazywać wyższe, a nie niższe emisje w HTP, co może obniżyć wartość CCE. Na taką możliwość zwrócili uwagę St Helen i wsp. [36], którzy twierdzili, że zawartość 22 substancji były trzykrotnie większa, a 7 substancji ponad 10-krotnie większa w HTP (IQOS) niż w referencyjnym dymie papierosowym 3R4F. Dopóki informacje te nie zostaną uwzględnione w analizie szacującej CCE, ich wpływ na CCE i związków z tym wpływem na zdrowie pozostaje niejasny. W przypadku stosunkowo wysokich wartości RPF wartość CCE może ulec obniżeniu, jednak stosunkowo małe RPF nie wykazują takiego wpływu.

Ograniczenia dotyczące oceny rakotwórczości na podstawie analizy reakcji na dawkę

Autorzy starali się uzyskać jak najlepsze szacunki względnej siły działania poszczególnych związków, stosując najnowszą metodologię BMD i uwzględniając możliwie w największym zakresie czynniki biologiczne, jednak w analizie odpowiedzi na dawkę pozostają pewne kwestie, które wymagają odniesienia. Po pierwsze, dla wszystkich badań trwających dłużej niż 96 tygodni uznano, że czas ich trwania jest podobny, chociaż wiadomo, że czas trwania badania może mieć znaczny wpływ na odpowiedź na dawkę w przypadku punktów końcowych dotyczących rozwoju choroby nowotworowej (patrz: np. badanie u wielkich myszy z użyciem 2-acetyloaminofluoryny [37]). W celu jeszcze większej poprawy oszacowania RPF, należy opracować takie modele odpowiedzi na dawkę, które pozwolą w skuteczny sposób uwzględniać czas trwania badania. Biorąc pod uwagę obecny stan wiedzy, podejście autorów polegało na założeniu braku różnic w czasie trwania badania. Większość zbiorów danych dotyczyła badań trwających około 100 tygodni, a tylko kilka pochodziło z badań trwających 120 lub 150 tygodni — w związku z tym można ograniczyć też błędy systemowe dotyczące szacowania RPF. Inną kwestią jest to, że RPF były oparte na zestawach danych z bardzo różnymi podstawowymi odpowiedziami. Wykorzystano dodatkowe ryzyko jako sposób skorygowania odpowiedzi w tle, ponieważ jest to domyślny sposób wyrażania BMR przez większość organizacji międzynarodowych (np. EPA [38], EFSA [39], WHO [40], WHO-IPCS [41]). Problem polega jednak na tym, że nie wiadomo do końca, jak właściwie skorygować odpowiedzi w tle [41]. Może to również prowadzić do błędów systemowych w niektórych szacunkach RPF. Wydaje się jednak mało prawdopodobne, aby miało znaczący wpływ na ogólny szacunek CCE.

Korzystanie z alternatywnych danych

Badania dotyczące rakotwórczości prowadzi się obecnie tylko wtedy, gdy uważa się je za niezbędne, dlatego należy ocenić możliwość alternatywnego podejścia do szacowania RPF dla związków rakotwórczych. Jedną z obiecujących metod jest zależność między BMD uzyskanymi w testach mikrojądrowych *in vivo* (tj. krótko-okresowego testu genotoksyczności, oceniającego aberracje chromosomowe) a BMD z badań nad rakotwórczością [35, 42–48]. Z korelacji tej bezpośrednio wynika, że dane z testu mikrojądrowego *in vivo* mogą być odpowiednim surrogatem do oszacowania RPF dla czynników rakotwórczych. W przypadku niegenotoksycznych czynników rakotwórczych możliwą opcją jest zastosowanie subchronicznych najwyższych poziomów narażenia (NOAEL, *no-observed adverse effect level*) (lub

najkorzystniejszej BMDL), ponieważ, jak stwierdzono, dobrze korelują z BMD z badań nad rakotwórczością [49].

Implikacje dla polityki zdrowotnej i praktyki

Przedstawiona metoda może mieć istotne konsekwencje dla polityki zdrowotnej i praktyki, ponieważ stanowi narzędzie do oceny wpływu na zdrowie osoby, która przestawia się z palenia papierosów na nowe TRP.

