

INTERFERENTI ENDOCRINI: VALUTAZIONE DEL RISCHIO DI EFFETTI SULLA RIPRODUZIONE E SVILUPPO EMBRIONALE

ANGELO MORETTO (*)

SUNTO. – La definizione di *interferente endocrino* comprende quei composti che causano effetti avversi mediante un meccanismo d'azione che coinvolge una, o raramente, più componenti del complesso di ormoni che regolano la vita di un organismo superiore. Questa classificazione differisce dalle altre classificazioni tossicologiche perché considera un modo d'azione anziché un effetto. Come tutte le classificazioni qualitative non basate su dati quantitativi quali la relazione dose-risposta e la stima dell'esposizione, tipiche della valutazione del rischio, risulta poco utile per la gestione delle sostanze così classificate. Infatti, decisioni basate su classificazioni dicotomiche, interferente/non-interferente, non possono che essere dicotomiche, uso approvato/non-approvato. Gli studi di tossicità eseguiti su animali da esperimento permettono di identificare gli effetti apicali, inclusi quelli che possono derivare da un meccanismo che coinvolge il sistema ormonale. Sulla base della relazione dose-risposta per questi effetti, è possibile identificare la dose priva di effetti (*No Observable Adverse Effects*, NOAEL, generalmente espressa in mg/kg di peso corporeo) e da questa, dividendo per appropriati fattori, detti di sicurezza o di incertezza, definire il limite di esposizione (per esempio la Dose Giornaliera Accettabile o *Acceptable Daily Intake*, ADI). Qualora si osservino degli effetti possibilmente correlati a interferenze con il sistema endocrino, si possono condurre studi specifici *in vitro*, *in vivo* o anche computazionali per comprendere il meccanismo che sta alla base dell'effetto osservato ed arrivare ad una più accurata definizione della relazione dose-risposta. Pertanto, la semplice classificazione di *interferente endocrino* non dovrebbe precludere un approccio quantitativo alla valutazione del rischio e la classificazione non dovrebbe essere utilizzata da sola per prendere decisioni sulla gestione del rischio.

ABSTRACT. – The definition of *endocrine disruptor* includes those compounds that cause adverse effects by a mechanism of action involving one, or rarely, more components of the complex of hormones that regulate the life of a higher organism. This classification differs from other toxicological classifications because it considers a mode of action rather than an effect. Like all quality classifications, and not based on quantita-

(*) Dipartimento di Scienze Cardio-Toraco-Vascolari e Sanità Pubblica, UOC Medicina del Lavoro, Ospedale Università di Padova, Italia.
E-mail: angelo.moretto@unipd.it.

tive data such as the dose-response relationship and the estimation of exposure, typical of risk assessment, it is not very useful for the management of substances so classified. In fact, decisions based on dichotomous classifications, interfering/non-interfering, can only be dichotomous, approved/non-approved use. Toxicity studies performed on the experimental animal identify the apical effects, including those that can result from a mechanism involving the hormonal system. On the basis of the dose response relationship for these effects, it is possible to identify the dose without effect (*No Observable Adverse Effect Level*, NOAEL, generally expressed in mg/kg body weight) and from this, dividing by appropriate factors, called safety or uncertainty factors, the exposure limit is defined (for example the *Acceptable Daily Intake*, ADI). If effects possibly related to endocrine disruption are observed, specific *in vitro*, *in vivo* or even computational studies may be conducted to understand the mechanism underlying the observed effect and, possibly, to a more accurate definition of the dose response relationship. Therefore, the simple classification as *endocrine disruptor* should not preclude the quantitative approach to risk assessment, and the classification should not be use alone to take risk management decisions.

1. INTRODUZIONE

*Was ist das nit Gift ist? Alle Ding sind Gift, und nichts ist obn Gift;
allein die dosis machts, daß ein Ding kein Gift ist.*

Theophrastus Philippus Aureolus Bombastus von Hohenheim [Paracelsus],
Dritte Defension (1538).

