



RIFLESSIONI SULLO STATO DI ATTUAZIONE DELLA RIFORMA DELLE ARPA NELL'AMBITO DEL SNPA

LABORATORIO DI PROGETTAZIONE
STRATEGICA E ORGANIZZATIVA

Summer School residenziale AssoARPA
per l'Alta Dirigenza del SNPA

Annamaria Colacci

La dose soglia nel contesto regolatorio: prevenzione o protezione

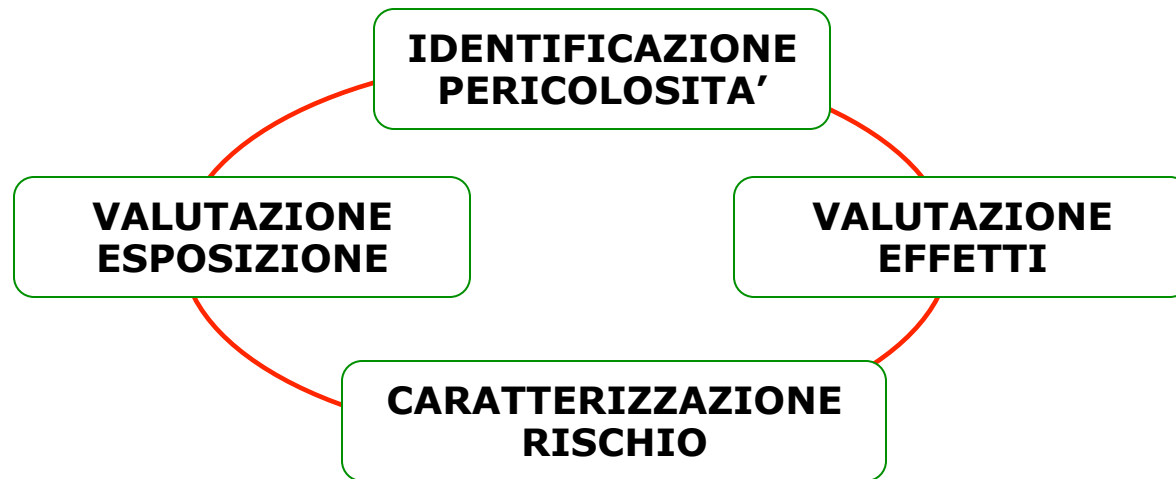
Cagliari, Fondazione di
Sardegna
27, 28, 29 settembre 2017

LA DEFINIZIONE DI PERICOLOSITÀ DEI COMPOSTI CHIMICI



Environmental Toxicology

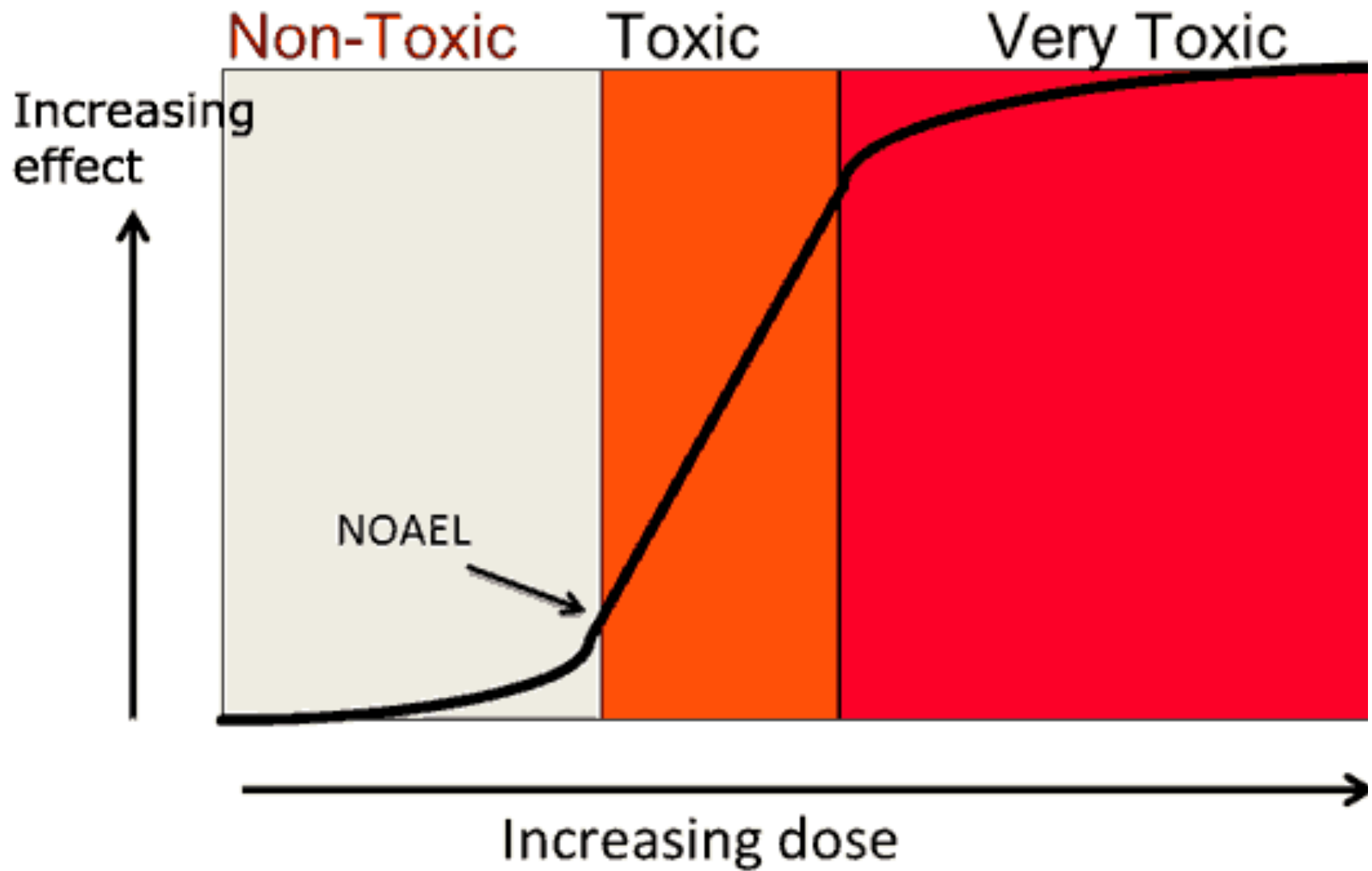
Rischio da esposizione ambientale



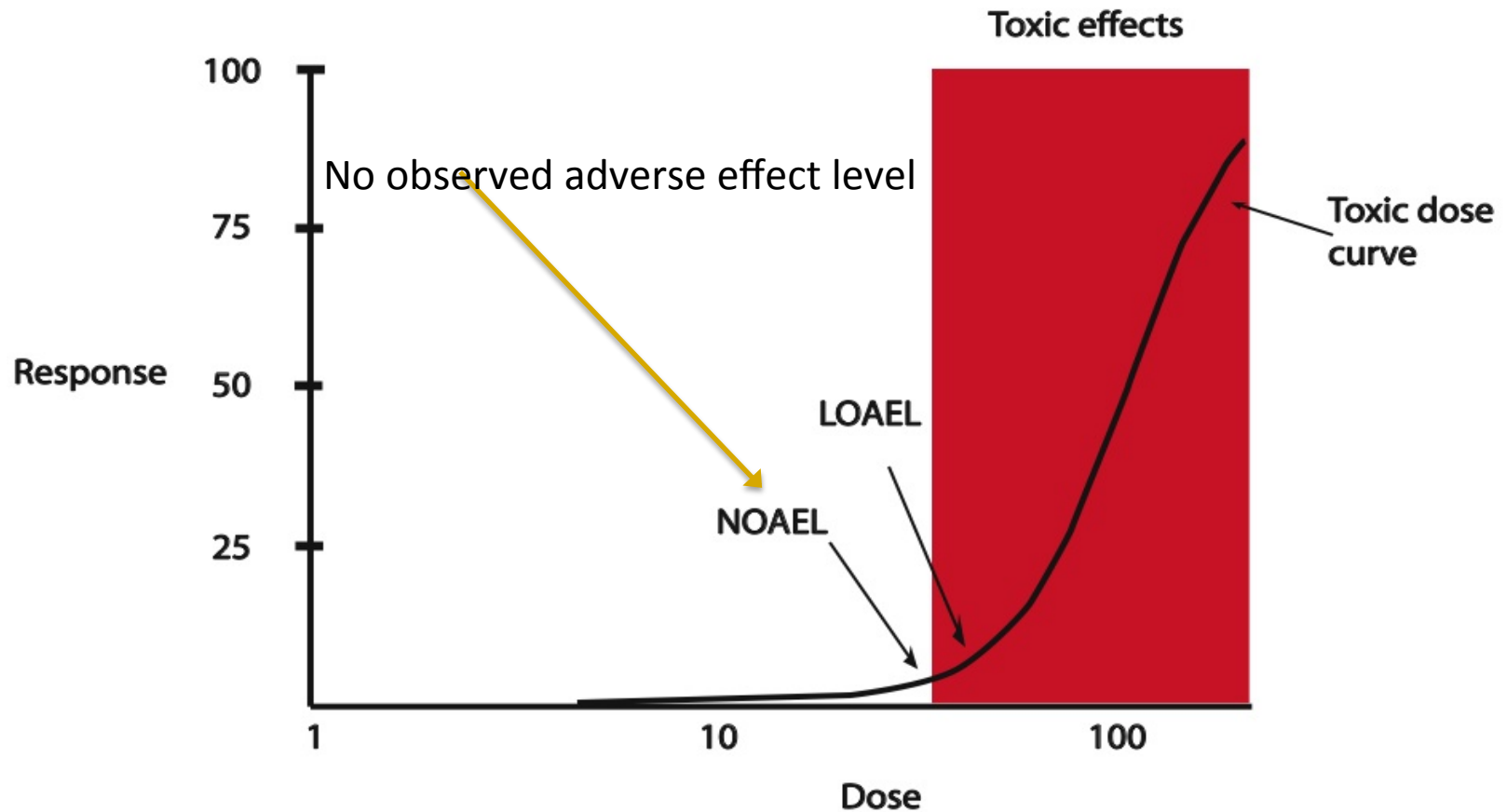
Il concetto di avversità

- “A change in morphology, physiology, growth, reproduction, development or lifespan of an organism which results in impairment of functional capacity or impairment of capacity to compensate for additional stress or increased susceptibility to the harmful effects of other environmental influences”.
- Una variazione nella morfologia, fisiologia, crescita, riproduzione, sviluppo o durata della vita di un organismo che risulta in un danneggiamento di capacità funzionali o un indebolimento della capacità di compensare lo stress addizionale oppure nell'aumento della suscettibilità agli effetti pericolosi di altri fattori ambientali

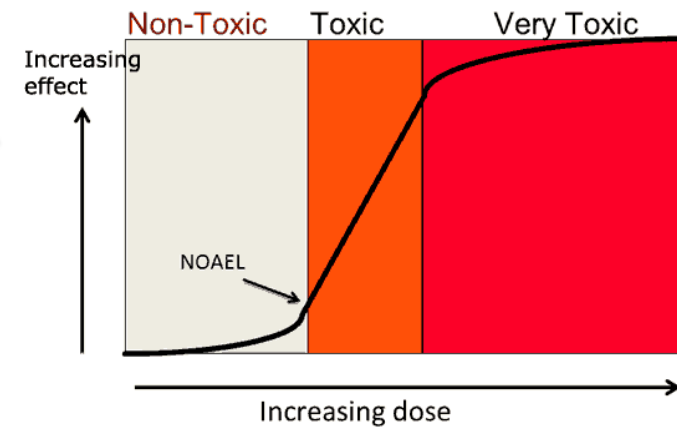




La misura dell'avversita'



