

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'

Laboratori di Tossicologia e di Igiene del Lavoro

N. FRONTALI, G.L. GATTI e C. ROSSI

CRITERI TOSSICOLOGICI PER LE SCELTE OPERATIVE
RIGUARDANTI LA CONTAMINAZIONE CON TCDD, IN
RELAZIONE ANCHE AI LIVELLI DI "ZERO" ANALITICI

Roma, 8 marzo 1977

CRITERI TOSSICOLOGICI PER LE SCELTE OPERATIVE
RIGUARDANTI LA CONTAMINAZIONE CON TCDD, IN
RELAZIONE ANCHE AI LIVELLI DI "ZERO" ANALITICI

N. Frontali*, G.L. Gatti** e C. Rossi*

E' prassi corrente presso la Food and Drug Administration, la FAO, l'Organizzazione Mondiale della Sanità e in genere gli Organismi Internazionali preposti alla tutela della salute pubblica, di basare ogni calcolo riguardante la ammissibilità dei livelli di determinati inquinamenti ambientali sul dato, sperimentalmente accertato, della dose priva di effetti nocivi (/Kg) o "no effect level" nell'animale da laboratorio più sensibile, o il cui metabolismo sia più vicino a quello dell'uomo; applicare a questa dose un fattore di sicurezza che può variare da 1000 a 10 a seconda della quantità dei dati

* Laboratorio di Igiene del Lavoro.

** Laboratorio di Tossicologia.

conosciuti, delle specie animali prese in esame e del numero dei parametri investigati; e infine moltiplicare il valore ottenuto per il peso dell'uomo.

E' appena il caso di ricordare che il dato sperimentale rappresentato dalla DL_{50} , pur importante sotto vari aspetti, non si presta a questo tipo di calcolo, e tantomeno nel caso specifico della contaminazione da 2,3,7,8 - tetraclorodibenzo-p-diossina (TCDD). Infatti: a) mentre il valore della DL_{50} è ottenuto mediante somministrazione agli animali in dose unica, le persone delle zone colpite sono sottoposte a una esposizione continua o comunque ripetuta alla TCDD, di cui tra l'altro è nota la velocità estremamente bassa di eliminazione dall'organismo (Vinopal e Casida, 1973; Fries e Marrow, 1975; Rose et al., 1976; Hiles e Bruce, 1976); b) dalla letteratura risulta che, largamente al di sotto della dose che è in grado di provocare la morte entro qualche settimana del 50% degli animali esposti, si collocano dosaggi capaci di provocare danni molto gravi anche se non immediatamente mortali. Le tabelle I e II mostrano come, in due diverse specie di animali, dosi singole (o complessive) di TCDD 10 o anche 100 volte inferiori alla DL_{50} provochino gravi danni al fegato e/o al timo, e come una dose singola 500 volte inferiore alla DL_{50} provochi ancora induzione enzimatica nel ratto. Del resto è noto che anche nell'uomo, ben al di sotto delle dosi fortemente tossiche a breve scadenza, vi è

tutta una gamma di dosi che provocano alterazioni croniche estremamente persistenti e invalidanti (vedansi ad esempio Kimmig e Schulz, 1957, Bauer et al., 1961; Oliver, 1975).

oooo

Prima di passare ad esaminare i dati della letteratura utili a determinare il "no effect level", occorre qualche breve considerazione sulle vie di introduzione. Nella maggior parte degli esperimenti qui di seguito citati si è trattato di introduzione per via orale (per gavage, ovvero per aggiunta alla dieta); ma ciò non restringe la validità di questi esperimenti alla sola introduzione per via orale, perchè, come fanno notare Schwetz et al. (1973) e Moore (1977), nel caso della TCDD la via di introduzione (orale, cutanea o per iniezione) è praticamente indifferente, ed anche gli effetti sono fondamentalmente gli stessi. (Ad es. la somministrazione di TCDD per bocca a conigli provoca non solo danno epatico, ma anche clorache, Milnes, 1971). Lo stesso si ha ragione di ritenere per la via respiratoria (inalazione di polveri), anche se questa via non è stata usata negli esperimenti su animali. Occorre inoltre considerare l'estrema facilità di penetrazione della TCDD nell'organismo per semplice contatto cutaneo, dovuta probabilmente alle sue caratteristiche di solu-

bilità nei grassi, il possibile veicolo rappresentato dalla polvere e da oggetti d'uso, la difficoltà di asportare la TCDD da questi ultimi con il lavaggio (vedansi i casi riportati da Goldmann, 1973 e da Jensen, 1972, di contaminazione attraverso oggetti che erano stati ripetutamente lavati). Occorre quindi tener conto di tutti questi e di altri fattori nel calcolare la dose di TCDD che un uomo (o un bambino), che vive in una zona con determinati livelli di inquinamento del terreno o dell'ambiente interno agli edifici, può introdurre nel suo organismo durante una giornata. Relativamente più semplici sono i calcoli relativi all'inquinamento di derrate alimentari.

oooo

I lavori finora disponibili in letteratura in cui sia stato specificatamente ricercato il "no effect level" riguardano tre aspetti e cioè la tossicità a medio termine, gli effetti embriotossici e gli effetti sulla riproduzione. Purtroppo lavori con questa impostazione sono stati finora eseguiti solo sul ratto e sul topo (veda si più oltre per una discussione sulla suscettibilità delle varie specie alla TCDD).