Umożliwia ona określenie zakresu niepewności dla CCE, który sam w sobie dostarcza informacji przydatnych przynajmniej dla porównania różnych nowych TRP. Uwzględniając zakres niepewności w odniesieniu do CCE, w każdym konkretnym przypadku dostarcza decydom wiedzy na temat tego, czy dostępne informacje naukowe są słabe lub wystarczająco mocne, aby stanowić podstawę podejmowanych decyzji. Ponadto potencjalny wpływ na zdrowie związany z określonymi wartościami CCE można oszacować na podstawie ogólnych informacji dotyczących stromości toksykologicznych zależności dawka-odpowiedź w ogóle lub bardziej szczegółowych informacji dotyczących odpowiedzi na dawkę u palaczy.

Podziękowania

Badanie finansowała Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority (NVWA), Utrecht, Holandia.

Piśmiennictwo

1. El-Toukhy S, Baig SA, Jeong M, et al. Impact of modified risk tobacco product claims on beliefs of US adults and adolescents. *Tob Control*. 2018; 27(Suppl 1): s62–s69, doi: [10.1136/tobaccocontrol-2018-054315](https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2018-054315), indexed in Pubmed: 30158212.
2. Elias J, Dutra LM, St Helen G, et al. Revolution or redux? Assessing IQOS through a precursor product. *Tob Control*. 2018; 27(Suppl 1): s102–s110, doi: [10.1136/tobaccocontrol-2018-054327](https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2018-054327), indexed in Pubmed: 30305324.
3. Hair EC, Bennett M, Sheen E, et al. Examining perceptions about IQOS heated tobacco product: consumer studies in Japan and Switzerland. *Tob Control*. 2018; 27(Suppl 1): s70–s73, doi: [10.1136/tobaccocontrol-2018-054322](https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2018-054322), indexed in Pubmed: 29764957.
4. Kim J, Yu H, Lee S, et al. Awareness, experience and prevalence of heated tobacco product, IQOS, among young Korean adults. *Tob Control*. 2018; 27(Suppl 1): s74–s77, doi: [10.1136/tobaccocontrol-2018-054390](https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2018-054390), indexed in Pubmed: 30158210.
5. Nyman AL, Weaver SR, Popova L, et al. Awareness and use of heated tobacco products among US adults, 2016–2017. *Tob Control*. 2018; 27(Suppl 1): s55–s61, doi: [10.1136/tobaccocontrol-2018-054323](https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2018-054323), indexed in Pubmed: 30158204.
6. Tabuchi T, Gallus S, Shinozaki T, et al. Heat-not-burn tobacco product use in Japan: its prevalence, predictors and perceived symptoms from exposure to secondhand heat-not-burn tobacco aerosol. *Tob Control*. 2018; 27(e1): e25–e33, doi: [10.1136/tobaccocontrol-2017-053947](https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2017-053947), indexed in Pubmed: 29248896.
7. Martin F, Vuillaume G, Baker G, et al. Quantifying the risk-reduction potential of new Modified Risk Tobacco Products. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2018; 92: 358–369, doi: [10.1016/j.yrtph.2017.12.011](https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.12.011), indexed in Pubmed: 29258927.
8. FDA. (2017). US Food and Drug Administration: Philip Morris Products S.A. Modified Risk Tobacco Product (MRTP) Applications. <https://www.fda.gov/tobacco-products/moderated-risk-tobacco-products>