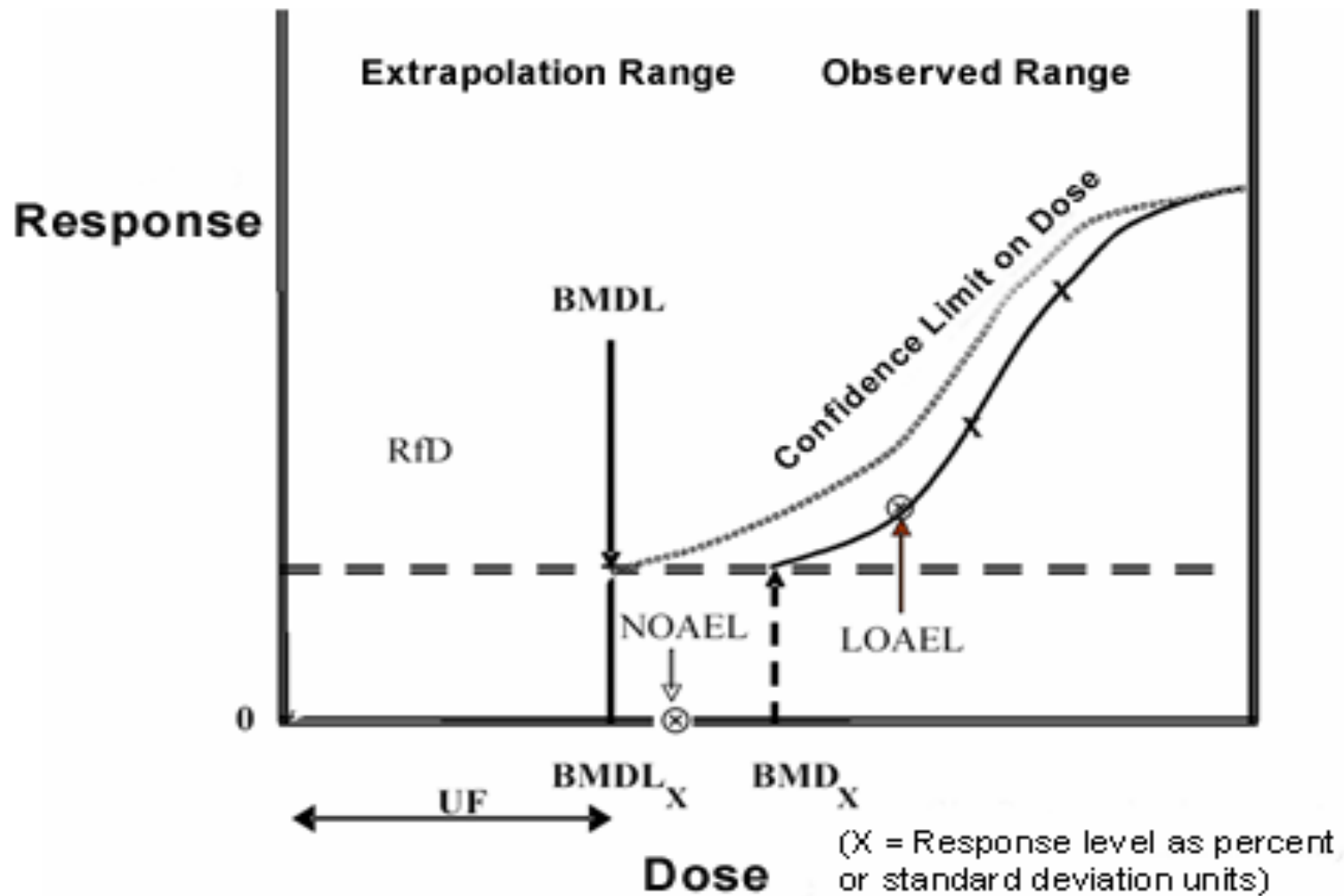
- Tossicità subcronica
- Tossicità cronica



- Studi standard (protocolli convalidati e linee guida)
- Eseguiti in Buona Pratica di Laboratorio
- Mutualmente accettati



Dose-risposta e dose soglia

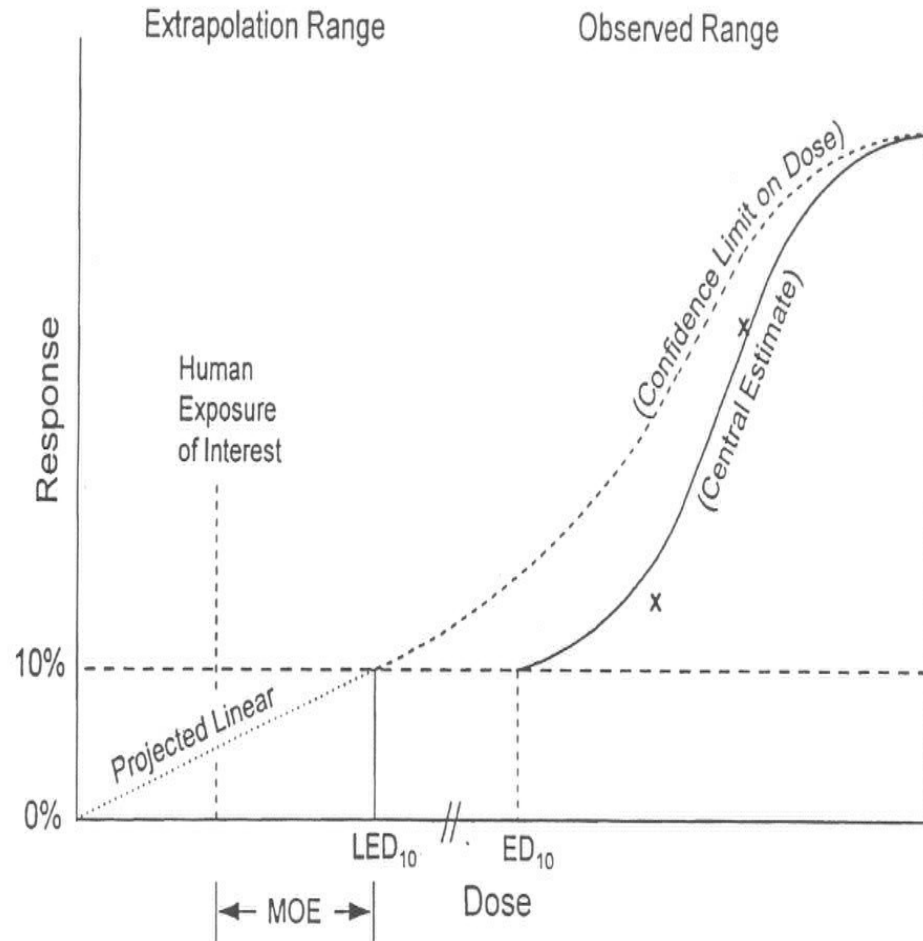


NOAEL e benchmark dose

- Benchmark dose (BMD)
 - Dose di sostanza da cui ci si aspetta un risultato in un prespecificato livello di effetto
 - Si può applicare ad ogni composto o miscela o endpoint
 - BMD è considerata superiore a NOAEL perché
 - è meno influenzata dal disegno sperimentale
 - È una entità definita
 - La sua precisione può essere stimata
 - La differenza fondamentale è che nel caso di BMD l'effetto che si vuole considerare è prederminato. Questo consente di estrapolare meglio gli indici derivati (RfD o ADI)



Benchmark dose e slope factor nella procedura di stima del rischio



Fattori di sicurezza o di incertezza

❑ Fattore 10

- dati sufficienti da esposizione umana subcronica o cronica per il calcolo del NOEL
- dati concordanti di tossicità in altre specie

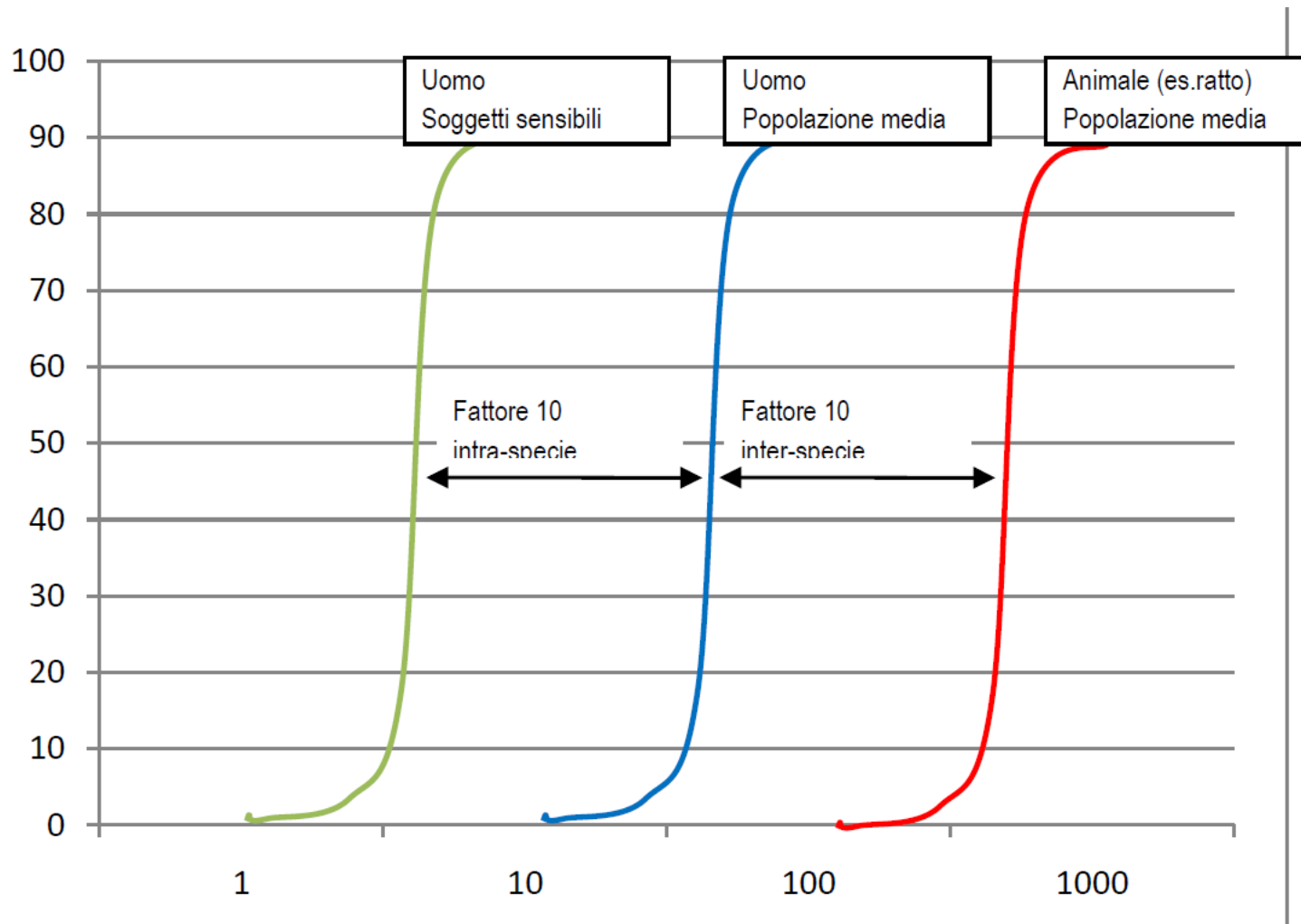
❑ Fattore 100

- dati sufficienti di tossicità cronica in una o più specie di animali per il calcolo del NOEL
- buone informazioni per esposizioni croniche o subcroniche nell'uomo sufficienti per identificare un LOEL

❑ Fattore 1000

- dati limitati o incompleti di tossicità subcronica e cronica nell'animale
- possibilità di identificazione del solo LOAEL in più specie animali





Livelli di dose accettabili

- ADI
- acceptable daily intake (dose giornaliera accettabile)
- TDI
- tolerable daily intake (dose giornaliera tollerabile)
- $$RfD = \frac{NOAEL_{critical\ effect}}{UF_{interspecies} \times UF_{intraspecies} \times MF}$$

ADI e TDI = NOAEL / fattore di sicurezza



Livelli di dose accettabili (UE)

- ADI
 - acceptable daily intake (dose giornaliera accettabile)
- TDI
 - tolerable daily intake (dose giornaliera tollerabile)