A) Tossicità a medio termine. Kociba et al. (1976) in un lavoro eseguito presso i Laboratori della Dow Chemical Co. hanno somministrato TCDD per via orale a ratti adulti in dosi giornaliere (per 5 giorni alla settimana) di

0; 0,001; 0,01 e 1 $\mu\text{g/Kg}$ per 13 settimane. La dose di 0,001 $\mu\text{g/Kg/giorno}$ non provocava alcuna alterazione dei parametri presi in esame, mentre la dose di 0,01 $\mu\text{g/Kg/giorno}$ provocava un aumento di peso del fegato statisticamente significativo. Fra i parametri presi in esame non figurava tuttavia l'induzione enzimatica nei microsomi del fegato o di altri tessuti, che invece, come risulta dal lavoro di Hook et al. (1975a) già citato nella tabella I e dal lavoro di Berry et al. (1976) sulla induzione enzimatica transplacentare, costituisce un sintomo assai sensibile della intossicazione da TCDD. Un'altra indicazione in questo senso è rappresentata dal lavoro di Goldstein et al. (1976) (v. tabella III), che hanno osservato un aumento di 3 x dell'attività delle aril-idrossilasi del fegato, somministrando a ratte lattanti ancora 0,01 μg di TCDD/Kg/settimana (equivalenti quindi a circa 0,0015 $\mu\text{g/Kg/giorno}$). Quanto al significato di questo sintomo, una stretta correlazione con la tossicità è stata dimostrata da Poland e Glover (1973) esaminando varie cloro dibenzo-p-diossine e da Neal e Beatty (1977) che hanno confrontato fra loro ratti con diversa suscettibilità alla TCDD in rapporto col sesso o con l'età.

D'altra parte sono chiare le implicazioni di un aumento dell'attività dei sistemi ossidativi microsomiali epatici, e in particolare delle aril-idrossilasi, per quel che riguarda l'attivazione di composti potenzialmente cancerogeni (presenti nell'ambiente) come il benzopirene (v. ad es. Gelboin e Wiebel, 1971). Come induttore enzimatico la TCDD è decine di migliaia di volte più po-

tente del 3-metilcolantrene, sulla base del rapporto ponderale fra le dosi a parità di effetto (Lucier et al., 1975 a; Beatty e Neal, 1976; Poland e Glover, 1974) e questo effetto è assai persistente nel tempo (Lucier et al., 1975 a e b; Hook et al., 1975 a,b; Goldstein et al., 1975). E' per questo che la TCDD è sospettata di essere un potente co-cancerogeno.

PER QUEL CHE RIGUARDA LA DOSE PRIVA DI EFFETTI NEGLI ESPERIMENTI DI TOSSICITA' A MEDIO TERMINE SUL RATTO, E' QUINDI DA ATTENDERSI CHE, OVE VENGENO PRESI IN CONSIDERAZIONE ANCHE I PARAMETRI RELATIVI ALLA INDUZIONE ENZIMATICA, IL VALORE DI 0,001 MICROGRAMMI/KG/GIORNO SIA DESTINATO A RIDURSI.

B) Effetti embriotossici. Smith et al. (1976) in un lavoro eseguito presso i Laboratori della Dow Chemical Co., hanno trattato topine gravide del ceppo CF-1 durante i giorni di gravidanza 6° - 15° con i seguenti dosaggi di TCDD: 0; 0,001; 0,01; 0,1; 1 e 3 µg/Kg/giorno. Fra i segni di embriotossicità esaminati ci sembra interessante rilevare i seguenti:

- a) la percentuale di riassorbimenti fetali/n° di impianti, che è massimamente aumentata alle massime dosi, è però significativamente aumentata già con 0,001 µg/Kg/giorno (v. nota 1 a pag. 7); con lo stesso dosaggio è anche aumentato in modo significativo il peso dei feti residui;
- b) per quel che riguarda la teratogenesi, non vengono

comunicati i numeri dei nati affetti, ma il numero delle covate affette (2); questo fa sì che il numero delle osservazioni sia troppo piccolo per ottenere esperimenti conclusivi ai bassi dosaggi di TCDD (a differenza del caso citato in a, dove già un aumento da 8 a 12% risultava conclusivo grazie al numero assai maggiore delle osservazioni). Tuttavia per la palatoschisi è interessante notare che si passa da 0

(1) L'aumento del numero dei riassorbimenti, che può essere dovuto a meccanismi assai diversi, acquista un peso considerevole laddove si dimostra per una sostanza che ha anche una azione teratogena (v. punto b).