- www.fda.gov/TobaccoProducts/Labeling/MarketingandAdvertising/ucm546281.htm.
9. World Health Organization (WHO). (2014). Work in progress in relation to Articles 9 and 10 of the WHO FCTC.
 10. USDHHS. (2014). US Department of Health and Human Services (USDHHS). The Health Consequences of Smoking -50 Years of Progress. A Report of the Surgeon General. <https://www.surgeongeneral.gov/library/reports/50-yearsof-progress/full-report.pdf>.
 11. Burns DM, Dybing E, Gray N, et al. Mandated lowering of toxicants in cigarette smoke: a description of the World Health Organization TobReg proposal. *Tob Control*. 2008; 17(2): 132–141, doi: [10.1136/tc.2007.024158](https://doi.org/10.1136/tc.2007.024158), indexed in Pubmed: [18375736](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18375736/).
 12. Cunningham FH, Fiebelkorn S, Johnson M, et al. A novel application of the Margin of Exposure approach: segregation of tobacco smoke toxicants. *Food Chem Toxicol*. 2011; 49(11): 2921–2933, doi: [10.1016/j.fct.2011.07.019](https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.07.019), indexed in Pubmed: [21802474](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21802474/).
 13. Fowles J, Dybing E. Application of toxicological risk assessment principles to the chemical constituents of cigarette smoke. *Tob Control*. 2003; 12(4): 424–430, doi: [10.1136/tc.12.4.424](https://doi.org/10.1136/tc.12.4.424), indexed in Pubmed: [14660781](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14660781/).
 14. Lachenmeier DW, Rehm J. Comparative risk assessment of alcohol, tobacco, cannabis and other illicit drugs using the margin of exposure approach. *Sci Rep*. 2015; 5: 8126, doi: [10.1038/srep08126](https://doi.org/10.1038/srep08126), indexed in Pubmed: [25634572](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25634572/).
 15. Pankow JF, Watanabe KH, Tocalino PL, et al. Calculated cancer risks for conventional and „potentially reduced exposure product” cigarettes. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007; 16(3): 584–592, doi: [10.1158/1055-9965.EPI-06-0762](https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0762), indexed in Pubmed: [17372256](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17372256/).
 16. Xie J, Marano KM, Wilson CL, et al. A probabilistic risk assessment approach used to prioritize chemical constituents in mainstream smoke of cigarettes sold in China. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2012; 62(2): 355–362, doi: [10.1016/j.yrtph.2011.10.017](https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2011.10.017), indexed in Pubmed: [22085590](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22085590/).
 17. Stephens WE. Comparing the cancer potencies of emissions from vapourised nicotine products including e-cigarettes with those of tobacco smoke. *Tob Control*. 2017 [Epub ahead of print], doi: [10.1136/tobaccocontrol-2017-053808](https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2017-053808), indexed in Pubmed: [28778971](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28778971/).
 18. Meek ME, Boobis AR, Crofton KM, et al. Risk assessment of combined exposure to multiple chemicals: A WHO/IPCS framework. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2011 [Epub ahead of print], doi: [10.1016/j.yrtph.2011.03.010](https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2011.03.010), indexed in Pubmed: [21466831](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21466831/).
 19. EUROMIX. (2017). Proceeding of the Stakeholder Workshop of the Euromix project, Brussels. <https://www.euromixproject.eu/2017/05/23/euromix-stakeholderworkshop/>.
 20. CPD. (2018). Carcinogenic Potency Database. <http://potency.berkeley.edu/index.html>.
 21. NTP. (2018). National Toxicology Program. <http://ntp.niehs.nih.gov/>.
 22. Slob W, Setzer RW. Shape and steepness of toxicological dose-response relationships of continuous endpoints. *Crit Rev Toxicol*. 2014; 44(3): 270–297, doi: [10.3109/10408444.2013.853726](https://doi.org/10.3109/10408444.2013.853726), indexed in Pubmed: [24252121](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24252121/).
 23. Hernandez, L. G., vanBenthem, J., & Slob, W. (2012). Estimating the carcinogenic potency of chemicals from the in vivo micronucleus test. *RIVM Report 340700007/340702012*.