«Cosa vi è che non sia tossico? Tutto è tossico e nulla senza tossicità. Solo la dose rende una sostanza non tossica». Quest'affermazione esprime un concetto fondamentale che sempre dobbiamo ricordare quando parliamo di tossicità e rischio di effetti tossici per l'uomo in seguito ad esposizione a sostanze: gli organismi possono gestire, o adattarsi, alla presenza di sostanze senza che compaiano effetti tossici, purché non sia superata una certa quantità (dose). Tutti i composti chimici hanno la potenzialità di causare effetti tossici; anche costituenti normali del nostro organismo, quale è l'acqua, se assunti in quantità eccessive causano effetti tossici. Pertanto, questo principio è il fondamento della possibilità che abbiamo di identificare e stabilire le condizioni che ci permettano di accettare la presenza di elementi *estranei* negli alimenti o nel nostro ambiente di vita e lavoro. Presupposto fondamentale per definire accettabile un'esposizione è che questa sia inferiore alla dose che causa effetti tossici e che quindi definiamo come accettabile. Il processo con il quale si giunge alla definizione della dose che riteniamo accettabile è la valu-

tazione del rischio. La valutazione del rischio è convenzionalmente suddivisa in identificazione e caratterizzazione del pericolo, e nella caratterizzazione dell'esposizione; semplificando:

$$\text{rischio} = \text{pericolo} \times \text{esposizione}$$

2. IDENTIFICAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DEL PERICOLO

I pericoli posti dalle sostanze sono identificati (quale effetto tossico) e caratterizzati (a quale dose e con quale gravità, relazione dose-risposta) mediante studi tossicologici su animali e, talora, su volontari, e con studi *in vitro*. La relazione dose-risposta permette di identificare la dose alla quale non sono osservabili effetti avversi. Tale dose è detta NOAEL (*No-Observable-Adverse-Effect-Level*), che sarà il punto di partenza per la determinazione del limite di assunzione (ad es. per via orale, *Acceptable Daily Intake* – ADI –, ovvero la dose giornaliera accettabile, *Acute Reference Dose* – ARfD –, ovvero la dose acuta accettabile) o dei limiti di concentrazione in aria, acqua, alimenti tali per cui, in seguito alla loro assunzione, ne consegua un'esposizione inferiore all'assunzione definita accettabile. Per giungere a detti limiti, al NOAEL sono applicati dei fattori demoltiplicativi detti di *sicurezza*, *incertezza*, o *valutazione*, a seconda degli enti valutatori e delle legislazioni. L'uso di questi fattori (generalmente si usa un fattore 100) è dettato dalla necessità di ovviare alle incertezze e alle carenze di informazione insite nella definizione del NOAEL nell'animale da esperimento. Queste comprendono, fra le altre, incertezze sulla variabilità della risposta fra gli individui della stessa specie, sulla possibilità di applicare all'uomo le informazioni ottenute sull'animale da esperimento, sulla significatività statistica e/o biologica di quanto osservato, sulla qualità dei dati¹. Alla definizione dei limiti seguono le conseguenti decisioni operative e legislative per ottenerne il rispetto di *gestione del rischio*.

Gli interferenti endocrini sono quelle sostanze che causano effetti avversi attraverso un meccanismo che coinvolge uno dei sistemi ormonali dell'organismo. Infatti, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) / Programma Internazionale per la Sicurezza Chimica (IPCS) defi-

¹ WHO guidance document.

nisce l'alterazione endocrina come causata da «una sostanza o miscela esogena che altera le funzioni del sistema endocrino e di conseguenza provoca effetti avversi sulla salute in un organismo intatto o nella sua progenie, o (sotto)popolazioni»².

3. IL PROCESSO DI VALUTAZIONE E GESTIONE DEL RISCHIO

Quando ci troviamo di fronte a sostanze alle quali l'uomo può essere esposto, la domanda iniziale è: *in quali condizioni e qual è la probabilità che si verifichi un effetto avverso e qual è la sua gravità?* Ovvero: *come valutiamo il rischio e concludiamo sulla sua accettabilità?* Successivamente, ci si chiede invece: *cosa dobbiamo fare per evitare che l'evento avverso possa verificarsi, ovvero che tale rischio sia ecceduto?* Quindi, semplificando, la valutazione del rischio fornisce le informazioni necessarie ad adottare le misure adeguate per gestire il rischio.