(2) In prima approssimazione il metodo di valutazione biostatistica seguito in questo lavoro è corretto, in quanto, evitando i cosiddetti "cluster effects", riduce notevolmente la probabilità di errori tipo I (inferenze a favore di una differenza dovuta al trattamento, laddove l'effetto in realtà non sussiste). Tuttavia la valutazione di ogni covata come se costituisse una sola osservazione accresce notevolmente la probabilità di errori di tipo II (inferenza contraria alla precedente o conclusioni dubbie laddove l'effetto in realtà sussiste). Per le variabili continue sono state proposte soluzioni atte a ridurre la probabilità degli errori dei due tipi (v. ad es. Abbey e Howard, 1973). Ci si può chiedere quali sarebbero state le inferenze da trarre dai dati di Smith et al. (1976) se fosse stato approfondito il lavoro di elaborazione statistica, estendendo le analisi del tipo Abbey-Howard a variabili discontinue (presenza-assenza di determinate malformazioni). Queste considerazioni valgono anche a monte della necessaria replicazione degli esperimenti con un maggior numero di covate, sia con la dose di 0,001 µg/Kg/giorno, sia con dosi minori atte a determinare inequivocabilmente il "no effect level".

covate affette su 34 nei controlli a 2 covate affette su 41 (5%) con la dose di 0,001 $\mu\text{g/Kg/giorno}$, per arrivare via via a 1 su 17 con 0,1 (6%), a 4 su 19 con 1,0 (21%) e a 10 su 14 con 3 $\mu\text{g/Kg}$ (71%); vi è quindi una chiara progressione degli effetti con l'aumentare della dose.

Quanto alla seconda anomalia congenita presa in considerazione, anche in questo caso gli esperimenti non sono stati fatti con un numero sufficiente di animali per risultare conclusivi, tuttavia si passa da una covata affetta su 34 nei controlli (3%) a 7 covate affette su 41 (17%) nei trattati con la dose più bassa di TCDD (0,001 $\mu\text{g/Kg/giorno}$). L'esperimento è stato ripetuto, ma con un numero ancora minore di animali, e ha dato pur sempre una differenza nello stesso senso: da 1 covata affetta su 24 nei controlli (4%) si è passati a 2 su 30 nei trattati con 0,001 $\mu\text{g/Kg/giorno}$ (7%).

Si può quindi riassumere affermando che il lavoro di Smith et al. (1976) non è conclusivo per quel che riguarda la comparsa di anomalie fetali (palatoschisi, esoencefalia) in seguito a trattamento materno con 0,001 $\mu\text{g/Kg/giorno}$, ancorchè vi siano notevoli indicazioni nel senso di una sua positività, mentre è nettamente significativa già a questo dosaggio l'indicazione di embriotossicità rappresentata dall'aumento dei riassorbimenti fetali.

LA DOSE PRIVA DI EFFETTI EMBRIOTOSSICI NEL TOPO CF-1 NON E' STATA QUINDI ANCORA TROVATA, MA E' SICU-

RAMENTE INFERIORE A 0,001 MICROGRAMMI/KG/GIORNO (NEI GIORNI 6° - 15° DI GESTAZIONE).

C) Effetti sulla riproduzione. Moore (1977) anticipa alcuni dei risultati di un lavoro di Schwetz (eseguito anch'esso presso i Laboratori della Dow Chemical Co.). In uno studio su tre generazioni di topi, la TCDD viene somministrata nella dieta ai livelli di: 0; 0,001; 0,01 µg/Kg/giorno (topi a cui venivano somministrati 0,1 µg/Kg/giorno non superarono la prima generazione). IL DOSAGGIO DI 0,001 MICROGRAMMI/KG/GIORNO VIENE INDICATO COME IL "NO EFFECT LEVEL" PER QUEL CHE RIGUARDA IL NUMERO DELLE GRAVIDANZE E LA SOPRAVVIVENZA DEI NATI.

D) Studi sulla tossicità a lungo termine (a prescindere dalla riproduzione) e sulla cancerogenesi sono in corso. Moore (1977) cita a questo proposito tre studi: uno di Kociba, il cui completamento è atteso per marzo-aprile 1977, su ratti a cui diversi dosaggi di TCDD vengono somministrati giornalmente per bocca per due anni; uno di Shefner et al. il cui completamento è atteso per gennaio-marzo 1977 in cui la TCDD

a diversi dosaggi viene somministrata a ratti due volte la settimana per intubazione; e un altro simile a quest'ultimo (e con la stessa scadenza) che viene eseguito su topi del ceppo B6C3F1. Un'altra ricerca in corso riguarda uno studio di co-cancerogenicità di TCDD e dimetil-benzantracene in topi (random bred Swiss).