ADI e TDI = NOEL / fattore di sicurezza



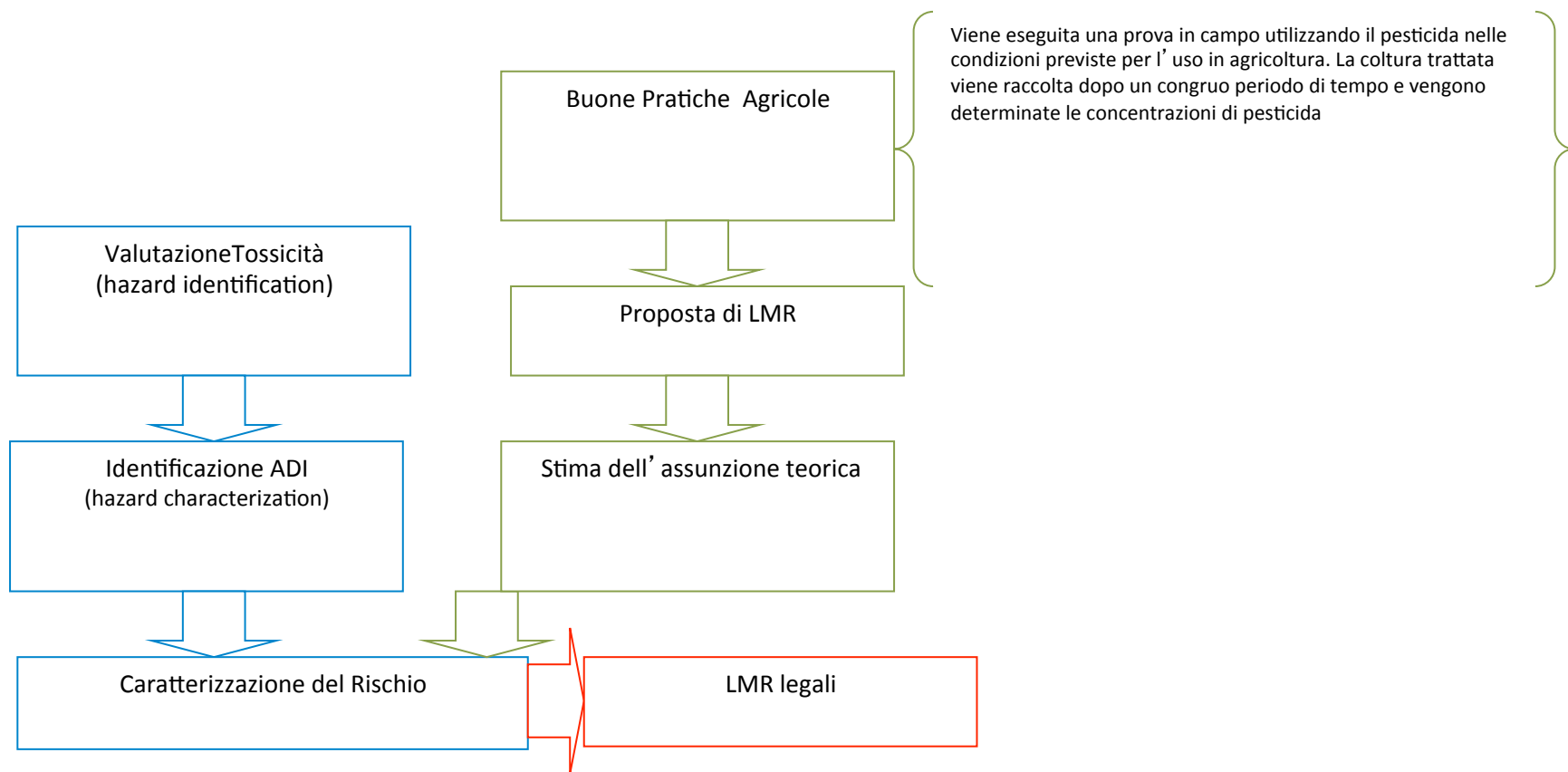
Livelli di dose accettabili (USA)

- RfD = Reference dose
- UF = uncertainty factor

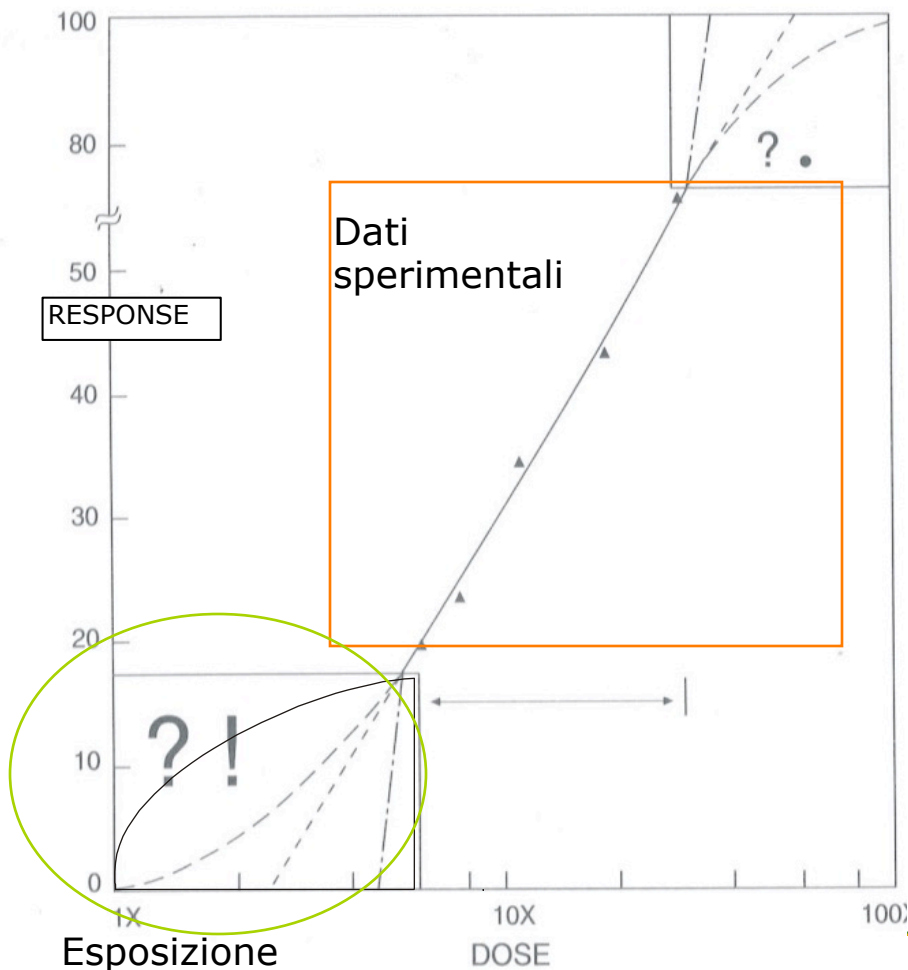
$$\text{RfD} = \frac{\text{NOAEL}_{\text{critical effect}}}{\text{UF}_{\text{interspecies}} \times \text{UF}_{\text{intraspecies}} \times \text{MF}}$$



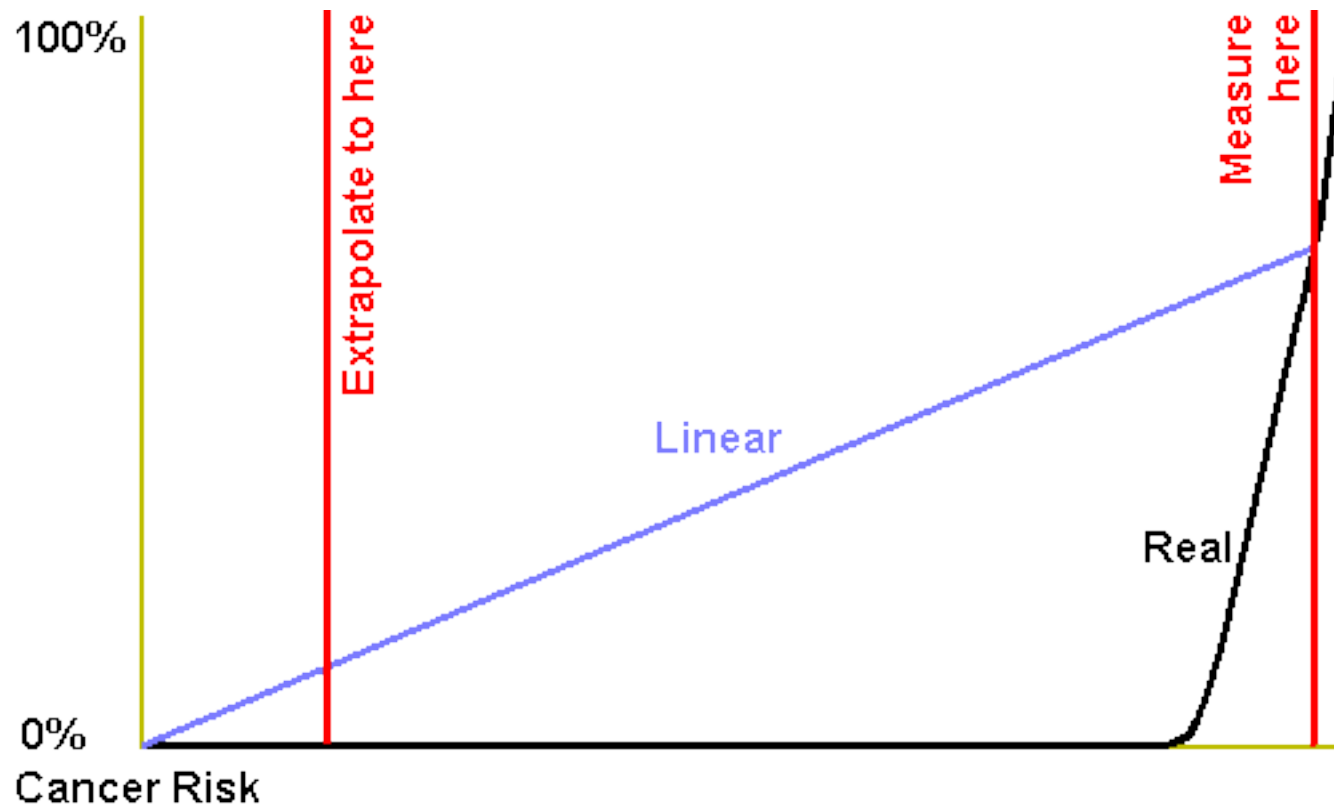
ADI e limiti legali



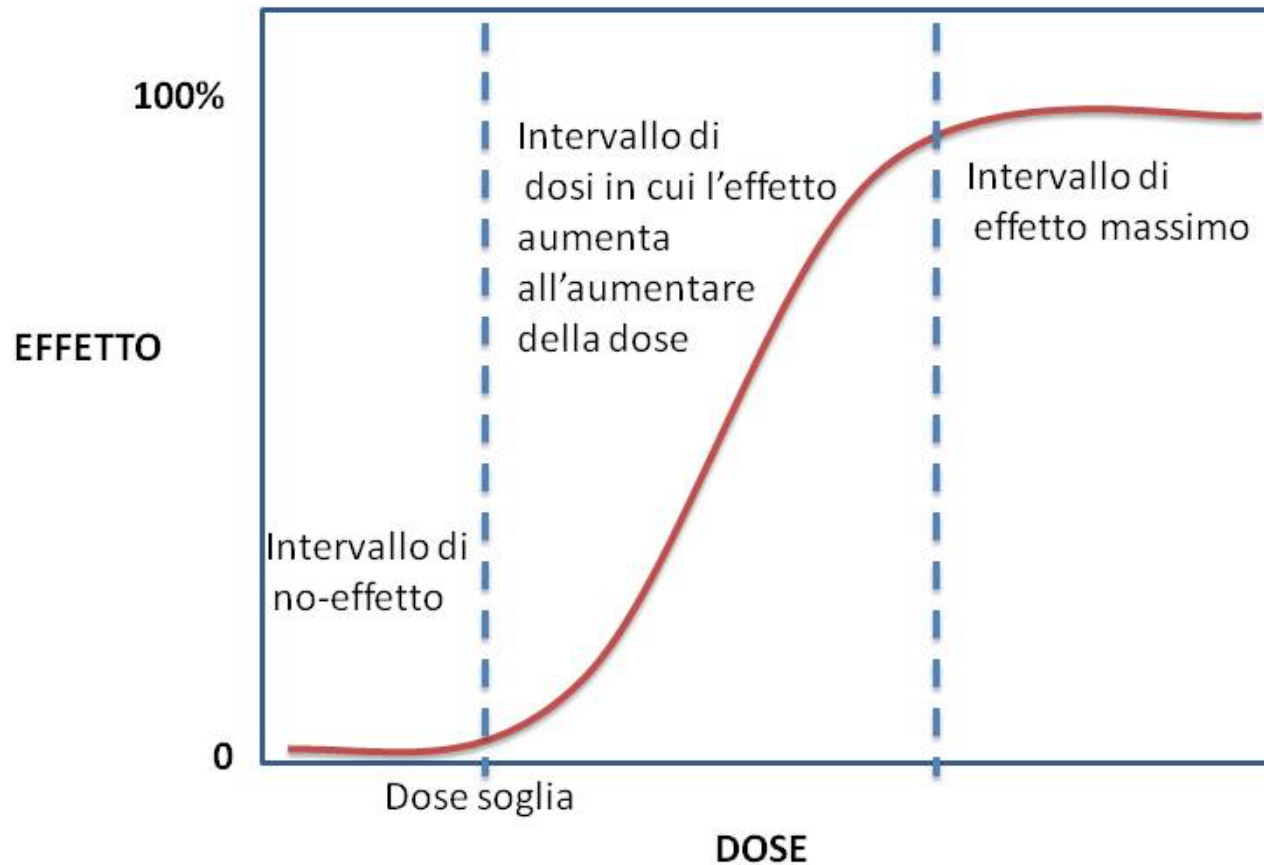
Dose sperimentale e esposizione umana



La curva dose-risposta linearizzata



Curva dose-risposta per eventi non genotossici



Curve non monotone (ormesi)

