

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

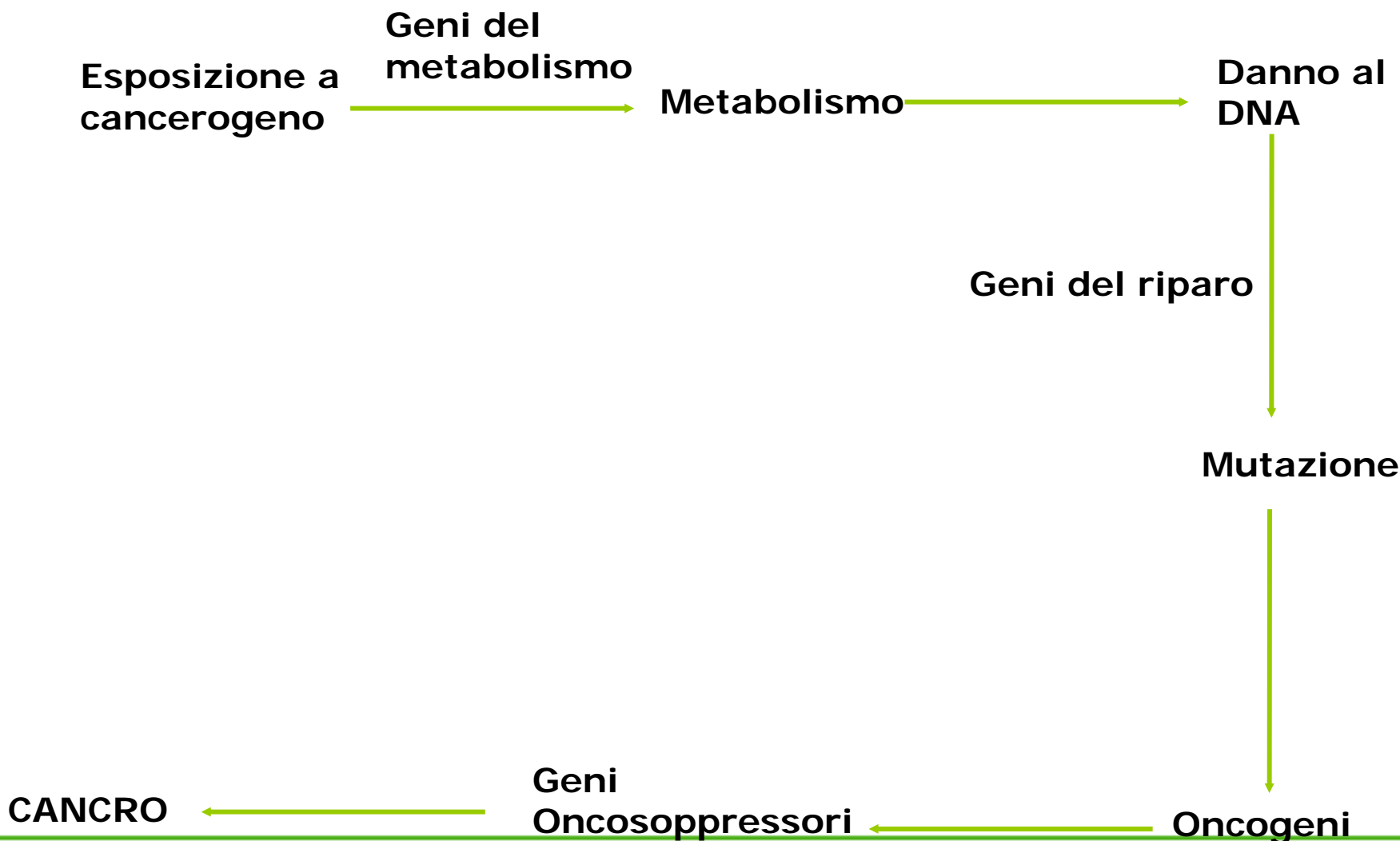
Istituto Superiore di Sanità

EFFETTI CMR E RELATIVI TEST

Annamaria Colacci

Agenzia Regionale Prevenzione e Ambiente
Emilia Romagna

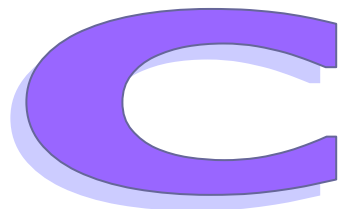
1. Introduzione



Informazioni necessarie per la valutazione di rischio

- Mutagenesi
- Cancerogenesi
- Tossicità Riproduttiva
- Ecotossicologia

I COMPOSTI CMR

A large, stylized purple letter 'C' with a slight 3D effect and a shadow.

CANCEROGENI

A large, stylized orange letter 'M' with a slight 3D effect and a shadow.

MUTAGENI

A large, stylized blue letter 'R' with a slight 3D effect and a shadow.

TOSSICI PER LA **R**IPRODUZIONE

I simboli dei composti CMR

T



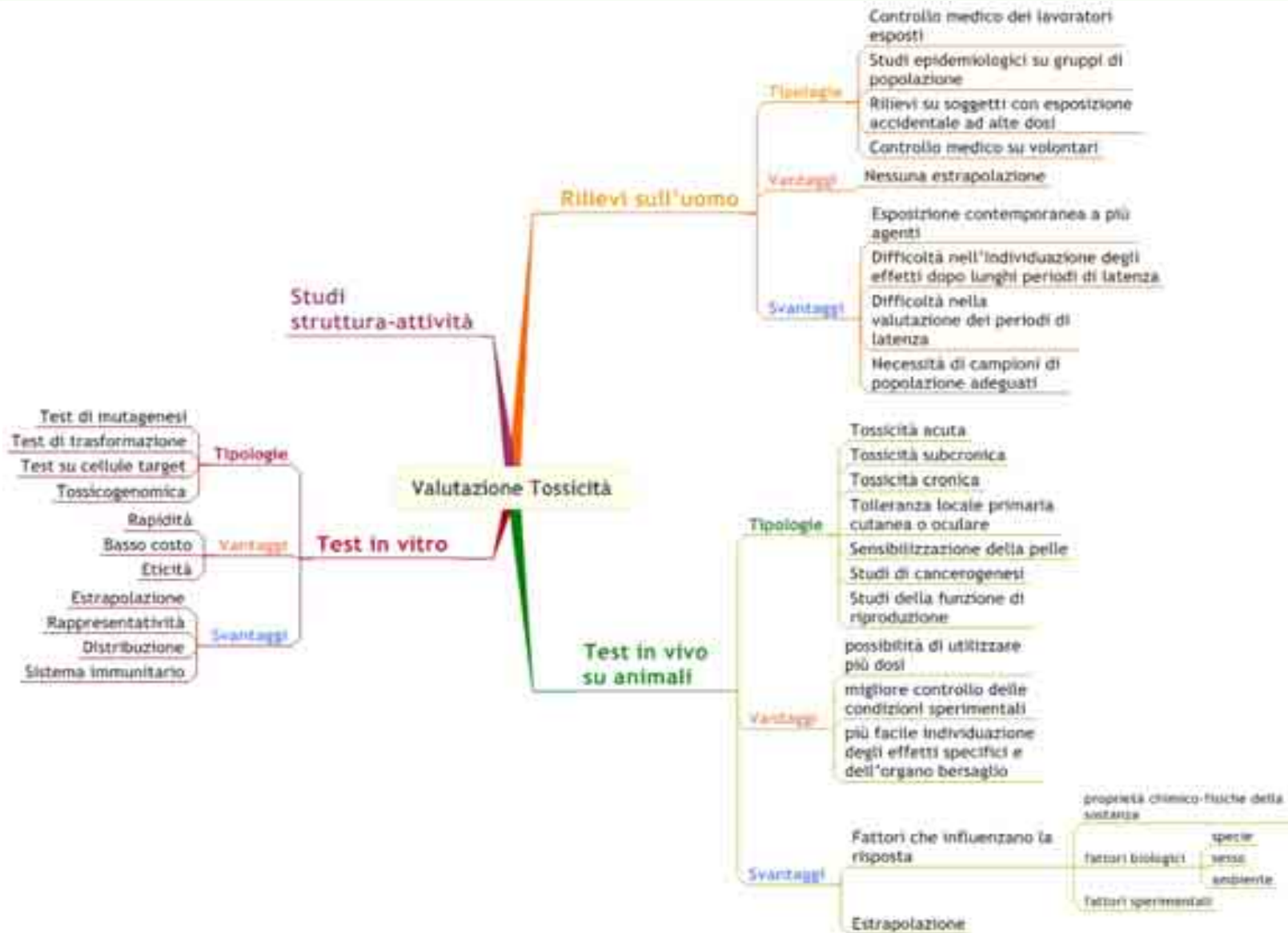
- Tossico

Xn



- Pericoloso

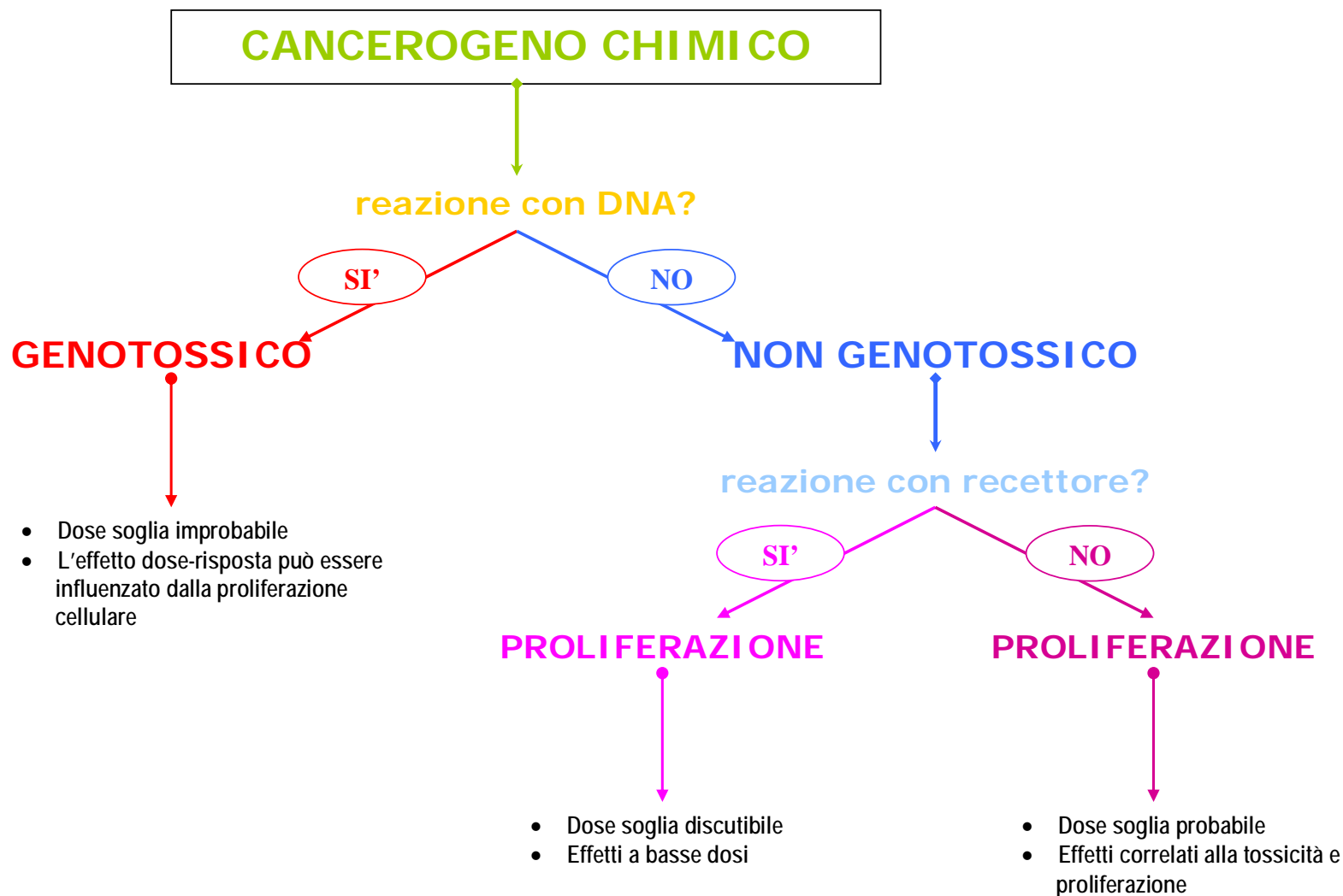
Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH





Disponibilità di dati tossicologici (%) per 2000 composti chimici ad alta produzione

Tossicità Acuta	90%
Tossicità SubAcuta	30%
Cancerogenicità	10%
Mutagenicità	50%
Tossicità riproduttiva	10%
Teratogenicità	30%
Ecotossicità Acuta	50%
Tossicità a breve termine	5%
Effetti sugli organismi del suolo	< 5%



2. Principi di mutagenesi

Mutagenesi

- Per mutageno o genotossico si intende un agente che è in grado di indurre mutazioni nel patrimonio genetico di un organismo vivente

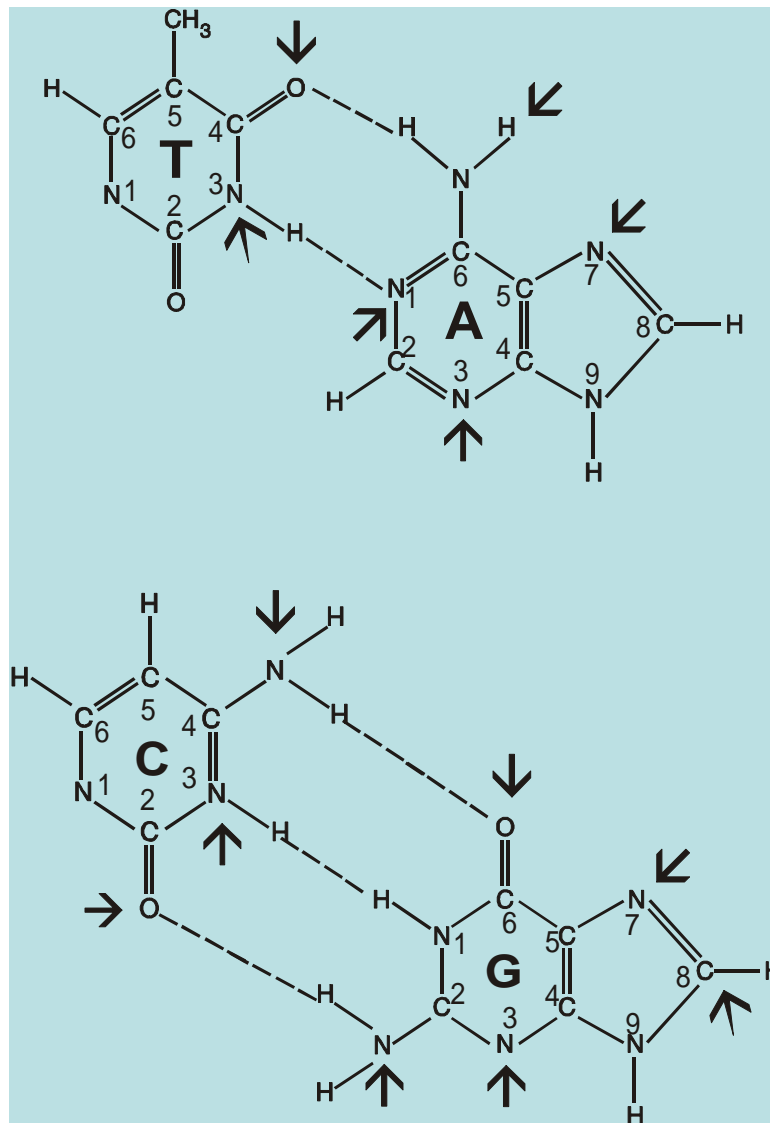
Mutagenesi

- Cellule germinali
 - sterilità, morte fetale,
 - teratogenesi
 - ereditabili
- Cellule somatiche
 - alterazioni cellulari, tumori
 - non ereditabili