Concludendo, per quel che riguarda ratti e topi, sulla base della letteratura oggi disponibile, che non prende ancora in considerazione cancerogenesi e co-cancerogenesi, il valore di 0,001 µg/Kg/giorno è stato proposto come "no effect level", ma l'ipotesi che il valore corretto sia in realtà inferiore si fonda:
a) sulle considerazioni riguardanti l'induzione enzimatica; b) sul fatto che l'esperimento di teratogenesi non è conclusivo.

oooo

Come detto all'inizio, è prassi corrente presso gli Organismi Internazionali a ciò preposti, il basare ogni calcolo dei livelli ammissibili, sui dati sperimentali delle dosi "prive di effetti nocivi" nello animale più sensibile, o il cui metabolismo sia più vi

cino a quello dell'uomo. Purtroppo la maggior parte dei dati disponibili riguardano invece il topo e il ratto, due specie particolarmente resistenti alla TCDD (DL_{50} circa 100 volte più alta che per la cavia; non è nota la DL_{50} per alcuna specie di primati) e che presentano un metabolismo della TCDD sicuramente assai diverso che nei primati. Infatti Van Miller et al. (1976), che hanno studiato l'accumulo in vari tessuti di TCDD triziata iniettata intraperitonealmente in ratti e in scimmie rhesus (Macaca mulatta), hanno osservato che mentre nel ratto oltre il 40% della TCDD si accumula nel fegato, nel macaco meno del 10% si accumula nel fegato, mentre quantità notevoli si ritrovano nella pelle e nei muscoli e (nell'adulto) nel tessuto adiposo. Gli autori, sulla base di loro precedenti studi sulla risposta del fegato alla somministrazione di bifenili policlorurati (Allen et al., 1972, 1973), dai quali risultava una risposta assai più intensa nel ratto che nel macaco per quel che riguarda la proliferazione del reticolo endoplasmico liscio, considerano che questa proliferazione rappresenti un meccanismo di difesa di una certa efficacia nel sequestrare gli idrocarburi aromatici policlorurati, meccanismo che è maggiormente sviluppato nel ratto che nel macaco. Questo argomento è ripreso anche da Moore (1977), il quale riferisce anche su un importante esperimento di tossicità a medio termine della TCDD nel macaco (Allen et al., in corso di pubblicazione). In quest'ultimo lavoro, secondo quanto riferito da Moore, TCDD è stata somministra

ta alle scimmie nella dieta al livello di $0,5 \mu\text{g/Kg}$ di cibo, corrispondenti, secondo nostri calcoli fondati sul peso medio e sulla assunzione media di cibo degli adulti (Valerio et al., 1968) a circa $0,03 \mu\text{g/Kg/giorno}$. Dopo sei mesi si notavano fra l'altro: perdita del pelo e delle ciglia, gonfiore delle palpebre, irregolarità del ciclo mestruale, scarsa fertilità e riduzione in peso dei feti, anemia, leucopenia, e un certo numero di casi mortali. Nel ratto, per riscontrare effetti simili, occorrono dosi assai più alte: si ottiene infatti anemia in ambedue i sessi con $1,0 \mu\text{g/Kg/giorno}$ per tre mesi (già con $0,1 \mu\text{g/Kg/giorno}$ nei maschi) (Kociba et al., 1976) mentre effetti simili sulla riproduzione sono stati ottenuti con $0,1 \mu\text{g/Kg/giorno}$ (Schwetz cit. da Moore, 1977). Leucopenia non si osserva nel topo e nel ratto nemmeno con dosi molto elevate (Vos et al., 1973), mentre nelle cavie si osserva già con $0,008 \mu\text{g/settimana}$ per sei settimane (Gupta et al., 1973).

Queste considerazioni inducono a prevedere che, quando saranno disponibili dati sul "no effect level" in primati, il valore risulterà ben al disotto di quello che viene attualmente indicato per il ratto ($0,001 \mu\text{g/Kg/giorno}$), ma che, come abbiamo visto, non tiene conto della induzione enzimatica. APPARE QUINDI CHE, COME VALORE DI "DOSE PRIVA DI EFFETTI NOCIVI" SU CUI, ALLO STATO ATTUALE DELLE CONOSCENZE, FONDARE IL CALCOLO MEDIANTE L'APPLICAZIONE DI UN FATTORE DI SICUREZZA, POSSA RAGIONEVOLMENTE ADOTTARSI $0,0001 \text{ MICROGRAMMI/KG/}$

GIORNO (CIOE' 0,1 NANOGRAMMI/KG/GIORNO).

Passando ora a discutere il fattore di sicurezza, sembra chiaro che nel caso della TCDD non sia possibile applicare un fattore inferiore a 1000, dati: a) l'estrema tossicità della sostanza, la sua persistenza nell'organismo (v. pagina 2) e quindi la possibilità di accumulo in seguito ad assunzioni ripetute; b) la carenza tuttora esistente di esperimenti sulla cancerogenicità e co-cancerogenicità (vi sono tuttavia ampie indicazioni in proposito, come risulta dal lavoro di Buu-Hoi et al., 1971 e dai dati sull'aumento della frequenza dell'epatoma primario del fegato nel Viet Nam, Tung, 1973); c) il carattere non ancora conclusivo degli esperimenti sulla teratogenesi.