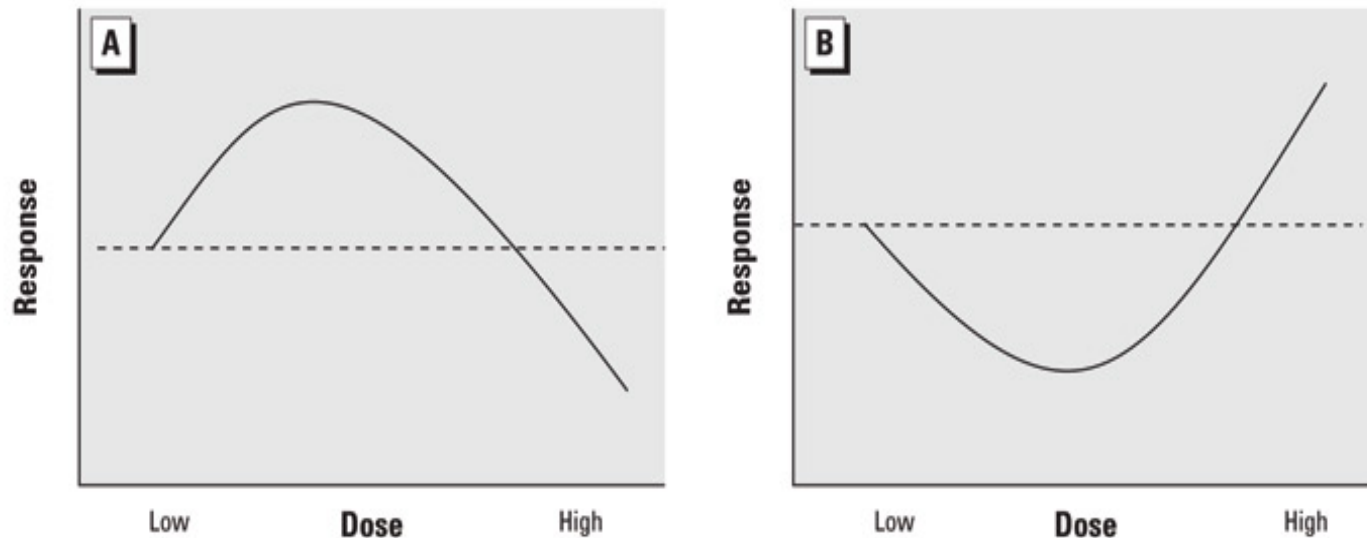


Figure 1. Schematic forms of the hormetic dose response. (A) The most common form of the hormetic dose–response curve showing low-dose stimulatory and high-dose inhibitory responses (β - or inverted U-shaped curve). (B) The hormetic dose–response curve depicting low-dose reduction and high-dose enhancement of adverse effects (J- or U-shaped curve).



- Dose-risposta bifasica che porta a curve a U, J o U rovesciata

Il concetto di ormesis

- Parola originata dal greco
 - ὁρμαω
 - hormau
 - Stimolare
 - ὁρμαομαι
 - hormein
 - Eccitare
- Ormesis indica la capacita' di una sostanza di agire in modo diverso a seconda della dose.
- La curva dose-risposta acquisisce cosi' una forma a J o ad U rovesciata



Che cosa implica l'ormesi?

- Un grande dibattito scientifico internazionale
 - Detrattori
 - Sostenitori
 - Scettici
- Una grande prudenza ai fini della stima di rischio
 - Assunzione che non esiste dose soglia per l'impossibilita' di definire una NOAEL (o comunque una NOEL)

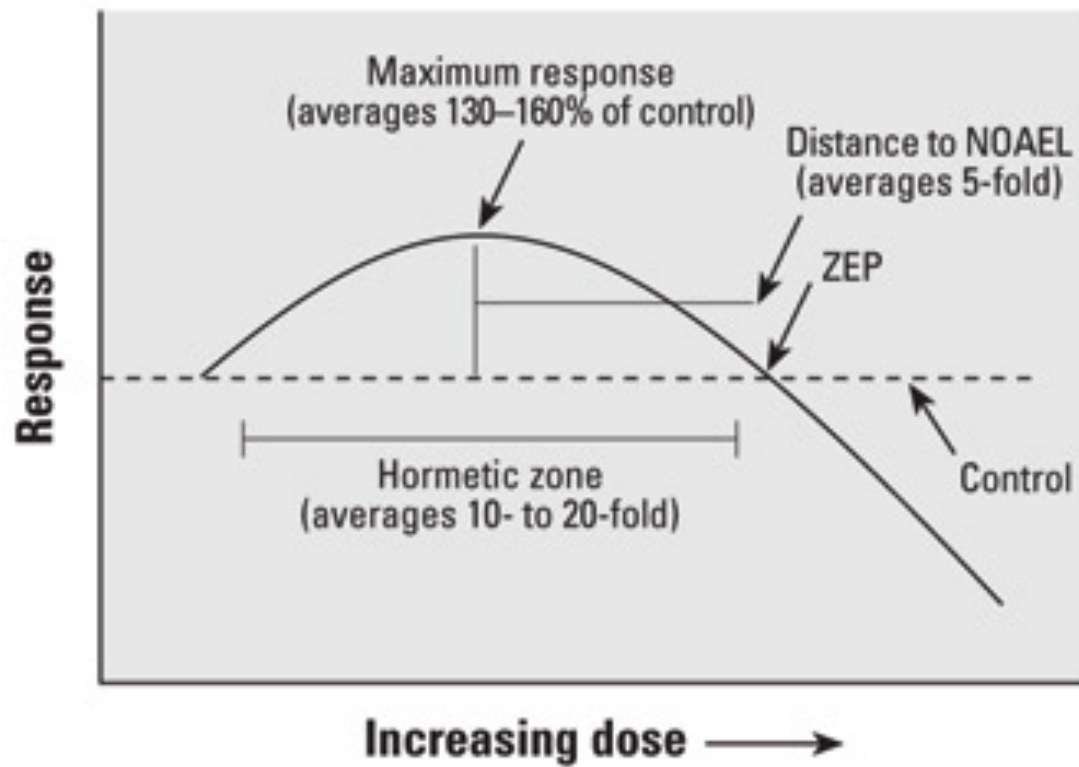
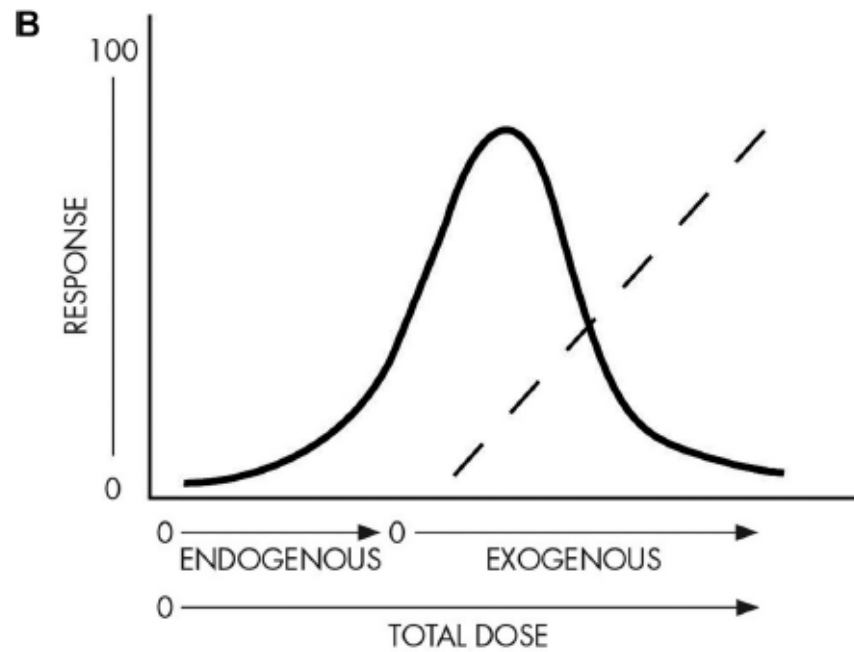
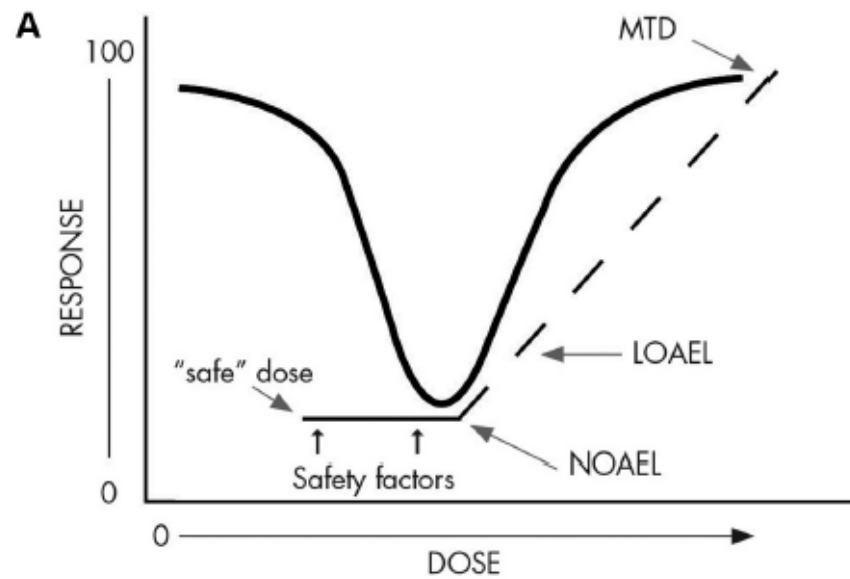
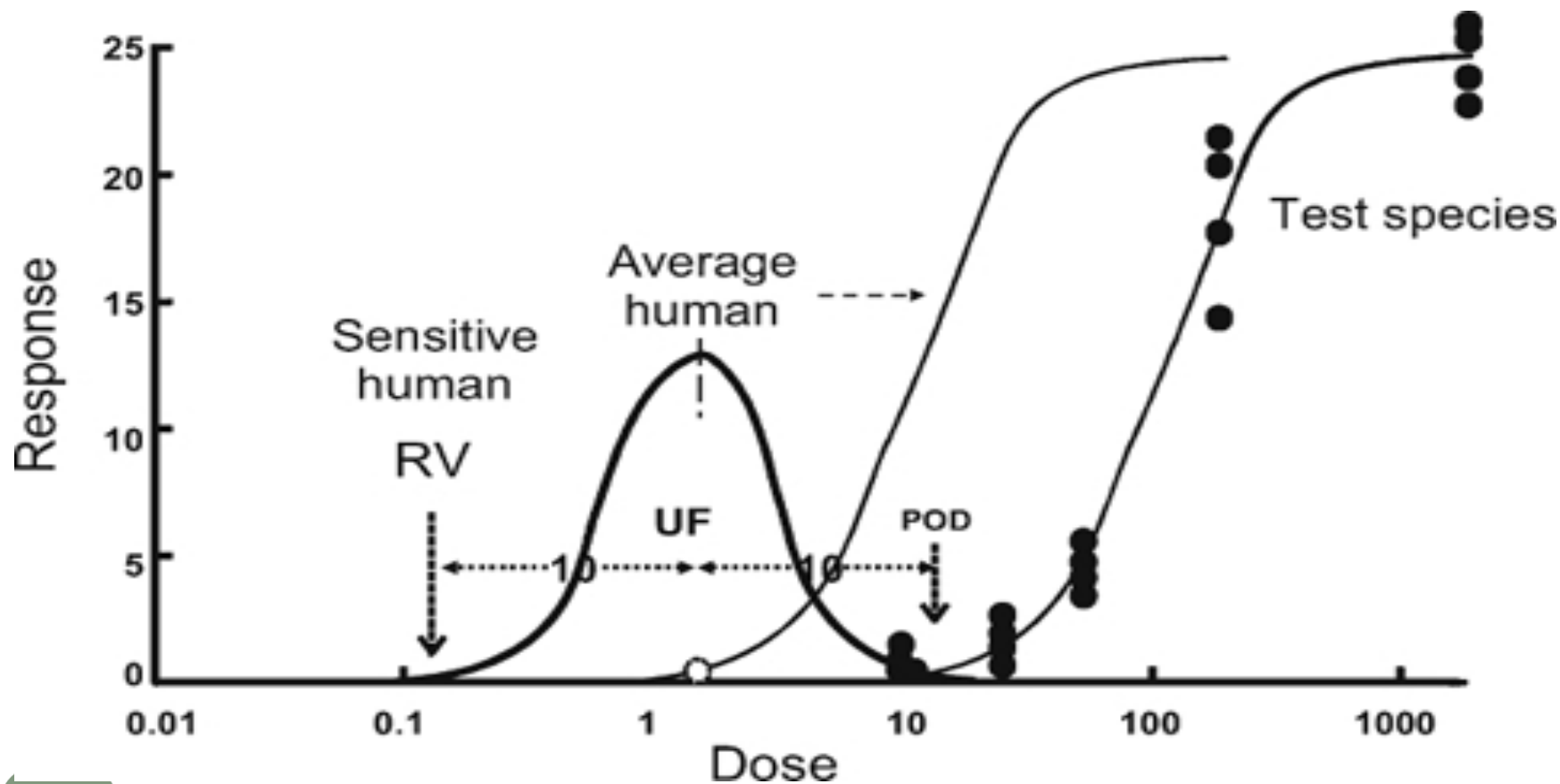


Figure 2. Dose–response curve showing the quantitative features of hormesis. NOAEL, no observed adverse effect level.