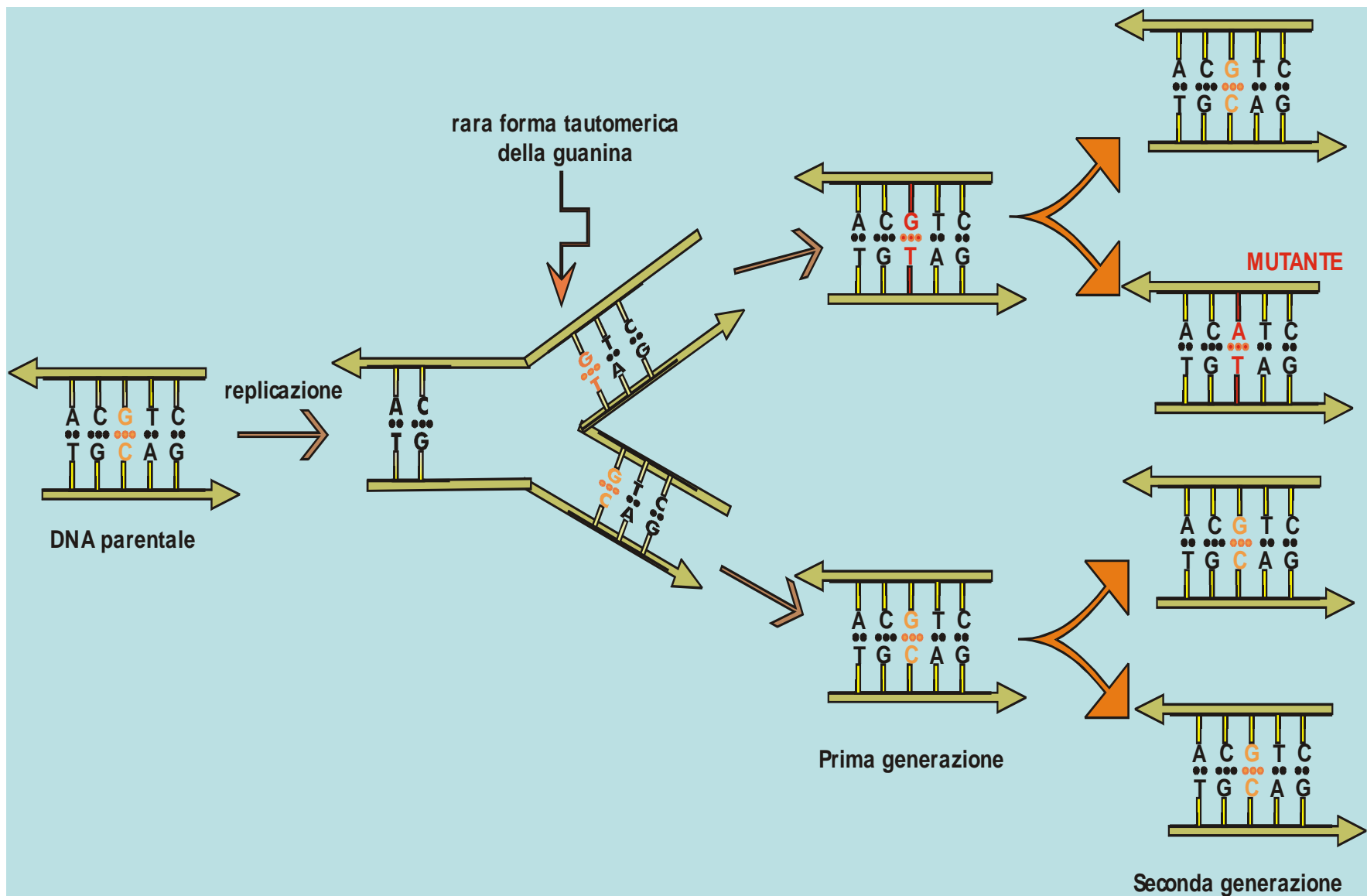
Mutagenesi

- Puntiformi
- Aberrazioni Cromosomiche

Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH



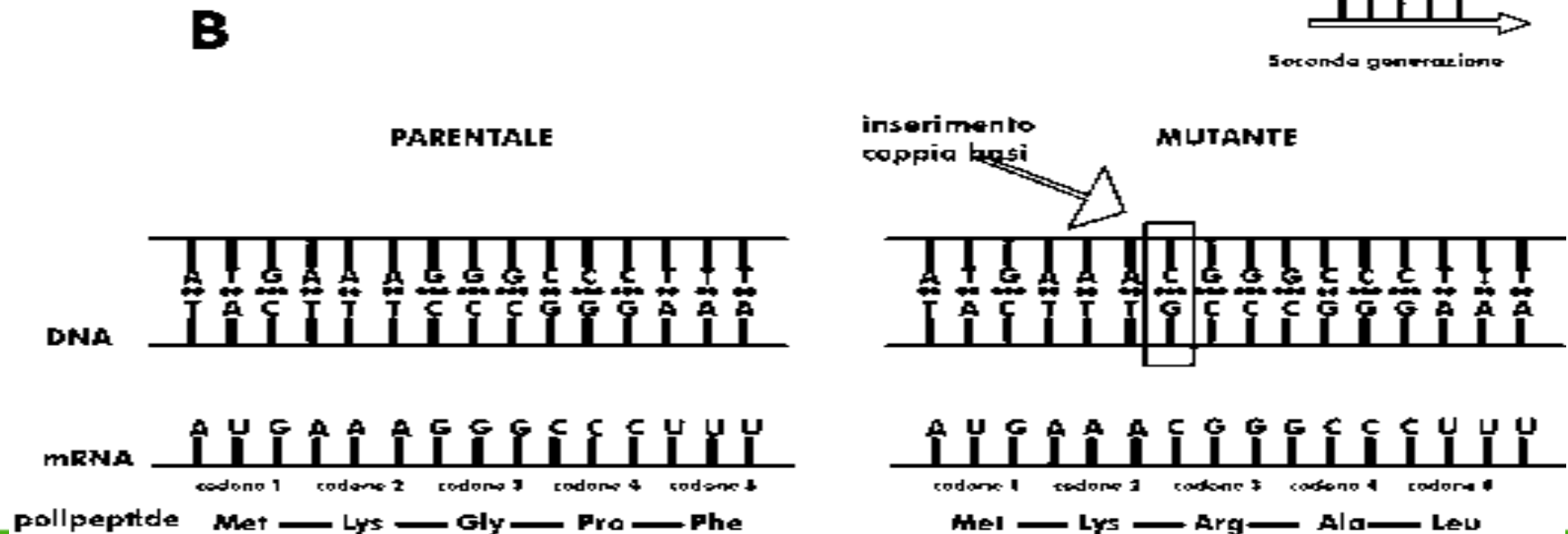
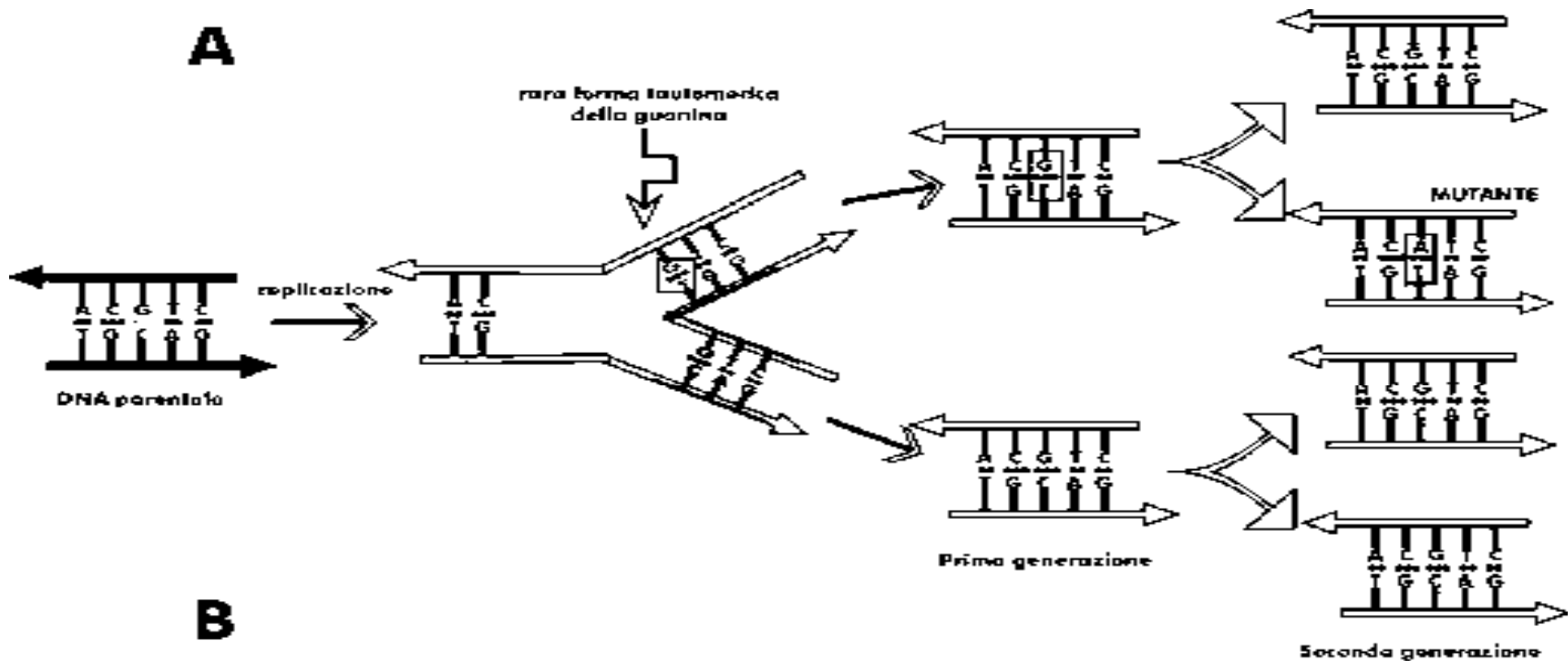
Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH



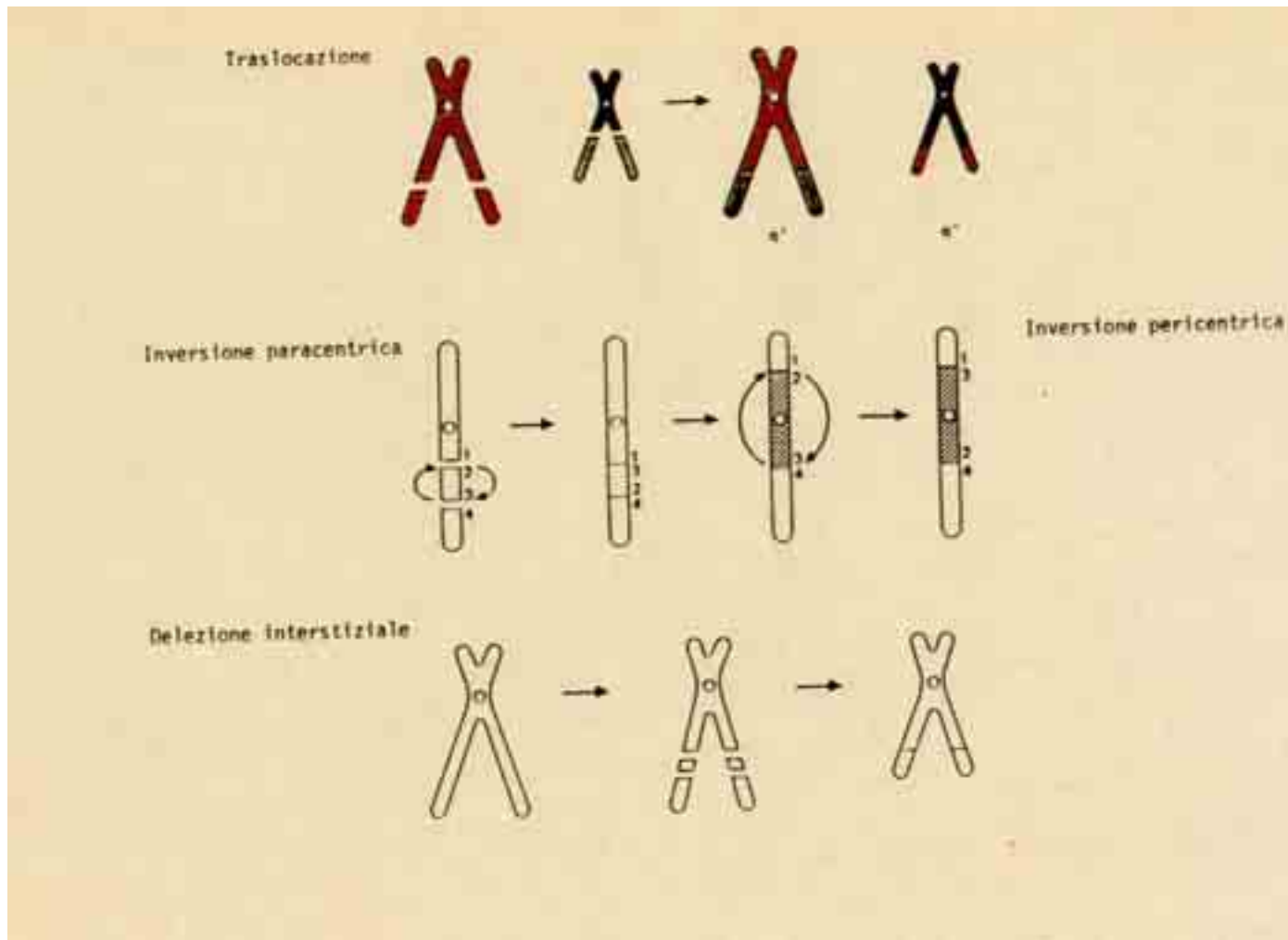
Tipi di mutazione puntiforme

- Sostituzione
 - CTCG**A**G
 - CTCG**G**G
- Inserzione
 - CTCGAG
 - CTC**G**GAG
- Delezione
 - CT **X** GAG
 - CTGAG
- Spostamento modulo
 - VAI VIA ORA
 - **X** AI VIA ORA
 - AIV IAO RA

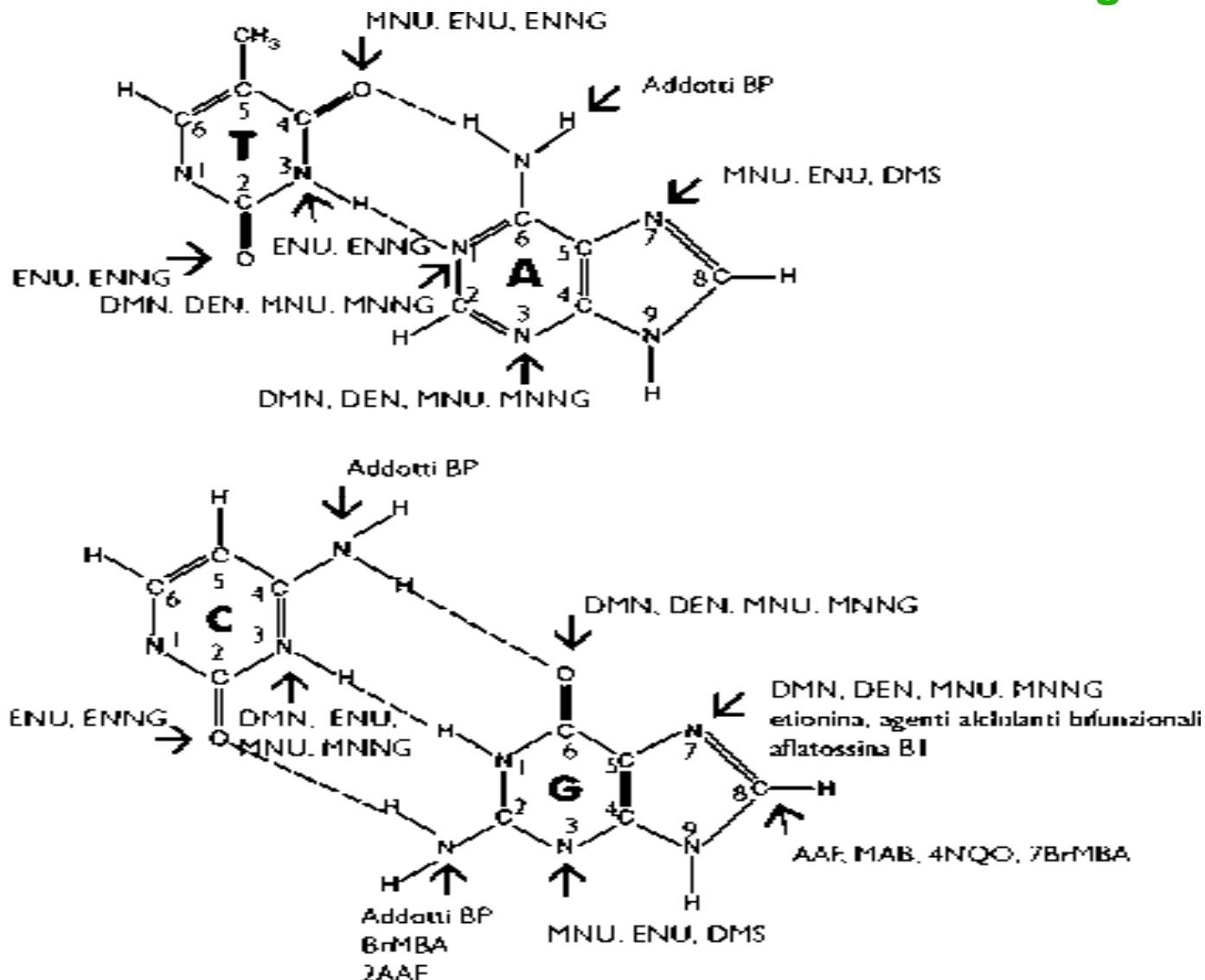
Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH



Aberrazioni cromosomiche



Possibili lesioni nelle basi del DNA indotte da alcuni cancerogeni chimici



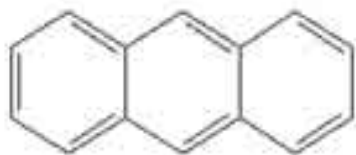
Addotti

- Un addotto è il complesso che si forma quando un composto chimico si lega a un bersaglio cellulare come il DNA o una proteina
- Gli addotti sono forme alterate del DNA che risultano dall'esposizione a cancerogeni chimici.
- Solo l'intervento dei meccanismi di riparazione può ripristinare l'integrità del DNA, eliminando la base legata al cancerogeno. Se questo intervento è inefficiente o inesistente, l'errore viene fissato in una mutazione.