APPLICANDO QUESTO FATTORE, LA DOSE MASSIMA TOLLERABILE NELL'UOMO RISULTA OGGI DI 0,1 PICOGRAMMI/KG/GIORNO, CIOE' DI 7,0 PICOGRAMMI/GIORNO IN UN ADULTO DI 70 KG E DI 1,5 PICOGRAMMI/GIORNO IN UN BAMBINO DI 15 KG.

oooo

Questi calcoli hanno importanti conseguenze sul piano operativo e decisionale riguardante: a) i livelli di TCDD nell'ambiente da prendere come punti di riferimento per l'emanazione delle norme sanitarie;

b) le scelte da compiere in merito alle metodologie analitiche e ai livelli di "zero" analitici.

Esemplifichiamo prendendo in considerazione separatamente alcuni dei problemi che sono di fronte alle autorità sanitarie in relazione alla questione di Seveso. Tuttavia va fatto notare che gli esempi che seguono sono presentati come se i soggetti umani fossero esposti al tossico soltanto attraverso gli alimenti, o soltanto attraverso il terreno, o soltanto attraverso le superfici interne degli edifici. In realtà ciò che conta è la dose giornaliera globale introdotta per varie vie nell'organismo. Pertanto (non essendo possibili ulteriori aggiustamenti, dato che ci si trova già al disotto della sensibilità dei metodi analitici attualmente disponibili), l'assunzione di TCDD per più di una via, sia pure a concentrazioni non superiori a quelle sopra indicate come tollerabili, significa di fatto una sensibile riduzione del fattore di sicurezza al disotto del livello 1000.

1) Alimenti. Secondo calcoli della FAO un adulto introduce in media ogni giorno 2,5 Kg di dieta globale inclusiva di bevande. Occorre quindi che un individuo adulto introduca alimenti e bevande contenenti non più di 3 pg di TCDD/Kg di solidi e liquidi complessivi, cioè non più di 3×10^{-9} ppm. Questa valutazione pone dei problemi analitici non indifferenti, poiché allo stato attuale non sembra siano disponibili metodi che arrivino a questo livello di sensibilità e siano nello

stesso tempo applicabili in pratica a un lavoro di routine su grandi numeri di campioni. A questo scopo, e in particolare per una analisi rapida a partire da campioni alimentari di grosso volume, Firestone (1977) indica come promettente il metodo biologico fondato sulla induzione enzimatica in colture di cellule di epatoma (Bradlow et al. 1975, 1976). Un altro tipo di calcolo potrebbe prendere in considerazione soltanto materiali sospetti come i vegetali provenienti da orti locali (di nuovo occorre ipotizzare che non vi sia nello stesso tempo anche contaminazione per altra via, ad esempio attraverso carne, latte e uova da animali nutriti con mangimi inquinati). In questo caso, ipotizzando un consumo giornaliero di verdure di 300 g, occorre che il metodo analitico arrivi a misurare 25 pg/Kg (25×10^{-9} ppm). Nel caso che invece venisse ad esempio adottato per questo tipo di analisi un metodo con limite di 25 ng/Kg (25×10^{-6} ppm), ciò significherebbe di fatto una possibile esposizione della popolazione che consuma le derrate sospette a concentrazioni di TCDD che implicano nella migliore delle ipotesi (quella cioè della contaminazione per questa sola via) addirittura un annullamento del fattore di sicurezza.

2) Terreno. Mancano purtroppo dati di riferimento che permettano di calcolare con quanto terreno viene in contatto giornalmente un adulto o un bambino. Occorre infatti tener conto sia della polvere introdotta per le vie respiratoria e orale, sia del contatto cutaneo.

A questo proposito va sottolineato che i bambini in età prescolare possono ingerire notevoli quantità di materiali vari presenti nell'ambiente. I dati attualmente in nostro possesso riguardano una mappatura eseguita prelevando campioni di terreno dello spessore di 7 cm, e con un limite analitico di $0,75 \mu\text{g}/\text{m}^2$ (pari a circa 9 ng/Kg di terreno, ovvero a circa 9×10^{-6} ppm). A questo livello di contaminazione un bambino di 15 Kg supera già la dose tollerabile se assume ogni giorno complessivamente (cioè sommando le varie vie di introduzione) il terreno contenuto in un parallelogramma avente 7 cm di altezza e base con lato di 0,5 mm (per un adulto di 70 Kg, rispettivamente 3,5 mm). Tuttavia, come risulta da ricerche cromatografiche eseguite usando come supporto vari terreni (Kearney et al., 1973) e da altre eseguite sul campo (Helling, 1971; Young et al., 1976) la TCDD rimane quasi totalmente adsorbita agli strati più superficiali del terreno, quelli appunto che con maggior probabilità vengono in contatto con l'uomo sotto forma di polvere. Una prima importante conseguenza metodologica da trarre dalle considerazioni tossicologiche sopra esposte è quindi l'indicazione di prelevare per le analisi campioni di terreno di spessore assai inferiore a 7 cm: questo consentirà di abbassare di una certa misura il livello di "zero" analitico per m^2 di terreno, anche mantenendo invariato il limite di 9 ng/Kg. Per ottenere abbassamenti sostanziali di questo limite occorreranno metodi analitici più sensibili di