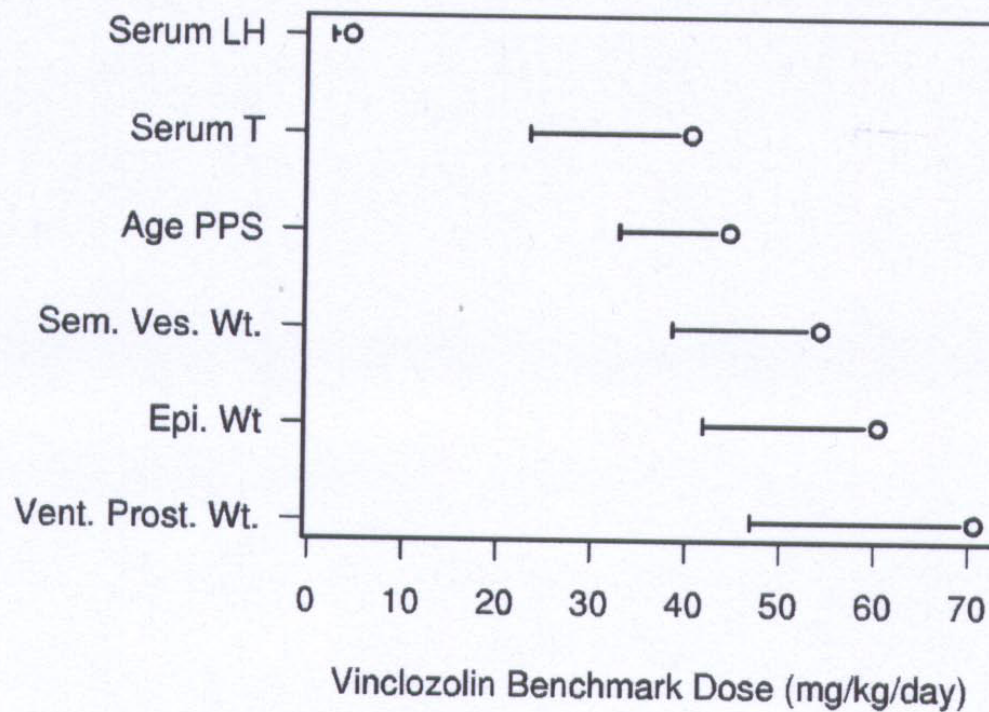




Non una sola NOAEL

Human risk assessment of hormonally active substances

2157

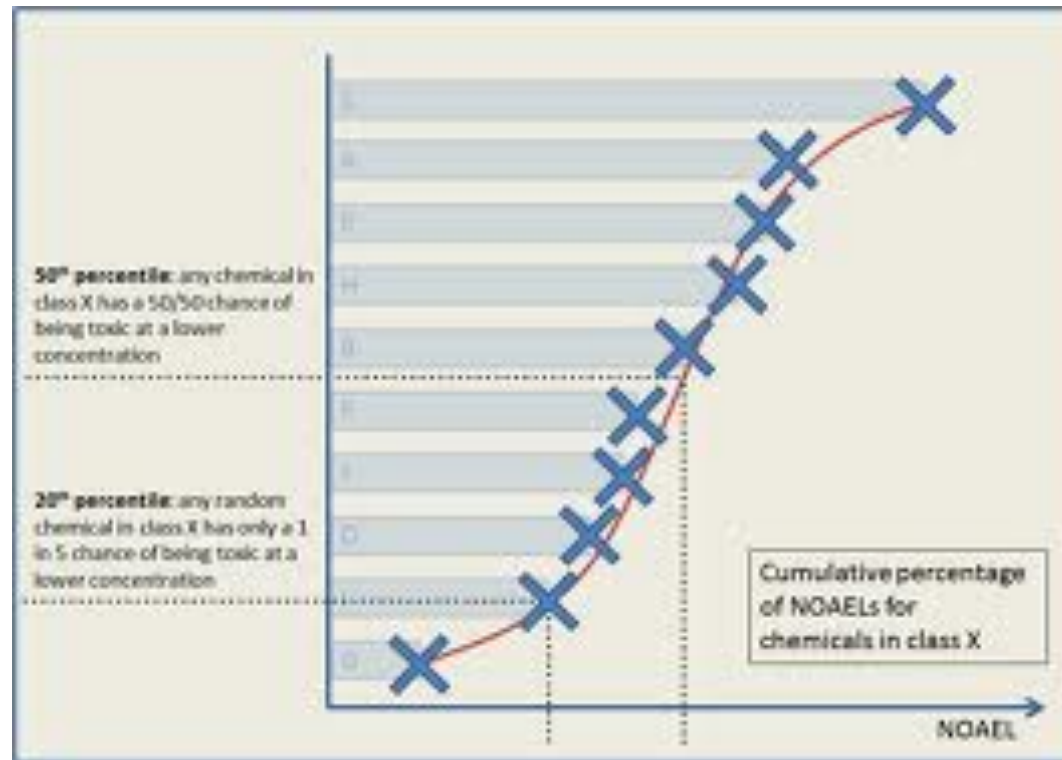


Le dosi basse in tossicologia regolatoria

- Threshold of Toxicological Concern (TTC)
 - Una dose calcolata ai fini cautelativi per sostanze per le quali non si dispone di una NOAEL diretta e, pertanto, ci si riferisce ai livelli di NOAEL per tutti i composti appartenenti alla stessa classe chimica



TTC

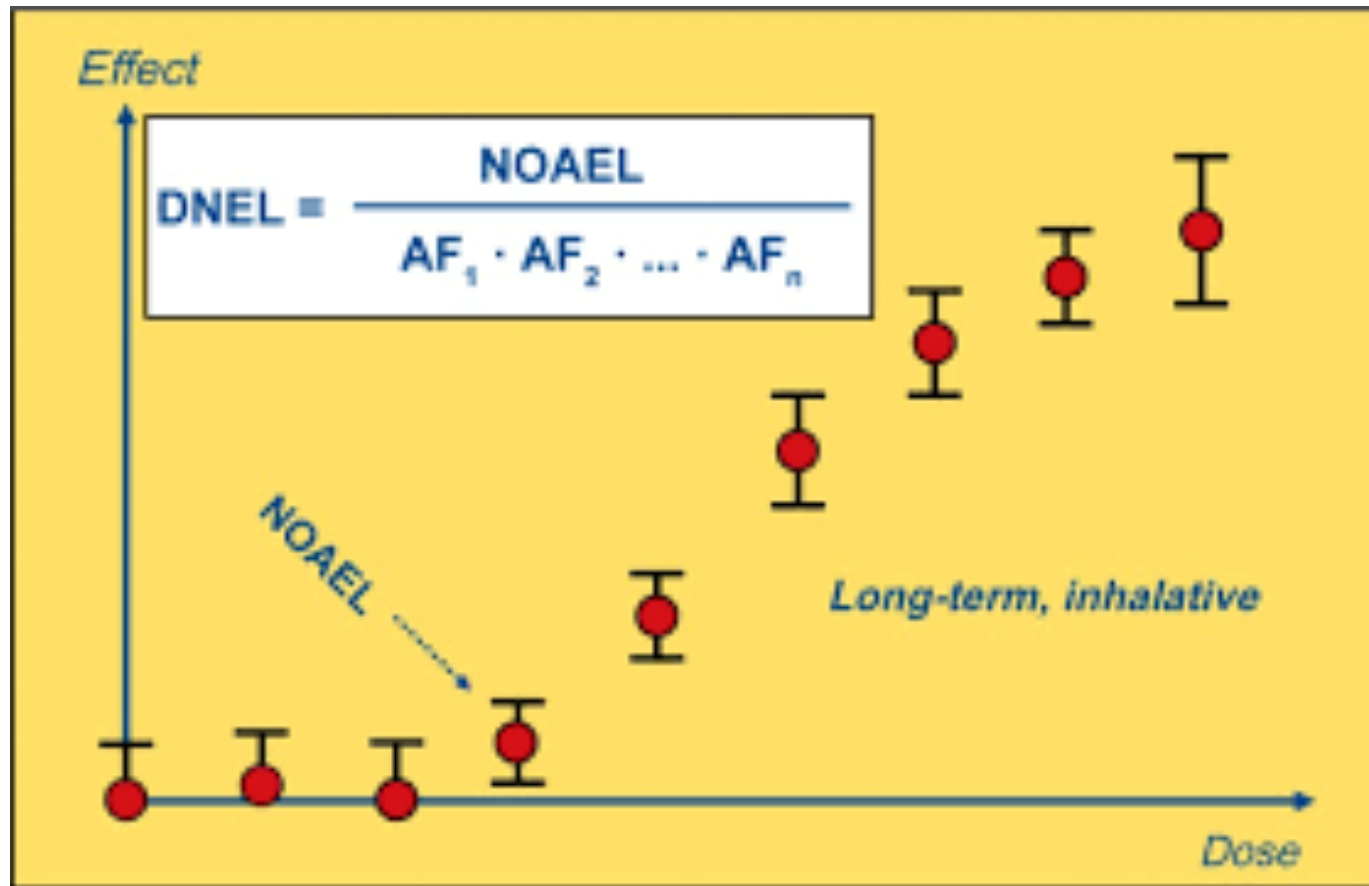


TTC

Category	Description	TTC mg/ person/day
1. Low toxicity	Substances with simple structures for which efficient modes of detoxification exist in our body	1.8
2. Moderate toxicity	Substances that are less innocuous than those in category 1, but which do not contain features suggestive of toxicity	0.54
3. High toxicity	Substances suggesting significant toxicity or containing reactive functional groups	0.09



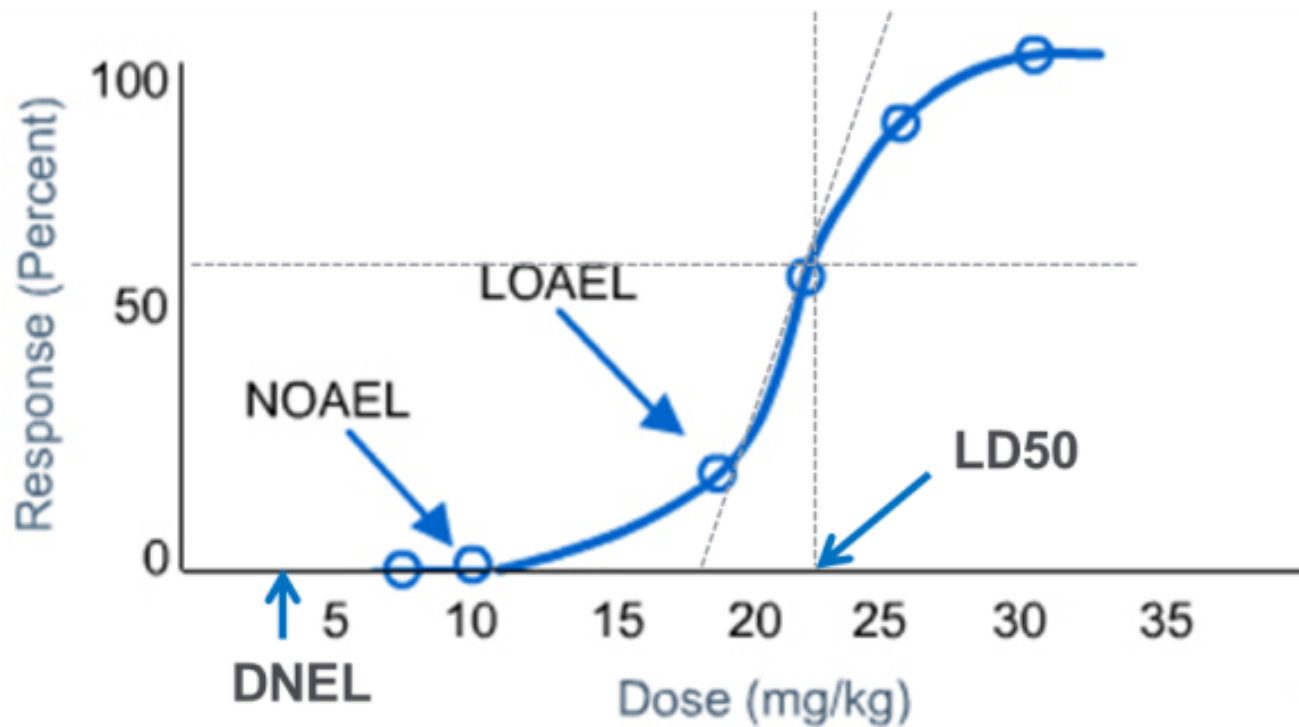
Limiti di esposizione: DNEL



Assessment Factors - Differences		Default value – systemic effects	Default value – local effects
Interspecies	- Differences in metabolic rate - Other differences	Allometric scaling factor*(4 for rat) 2.5	- 1 or 2.5
Intraspecies	- Worker - General population	5 10	5 10
Exposure Duration	- Subacute to subchronic - Subchronic to chronic - Subacute to chronic	3 2 6	3 2 6
Dose-response	- LOAEL to NOAEL - Other issues	3-10 1(default)	3-10 1(default)
Data quality	- Case by case	≥ 1 (good quality=1)	≥ 1 (good quality=1)

*Allometric scaling factors: rat (4), mouse (7), hamster (5), rabbit (2.4), monkey(2), dog (1.4). Only to be applied to oral and dermal NOAEL in units (mg/kg bw/day).