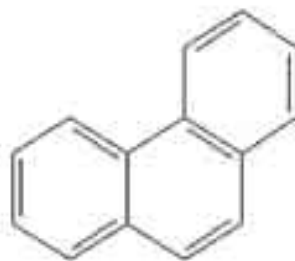
Agenti mutageni

- Agenti fisici
 - Radiazioni ionizzanti
 - Radiazioni UV
- Agenti chimici
 - Metalli pesanti
 - Es: piombo, arsenico, nickel, cromo esavalente
 - Composti organici
 - Es: idrocarburi policiclici aromatici

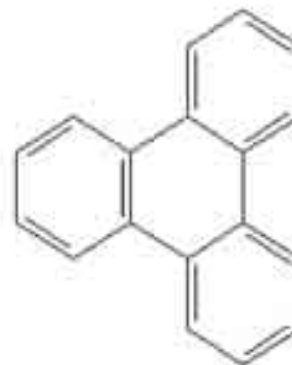
Esempio di composti che formano addotti al DNA: gli Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA)



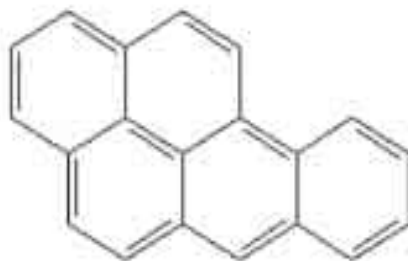
antraceni



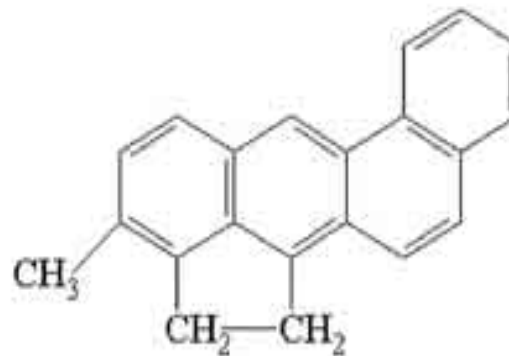
fenantreni



trifenileni

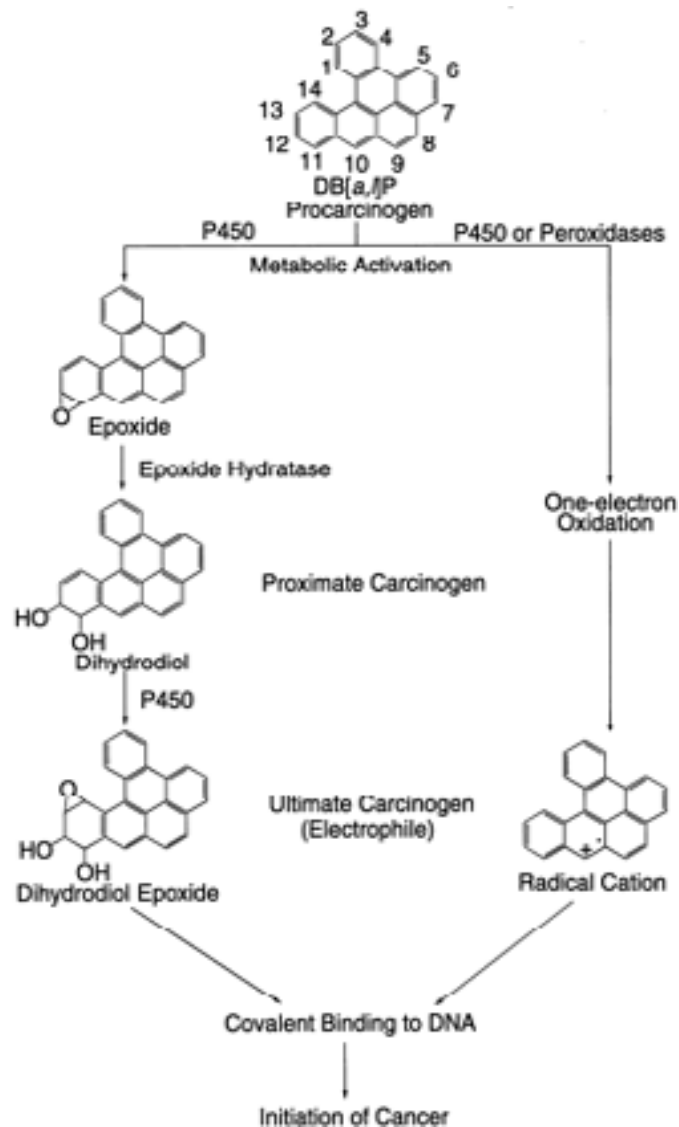


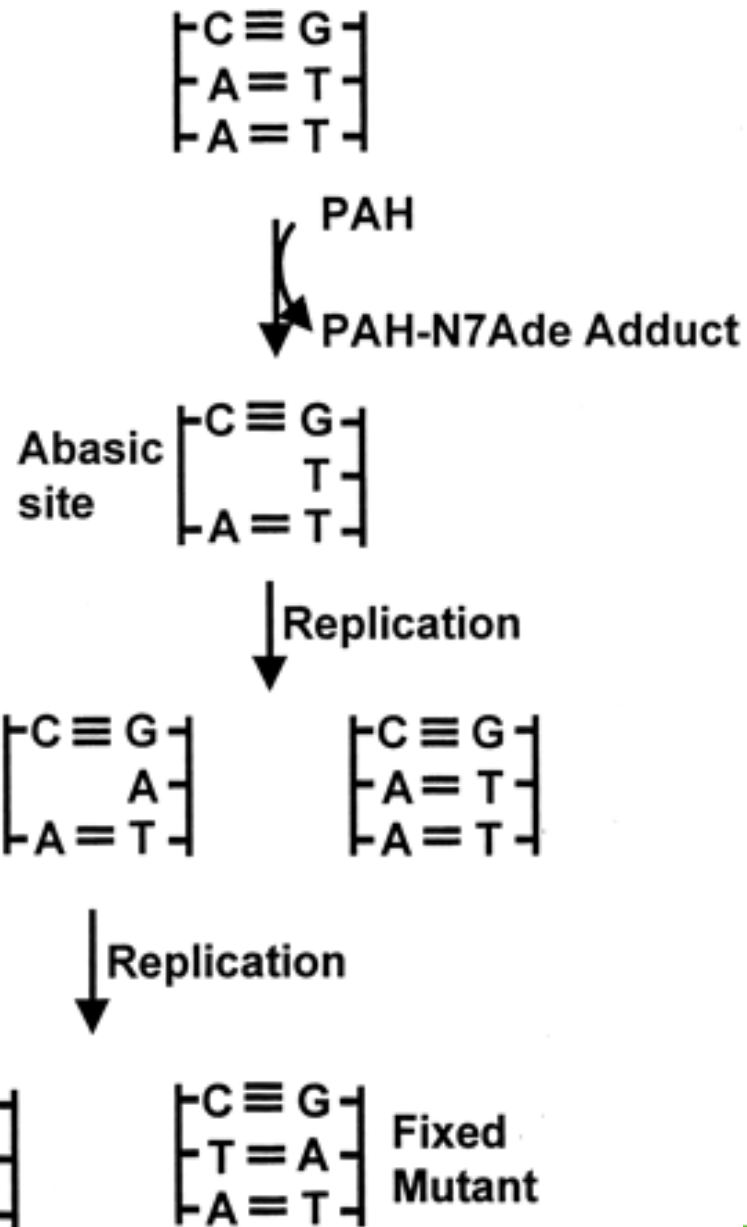
benzo(a)pireni

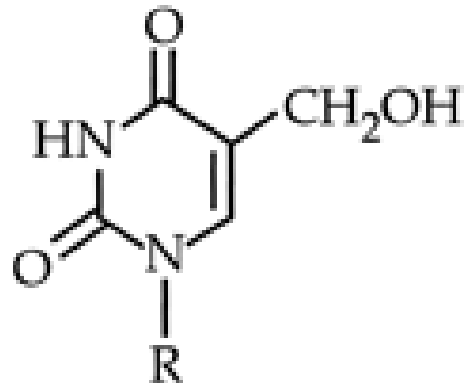


3-metilcolantreni

Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH

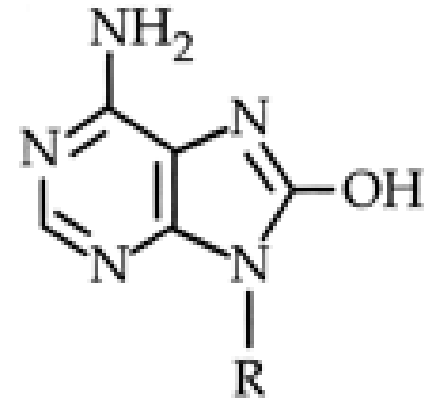






5-Hydroxymethyl-2'-deoxyuridine
(HMdU)

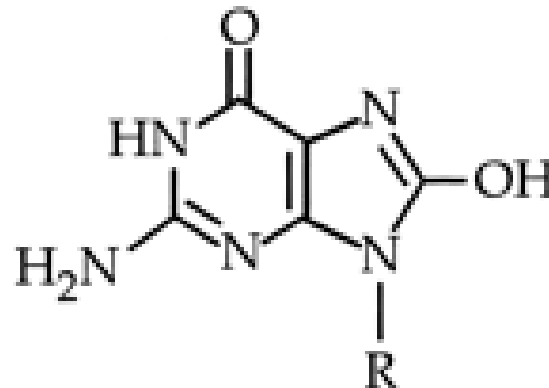
R = 2'-deoxyribose



8-Hydroxy-2'-deoxyadenosine
(8-OHdA)

R = 2'-deoxyribose

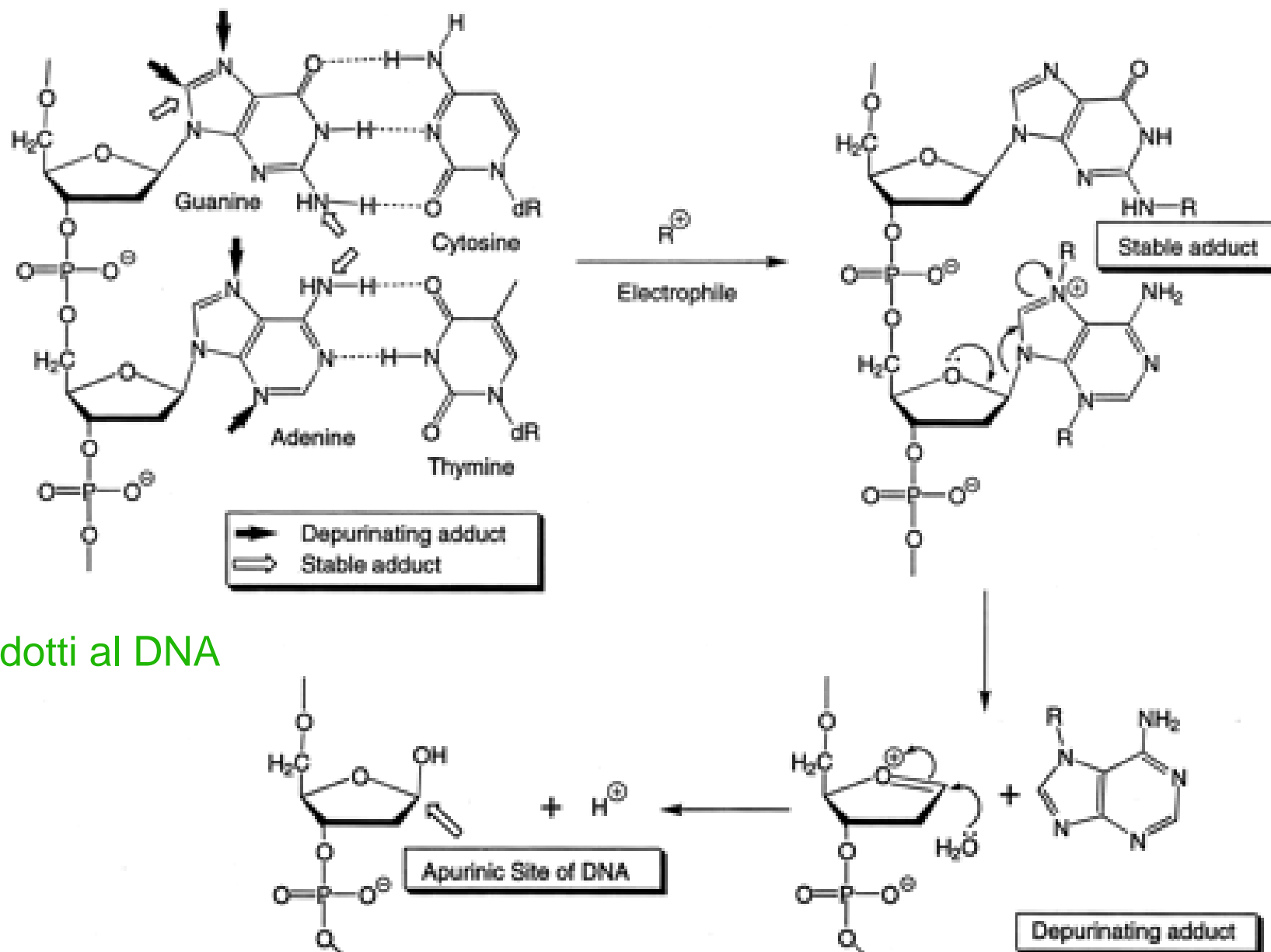
Addotti al DNA



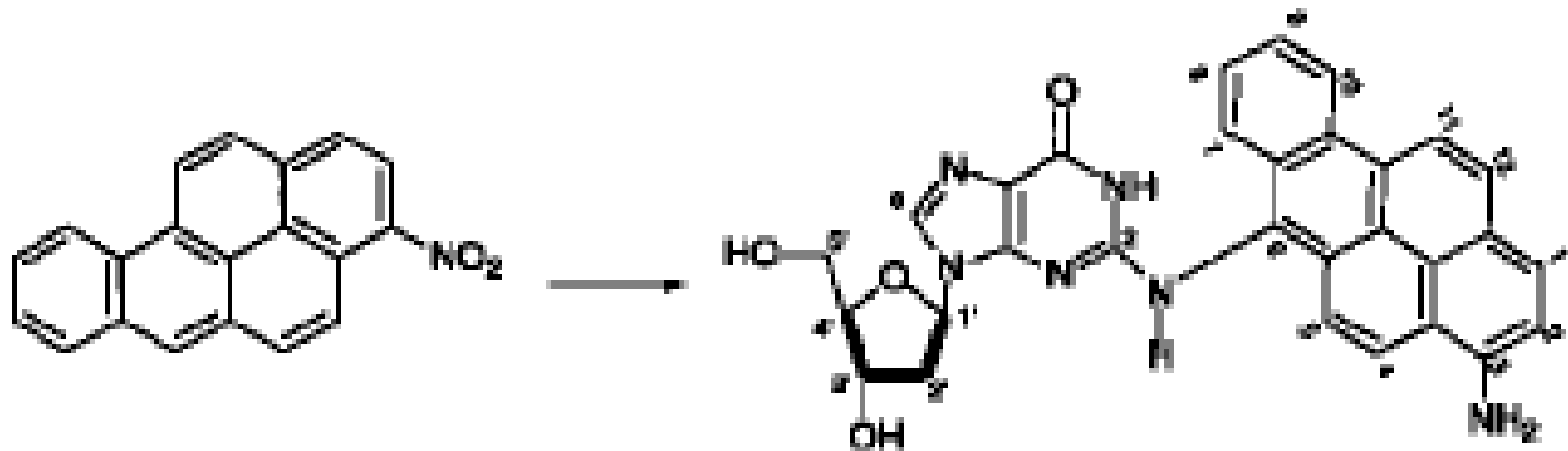
8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine
(8-OHdG)