Questo processo è del tutto distinto dalla semplice classificazione del pericolo secondo categorie predefinite quali cancerogenesi, tossicità riproduttiva, tossicità dello sviluppo o anche, di recente, interferente endocrino. In queste classificazioni non vi è alcun elemento quantitativo e nella stessa categoria possono essere inseriti agenti che, come nel caso delle sostanze classificate come cancerogene, differiscono fino a 7 ordini di grandezza (10 milioni di volte) nella potenza cancerogena. La classificazione e il suo uso in assenza di valutazione del rischio è da molti criticata soprattutto per quanto riguarda la cancerogenesi, la tossicità riproduttiva e dello sviluppo, e, da ultimo, gli interferenti endocrini³.

4. IDENTIFICAZIONE DEL PERICOLO

La prima fase del processo richiede la raccolta e valutazione dei dati tossicologici su quale o quali effetti sulla salute che la sostanza è in grado di causare. Gli effetti sull'uomo possono differire per tipo e organo bersaglio, possono essere reversibili o permanenti, derivati da esposizioni acute (singole) o croniche (ripetute e prolungate), essere limitati

² WHO International programme.

³ Boobis – Cohen – Dellarco *et al.* 2016.

alla sede di contatto (effetti locali come, ad esempio, irritazione cutanea o respiratoria) o comparire in organi e apparati distanti dalla sede di contatto (effetti sistemici). I dati possono essere ottenuti da studi sperimentali *in vitro* o *in vivo*, da precedenti episodi d'intossicazione dell'uomo, da studi epidemiologici su popolazioni esposte. Sono state introdotte in anni recenti tecniche alternative, sia *in vitro* sia su base computazionale (cosiddette *in silico*).

5. CARATTERIZZAZIONE DEL PERICOLO (O DELL'EFFETTO)

Una volta identificato l'effetto (pericolo), è necessario definire la relazione dose-risposta, ovvero l'incidenza in una popolazione e/o la gravità di un effetto in rapporto alla dose o al livello di esposizione. Per fare questo sono eseguiti sugli animali studi di vario tipo, quali: tossicità acuta (singola dose), dosi ripetute a breve termine (4-13 settimane di trattamento) o a lungo termine (18-24 mesi), test di riproduzione e di tossicità dello sviluppo (o teratogenesi) per diverse vie di esposizione (orale, inalatoria, cutanea), di genotossicità *in vitro* e *in vivo*. A questi si aggiungono test specifici di irritazione cutanea e oculare, di sensibilizzazione, ed eventualmente di immunotossicità, neurotossicità o altri effetti specifici. Da questi studi si derivano le relazioni curve dose-risposta e si identifica la dose massima che non produce effetto: questa dose viene detta *No-Observable-(Adverse)-Effect-Level* (NOAEL), livello osservabile di non effetto avverso. Una volta ottenuta nell'animale da esperimento questa informazione, ci si scontra con la difficoltà di estrapolare, ovvero applicare, la relazione dose-risposta e l'identificazione del NOAEL all'uomo. In via precauzionale, si applica al NOAEL identificato nell'animale (o nell'uomo) un fattore cosiddetto d'incertezza o di sicurezza che di solito è compreso in un intervallo fra 10 e 1000, in rapporto alla qualità dei dati disponibili. Per le sostanze cancerogene e genotossiche, o sospette tali, si applicano dei criteri diversi, in quanto si assume che l'effetto cancerogeno con meccanismo di tipo genotossico non abbia soglia e quindi che per esso non sia possibile identificare un NOAEL. In questo caso, viene introdotto il concetto di unità di rischio (*unit risk*) di cui non discuteremo oltre. In rapporto alla tipologia di esposizione, alle caratteristiche dell'agente, e alla popolazione interessata, i limiti assumono diversi nomi. Per esempio, i limiti per la popolazione generale sono T/ADI (*Tolerable/Acceptable Daily Intake*, assunzione giornaliera tollerabile/accettabile) per le esposizioni