 24. Auer R, Concha-Lozano N, Jacot-Sadowski I, Cornuz J, Berthet A. Heat-not-burn tobacco cigarettes: Smoke by any other name. *JAMA Internal Medicine* 2017; 177(7): 1050–1052. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2017.1419>.
 25. Bekki K, Inaba Y, Uchiyama S, et al. Comparison of chemicals in mainstream smoke in heat-not-burn tobacco and combustion cigarettes. *J UOEH*. 2017; 39(3): 201–207, doi: [10.7888/juoh.39.201](https://doi.org/10.7888/juoh.39.201), indexed in Pubmed: [28904270](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28904270/).
 26. Jaccard G, Tafin Djoko D, Moennikes O, et al. Comparative assessment of HPHC yields in the Tobacco Heating System THS2.2 and commercial cigarettes. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2017; 90: 1–8, doi: [10.1016/j.yrtph.2017.08.006](https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.08.006), indexed in Pubmed: [28818540](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28818540/).
 27. Mallock N, Böss L, Burk R, et al. Levels of selected analytes in the emissions of „heat not burn” tobacco products that are relevant to assess human health risks. *Arch Toxicol*. 2018; 92(6): 2145–2149, doi: [10.1007/s00204-018-2215-y](https://doi.org/10.1007/s00204-018-2215-y), indexed in Pubmed: [29730817](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29730817/).
 28. Schaller JP, Pijnenburg JPM, Ajithkumar A, et al. Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 3: Influence of the tobacco blend on the formation of harmful and potentially harmful constituents of the Tobacco Heating System 2.2 aerosol. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2016; 81 Suppl 2: S48–S58, doi: [10.1016/j.yrtph.2016.10.016](https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.10.016), indexed in Pubmed: [27793747](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27793747/).
 29. Uchiyama S, Noguchi M, Takagi N, et al. Simple determination of gaseous and particulate compounds generated from heated tobacco products. *Chem Res Toxicol*. 2018; 31(7): 585–593, doi: [10.1021/acs.chemrestox.8b00024](https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.8b00024), indexed in Pubmed: [29863851](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29863851/).
 30. Schaller JP, Keller D, Poget L, et al. Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 2: Chemical composition, genotoxicity, cytotoxicity, and physical properties of the aerosol. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2016; 81 Suppl 2: S27–S47, doi: [10.1016/j.yrtph.2016.10.001](https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.10.001), indexed in Pubmed: [27720919](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27720919/).
 31. Li X, Luo Y, Jiang X, et al. Chemical analysis and simulated pyrolysis of tobacco heating system 2.2 compared to conventional cigarettes. *Nicotine Tob Res*. 2019; 21(1): 111–118, doi: [10.1093/ntr/nty005](https://doi.org/10.1093/ntr/nty005), indexed in Pubmed: [29319815](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29319815/).
 32. Bokkers BGH, Slob W. Deriving a data-based interspecies assessment factor using the NOAEL and the benchmark dose approach. *Crit Rev Toxicol*. 2007; 37(5): 355–373, doi: [10.1080/10408440701249224](https://doi.org/10.1080/10408440701249224), indexed in Pubmed: [17612951](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17612951/).
 33. Peto R, Gray R, Brantom P, et al. Effects on 4080 rats of chronic ingestion of N-nitrosodiethylamine or N-nitrosodimethylamine: A detailed dose-response study. *Cancer Research*. 1991; 51(23 Pt 2): 6415–6451.
 34. Inoue-Choi M, McNeel TS, Hartge P, et al. Nondaily cigarette smokers: Mortality risks in the U.S. *Am J Prev Med*. 2019; 56(1): 27–37, doi: [10.1016/j.amepre.2018.06.025](https://doi.org/10.1016/j.amepre.2018.06.025), indexed in Pubmed: [30454906](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30454906/).
 35. Soeteman-Hernández LG, Johnson GE, Slob W. Estimating the carcinogenic potency of chemicals from the in vivo micronucleus test. *Mutagenesis*. 2016; 31(3): 347–358, doi: [10.1093/mutage/gev043](https://doi.org/10.1093/mutage/gev043), indexed in Pubmed: [26163673](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26163673/).