R = 2'-deoxyribose

Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH



Addotti al DNA



Addotti al DNA

3. Mutagenicità' e test a breve termine in vivo e in vitro

Classificazione generale dei tests di mutagenicità

- Induzione di mutazioni geniche
 - Retromutazioni in *Salmonella typhimurium* (test di Ames)
 - Retromutazioni in *Escherichia coli*
 - Mutazioni geniche in cellule di mammifero
 - Letali recessivi (sex-linked) in *Drosophila*
 - Mutazione genica in *Saccaromices cerevisiae*
 - Spot test nel topo (mouse spot test)

Principali tests di mutagenicità

- Retromutazioni in *Salmonella typhimurium* (test di Ames) e in *Escherichia coli*
 - mutazioni puntiformi (sostituzioni, addizioni, delezioni di una o più basi del DNA) che consentono di ripristinare condizioni fisiologiche precedentemente compromesse o annullate da altre mutazioni. In particolare, ripristinano la capacità in alcuni ceppi batterici di sintetizzare un aminoacido essenziale.
 - Vantaggi
 - ❖ rapidità
 - ❖ basso costo
 - ❖ ampio data base presente in letteratura
 - Svantaggi
 - ❖ sistemi metabolici differenti da quelli dei mammiferi

Principali tests di mutagenicità

- Unscheduled DNA Synthesis in vitro
 - si basa sulla induzione di nuova sintesi del DNA dopo il taglio e la rimozione di frammenti di DNA danneggiato da agenti fisici o chimici. Il test si basa sulla incorporazione di timidina triziata in DNA di cellule di mammifero che non siano in fase S del ciclo cellulare. L'incorporazione di timidina viene identificata mediante autoradiografia o in scintillazione liquida. Si usano generalmente epatociti di ratto

Principali tests di mutagenicità

- Sister Chromatid Exchange
 - si basa sulla induzione di scambio di DNA fra due cromatidi di un cromosoma in duplicazione. Lo scambio richiede rottura e riunione del DNA. Cellule di mammifero sono esposte ai composti chimici e poi trattate con bromodeossiuridina (BrdU) durante due cicli cellulari per “marcare” i cromosomi. Le cellule vengono, quindi, “fissate” durante la metafase della mitosi mediante trattamento con un inibitore del fuso (colchicina)

Classificazione generale dei tests di mutagenicità

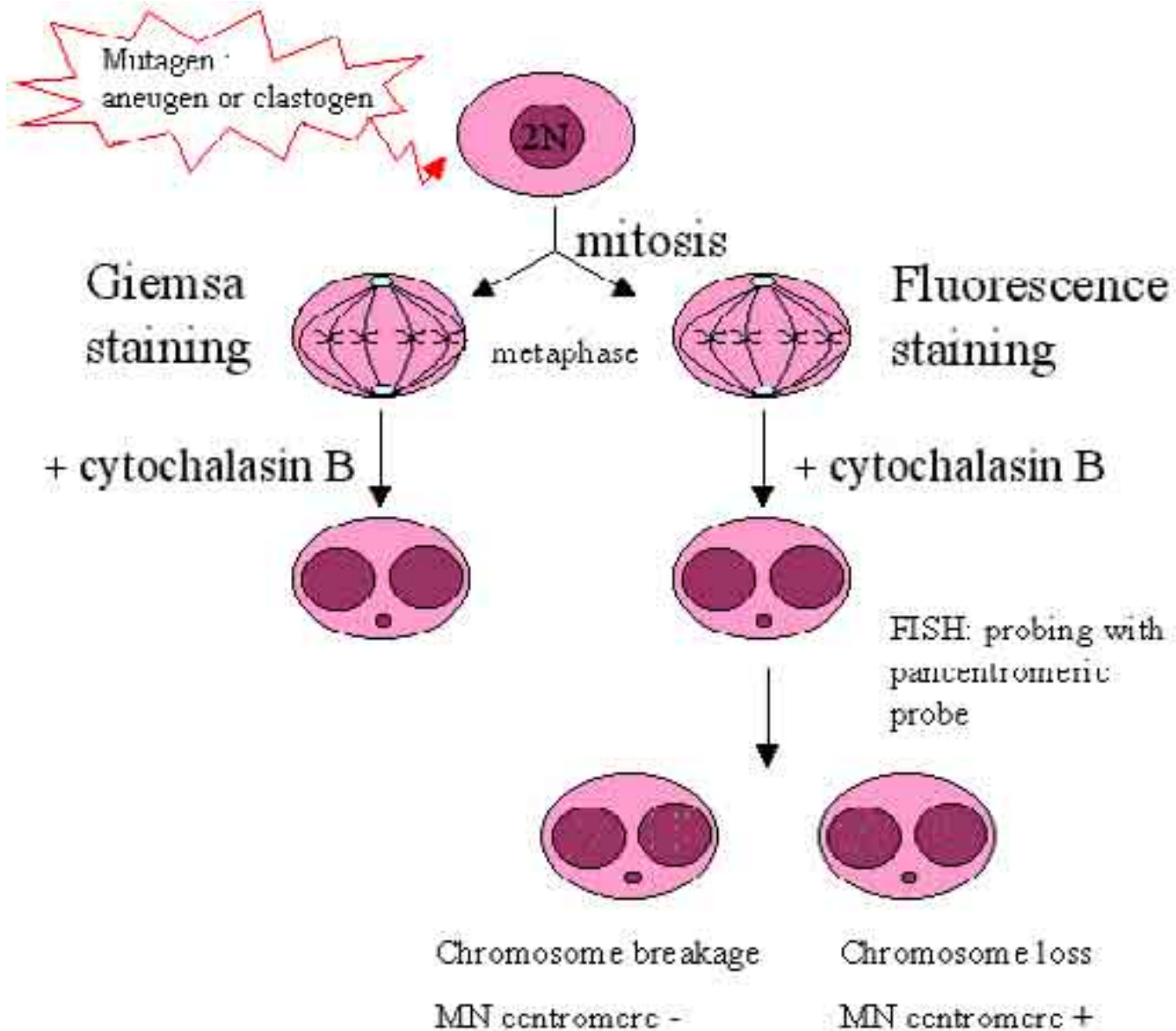
- Induzione di aberrazioni cromosomiche
 - Saggi in vitro di citogenetica
 - Saggi in vivo di citogenetica
 - Test del micronucleo
 - Dominanti letali
 - Traslocazioni ereditabili
 - Saggio citogenetico in cellule germinali di mammifero

Principali tests di mutagenicità

- **Test del micronucleo**

- identifica il danno nei cromosomi o nell'apparato mitotico nel midollo osseo o nel sangue periferico.
- Lo scopo di questo test è l'identificazione di quei composti capaci di indurre parziali o totali perdite di cromosomi
- Può essere condotto
 - in vivo nell'animale da esperimento
 - Ex vivo su linfociti periferici o mucosa buccale degli esposti
 - In vitro su cellule target (linfociti etc.)

Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH



Batterie di test

Nessun singolo test può predire
la cancerogenicità
di tutti i composti chimici.

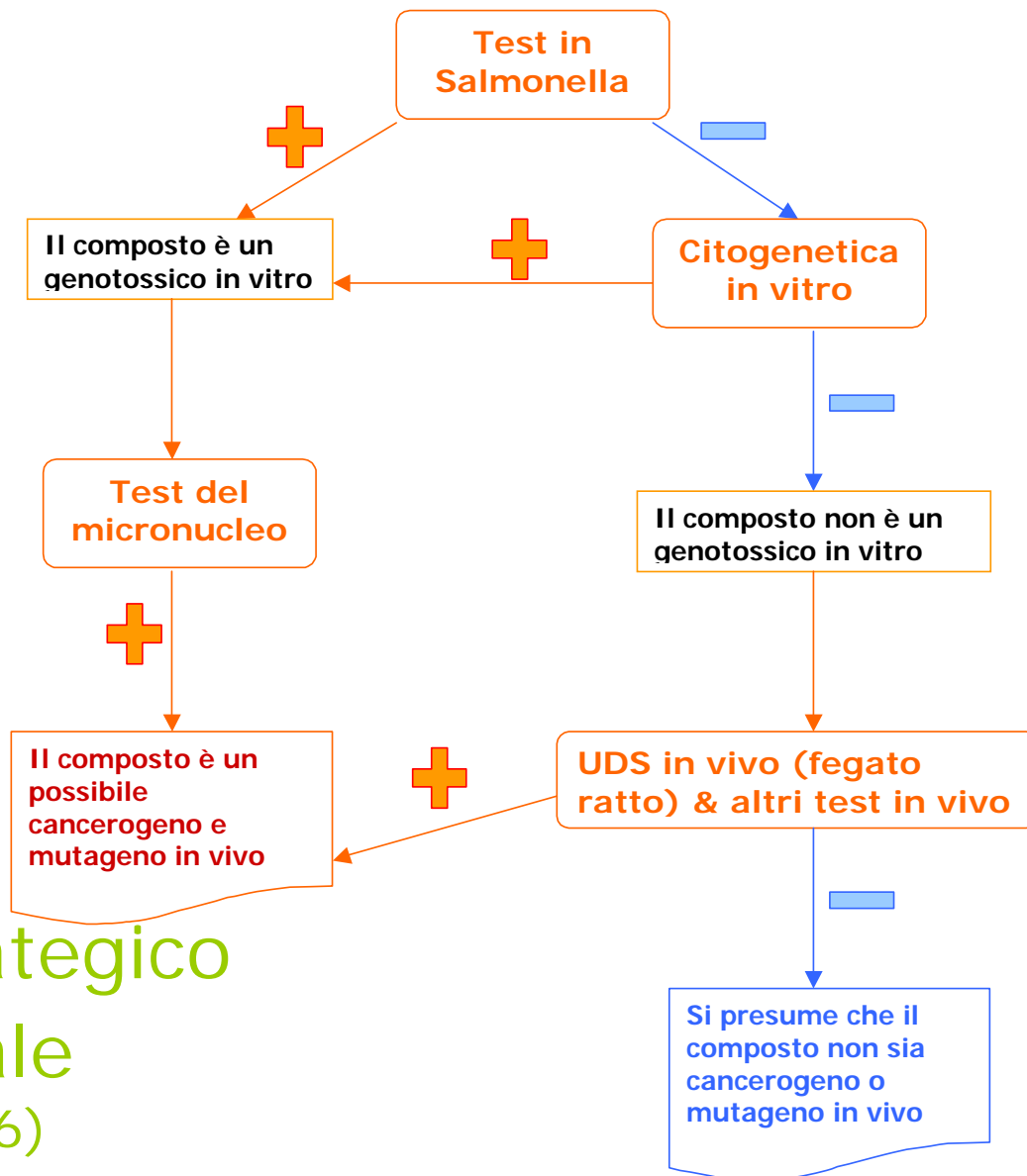
Batterie di test

- Razionale
 - Una batteria di test, differenti per complessità filogenesi e end-point genetici, incrementa la capacità predittiva.
 - Il punto chiave è la scelta di test che siano complementari tra loro per la predizione della cancerogenicità

Batterie di tests: the Three-Tier Approach (Briddges, 1974)

- 3 Principi generali
 - nessun composto mutageno deve essere immesso nell'ambiente se esiste un sostituto non-mutageno
 - l'ampiezza della sperimentazione deve essere correlata all'ampiezza dell'esposizione umana
 - i mutageni devono essere utilizzati se i benefici sono maggiori dei rischi
- 3 Livelli
 - Saggi in vitro (livello genico e cromosomico) e/o test in organismi pluricellulari (es. Drosophila) per tutti i composti
 - Saggi in vivo (livello cromosomico meiotico e mitotico) per i composti negativi nel livello 1
 - Per i composti positivi al livello 1 e 2, valutazione quantitativa del rischio mutageno

Batterie di tests



approccio strategico
sequenziale
(Ashby, 1986)

Batterie di tests: direttiva europea (pre-REACH)

- Livello 0 (Base Set)
 - 1-10 tonnellate/anno
 - Due tests
 - mutazione genica in *S.typhimurium* o *E. coli*
 - Aberrazione cromosomica in cellule di mammifero (in vitro) o micronucleo o metafase in vivo
- Livello 1
 - 10-100 tonnellate/anno: opzionale
 - > 100 tonnellate/anno: obbligatorio
 - Quattro tests
 - Due test dal Livello 0 (Base Set)
 - Mutazione genica in cellule eucarioti
 - aberrazione cromosomica in vivo o in vitro
- Livello 2
 - > 1000 tonnellate/anno
 - Test di cancerogenicità a lungo termine

Batterie di tests: direttiva europea per i farmaci

- Sono richiesti:
 - induzione mutazioni in batteri
 - aberrazioni cromosomiche in cellule di mammifero in vitro
 - mutazioni geniche in eucarioti
 - test in vivo di danno genetico
 - micronucleo
 - metafase
 - spot test

Batterie di tests: direttiva europea per additivi alimentari

- Sono richiesti:
 - induzione mutazioni in batteri
 - aberrazioni cromosomiche in cellule di mammifero o in linfociti umani in vitro
 - mutazioni geniche in sistemi eucariotici
 - test in vivo di aberrazioni cromosomiche
 - In casi specifici
 - danno/riparo al DNA
 - trasformazione cellulare

Batterie di tests: direttiva europea per cosmetici

- Sono richiesti un minimo di due test di mutagenicità:
 - induzione mutazioni in batteri
 - aberrazioni cromosomiche in cellule di mammifero in vitro
- Sono richiesti test addizionali di mutagenicità in caso di:
 - considerevole assorbimento per via orale
 - considerevole assorbimento cutaneo
- Agenti di protezione solare
 - test di fotomutagenicità

Batterie di test

- Razionale
 - Una batteria di test, differenti per complessità filogenesi e end-point genetici, incrementa la capacità predittiva.
 - Il punto chiave è la scelta di test che siano complementari tra loro per la predizione della cancerogenicità

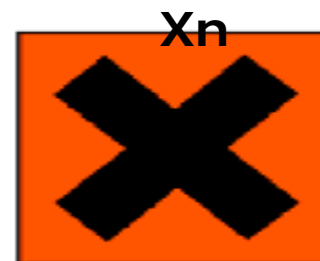
Classificazione di mutagenicità (Unione Europea, 1993)

- Categoria 1
 - Sostanze riconosciute mutagene per l'uomo (evidenze positive da studi epidemiologici)
- Categoria 2
 - Sostanze che devono essere considerate come mutagene per l'uomo (danni genetici ereditabili ottenuti in appropriati studi nell'animale)
 - 2a. saggi in vivo in cellule germinali (es. mutazioni loco-specifiche, traslocazioni)
 - 2b. Altre interazioni rilevanti in cellule germinali (es. SCE, UDS, CA)
 - 3c. Effetti mutageni in cellule somatiche
- Categoria 3
 - Sostanze che destano attenzione per un possibile effetto mutageno nell'uomo (risultati ancora non soddisfacenti)
 - 3a. Effetti mutageni (test micronucleo, spot test)
 - 3b. Interazione con DNA (UDS, legame covalente, danno al DNA)

UE Directive 93/21/EEC

Conseguenze della classificazione

- Categoria 1 o 2
 - Frase di rischio = R46
 - Concentrazione limite nelle preparazioni 0.1%
 - NON possono essere inseriti in preparazioni per uso pubblico
 - devono recare la scritta “per solo uso professionale”
 - Scheda di sicurezza
- Categoria 3
 - Frase di rischio = R68
 - Concentrazione limite nelle preparazioni 1%
 - Scheda di sicurezza