L'esempio paradigmatico degli effetti avversi
alle basse dosi: i distruttori endocrini





JRC SCIENTIFIC AND POLICY REPORTS

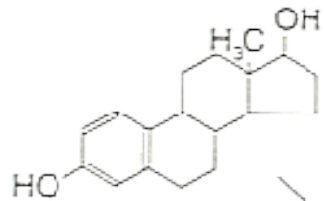
Thresholds for Endocrine Disruptors and Related Uncertainties

Report of the Endocrine Disruptors
Expert Advisory Group

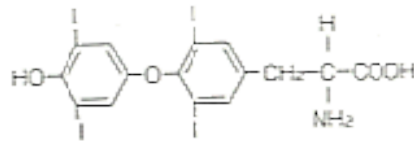


Environmental Toxicology

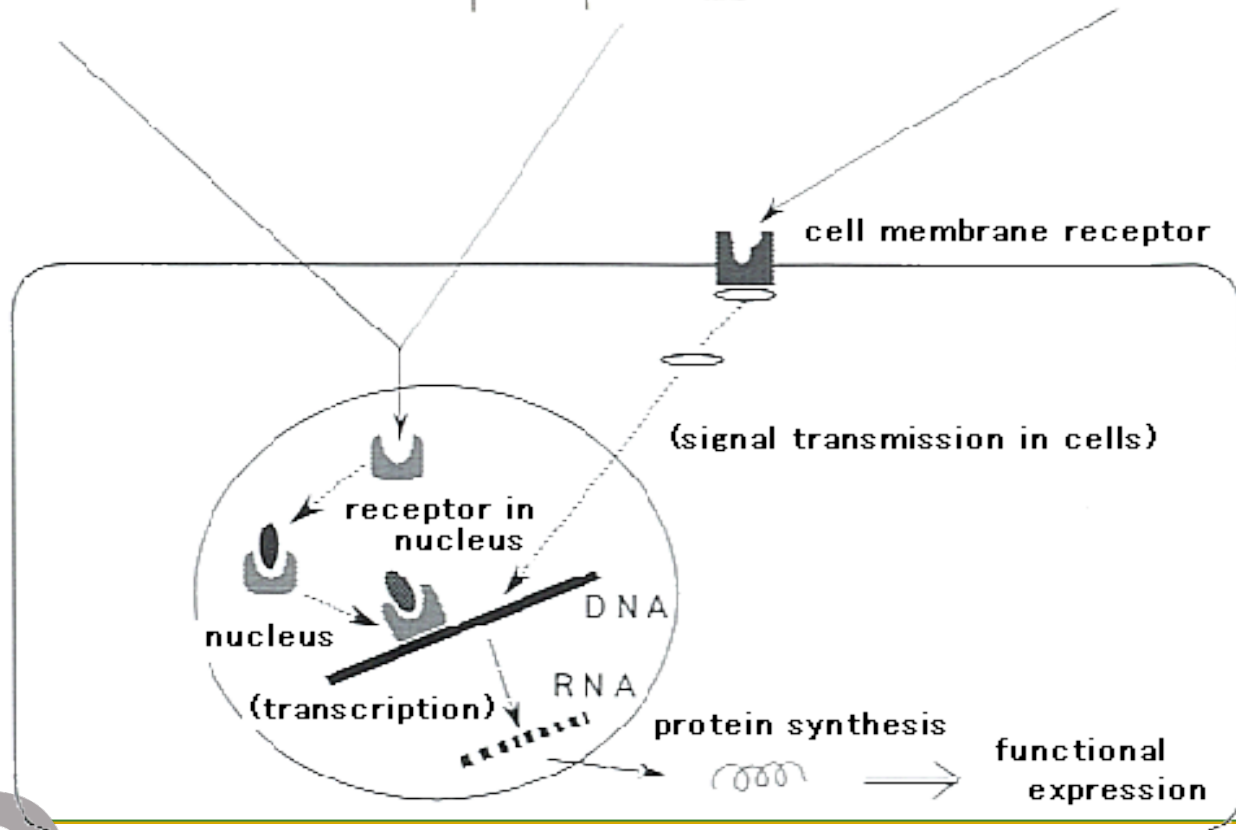
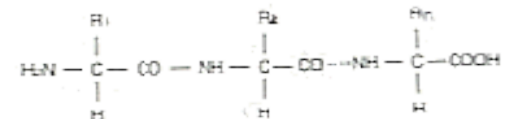
steroid hormones
(estrogen)



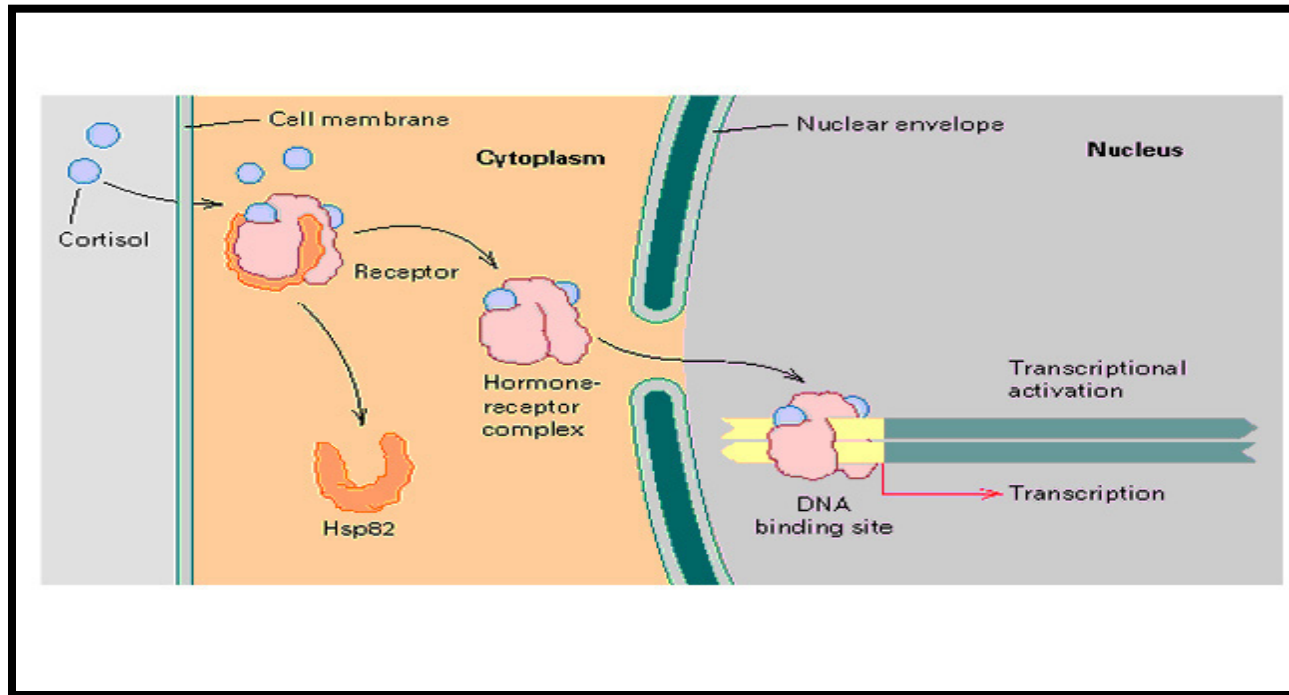
amino acid derivative hormone
(thyroid hormone)



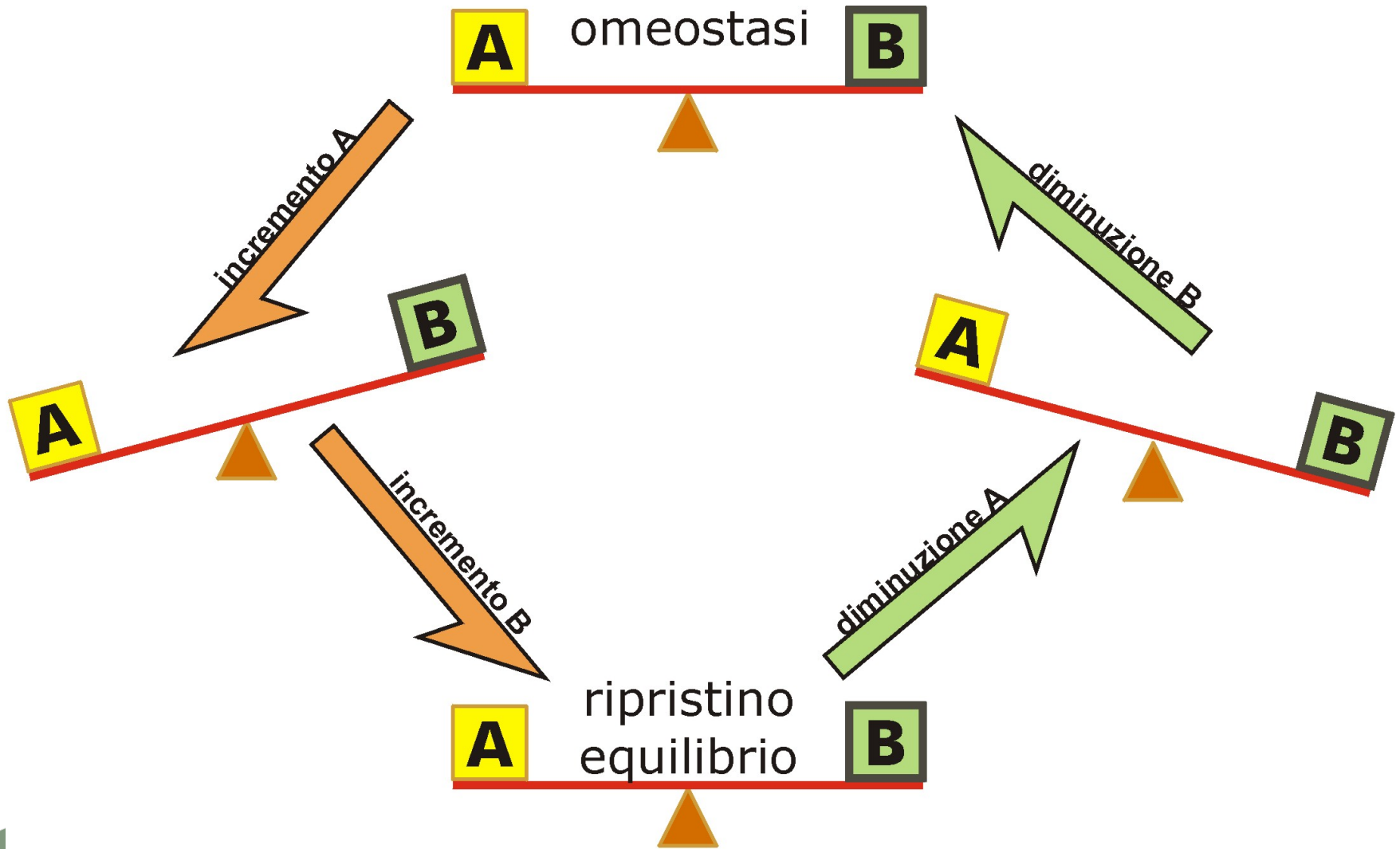
peptide hormone
(growth hormone)