ripetute per via orale (ad esempio, TDI per contaminati degli alimenti, ADI per residui di pesticidi o farmaci veterinari negli alimenti), ARfD (*Acute Reference Dose*, dose acuta di riferimento) per le esposizioni acute per via orale. Questi limiti sono espressi in mg/kg di peso corporeo. Altri limiti si riferiscono invece alla fonte di esposizione. Nel caso di esposizioni per via respiratoria, non si partirà da NOAEL ma da NOAEC (dove C corrisponde a concentrazione nell'aria); cambiano le unità di misura (da mg/kg di peso corporeo a mg/m³ di aria), ma non cambiano i concetti generali che sottendono alla loro definizione. Similmente, i limiti di contaminati per l'acqua potabile o per gli alimenti saranno espressi come concentrazione (rispettivamente, mg/L o mg/kg)⁴.

6. LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO PER LA RIPRODUZIONE E LO SVILUPPO EMBRIONALE E DEL FETO

Prima di discutere degli studi specifici che indagano sugli eventuali effetti sulla riproduzione e sullo sviluppo embrionale e del feto, è da notare che anche negli studi a breve, medio e lungo termine sono esaminati gli organi e certi parametri fisiologici che sono correlabili alla riproduzione e sviluppo embrionale e fetale, o a squilibri ormonali. Infatti, in questi studi sono valutati macro e microscopicamente gli organi genitali maschili (testicolo, epididimo, sperma ...), gli organi genitali femminili (utero, ovaie ...), la tiroide, le ghiandole surrenali. In casi particolari, possono anche essere determinati i livelli degli ormoni tiroidei, degli ormoni sessuali, e più raramente di altri ormoni. Pertanto, già da questi studi si possono ottenere indicazioni sulla potenzialità della sostanza in studio di causare effetti sulla riproduzione e sullo sviluppo embrionale/fetale, legati a squilibri ormonali. Esistono protocolli internazionalmente approvati per l'esecuzione dei diversi studi *in vivo* e *in vitro*, che devono essere condotti secondo le buone pratiche di laboratorio (*Good Laboratory Practice*, GLP). Ad esempio, soprattutto l'OECD/OCSE (Organizzazione Cooperazione e lo Sviluppo Economico) e l'US EPA (*Environmental Protection Agency*) sviluppano e rendono disponibili questi protocolli⁵.

⁴ EPA guidelines.

⁵ EPA guidelines; EPA screening program.

Per quanto riguarda, nello specifico, il rischio per la riproduzione e lo sviluppo embrionale, gli studi sperimentali di riferimento sono i test di riproduzione e i test di tossicità dello sviluppo (detti in passato di teratogenesi). Il test di riproduzione ha una struttura complessa perché comprende la somministrazione della sostanza in studio durante le varie fasi della vita riproduttiva. Come nella maggior parte degli studi di questo tipo, ci sono almeno 4 gruppi di animali di entrambi i sessi. Oltre al gruppo di controllo, cioè non trattato con la sostanza, vi sono altri 3 gruppi trattati con diverse dosi della sostanza che in genere si differenziano per un fattore variabile fra 3 e 10 (ad esempio: 1, 3, 9 oppure 1, 10, 100 mg/kg di peso corporeo), in relazione alle caratteristiche tossicologiche del composto. Uno dei criteri adottati per la scelta delle dosi è che almeno la più elevata causi un qualche effetto tossico, possibilmente non così grave da causare, ad esempio, aumentata mortalità. Gli animali sono trattati, di solito aggiungendo la sostanza alla dieta, prima dell'accoppiamento, durante l'accoppiamento e durante l'allattamento. Dopo la prima nidiata che è soppressa alla fine dell'allattamento e studiata, vi è un secondo accoppiamento la cui nidiata sarà cresciuta fino all'età adulta, e sarà accoppiata per dare origine a una seconda generazione anche questa con una prima e seconda nidiata. In alcuni rari casi, si procede anche con una terza generazione.