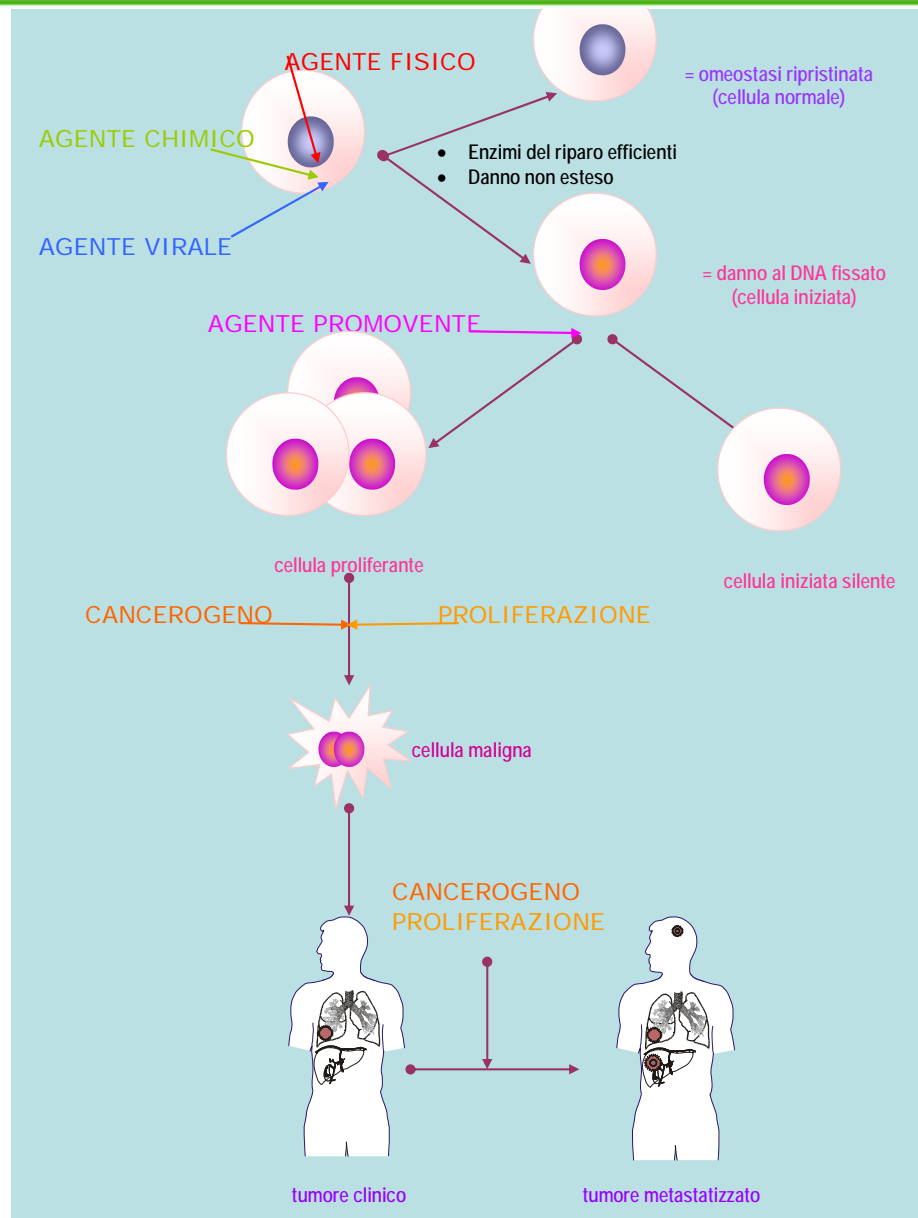


Frase di rischio per composti mutageni

- R46
 - Può causare effetti genetici ereditabili
- R68
 - Possibile rischio di effetti irreversibili

4. Cancerogenicità e test a lungo termine su animali

Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH



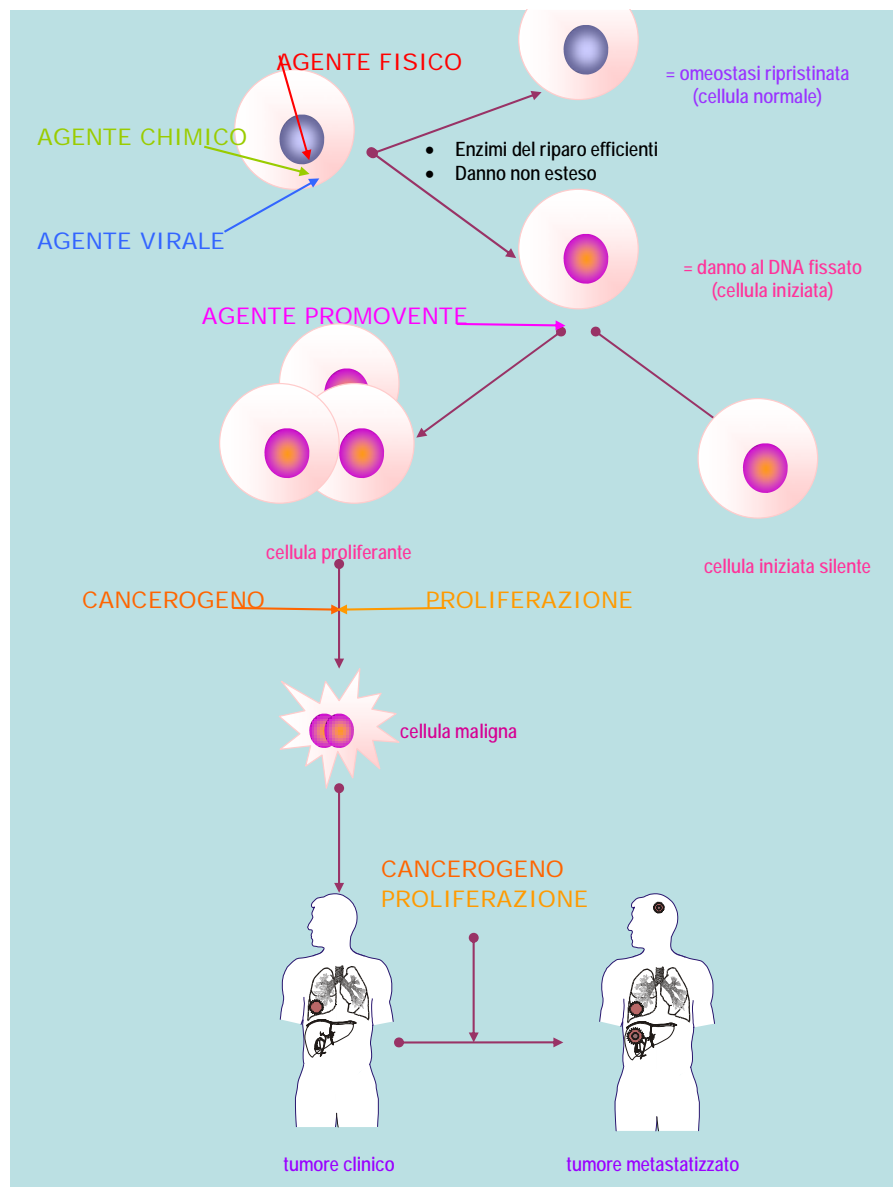
Basta la mutazione?

- Perche' una mutazione si fissi bisogna:
 - Che l'errore sfugga agli enzimi del riparo
 - Che la cellula compia due cicli replicativi
- Perche' una mutazione abbia significato bisogna:
 - Che colpisca un gene fondamentale
 - Che la cellula non risponda ai meccanismi di controllo:
 - Proliferaazione
 - Apoptosi

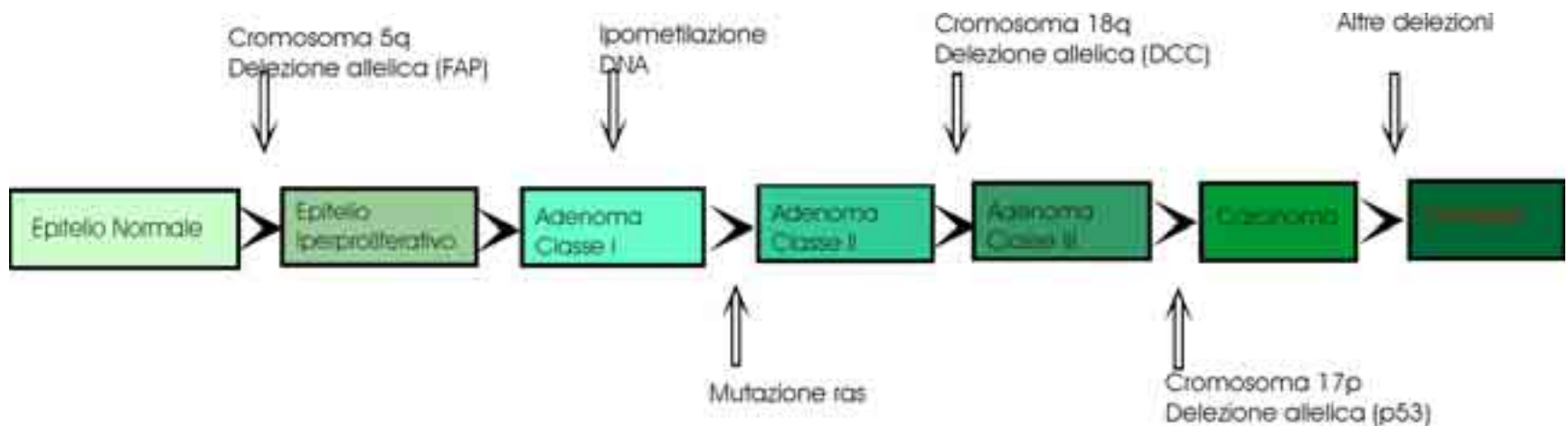
Basta una cellula mutata?

- La cellula mutata (iniziata) può restare silente per tutta la vita mantenuta sotto controllo dall'omeostasi cellulare operata dalle cellule circostanti
- Solo l'intervento di altri fattori esogeni e/o endogeni può comportare la selezione della cellula mutata e l'inizio di una proliferazione incontrollata
- In ogni caso il tumore è il prodotto di un accumulo di mutazioni

Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH



Modello colon





Cosa fare prima di tutto

- Informazioni preliminari eventualmente ricavabili da relazioni struttura-attività
- Proprietà fisico-chimiche
- Sviluppo dei metodi analitici per la determinazione qualitativa e quantitativa nel materiale biologico

Specie, ceppo, sesso, numero

- Due specie
 - Ratto
 - Topo
 - Hamster
 - Guinea pigs
 - Coniglio
- Due sessi
- Almeno 50 animali specie/sesso/dose

Suscettibilita' di specie

- Il topo e' piu' sensibile a sviluppare tumore del fegato
- Il ratto e' piu' sensibile a sviluppare tumore intracutaneo
- Il topo e il coniglio hanno una cute piu' sensibile del ratto e hamster

Facilities

- Mai due specie nella stessa stanza
- Mai due composti nella stessa stanza
- Evitare il “traffico intenso”
- Mai lavare gabbie, biberon, mangiatoie con detergenti
- Speciale attenzione alla composizione della dieta (e alla purezza del mangime)

Dosi

- Almeno 3 dosi
 - La dose piu' alta
 - Deve indurre lievi segni di tossicita' senza interferire nella durata della vita
 - Alterazioni nei livelli ematici di alcuni enzimi
 - Lieve decremento del peso (meno del 10%)
 - In una dieta la dose piu' alta non deve superare il 5%
 - La dose piu' bassa
 - Non deve dare segni di tossicita'
 - Non deve essere inferiore al 10% della dose piu' alta
 - La dose intermedia
 - Intermedia fra le altre due, tenendo conto delle proprieta' tossicocinetiche della molecola

Vie di somministrazione

- Orale
 - Sostanza solida o liquida
 - Nel cibo (preferibilmente 7 giorni/settimana)
 - Disciolta in acqua
 - Per gavaggio
- Inalazione
 - Gas, volatile, aerosol/particolato
 - In appropriate camere
 - Instillazione tracheale
- Dermica

Durata dello studio

- Per la durata della vita dell'animale
- Linee guida
 - 18 mesi per topo e hamster (24 mesi per i ceppi più longevi)
 - 24 mesi per il ratto (30 mesi per i ceppi più longevi)
 - Uno studio deve terminare anzi tempo se nel gruppo dei controlli o nella dose più bassa il numero dei sopravvissuti raggiunge il 25%
 - Uno studio è ritenuto valido se
 - Non viene perso più del 10% degli animali per cause non dipendenti dalla tossicità della molecola
 - La sopravvivenza, anche alla dose più alta, non è inferiore al 50%

Reportistica

- Esame clinico giornaliero
- Annotare ogni evento clinico e le morti
- Verificare il peso una volta a settimana nelle prime 13 settimane, in seguito una volta ogni 4 settimane
- Computare l'assunzione di cibo una volta a settimana nelle prime 13 settimane, in seguito a intervalli di tre mesi
- Effettuare un esame ematologico con striscio di sangue a 12, 18 mesi e prima del sacrificio

Necropsia e istopatologia

- Tutti i tumori osservati
- Tutte le lesioni istopatologiche
- Lesioni
 - Iperplastiche
 - Preneoplastiche
 - Non-neoplastiche

Cancerogenesi: Test in vivo nell'animale

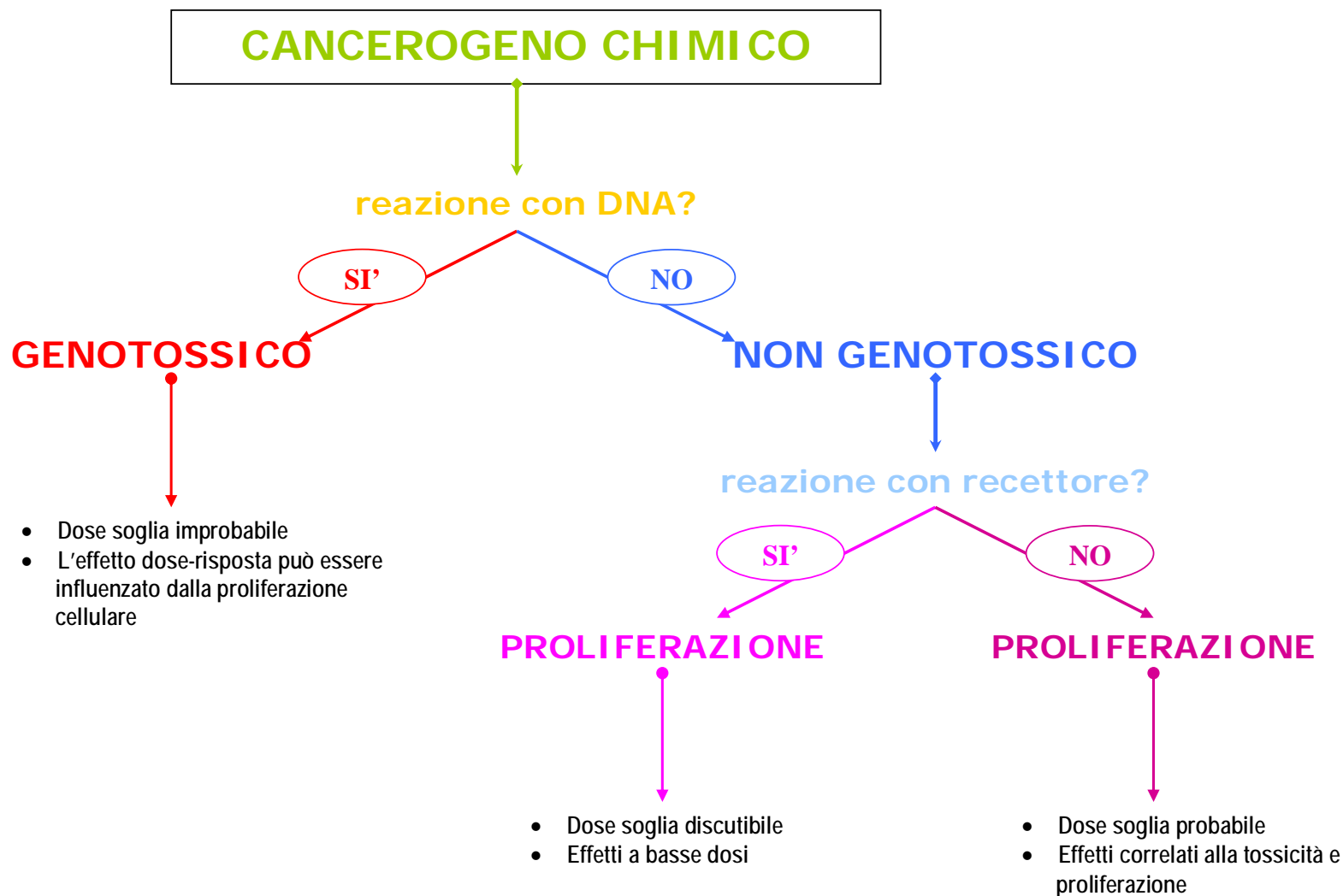
- GLP (good laboratory practices)
 - Due specie
 - Ratto e topo
 - Due sessi
 - 2 anni
 - Numero adeguato animali
 - 50/specie/sesso/dose
 - Numero adeguato di dosi