quelli attualmente in uso.

3) Ambienti interni. In questo caso i limiti analitici sono assai più bassi e tuttora in via di definizione. Ipotizzando un limite analitico di $0,01 \mu\text{g}/\text{m}^2$, e un ambiente che si trovi appena al disotto di questo limite, la "dose tollerabile" è già superata da un bambino di 15 Kg che assuma giornalmente la TCDD presente in un quadrato di pavimento o di parete dal lato di 4 cm (un adulto di 70 Kg rispettivamente di 9 cm). Appare quindi evidente la necessità di ottenere un limite analitico inferiore a quello sopra citato anche per gli ambienti interni.

TABELLA I

EFFETTI DELLA SOMMINISTRAZIONE A RATTI ADULTI DI TCDD
IN DOSE SINGOLA PER VIA ORALE

dose µg/kg	effetti	Riferimento bibliografico
100	50 % mortalità in circa 20 giorni	Gupta <u>et al.</u> 1973
90	aumento della DT-diaforasi del citosol epatico (16x)(*)	Beatty e Neal, 1976
50	{ 7 % mortalità grave atrofia timica grave danno epatico (microscopia ottica)	Gupta <u>et al.</u> 1973
25	{ atrofia timica proliferazione del reticolo endoplasmico liscio del fegato	" " " " Fowler <u>et al.</u> 1973
5	{ aumento della glucuronil-transferasi dei microsomi epatici (3-4x) aumento della DT-diaforasi del citosol epatico (5-8x) (*)	Lucier <u>et al.</u> 1975a Beatty e Neal, 1976
1	aumento della benzopiren-idrossilasi e dei citocromi P-450 e b ₅ nei microsomi epatici	Hook <u>et al.</u> 1975a
0,2	aumento della benzopiren-idrossilasi nei microsomi epatici delle femmine	" " " "

(*) ratto Sprague-Dawley. In tutti gli altri casi random CD

TABELLA II

EFFETTI DELLA SOMMINISTRAZIONE RIPETUTA DI TCDD A TOPI

(DL₅₀ = circa 100 ug/kg in dose singola, Vos et al. 1974)

ug/kg /settimana	settimane		
- 25	4	{ aumento ALA-sintetasi del fegato (2x) " uroporfirine epatiche (2000x) " Fe epatico	Goldstein <u>et al.</u> 1973
	2-6	{ timo: diminuzione di peso atrofia corticale fegato: degenerazione e necrosi centro- lobulare; proliferazione dei dotti biliari	Vos <u>et al.</u> 1974
- 5	2-6	{ timo: diminuzione di peso atrofia corticale fegato: aumento di peso forte accumulo centrolobulare di lipidi	"
- 1	2-6	{ timo: diminuzione di peso atrofia corticale fegato: aumento di peso moderato accumulo centrolobulare di lipidi	"
	4	aumento di mortalità da Salmonella	Thigpen <u>et al.</u> 1975
- 0,2	6	fegato: accumulo centrolobulare di lipidi	Vos <u>et al.</u> 1974

TABELLA III

EFFETTI SU ALCUNI COMPONENTI EPATICI DI RATTI LATTANTI (♀)
DELLA SOMMINISTRAZIONE DI TCDD RIPETUTA (PER VIA ORALE) PER
16 SETTIMANE (Goldstein et al. 1976).

ug/kg
/settimana

1,0	- aril-idrossilasi aumento 48 x - glucuronil-transferasi aumento 8 x - ALA-sintetasi aumento 4 x - citocromo P-450 aumento 74 % - porfirine totali aumento 1000 x
0,1	- aril-idrossilasi aumento - glucuronil-transferasi aumento 4 x - citocromo P-450 aumento 38 % - ALA-sintetasi aumento 40 %
0,01	aril-idrossilasi aumento 3 x