I parametri valutati negli animali adulti sono i seguenti: segni clinici (giornalmente), esame fisico (settimanale), peso corporeo (settimanale nei maschi e nelle femmine prima dell'accoppiamento, durante la gravidanza e l'allattamento), consumo di cibo, settimanale nei maschi, più frequentemente (talora giornalmente) nelle femmine durante la gestazione e l'allattamento. Per quanto riguarda la funzione riproduttiva sono valutati il ciclo estrale, la performance dell'accoppiamento, la fertilità, la durata della gravidanza, l'andamento del parto, parametri spermatici, peso degli organi e valutazioni anatomo-patologiche di organi selezionati. Per quanto riguarda la progenie, le indagini sono più estese e comprendono: le condizioni cliniche, la numerosità della nidiata, la percentuale di sopravvivenza (a vari tempi dopo la nascita), il peso alla nascita e la sua curva di crescita, il rapporto fra i sessi, la curva di maturazione sessuale, il peso degli organi, la distanza ano-genitale (indice di maturazione sessuale). Negli studi che lo prevedono, se ritenuto necessario sono studiati anche alcuni parametri relativi allo sviluppo neurologico e, meno frequentemente, dello stato immunitario. Per quanto riguarda lo sviluppo neurologico sono eseguiti vari test che esplorano il sistema motorio, quello sensitivo, le abilità cognitive, la memoria.

Nel test di tossicità dello sviluppo (o di teratogenesi) il trattamento è limitato al periodo di organogenesi che è ovviamente variabile per ogni specie. Questo periodo è quello in cui vi è la massima sensibilità dell'embrione e durante il quale avvengono gli eventi malformativi. Anche in questi test sono previsti tre livelli dose oltre al controllo come sopra descritto. Poiché la durata del trattamento è breve, in questi studi è spesso possibile utilizzare dosi giornaliere più elevate rispetto agli altri studi che richiedono trattamenti più prolungati. Dosi più elevate si ritiene possano massimizzare gli effetti e quindi più facilmente evidenziarli. Durante la gravidanza sono monitorati alcuni parametri materni quali le condizioni cliniche (giornalmente), il peso corporeo (giornalmente o ogni 2 giorni), consumo di cibo (giornalmente o ogni 2-3 giorni), esame macroscopico degli organi. I feti sono pesati, valutati per malformazioni esterne, viscerali e scheletriche, ed è calcolato il rapporto maschi/femmine.

Si ritiene che i parametri valutati in questi studi siano sufficienti per identificare tutti i possibili effetti tossici sulla riproduzione e sullo sviluppo del feto e dell'embrione causati dalla somministrazione di una sostanza. Questo comprende anche quegli effetti legati all'interferenza con il sistema endocrino, per i quali eventualmente ci possono essere degli studi addizionali, sia *in vitro* che *in vivo*, per approfondirne il meccanismo o modo d'azione⁶.

7. NUOVI METODI

Sulla spinta della legislazione statunitense alla fine degli anni '90, l'EPA ha iniziato l'*Endocrine Disruptor Screening Program* (EDSP), basato su un approccio a due livelli (*two-tiered screening and testing strategy*) che comprende il sistema degli ormoni sessuali (androgeni ed estrogeni) e tiroidei⁷.

Il primo livello (*Tier 1*) utilizza dati di screening per identificare sostanze che hanno il potenziale di interagire con il sistema endocrino. Le sostanze chimiche che nello screening di livello 1 mostrano il potenziale di interagire con i sistemi di estrogeni, androgeni o ormoni tiroidei saranno valutate nel secondo livello.

⁶ WHO guidance document.

⁷ OECD guidelines.