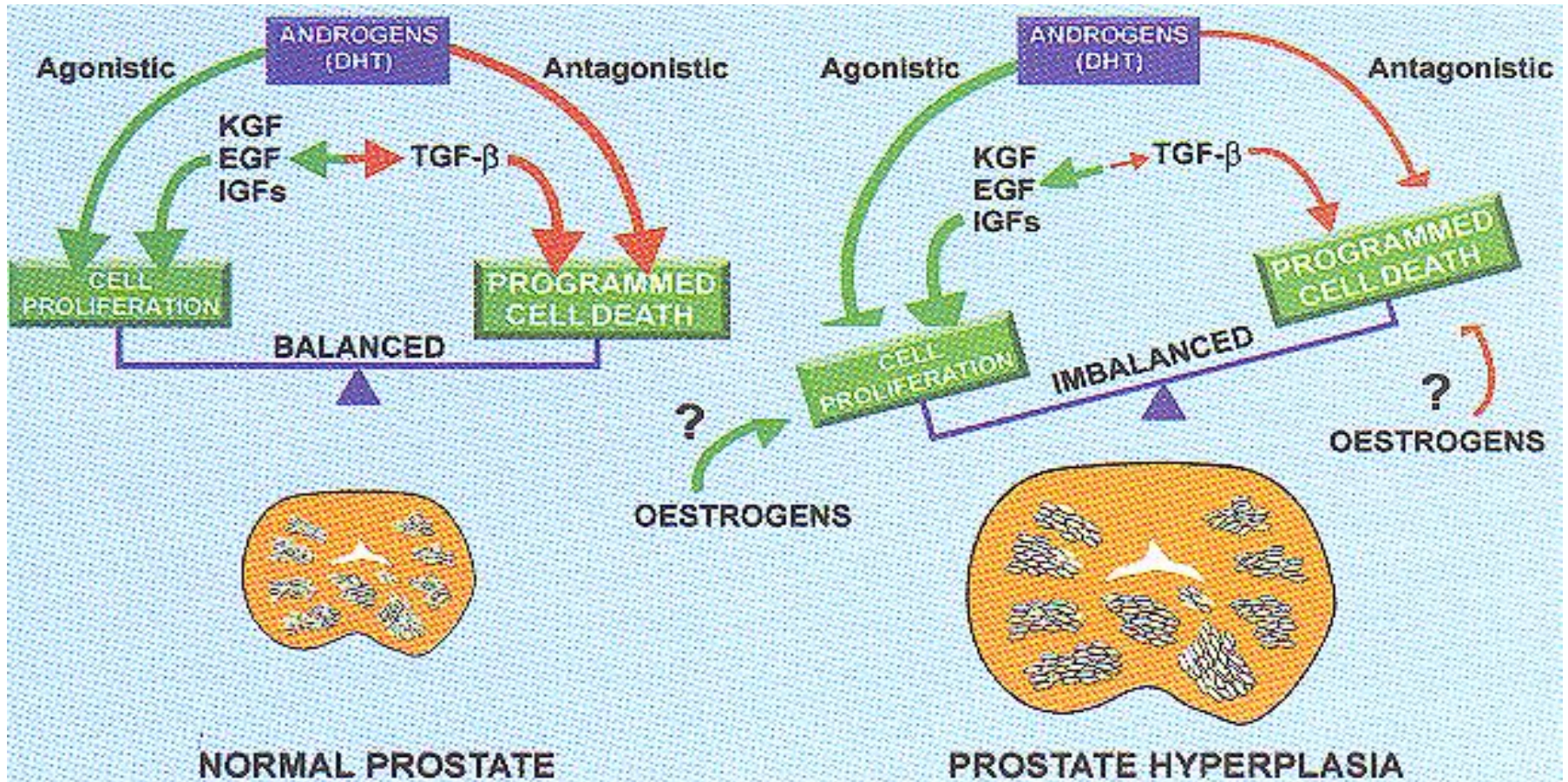
Il sistema endocrino: gli ormoni steroidei



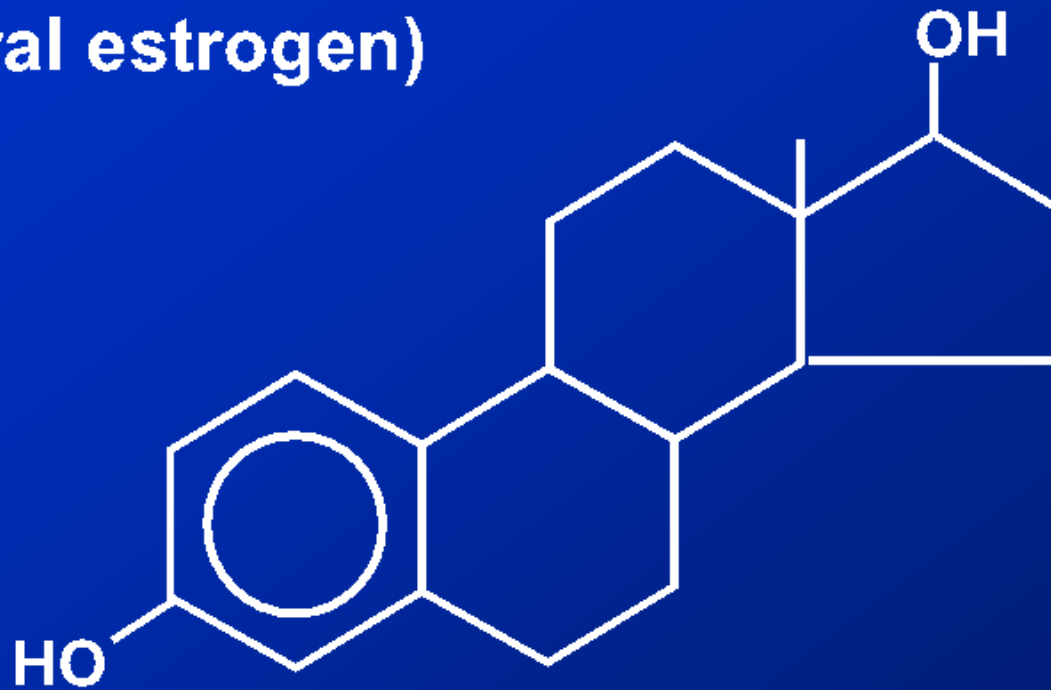
- Gli ormoni penetrano nella cellula alla ricerca del recettore compatibile
- L'ormone lega il recettore con un meccanismo chiave-serratura
- L'ormone attivato può quindi legare una sequenza trascrizionale e attivare un gene



E' tutta una questione di equilibrio



Estradiol
(natural estrogen)



Composto	EEQ
Diethyl stilbestrol	10
17-estradiol	1
Genistein	0.00020
4-tert-Octylphenol	0.000065
Nonylphenol	0.000003
o,p0-DDT	0.000001



Stima dose giornaliera

Composto	EEQ
Oral contraceptives	16675
Hormone replacement therapy	3350
Plants and food	102
17-estradiol (endogenous)	1
Organochlorines	0.0000025



Ormoni nell'ambiente

■ Definizione

- ❑ Distruttori endocrini (1998)
- ❑ Interferenti endocrini (2003)
- ❑ Composti ad azione ormono-simile (2005)
- ❑ Perturbatori endocrini (2008)
- ❑ Modulatori endocrini (2010)
- ❑ Distruttori endocrini (2012)



Definizione (WHO)

- An endocrine disrupter is an exogenous substance or mixture that alters function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, or (sub)populations.”
- Un distruttore endocrino e' una sostanza esogena che altera la funzione (o le funzioni) del sistema endocrino e conseguentemente causa effetti avversi per la salute in un organismo, nella sua progenie o in una sottopopolazione



Modo d'azione vs meccanismo d'azione

- Meccanismo d'azione

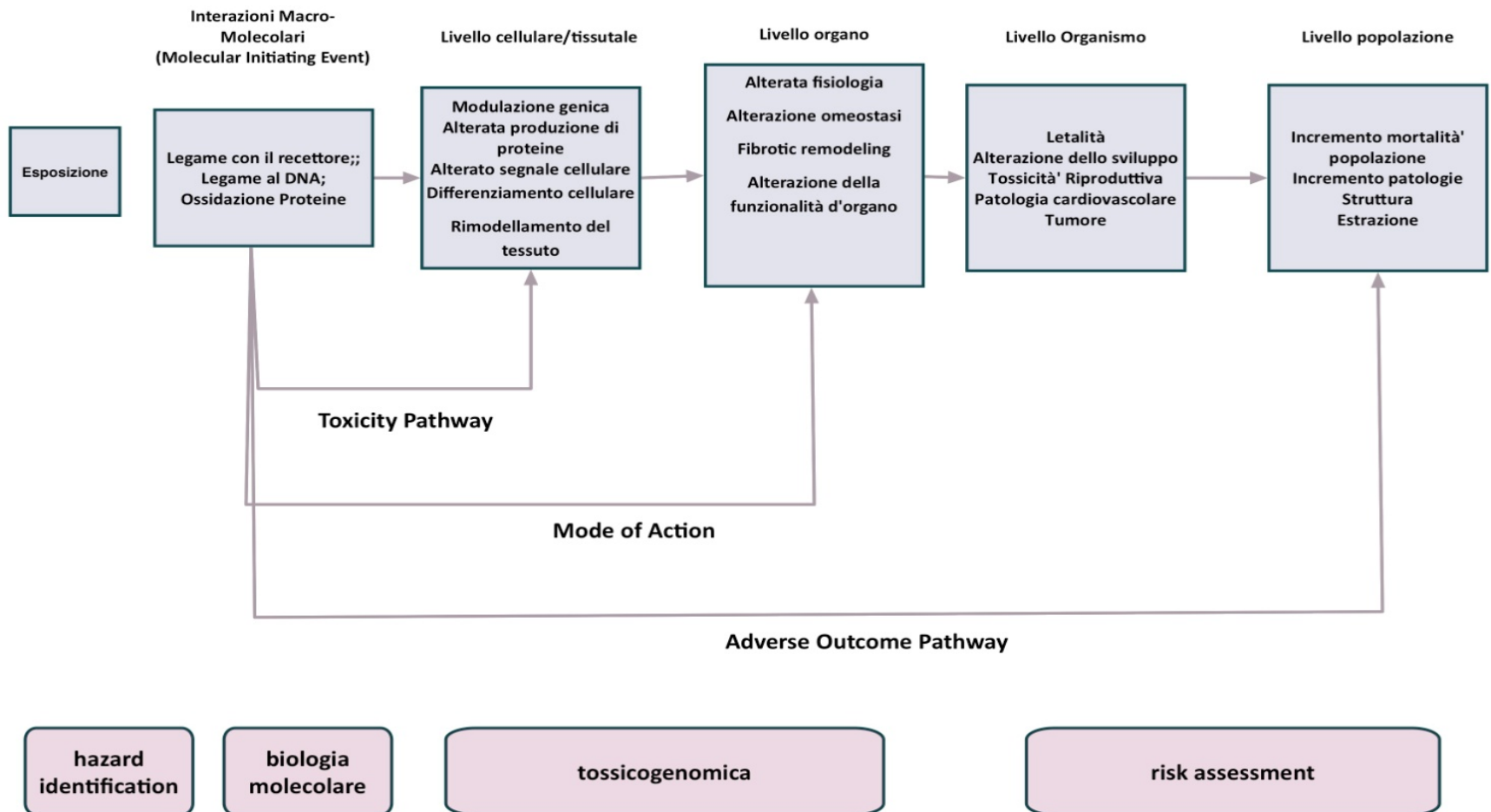
- Sequenza di eventi molecolari dall'assorbimento di una sostanza (dose efficace) alla produzione di una risposta biologica specifica

- Modo d'azione

- Evidenze fisiologiche e comportamentali che caratterizzano una risposta biologica indesiderata
 - Una risposta biologica può dipendere da più meccanismi



Adverse Outcome Pathway (AOP): Identificazione delle tappe sequenziali e degli eventi chiave che determinano la malattia