Bibliografia

- ABBEY H. and HOWARD E. (1973) Statistical procedure in developmental studies on species with multiple offspring. Developmental Psychobiology, 6, 329-335.
- ALLEN J. R. and ABRAHAMSON L.J. (1972) Enzymatic changes in the liver of rats fed chlorinated biphenyls triphenyls and DDT. Preprints of Papers presented at National Meeting. Division Water, Air Waste Chemistry, American Chemical Society, 12, 97-111.
- ALLEN J.R., ABRAHAMSON L.J. and NORBACK D.H. (1973) Biological effects of polychlorinated biphenyls and triphenyls on the subuman primate. Environmental Research, 6, 344-354.
- BAUER H., SCHULZ K.H. und SPIEGELBERG U. (1961) Berufliche Vergiftungen bei der Herstellung von Chlorophenol-Verbindungen. Archiv für Gewerbepathologie und Gewerbehygiene, 18, 538-555.
- BEATTY P. and NEAL R.A. (1976) Induction of DT-diaphorase by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). Biochemical and Biophysical Research Communications 68, 197-204.
- BERRY D.L., ZACHARIAH P.K., NAMKUNG M.J. and JUCHAU M.R. (1976) Transplacental induction of carcinogen-hydroxylating systems with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Toxicology and Applied Pharmacology, 36, 569-584 .
- BRADLAW J.A., GARTHOFF L.H., GRAFF D.M. and HURLEY N.E. (1975) Detection of chlorinated dioxins: induction of aryl hydrocarbon hydroxylase activity in rat

hepatoma cell culture. Toxicology and Applied Pharmacology, 33, 166.

BRADLAW J.A., SIMS D. and FIRESTONE D. (1976) Cell culture-enzyme induction bioassay for detection of toxic dibenzo-p-dioxin components in fish and animal products. 90th Annual Meeting of the Association of Official Analytical Chemists, Washington DC; Abstracts of Meeting p. 43.

BUU-HOI N.P., HIEN D.P., SAINT-RUF G. et SERVOIN-SIDOINE J. (1971) Propriétés cancérômimétiques de la tétrachloro-2,3,7,8-dibenzo-p-dioxine ("dioxine"). Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris, 272, 1447-1450.

FIRESTONE D. (1977) The TCDD problem: a review. Relazione al Congresso (Stoccolma 6-10 febbraio 1977): The Royal Swedish Academy of Sciences "Chlorinated Phenoxy Acids and their Dioxins. Mode of Action, Health Risks and Environmental Effects".

FOWLER B.A., LUCIER G.W., BROWN H.W. and McDANIEL O.S. (1973) Ultrastructural changes in rat liver cells following a single oral dose of TCDD. Environmental Health Perspectives, 5, 141-148.

FRIES G.F. and MARROW G.S. (1975) Retention and excretion of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin by rats. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 23, 265-269.

GELBOIN H.V. and WIEBEL F.J. (1971) Studies on the mechanism of aryl hydrocarbon hydroxylase induction and its role in cytotoxicity and tumorigenicity. Annals of the New York Academy of Sciences, 179, 529-547.

GOLDMANN P.J. (1973) Schwerste akute Chloracne, eine Massenintoxikation durch 2,3,7,8-tetrachlordibenzodioxin.

xin. Der Hautarzt, 24, 149-152.

GOLDESTSTEIN J.A., HICKMAN P. and BERGMAN H. (1976) Induction of hepatic porphyria and drug-metabolizing enzymes by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). Federation Proceedings, 35, 708.

GOLDSTEIN J.A., HICKMAN P., BERGMAN H. and VOS J.G. (1973) Hepatic porphyria induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the mouse. Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology, 6, 919-928.

GUPTA B.N., VOS J.G., MOORE J.A., ZINKL J.G. and BULLOCK D.C. (1973) Pathologic effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in laboratory animals. Environmental Health Perspectives, 5, 125-140.

HELLING C.S. (1971) Pesticide mobility in soils. II Applications of soil thin-layer chromatography. Soil Science Society of America Proceedings, 35, 737-748.

HILES R.A. and BRUCE R.D. (1976) 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin elimination in the rat: first order or zero order? Information Bulletin of the British Industrial Biological Research Association, 15, 423-424.

HOOK G.E.R., HASEMAN J.K. and LUCIER G.W. (1975 a) Induction and suppression of hepatic and extra-hepatic microsomal foreign-compound-metabolizing enzyme systems by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Chemico-Biological Interactions, 10, 199-214.

HOOK G.E.R., ORTON T.C., MOORE J.A. and LUCIER G.W. (1975 b) 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced changes in the hydroxylation of biphenyl by rat liver microsomes. Biochemical Pharmacology, 24; 335-340.

JENSEN N.E. (1972) Chloracne, three cases. Proceedings of the Royal Society of Medicine, 65, 687-688.

KEARNEY P.C., ISENSEE A.R., HELLING C.S., WOOLSON E.A. and PLIMMER J.R. (1973) Environmental significance of chlorodioxins. Advances in Chemistry, Series 120, 105-111.

KIMMIG J. and SCHULZ K.H. (1957) Berufliche Akne (sogenannte Chlorakne) durch chlorierte aromatische zyklische Aether. Dermatologica, 115, 540-546.