L'EPA sottolinea che è importante non trarre conclusioni definitive sulla base dei soli test di *screening*. Cioè non è possibile concludere sulla sola base di questi test che questa sostanza causa effetti tossici legati a disturbi endocrini. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) / Programma Internazionale per la Sicurezza Chimica (IPCS)⁸ definisce l'alterazione endocrina come causata da «una sostanza o miscela esogena che altera le funzioni del sistema endocrino e di conseguenza provoca effetti avversi sulla salute in un organismo intatto o nella sua progenie, o (sotto)popolazioni». La risposta positiva in questi test indica che una sostanza chimica ha il potenziale di alterare la funzione endocrina, ma (1) se la sostanza chimica altera effettivamente la funzione endocrina e (2) se tale funzione alterata produce un esito avverso in un animale intatto non può essere determinato senza ulteriori test (ad esempio, test di livello 2).

Pertanto, i test di livello 2 identificano eventuali effetti avversi correlati al sistema endocrino causati dalla sostanza e stabiliscono una relazione quantitativa tra la dose e tale effetto avverso. I risultati dei test di livello 2 saranno quindi combinati con altre informazioni tossicologiche e sull'esposizione a una determinata sostanza chimica, al fine di condurre un'appropriata valutazione di rischio. Le valutazioni di rischio sono utilizzate per decidere su misure di mitigazione del rischio, se necessario, e per le decisioni normative.

Recentemente, il piano di lavoro EDSP21 (EDSP per il XXI secolo) descrive un approccio per l'utilizzo di modelli computazionali o in silico e test molecolari *in vitro* ad alto rendimento (*High throughput*, HTP) per dare priorità e selezionare le sostanze chimiche in relazione al loro potenziale di interazione con i sistemi ormonali di estrogeni, androgeni o tiroide (E, A o T).

I test ad alto rendimento sono metodi automatizzati che consentono di valutare rapidamente un gran numero di sostanze chimiche per un tipo specifico di attività biologica a livello molecolare o cellulare. I risultati di questi metodi forniscono una comprensione iniziale di un'interazione biochimica o del possibile ruolo di una sostanza chimica in un determinato processo biologico.

Le alternative *in vitro* ad alto rendimento e i modelli computazionali possono essere anche in grado di fornire un'accurata misura quan-

⁸ WHO International programme.

titativa dell'attività biologica e dei meccanismi specifici di legame del recettore endocrino ai test già validati per il livello 1 ma di minore efficienza.

Infatti, i test ad alto rendimento possono essere eseguiti con varie concentrazioni e quindi fornire informazioni sulla relazione concentrazione-risposta. Le relazioni concentrazione-risposta ottenute da più test possono essere integrate matematicamente in un modello computazionale di un percorso biologico (*Adverse Outcome Pathway*, AOP, Percorso per giungere all'effetto avverso), fornendo valori rappresentativi dell'attività biologica/tossicologica di una sostanza chimica, ad esempio, la via del recettore degli estrogeni. L'integrazione di tutte le informazioni comporta:

- L'identificazione dei potenziali effetti sulla salute che possono verificarsi in seguito ad esposizione a diverse sostanze;
- La valutazione dell'esposizione sulla base della stima o misura della quantità di sostanza alla quale possono essere esposti gli esseri umani;
- La valutazione del rischio attraverso l'integrazione delle informazioni sul potenziale danno di una sostanza chimica con la probabilità che qualcuno sia esposto.

Un caso particolare riguarda la neurotossicità dello sviluppo, che può talora riconoscere origine da squilibri ormonali. Poiché si ritiene, da più parti, che i test di neurotossicità dello sviluppo abbiano limitazioni che ne precludono la totale affidabilità, è stata proposta una batteria di test *in vitro* che confluiscono in quello che è chiamato *Integrated Approach to Testing and Assessment* (approccio integrato ai test e alla valutazione, IATA). In particolare, l'EFSA (*European Food Safety Authority*)⁹, l'US EPA (*Environmental Protection Agency*)¹⁰ e l'OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*)¹¹ sono molto attivi in questo campo e con un'ampia collaborazione internazionale stanno elaborando uno schema per l'uso di numerosi test *in vitro* nella valutazione del rischio per una sostanza di causare neurotossicità dello sviluppo. Sostanzialmente, si tratta di identificare il modo d'azione e i vari passaggi dell'AOP e identificare gli eventi fondamentali (*Key Events*) che in successione causale sono responsabili

⁹ EFSA PPR 2021.