Test in vivo nell'animale

- OECD Test Guidelines 451–453
 - Dosaggio
 - Dose massima tollerata (MTD)
 - la dose più alta che determina effetti tossici senza indurre la morte e un decremento del peso corporeo di non più del 10% rispetto ai controlli
 - Vie di somministrazione
 - Risultati correlati al trattamento

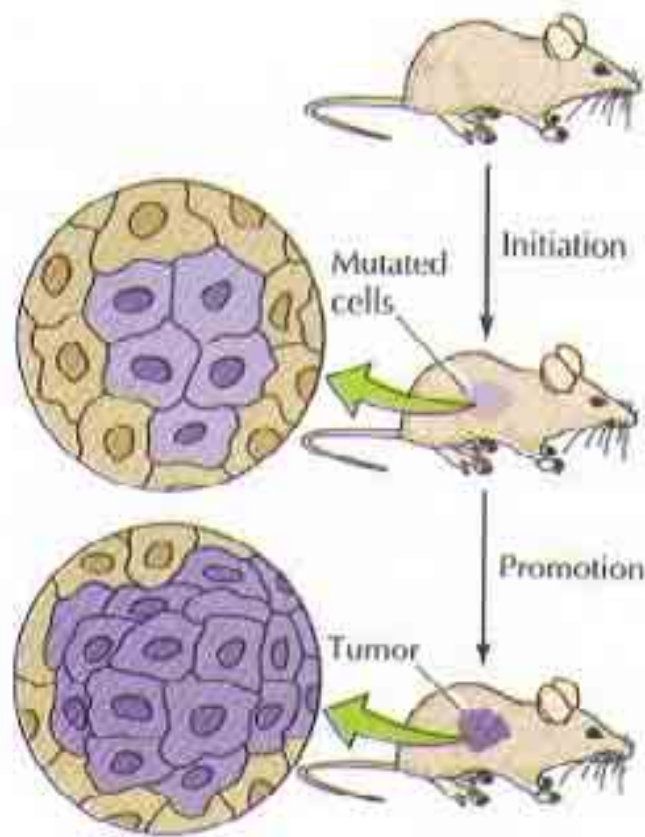
Modelli predittivi di cancerogenesi

- Limiti degli studi a lungo termine nell'animale
 - Costi elevati
 - Specificità di specie e di ceppo
 - Peculiarità nelle vie di somministrazione
 - Difficoltà nell'estrapolazione all'uomo
 - Pochissimi dati su miscele complesse



Cancerogenesi multifasica nella cute del topo

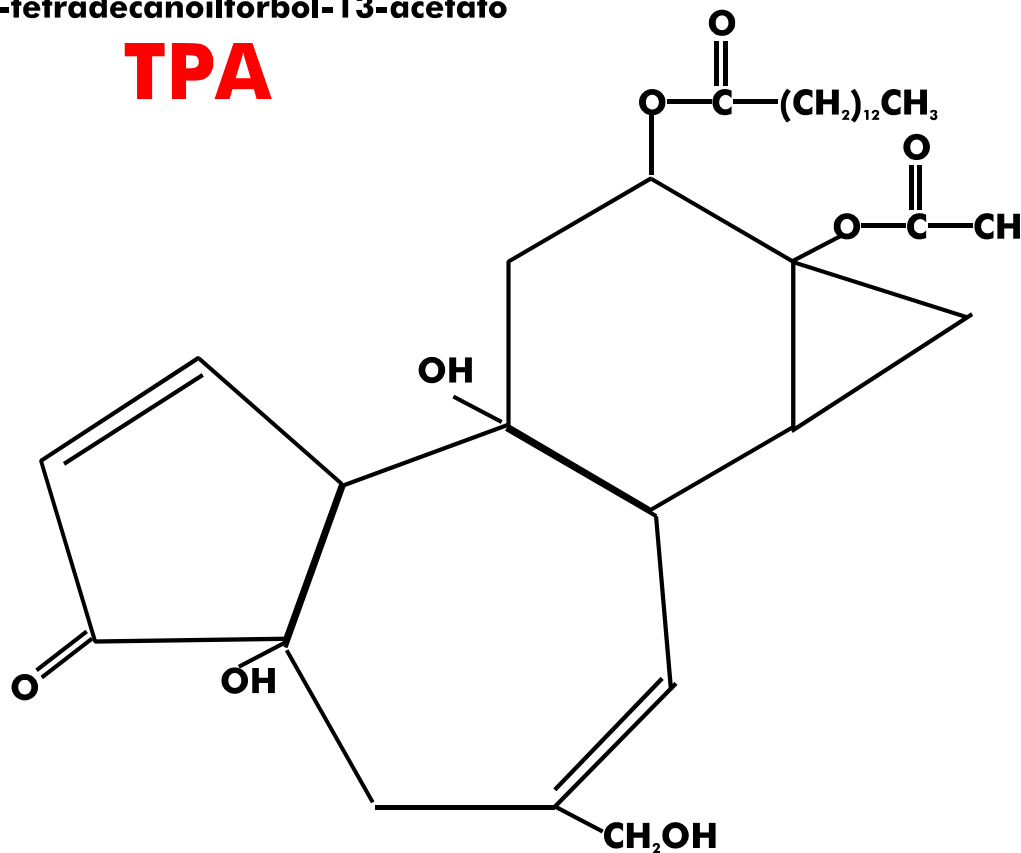
- I tumori sono iniziati da mutazioni indotte da un cancerogeno
- Lo sviluppo del tumore richiede il trattamento con promoveni che stimolano la proliferazione delle cellule mutate



Struttura del promotore TPA

12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato

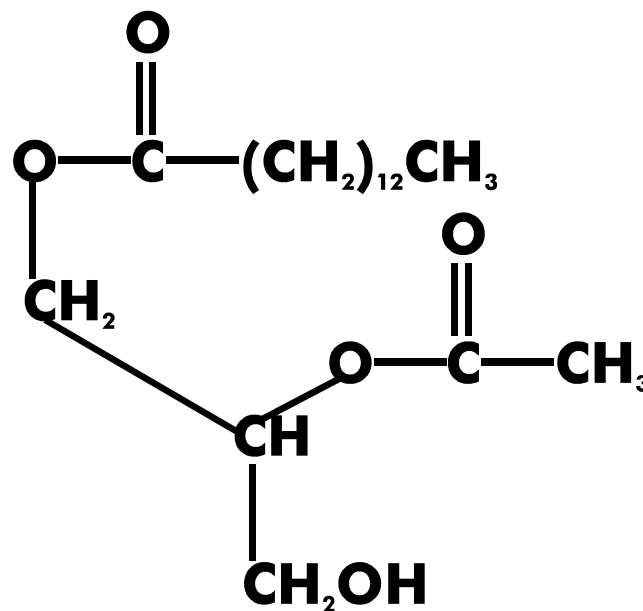
TPA



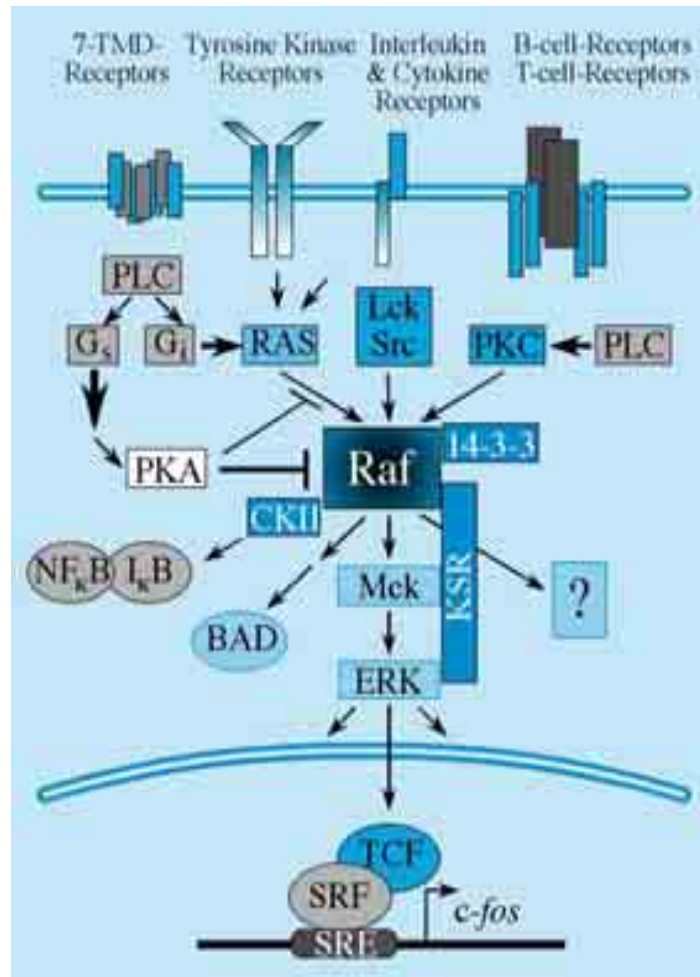
Struttura di diacilglicerolo

diacilglicerolo

DAG



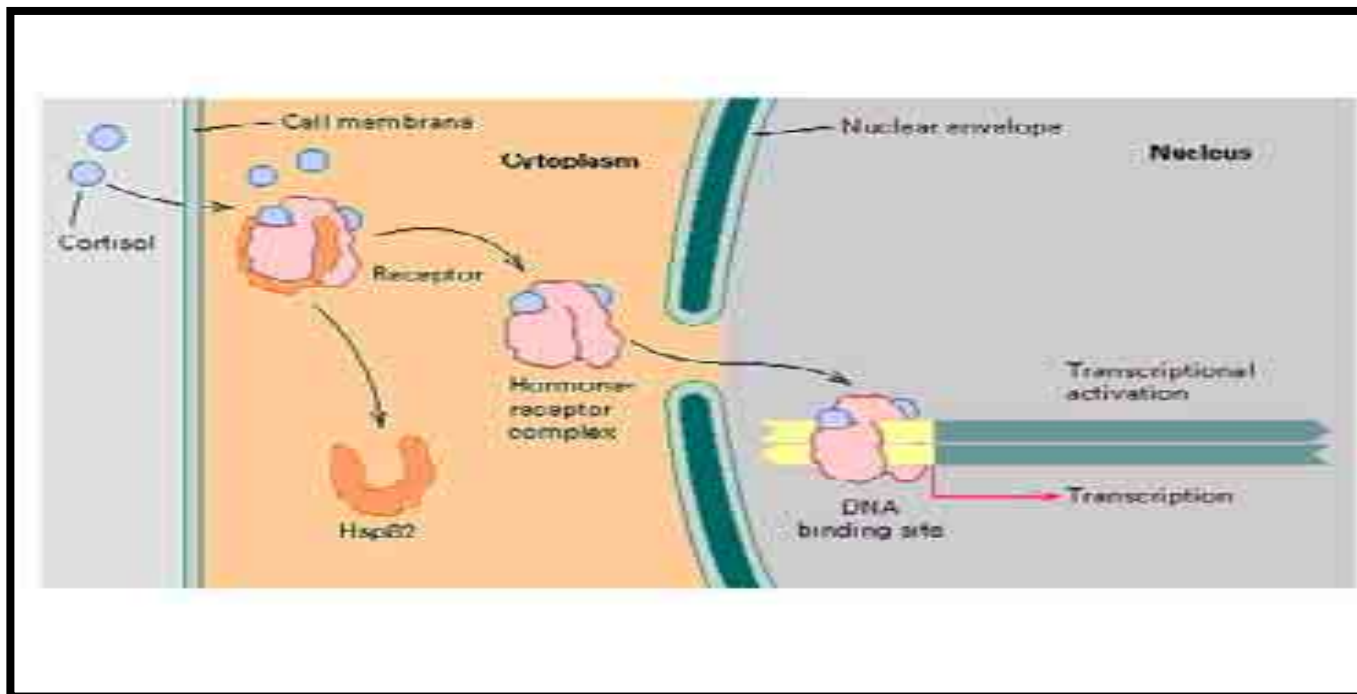
Trasduzione del segnale



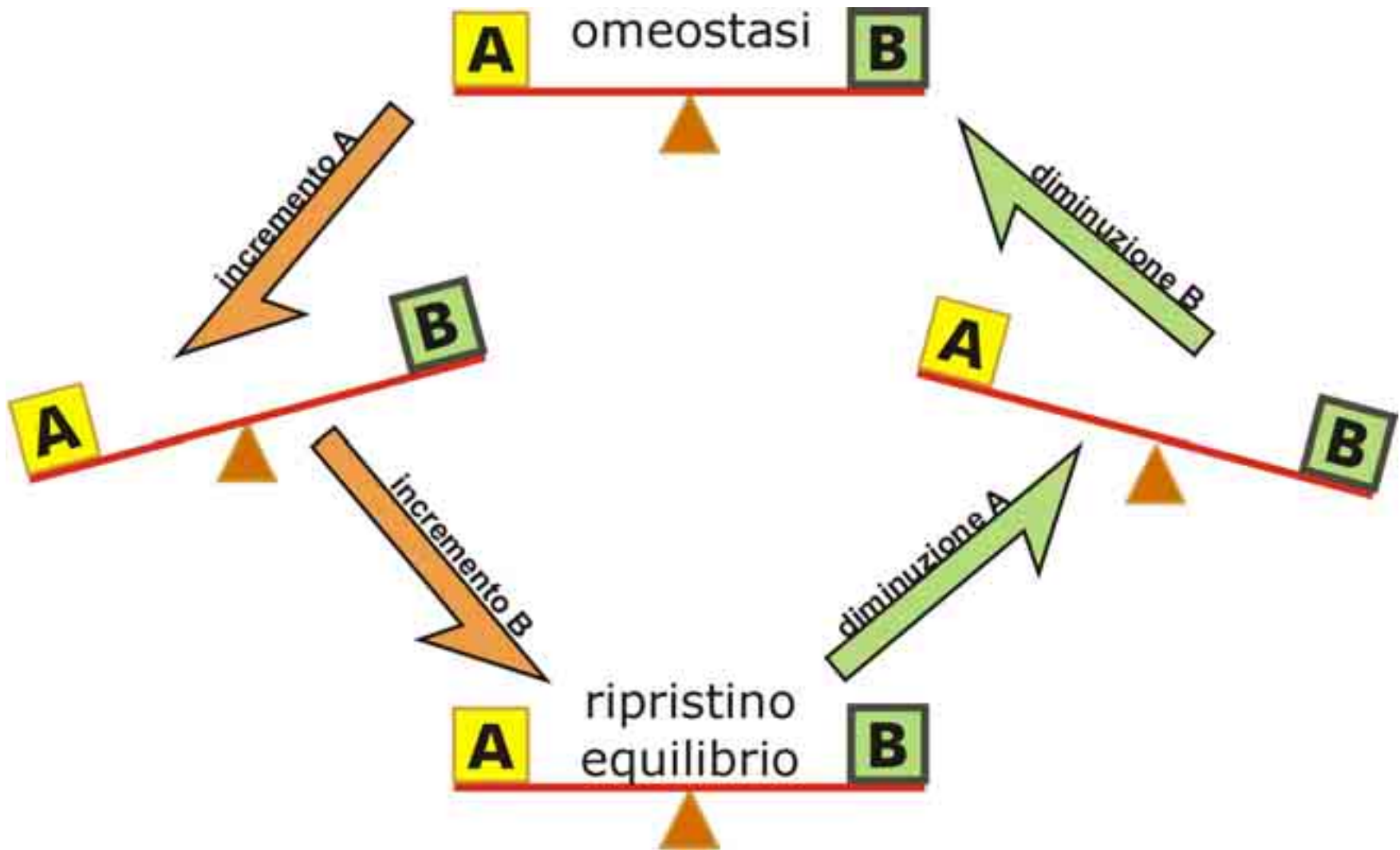
Cancerogeni non mutageni

- Definizioni
 - Cancerogeni non genotossici
 - Composti epigenetici
 - Promoventi
 - Non cancerogeni