KOCIBA R.J., KEELER P.A., PARK C.N. and GEHRING P.J. (1976) 2,3,7,8- tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD): results of a 13-week oral toxicity study in rats. Toxicology and Applied Pharmacology, 35, 553-574.

LUCIER G.W., McDANIEL O.S. and HOOK G.E.R. (1975 a) Nature of the enhancement of hepatic uridine diphosphate glucuronyltransferase activity by 2,3,7,8- tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rats. Biochemical Pharmacology, 24, 325-334.

LUCIER G.W., SONAWANE B.R., McDANIEL O.S. and HOOK G.E.R. (1975 b) Postnatal stimulation of hepatic microsomal enzymes following administration of TCDD to pregnant rats. Chemico-Biological Interactions, 11 15-26.

MILNES M.H. (1971) Formation of 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzodioxin by thermal decomposition of sodium 2,4,5-trichlorophenate. Nature (London), 232, 395-396.

MOORE J.A. (1977) TCDD toxicity. Relazione al Congresso (Stoccolma 6-10 febbraio 1977). The Royal Swedish Academy of Sciences "Chlorinated Phenoxy Acids and their Dioxins. Mode of Action, Health Risks and Environmental Effects".

NEAL R.A. and BEATTY P. (1977) Influence of enzyme induction on TCDD toxicity. In corso di stampa.

OLIVER R.M. (1975) Toxic effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-1,4-dioxin in laboratory workers. British Journal of Industrial medicine, 32, 48-53.

POLAND A. and GLOVER E. (1973) Chlorinated dibenzo-p-dioxins: potent inducers of delta-aminolevulinic acid synthetase and aryl hydrocarbon hydroxylase. II A study of the structure-activity relationship. Molecular Pharmacology, 9, 736-747.

POLAND A. and GLOVER E. (1974) Comparison of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, a potent inducer of aryl hydrocarbon hydroxylase, with 3-methylcholanthrene. Molecular Pharmacology, 10, 349-359.

ROSE J.Q., RAMSEY J.C., WENTZLER T.H., HUMMEL R.A. and GEHRING P.J. (1976) The fate of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin following single and repeated oral doses to the rat. Toxicology and Applied Pharmacology, 36, 209-226.

SCHWETZ B.A., MORRIS J.M., SPARSCHU G.L., GEHRING P.J., EMERSON J.L. and GERBIG C.G. (1973) Toxicology of chlorinated dibenzo-p-dioxins. Environmental Health Perspectives, 5, 87-99.

SMITH F.A., SCHWETZ B.A. and NITSCHKE K.D. (1976) Teratogenicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in CF-1 mice. Toxicology and Applied Pharmacology, 38, 517-523.

THIGPEN J.E., FAITH R.E., McCONNELL E.E. and MOORE J.A. (1975) Increased susceptibility to bacterial infection as a sequela of exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Infection and Immunity, 12, 1319-1324.

TUNG T.T. (1973) Le cancer primaire du foie au Viêt-Nam. Chirurgie, 99, 427-436.

VALERIO D.A., MILLER R.L., MAITLAND INNES J.R., PALLOTTA A.J. and GUTTMACHER R.M. (1969) *Macaca Mulatta*. Academic Press, New York, London.

VAN MILLER J.P., MARLAR R.J. and ALLEN J.R. (1976) Tissue distribution and excretion of tritiated tetrachlorodibenzo-p-dioxin in non-human primates and rats. Food and Cosmetics Toxicology, 14, 31-34.

VINOPAL J.H. and CASIDA J.E. (1973) Metabolic stability of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in mammalian liver microsomal systems and in living mice. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1, 122-132.

- VOS J.G., MOORE J.A. and ZINKL J.G. (1973) Effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on the immune system of laboratory animals. Environmental Health Perspectives, 5, 149-162.
- VOS J.G., MOORE J.A. and ZINKL J.G. (1974) Toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in C57Bl/6 Mice. Toxicology and Applied Pharmacology, 29, 229-241.
- YOUNG A.L., THALKEN C.E., ARNOLD E.L., CUPIELLO J.M. and COCKERHAM L.G. (1976) Fate of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in the environment: summary and decontamination recommendations. Technical Report of the U.S. Air Force Academy TR-76-18.
- ZINKL J.G., VOS J.G., MOORE J.A. and GUPTA B.N. (1973) Hematologic and clinical chemistry effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in laboratory animals. Environmental Health Perspectives, 5, 111-118.

La responsabilità dei dati scientifici o tecnici pubblicati nei "Rapporti ISTISAN" è dei singoli autori.

La data riportata in copertina a piè di pagina è quella della consegna alla tipografia del testo pronto per la stampa.

La riproduzione parziale o totale dei "Rapporti ISTISAN" deve essere preventivamente autorizzata dai competenti Direttori di Laboratorio.

A cura del Servizio Documentazione dell'Istituto
Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, Roma.