¹⁰ EPA screening program.

¹¹ OECD guidelines.

dell'effetto tossico finale. L'ipotesi è che una volta compreso l'AOP con tutti i *Key Events* sia possibile avere dei test che li identificano e quindi sia possibile stimare l'effetto di tossicità dello sviluppo eseguendo solo uno o più di questi test *in vitro* senza necessariamente ricorrere all'esperimento sull'animale fino all'osservazione dell'effetto finale. Naturalmente vi sono molte incertezze che devono essere tenute in considerazione, analizzate e stimate, prima di poter giungere a una conclusione affidabile.

8. CONCLUSIONI

In conclusione, la valutazione delle sostanze che agiscono con meccanismo ormonale può essere condotta con studi sull'animale che permettono l'identificazione degli eventuali effetti e della loro relazione dose-risposta. Questi test, oltre ai normali test di tossicità generale con valutazione anche degli organi sotto controllo ormonale, comprendono anche i test di riproduzione e di tossicità dello sviluppo che specificamente ricercano effetti sulla funzione riproduttiva, in senso lato, compresi anche effetti legati a meccanismi di interazione con il sistema ormonale, in particolare degli ormoni sessuali e tiroidei.

Sono disponibili test semplificati *in vitro* e *in silico* che permettono di evidenziare la potenzialità di una sostanza di interagire con il sistema ormonale. Mentre, da una parte, questi test permettono di studiare molti parametri, molti composti e molte dosi/concentrazioni in poco tempo e con ridotto consumo di risorse rispetto agli studi sull'animale da esperimento, dall'altra difficilmente e con incertezze permettono la definizione di una relazione dose-risposta *in vivo*, che è essenziale per la valutazione del rischio e per le conseguenti decisioni legislative ai fini della gestione del rischio.

Occorre anche segnalare, che la semplice classificazione di una sostanza come interferente endocrino non può portare a decisioni razionali che solo possono essere fatte con dati quantitativi. Purtroppo, in particolare in Unione Europea, questo atteggiamento sembra essere prevalente e talora presente nella legislazione con conseguenti scelte legislative o regolatorie irrazionali, inutili, dispendiose, inefficaci¹².

¹² Batke – Damm – Foth *et al.* 2022.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- Batke, M. – Damm, G. – Foth, H. *et al.* 2022 *The EU chemicals strategy for sustainability: critical reflections on proposed regulatory changes for endocrine disruptors and mixture toxicity*, Arch Toxicol; 96: 1133–1135.
- Boobis, A. R. – Cohen, S. M. – Dellarco, V. L. – Doe, J. E. – Fenner-Crisp, P. A. – Moretto, A. – Pastoor, T. P. – Schoeny, R. S. – Seed, J. G. – Wolf, D. C. 2016 *Classification schemes for carcinogenicity based on hazard-identification have become outmoded and serve neither science nor society*, Reg Toxic and Pharm; 82: 158-166.
- EFSA PPR Panel (EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues) 2021 *Scientific Opinion on the development of Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA) case studies on developmental neurotoxicity (DNT) risk assessment*, EFSA J; 19(6): 6599, 63.
- EPA guidelines < url: <https://www.epa.gov/test-guidelines-pesticides-and-toxic-substances/series-890-endocrine-disruptor-screening-program> >.
- EPA screening program < url: <https://www.epa.gov/endocrine-disruption/endocrine-disruptor-screening-program-edsp-21st-century> >.
- OECD guidelines < url: <https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm> >.
- WHO guidance document < url: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HSE-FOS-2015.1> >.
- WHO International programme < url: http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/ >.