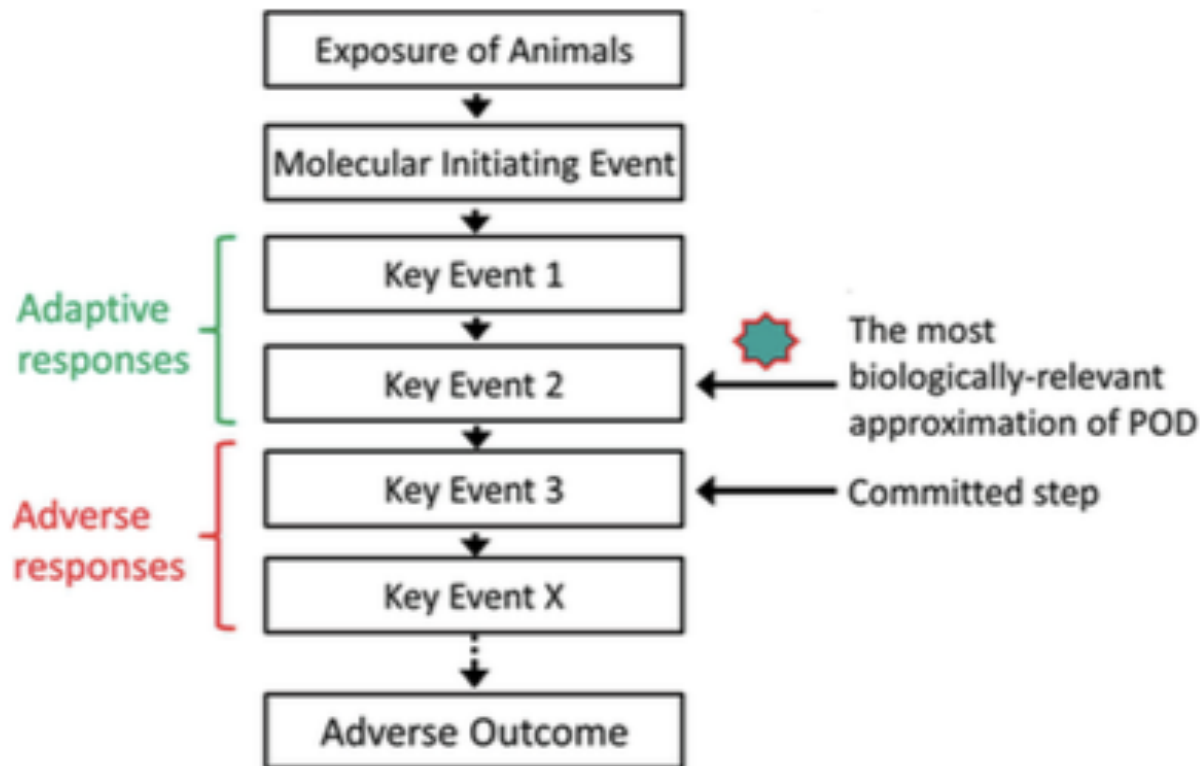


Figure 2. Selection of the most appropriate POD from toxicogenomics data.

Next Generation Risk Assessment

Formulazione del problema e degli obiettivi

FASE 1

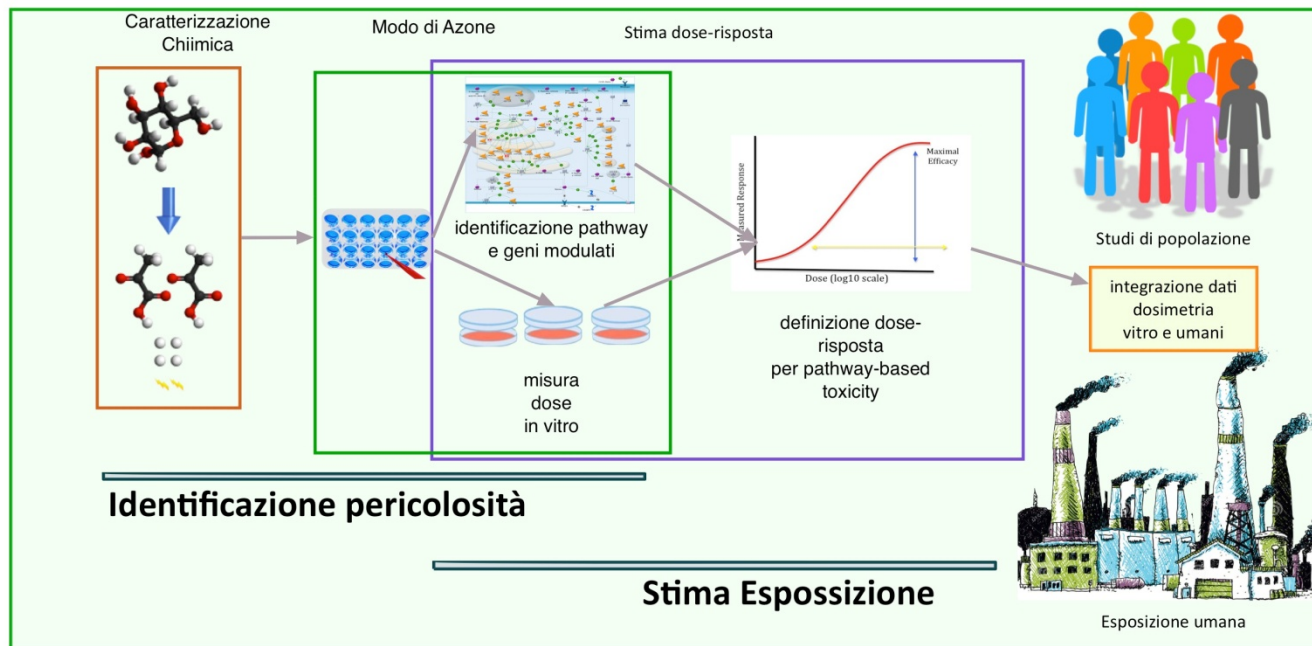
Contesto

Opzioni decisionali

Valore
dell'informazione

Determinanti

FASE 2



Caratterizzazione del rischio e Valutazione dell'incertezza

FASE 3

Risk Management

Environmental Toxicology



JRC SCIENTIFIC AND POLICY REPORTS

Key scientific issues relevant to the identification and characterisation of endocrine disrupting substances

Report of the Endocrine Disrupters Expert Advisory Group

Sharon Munn
Marina Goumenou

2013

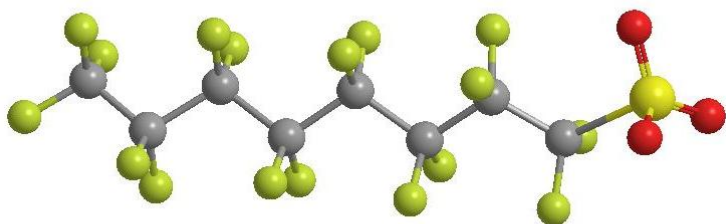


Environmental Toxicology

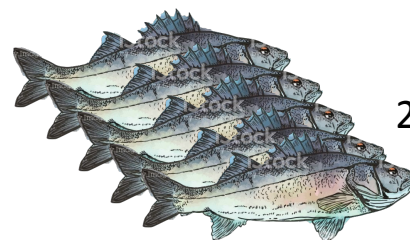
SOSTANZE PERFLUOROALCHILATE



Environmental Toxicology

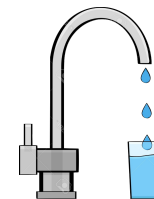


Perfluoro ottano sulfonato (PFOS)



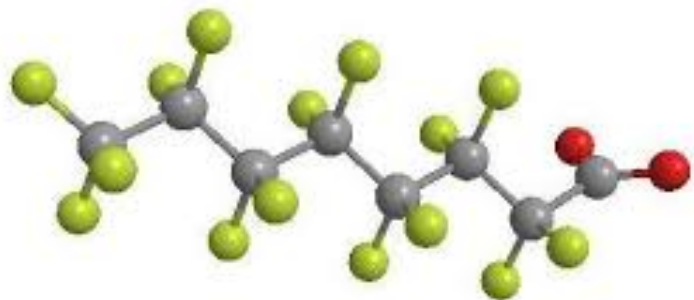
60 ng/kg p.c/die

200 ng/kg p.c/die

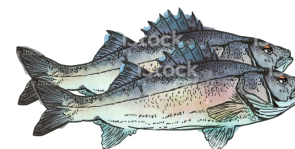


0,5% totale intake

Altro: 2% totale intake

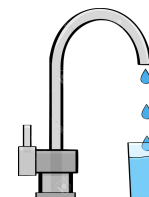


Acido perfluottanoico (PFOA)



2 ng/kg p.c/die

6 ng/kg p.c/die



< 16 % totale intake

Effetti avversi e dose soglia: PFOS

■ Effetti avversi

- Tossicità acuta moderata
- Tossicità subcronica e cronica
 - Fegato (accumulo)
 - Tiroide (alterazione del profilo ormoni tiroidei)
 - Lipoproteine

■ Effetti a lungo termine

- Tossicità sviluppo
- Cancerogenesi non-genotossica
(presumibilmente)

■ Dose soglia

- NOAEL più bassa da studi subcronici
 - 0.03 mg/kg p.c./die
- TDI
 - 150 ng/kg p.c./die
(NOAEL / 100 * 2)



Effetti avversi e dose soglia: PFOA

■ Effetti avversi

- Tossicità acuta moderata
- Tossicità subcronica e cronica
 - Fegato (accumulo)
 - Tiroide (alterazione del profilo ormoni tiroidei)
 - Lipoproteine

■ Effetti a lungo termine

- Tossicità sviluppo
- Cancerogenesi non-genotossica
(presumibilmente)

■ Dose soglia

- NOAEL più bassa da studi subcronici
 - 0.06 mg/kg p.c./die
- BMDL10: 0,3 - 0,7 mg/kg p.c./die
- TDI
 - 1,5 µg/kg p.c./die
(NOAEL / 100 * 2)

■ Esposizione alimentare

- 2 – 6 ng/kg p.c./die



Table 7 Selected toxicity data for PFOS for freshwater species

Fonte: RIVM

Chronic ^a			Acute ^a		
Taxonomic group	NOEC/EC10		Taxonomic group	L(E)C50	
	[mg/L]	[µg/L]		[mg/L]	[µg/L]
Algae			Algae		
<i>Chlorella vulgaris</i>	8.2 ^b	8200	<i>Chlorella vulgaris</i>	82 ^b	82000
<i>Navicula pelliculosa</i>	191	191000	<i>Navicula pelliculosa</i>	283	283000
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	53 ^c	53000	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	120 ^c	120000
Cyanobacteria			Cyanobacteria		
<i>Anabaena flos-aqua</i>	94	94000	<i>Anabaena flos-aqua</i>	176	176000
Macrophytes			Macrophyta		
<i>Lemna gibba</i>	6.6 ^d	6600	<i>Lemna gibba</i>	31 ^d	31000
<i>Myriophyllum sibiricum</i>	0.56	560	Crustaceans		
<i>Myriophyllum spicatum</i>	3.2	3200	<i>Daphnia magna</i>	48 ⁱ	48000
Crustaceans			<i>Daphnia pulicaria</i>	124	124000
<i>Daphnia magna</i>	7.0 ^e	7000	<i>Moina macrocopa</i>	18	18000
<i>Moina macrocopa</i>	0.40 ^{f,m}	400	<i>Neocaridina denticulate</i>	9.3	9300
Insects			Platyhelminthes		
<i>Chironomus tentans</i>	$< 2.3 \times 10^{-3m}$	< 2.3	<i>Dugesia japonica</i>	18 ^j	18000
<i>Enallagma cyathigerum</i>	$< 1.0 \times 10^{-2m}$	< 10	Mollusca		
Fish			<i>Physa acuta</i>	165	165000
<i>Oryzias latipes</i>	$< 1.0 \times 10^{-2m}$	< 10	<i>Unio complamatus</i>	59	59000
<i>Pimephales promelas</i>	2.8×10^{-2g}	27	Fish		
Amphibians			<i>Lepomis macrochirus</i>	6.4	6400
<i>Xenopus laevis</i>	5.0 ^h	5000	<i>Pimephales promelas</i>	6.6 ^k	6600
			<i>Oncorhynchus mykiss</i>	13 ^l	13000

Effetti avversi

■ I PFAS sono cancerogeni?

□ Classificazione IARC

- PFOS = 3
- PFOA = 2B



Livelli serici di PFOA di 3 ordini di grandezza più alti che nell'uomo

- PFOS è stato declassificato
- PFOA classificato sulla base di 1 solo studio, in una sola specie (ratto), in un solo genere, con una combinazione di tumori benigni e maligni del fegato.
- Non e' una classificazione regolatoria!

Effetti avversi

- I PFAS sono distruttori endocrini?
 - Non ci sono al momento evidenze sufficienti per una classificazione
- Limite precauzionale proposto 0.65 ng/L che consente di consumare 115 grammi di pesce al giorno



Conclusioni

- I PFAS sono composti bioaccumulanti
- Il 17 marzo 2010 la commissione europea ne ha disposto un monitoraggio negli alimenti che costituiscono l'unica fonte significativa di esposizione umana
- Al momento attuale non si conosce il meccanismo d'azione e non ci sono dati sufficienti per una loro classificazione ne' come cancerogeni ne' come distruttori endocrini per l'uomo.
- Organo target tiroide? Sviluppo embrionale?



- Let's keep in touch
 - acolacci@arpae.it