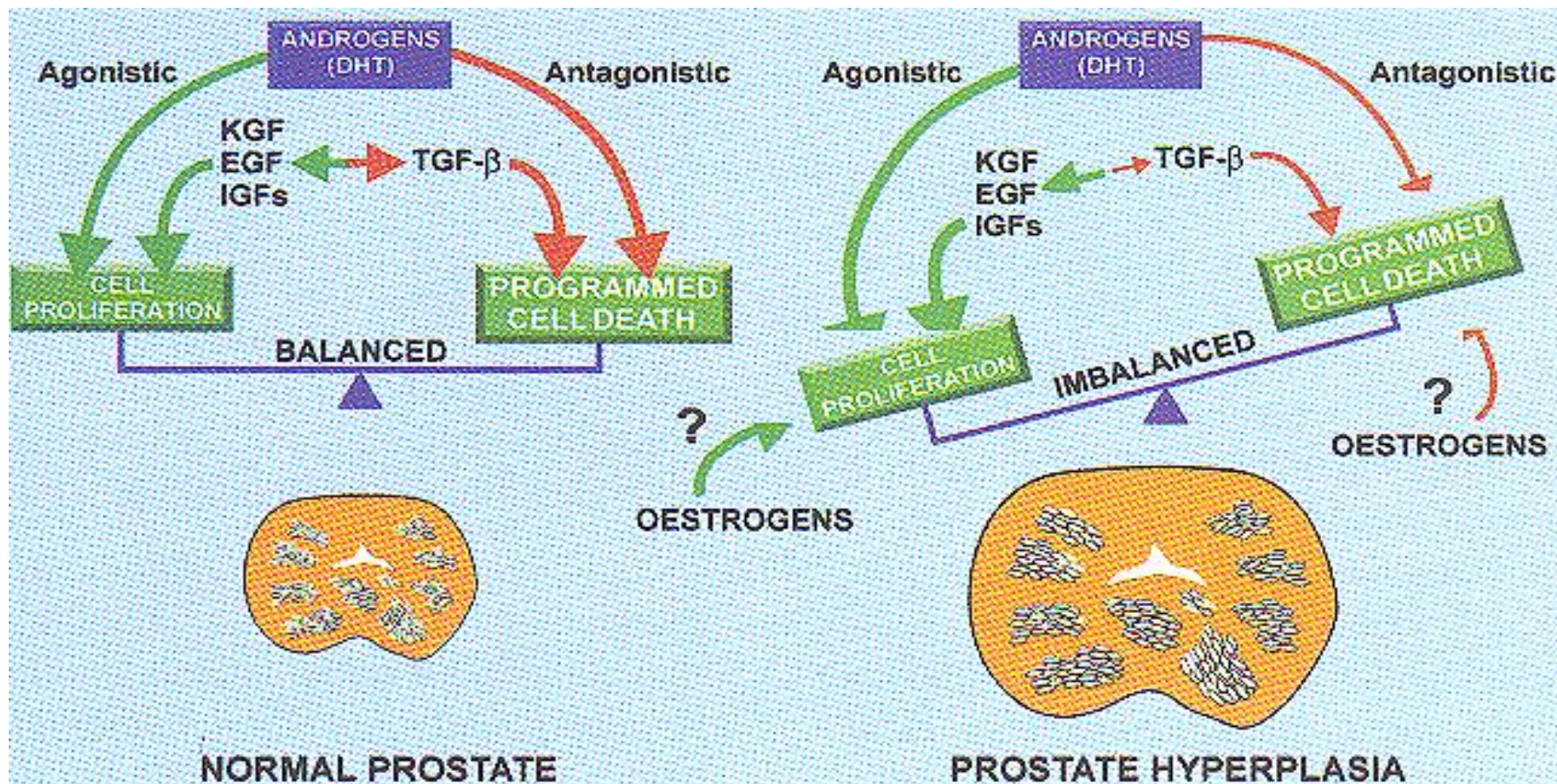
Il sistema endocrino



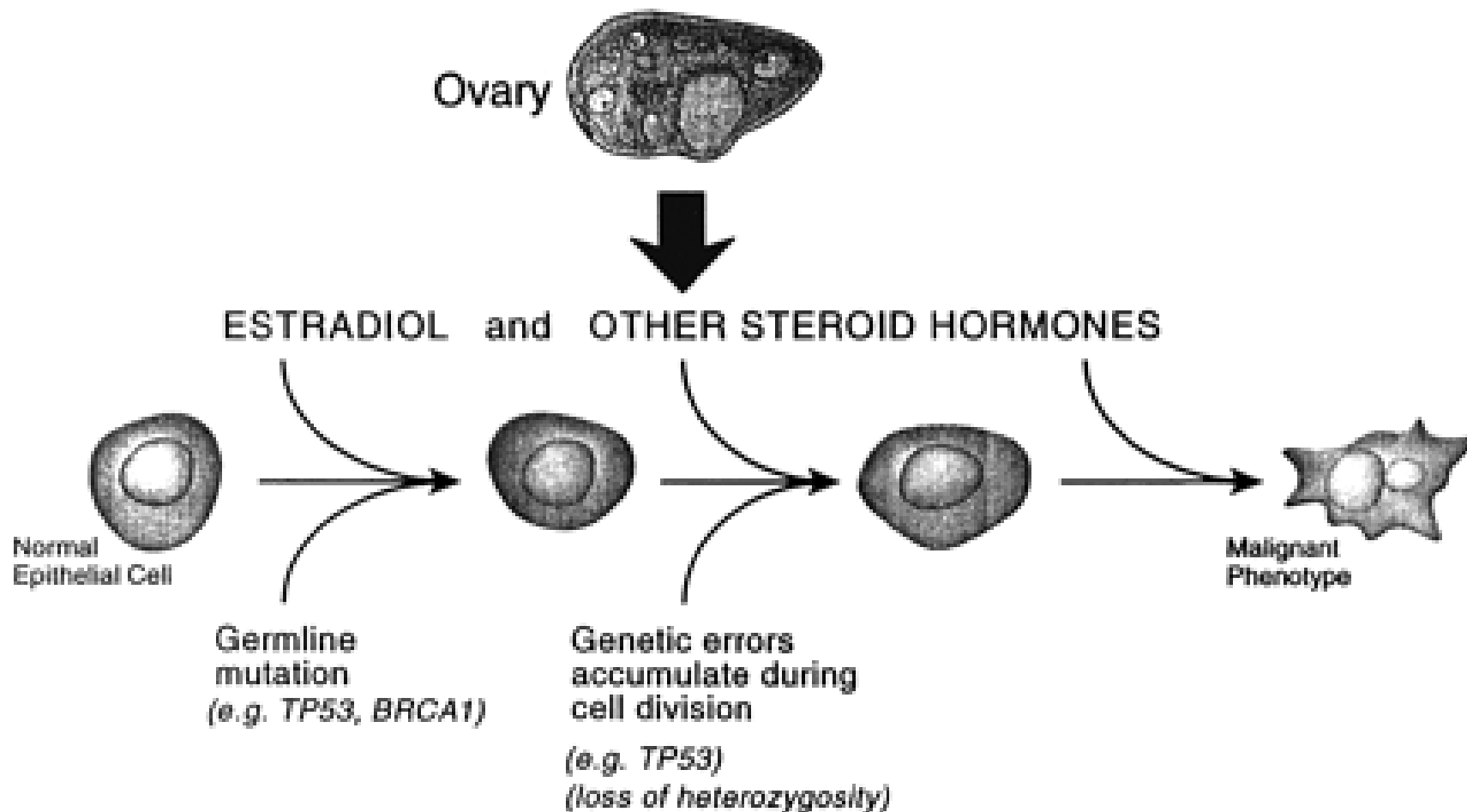
- Gli ormoni penetrano nella cellula alla ricerca del recettore compatibile
- L'ormone lega il recettore con un meccanismo chiave-serratura
- L'ormone attivato può quindi legare una sequenza trascrizionale e attivare un gene



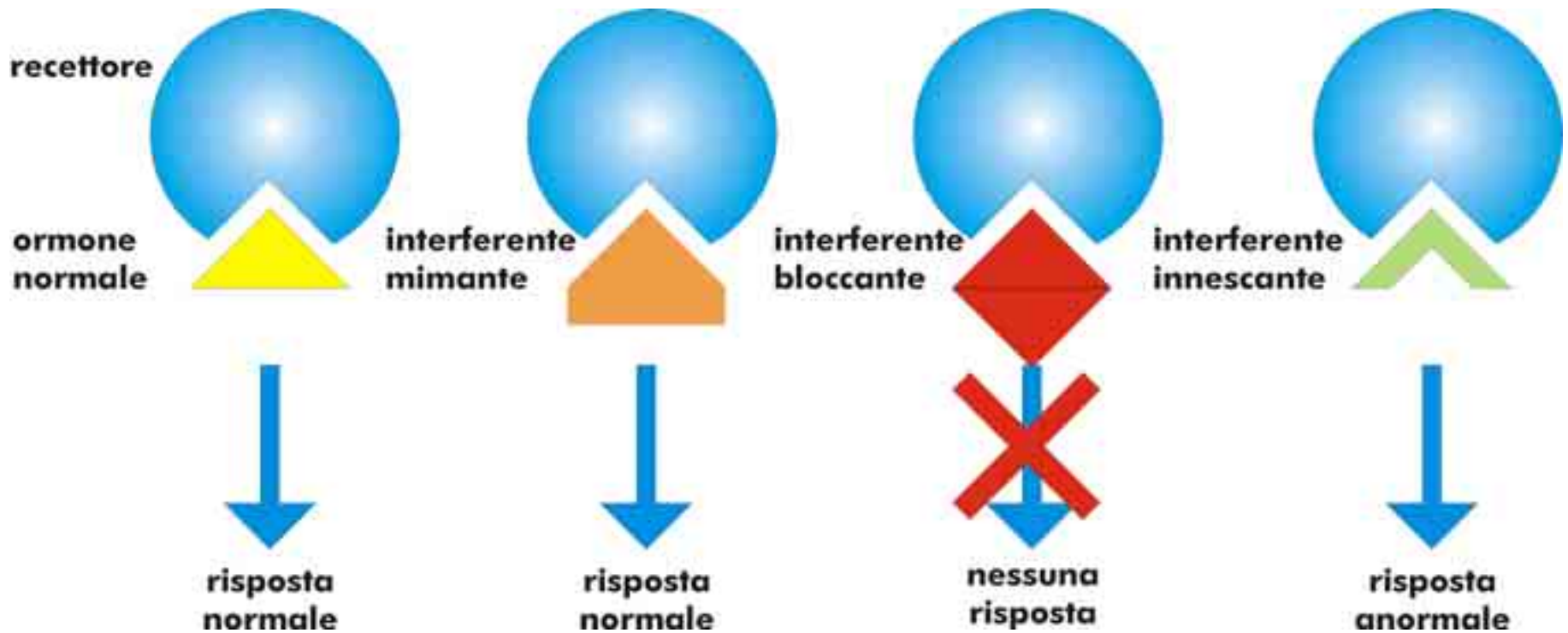
E' tutta una questione di equilibrio



Gli ormoni possono essere cancerogeni



Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH



Ormoni nell'ambiente

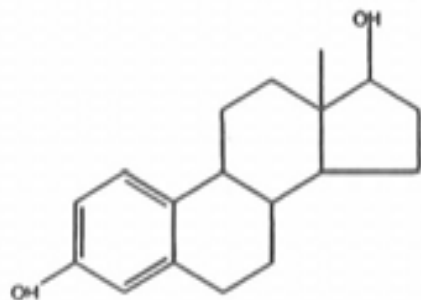
- Definizione
 - Distruttori endocrini
 - Interferenti endocrini
 - Composti ad azione ormono-simile
 - Perturbatori endocrini

Endocrine Disruptors (ED) o Endocrine Active Compounds (EAC)

- EAC
 - composti chimici che determinano effetti indesiderati in un organismo vivente o nella sua prole quale conseguenza di interazioni con la funzione endocrina, interferendo con:
 - Estrogeni
 - Androgeni
 - Ormoni tiroide
 - L'esposizione può comportare
 - Sterilità o diminuzione della fertilità
 - Improprio sviluppo del feto
 - Difetti negli organi riproduttivi della prole
 - Disordini metabolici
 - Tumore

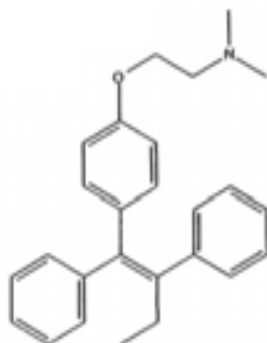
Molecole naturali e sintetiche con azione ormono-simile

Ormone naturale

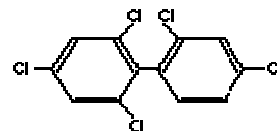


ESTRADIOL
Mol. Wt.: 272

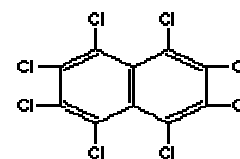
Farmaco
utilizzato
nella terapia
del tumore



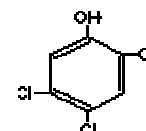
TAMOXIFEN
Mol. Wt.: 372



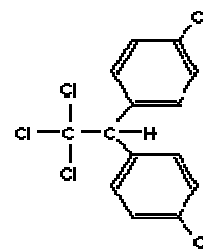
A PCB (polychlorinated biphenyl)



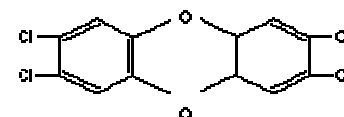
The fully chlorinated
ingredient in polychlorinated
naphthalene (PCN).



2,4,5-Trichlorophenol or
Dowicide 2 (fungicide,
wood preservative and
sanitizing agent).

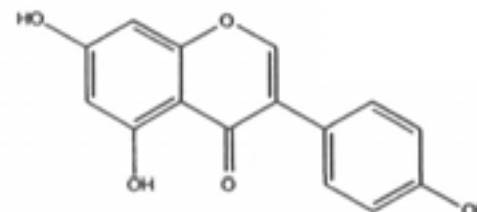


Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)



2,3,7,8-TCDD
of the 75

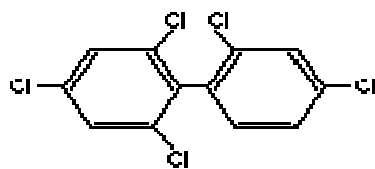
Molecole di
sintesi



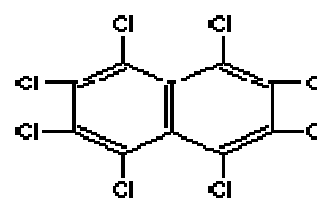
ISOFLAVONE
(Genistein)
Mol. Wt.: 270

Principio
contenuto in
molti vegetali

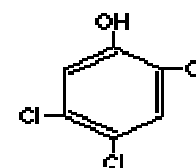
Distruttori Endocrini!



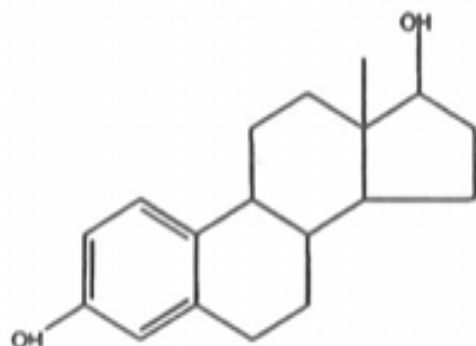
A PCB (polychlorinated biphenyl)



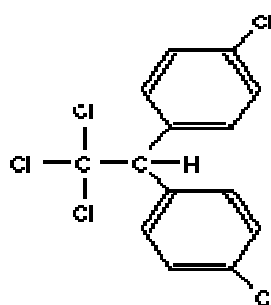
The fully chlorinated ingredient in polychlorinated naphthalene (PCN).



2,4,5-Trichlorophenol or Dowicide 2 (fungicide, wood preservative and sanitizing agent).



ESTRADIOL
Mol. Wt. 272



Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)

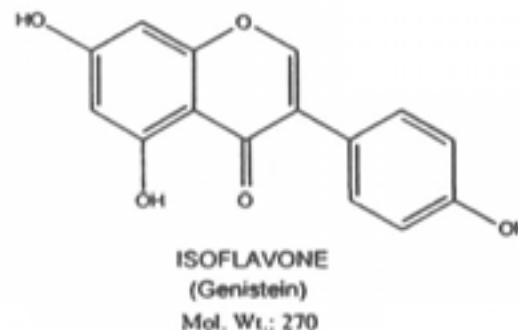
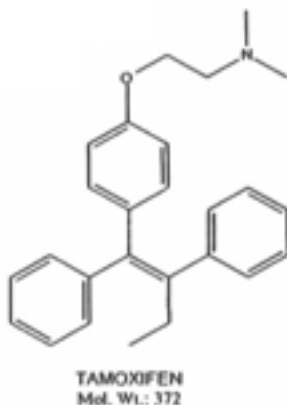


2,3,7,8-TCDD (the most toxic of the 75 known dioxins)

- Gli ED comprendono composti chimici impiegati per scopi diversi (pesticidi, farmaci, componenti plastici, conduttori elettrici), aventi tutti in comune una struttura chimica tale da poter interagire con il sistema endocrino, mimando l'azione fisiologica degli ormoni naturali o contrapponendosi ad essi

Distruttori Endocrini?