 36. St Helen G, Jacob III P, Nardone N, et al. IQOS: examination of Philip Morris International’s claim of reduced exposure. *Tob Control*. 2018; 27(Suppl 1): s30–s36, doi: [10.1136/tobaccocontrol-2018-054321](https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2018-054321), indexed in Pubmed: [30158205](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30158205/).
 37. Iltich C, Deml E, Oesterle D, et al. Prevalidation of a rat liver foci bioassay (RLFb) based on results from 1600 rats: a study report. *Toxicol Pathol*. 2003; 31(1): 60–79, doi: [10.1080/01926230390173888](https://doi.org/10.1080/01926230390173888), indexed in Pubmed: [12597450](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12597450/).
 38. USEPA. (2012). USEPA (2012). Benchmark Dose Technical Guidance. http://www.epa.gov/raf/publications/pdfs/benchmark_dose_guidance.pdf.
 39. EFSA. (2017). European Food Safety Authority. Update: Use of the benchmark dose approach in risk assessment. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4658>.
 40. WHO. (1994). Assessing human health risk of chemicals: Derivation of guidance values for health-based exposure limits. World Health Organization, Geneva. *Environmental Health Criteria*, 170.
 41. WHO-IPCS. (2014). Guidance document on evaluating and expressing uncertainty in hazard characterization. WHO/IPCS Harmonization Project Document no. 11. ISBN 978 92 4 150761 5. http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/hazard_assessment/en/.
 42. Bemis JC, Wills JW, Bryce SM, et al. Comparison of in vitro and in vivo clastogenic potency based on benchmark dose analysis of flow cytometric micronucleus data. *Mutagenesis*. 2016; 31(3): 277–285, doi: [10.1093/mutage/gev041](https://doi.org/10.1093/mutage/gev041), indexed in Pubmed: [26049158](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26049158/).
 43. Johnson G, Slob W, Doak S, et al. New approaches to advance the use of genetic toxicology analyses for human health risk assessment. *Toxicology Research*. 2015; 4(3): 667–676, doi: [10.1039/c4tx00118d](https://doi.org/10.1039/c4tx00118d).
 44. Johnson GE, Soeteman-Hernández LG, Gollapudi BB, et al. Derivation of point of departure (PoD) estimates in genetic toxicology studies and their potential applications in risk assessment. *Environ Mol Mutagen*. 2014; 55(8): 609–623, doi: [10.1002/em.21870](https://doi.org/10.1002/em.21870), indexed in Pubmed: [24801602](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24801602/).
 45. Soeteman-Hernández L, Fellows M, Johnson G, et al. Correlation of In Vivo Versus In Vitro Benchmark Doses (BMDs) Derived From Micronucleus Test Data: A Proof of Concept Study. *Toxicological Sciences*. 2015; 148(2): 355–367, doi: [10.1093/toxsci/kv189](https://doi.org/10.1093/toxsci/kv189).
 46. Wills JW, Johnson GE, Battaion HL, et al. Comparing BMD-derived genotoxic potency estimations across variants of the transgenic rodent gene mutation assay. *Environ Mol Mutagen*. 2017; 58(9): 632–643, doi: [10.1002/em.22137](https://doi.org/10.1002/em.22137), indexed in Pubmed: [28945287](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28945287/).
 47. Wills JW, Johnson GE, Doak SH, et al. Empirical analysis of BMD metrics in genetic toxicology part I: in vitro analyses to provide robust potency rankings and support MOA determinations. *Mutagenesis*. 2016; 31(3): 255–263, doi: [10.1093/mutage/gev085](https://doi.org/10.1093/mutage/gev085), indexed in Pubmed: [26687511](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26687511/).
 48. Wills JW, Long AS, Johnson GE, et al. Empirical analysis of BMD metrics in genetic toxicology part II: in vivo potency comparisons to promote reductions in the use of experimental animals for genetic toxicity assessment. *Mutagenesis*. 2016; 31(3): 265–275, doi: [10.1093/mutage/gev009](https://doi.org/10.1093/mutage/gev009), indexed in Pubmed: [26984301](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26984301/).
 49. Braakhuis HM, Slob W, Olthof ED, et al. Is current risk assessment of non-genotoxic carcinogens protective? *Crit Rev Toxicol*. 2018; 48(6): 500–511, doi: [10.1080/10408444.2018.1458818](https://doi.org/10.1080/10408444.2018.1458818), indexed in Pubmed: [29745287](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29745287/).