Endocrine Active Compounds (EAC) Interferenti endocrini

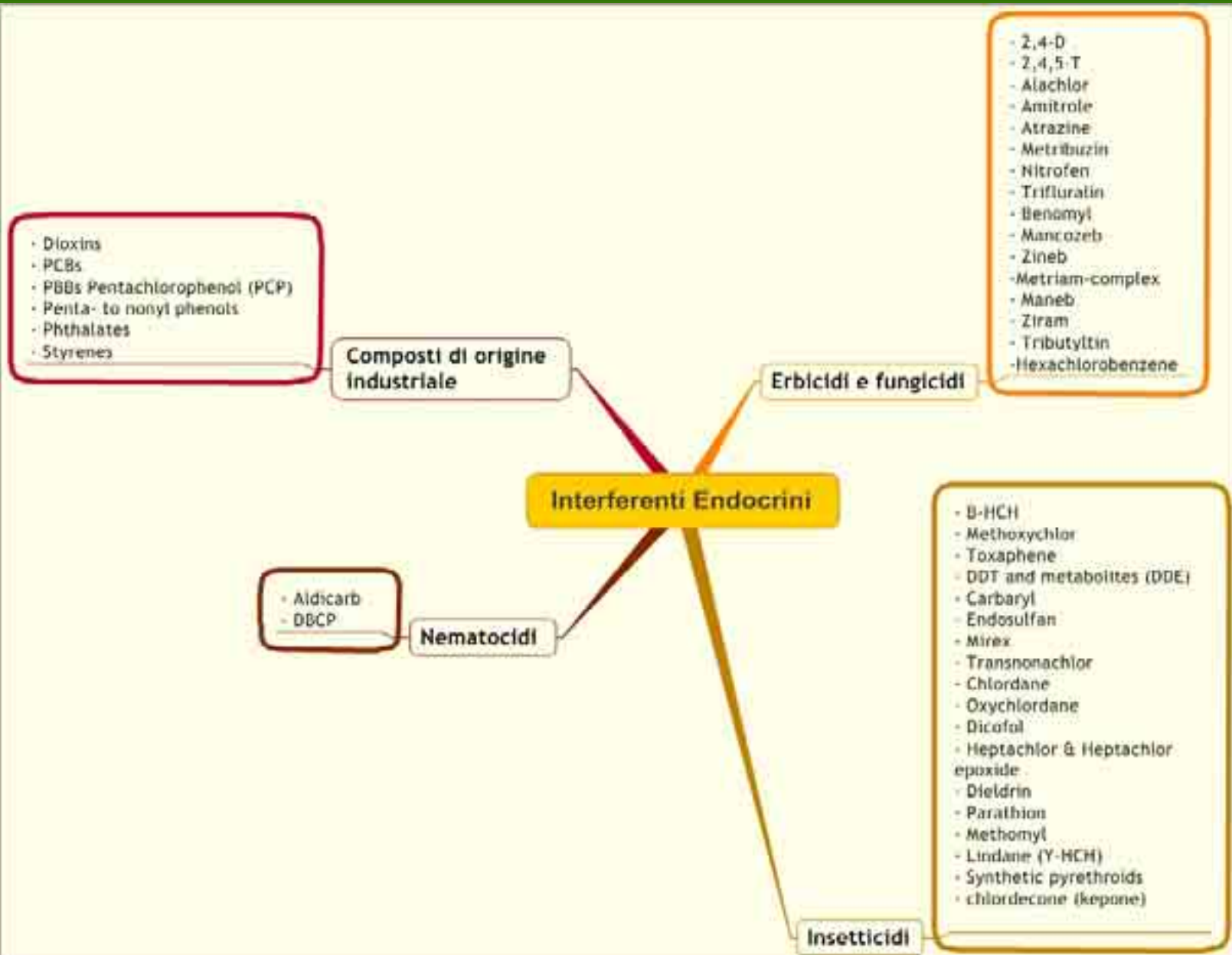


- Poiché esistono molecole pseudo-ormonali di origine naturale o sintetica che sono impiegate o sperimentate come farmaci per la chemioprevenzione o terapia di patologie ormono-dipendenti, ultimamente si preferisce utilizzare una diversa terminologia che si riferisce all'azione svolta più che all'effetto ottenuto

Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH

Interferenti Endocrini	USO
Ftalati	Plastiche
Alchilfenoli	Detergenti domestici
Bisfenolo A	Otturazioni dentarie, rivestimento lattine
PCB e Diossine	Processi di incenerimento, trasformatori elettrici (in passato)
Ritardanti di fiamma bromurati	Plastiche e tessile
Parabenzeni	Conservanti nei cosmetici e in dentifrici antibatterici (in passato)
Idrossianisolo butilato (Butylated hydroxyanisole = BHA)	Antiossidante alimentare
Fitoestrogeni	Ormoni naturali in molte piante
DDT, Deltamethrin, Dimethoate, Carbofuran, Amitraz, Trichlorfon	Insetticidi
Lindane, Chlorpyrifos, Metiram	Pesticidi
Vinclozolin, Carbendazim, Benomyl, Penconazole, Prochloraz, Propinconazole, Tridemorph, Epoxyconazole	Fungicidi
Atrazine, Linuron	Erbicidi
Prescription hormones	Terapia estrogenica sostitutiva

Il rischio delle sostanze chimiche e il regolamento REACH



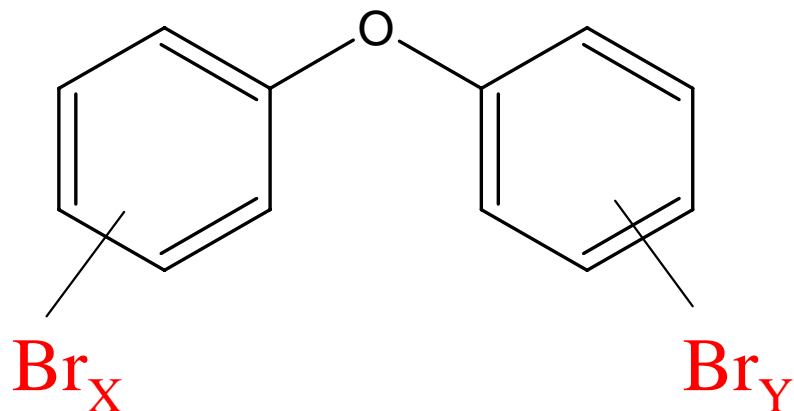
Policlorurati Bifenili (PCB)

- Classe di composti chimici clorurati altamente persistenti nell'ambiente
- Più di 200 congeneri riuniti in miscele complesse
- Sono stati largamente utilizzati come coibentanti
- Banditi alla fine degli anni 80

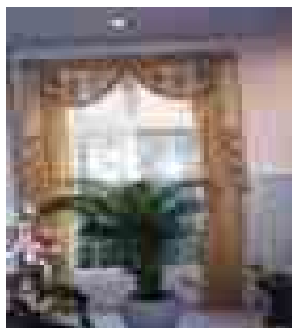
Policlorurati bifenili

- Sebbene non siano più in produzione, sono diffusissimi e altamente persistenti nell'ambiente
- La presenza nelle differenti matrici ambientali, determina l'accumulo di PCB più tossici di quelli originalmente introdotti nell'ambiente
- Prediligono l'accumulo in matrici ad alto contenuto di grassi, rendendo, quindi, molti cibi di uso comune una fonte di esposizione costante

Polibromurati difenili



- Ritardanti di fiamma
 - Penta-schiume
 - 20%
 - Octa (plastiche)
 - 5%
 - Deca (computer/TV)
 - 75%

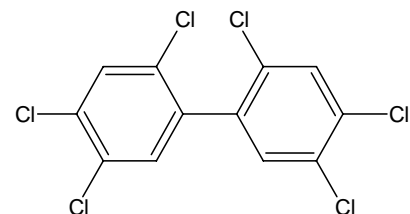


Tom A. McDonald, M.P.H., Ph.D.
OEHH, California EPA

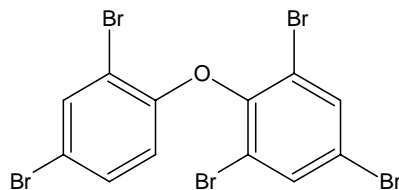
PBDEs: contaminanti ubiquitari

- Indoor e outdoor
- Regioni remote dell'Artico (trasporto a lunga distanza)
- Polvere domestica e ufficio
- Sedimenti di laghi e fiumi
- Scarichi fognari
- Alimenti (incluso il pesce da pesca sportiva)

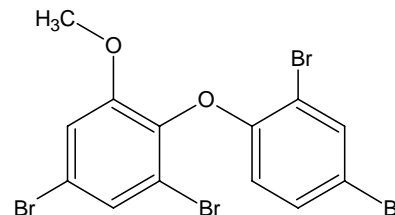
Structural Similarity of PBDEs, Their Metabolites and Environmental Derivatives to T4 and PCBs



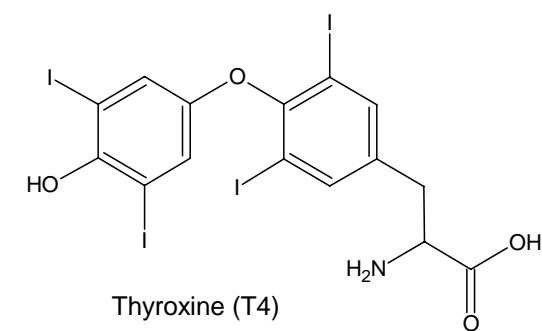
2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl
(PCB-153)



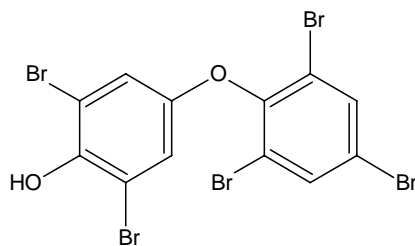
2,2',4,4',6-pentabromodiphenylether
(PBDE-100)



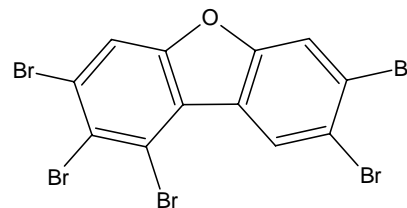
2-(2',4'-dibromophenoxy)-4,6-dibromoanisole
(methoxy-PBDE)



Thyroxine (T4)



4-(2',4',6'-tribromophenoxy)-2,6-dibromophenol
(hydroxy-PBDE)



2,3,4,7,8-pentabromodibenzofuran
(PBDF)

Tom A. McDonald, M.P.H., Ph.D.
OEHHA, California EPA

Interferenti Endocrini e Tumori

- Regione dei Grandi Laghi
 - Popolazioni che si nutrono di pesce:
 - Aumento incidenza tumore della mammella
 - Sviluppo di patologie neuronali
- Taiwan:
 - Anormalità nello sviluppo dei maschi sino a 6 anni dopo esposizione a PCB
- Long Island:
 - Tumore mammella incrementa con la vicinanza a siti contaminati da PCB
- Iowa, NC:
 - Tumore mammella nelle mogli di agricoltori
- California
 - Agricoltori ispanici, incremento tumore mammella specialmente nelle donne più giovani

Test per la definizione della tossicità riproduttiva

- FERTILITA'
 - Studio di tossicità riproduttiva a una generazione
 - Ref. OECD TG 415
 - Studio di tossicità riproduttiva in due generazioni
 - Ref. OECD TG 416
 - Studio combinato di tossicità a dose ripetuta e tossicità dello sviluppo
 - OECD Test Guideline 422 OECD Test Guideline 421

Studio di tossicità riproduttiva in due generazioni

- Ratto o topo
 - Giustificare l'uso di altre specie
 - Non usare ceppi con bassa fecondità
- Numero/sexo
 - 20 femmine gravide a termine o vicino al termine
- Dosi
 - Almeno tre trattamenti per gruppo un gruppo di controlli
 - Se si usa un solvente-veicolo occorre un gruppo di controllo solvente alla più alta concentrazione di solvente saggiata

Studio di tossicità riproduttiva in due generazioni

- Ratto
 - Giustificare l'uso di altre specie
 - Non usare ceppi con bassa fecondità
- Numero/sexo
 - 20 femmine gravide a termine o vicino al termine
- Dosi
 - Almeno tre trattamenti per gruppo un gruppo di controlli
 - Se si usa un solvente-veicolo occorre un gruppo di controllo solvente alla più alta concentrazione di solvente saggiata

Test per la definizione della tossicità riproduttiva

- TOSSICITA' DELLO SVILUPPO
 - Studio di tossicità dello sviluppo prenatale
 - Ref. OECD TG 414
 - Ratto
 - Almeno 10 animali per sesso per gruppo
 - Almeno tre dosi per gruppo e un gruppo di controllo
 - Studio combinato di tossicità a dose ripetuta e tossicità dello sviluppo
 - OECD Test Guideline 422 OECD Test Guideline 421

Classificazione di tossicità riproduttiva

- Categoria 1
 - Sostanze che danneggiano la fertilità negli esseri umani (Esistono prove sufficienti per stabilire un nesso causale tra l'esposizione umana alla sostanza e un calo della fertilità)
 - Sostanze con effetti tossici sullo sviluppo umano (Esistono prove sufficienti per stabilire un nesso causale tra l'esposizione umana alla sostanza e successivi effetti tossici nel corso dello sviluppo della progenie)
- Categoria 2
 - Sostanze che dovrebbero essere considerate in grado di danneggiare la fertilità negli esseri umani sulla base di:
 - prove evidenti di danno della fertilità negli animali in assenza di effetti tossici
 - altri dati pertinenti.
 - Sostanze che dovrebbero essere considerate in grado di provocare effetti tossici sullo sviluppo umano sulla base in genere di:
 - risultati inequivocabili di adeguati studi su animali in cui gli effetti osservati comparivano in assenza di segni di forte tossicità materna
 - altri dati pertinenti.

Classificazione di tossicità riproduttiva (continua)

- Categoria 3
 - Sostanze che potrebbero avere effetti sulla fertilità umana
 - risultati di adeguati studi su animali che forniscono prove sufficientemente valide da corroborare **il forte sospetto** di danno della fertilità in assenza di altri effetti tossici,
 - altri dati pertinenti.
 - Sostanze che potrebbero produrre alterazioni negli esseri umani a causa dei loro probabili effetti tossici sullo sviluppo
 - risultati di adeguati studi su animali che forniscono prove sufficientemente valide da corroborare il forte sospetto di tossicità sullo sviluppo
 - altri dati pertinenti.

UE Directive 93/21/EEC

Conseguenze della classificazione per la tossicità riproduttiva

- Categoria 1
 - Sostanze che danneggiano la fertilità negli esseri umani
 - Frase di rischio = R60 Può ridurre la fertilità
 - Scheda di sicurezza
 - Sostanze che hanno effetti tossici sullo sviluppo
 - Frase di rischio = R61 Può danneggiare i bambini non ancora nati
 - Scheda di sicurezza
- Categoria 2
 - Sostanze da considerare potenzialmente in grado di danneggiare la fertilità negli esseri umani
 - Frase di rischio = R60 Può ridurre la fertilità
 - Scheda di sicurezza
 - Sostanze da considerare potenzialmente in grado di provocare effetti tossici sullo sviluppo degli esseri umani
 - Frase di rischio = R61 Può danneggiare i bambini non ancora nati
 - Scheda di sicurezza



Conseguenze della classificazione per la tossicità riproduttiva

- Categoria 3
 - Sostanze che potrebbero avere effetti sulla fertilità umana
 - frase di rischio = R62 Possibile rischio di ridotta fertilità
 - Scheda di sicurezza
 - Sostanze che potrebbero produrre danni sugli esseri umani a causa dei loro probabili effetti tossici sullo sviluppo
 - frase di rischio = R63 Possibile rischio di danni ai bambini non ancora nati
 - Scheda di sicurezza

