
Toxicología

Prospectiva y

Seguridad Química

Felix G.R. Reyes
Waldemar F. Almeida
Eds.

Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas
(PISSQ/PNUMA-OIT-OMS)



CENTRO PANAMERICANO DE ECOLOGÍA HUMANA Y SALUD
PROGRAMA DE SALUD AMBIENTAL
ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD
ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD

Metepc, Estado de México, MÉXICO.
1992

Toxicología Prospectiva y Seguridad Química

Felix G.R. Reyes
Waldemar F. Almeida
Eds.

**Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas
(PISSQ/PNUMA-OIT-OMS)**



**CENTRO PANAMERICANO DE ECOLOGÍA HUMANA Y SALUD
PROGRAMA DE SALUD AMBIENTAL
ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD
ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD**

Metepec, Estado de México, MÉXICO
1992

ISBN 92 75 37045 1

Prof. Dr. Felix G. R. Reyes
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Campinas
13081 - Campinas, SP, Brasil

Prof. Dr. Waldemar F. Almeida
Programa Nacional Integrado de Informação Fármaco-Toxicológica
Fundao Oswaldo Cruz
Av. Brasil 4365
21045 - Rio de Janeiro, R.J., Brasil

AGRADECIMIENTO

Los editores desean manifestar agradecimientos a la Dra. Maria Elisa Wohlers de Almeida por su colaboración en la revisión de los artículos del presente texto.

Nota:

El texto de las ponencias que aparecen en esta publicación fue capturado en Brasil, para su posterior edición por computadora en el Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud (ECO); en el Centro no se realizó revisión técnica ni de estilo de las mencionadas ponencias.

La impresión estuvo a cargo de ECO.

El Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud (ECO/OPS/OMS) y el Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas (PISSQ/OMS) tradicionalmente han apoyado la realización de talleres Internacionales sobre diversas áreas de la toxicología. Este Centro a dado difusión a las ponencias de dichos talleres a través de documentos impresos.

En esta ocasión nos complace publicar el libro Toxicología Prospectiva y Seguridad Química, el cual contiene algunas de las conferencias presentadas en el Curso Intensivo sobre Toxicología Prospectiva y Seguridad Química y del Taller sobre Evaluación del Riesgo de Sustancias Químicas, organizados por la Universidad Estatal de Campinas (UNICAMP) y la Fundación Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) del Ministerio de Salud de Brasil. Se realizaron en Río de Janeiro, Brasil, del 4 al 15 y del 18 al 20 de julio de 1988, respectivamente.

Dr. Jacobo Finkelman
Director
Centro Panamericano
de Ecología Humana y Salud

PROLOGO

La toxicología ha tenido un gran impulso en el Brasil, así como en los otros países de América Latina, con los programas desarrollados en las Facultades de Farmacia o de Ciencias Farmacéuticas, resultando en la formación de un número apreciable de toxicólogos analistas. Sin embargo, en áreas específicas como por ejemplo toxicología ocupacional, experimental, ambiental, genética, clínica, prospectiva y de reglamentación, el número de expertos es reducido. Esto es debido a que no existen, en general, cursos regulares para estas áreas y la especialización se realiza en los países desarrollados, fuera de la región de América Latina.

Las intoxicaciones por sustancias químicas pueden ser prevenidas y evitadas. Para eso es necesario evaluar el riesgo de cada compuesto antes de su uso generalizado; inmediatamente después entra en acción la toxicología de reglamentación con la aplicación de una legislación clara, simple y eficiente. Es necesario tener siempre en mente que copiar una ley de otro país más desarrollado es fácil, la dificultad es implantar una legislación eficiente.

La divulgación clara de los acontecimientos y la concientización de la población son puntos claves para sensibilizar a las personas y para formar una masa crítica que presione a las autoridades, buscando desarrollar la toxicología prospectiva y de reglamentación.

En los últimos años, la Universidad Estatal de Campinas, (UNICAMP), São Paulo, viene trabajando de una manera sistemática, en el área de la toxicología, organizando eventos de corta duración (seminarios, cursos intensivos, talleres). Estos eventos han contado con la participación del Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas (PISSQ/OIT-OMS-PNUMA) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y atienden a uno de los objetivos principales del Programa que es: la información y perfeccionamiento de personal especializado.

En el período del 4 al 15 de Julio de 1988, la UNICAMP, conjuntamente con la Fundación Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), del Ministerio de Salud de Brasil, organizaron un "Curso Intensivo sobre Toxicología Prospectiva y Seguridad Química", el cual se realizó en Río de Janeiro en las dependencias de la FIOCRUZ. Inmediatamente, del 18 al 20 de Julio de 1988, las mismas instituciones organizaron un "Taller sobre Evaluación del Riesgo de Sustancias Químicas", llevado a cabo en la UNICAMP. Parte de las conferencias presentadas en estos eventos constituye la base de la presente publicación.

Agradecemos el apoyo recibido de las siguientes agencias internacionales: Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas - PISSQ/OIT - OMS - PNUMA -, Organización Mundial de la Salud, Organización Panamericana de la Salud, Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud - ECO/OPS -, Centro Latino-Americano de Seguridad, Higiene y Medicina del Trabajo - CLASET/OIT -, Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer - IARC/OMS -, y Consejo Británico. De organismos oficiales nacionales: Fundación Oswaldo Cruz, Universidad Estatal de Campinas, Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Fundación de Amparo a la Investigación en el Estado de São Paulo y de empresas interesadas en el campo de la seguridad química.

Felix G.R. Reyes
Waldemar F. Almeida

AUTORES QUE CONTRIBUYERON CON LA PRESENTE EDICION

Prof. Anthony D. Dayan
Department of Toxicology
University of London
London, England

Dra. Amalia Laborde
Hospital de Clínicas
Departamento de Toxicología
Montevideo, Uruguay

Dra. Cristina Alonzo
Hospital de Clínicas
Departamento de Toxicología
Montevideo, Uruguay

Dr. Edward Smith
International Programme on Chemical Safety
World Health Organization
Geneva, Switzerland

Dr. Gaston Vettorazzi
International Programme on Chemical Safety
World Health Organization
Geneva, Switzerland

Dr. J. Ricardo Cabral
International Agency for Research on Cancer
World Health Organization
Lyon, France

Dr. J. Lacuague
Departamento de Fisiatría
Hospital de Clínicas
Montevideo, Uruguay

Dr. L. Alfonso
Departamento de Fisiatría
Hospital de Clínicas
Montevideo, Uruguay

Dr. Luiz C. Heuhs
Hospital de Clínicas
Departamento de Toxicología
Montevideo, Uruguay

Dra. M. Nazareth Rabello-Gay
Instituto Butantan
Sao Paulo, Brasil

Dra. Mabel Burger de Pereyra
Hospital de Clínicas
Departamento de Toxicología
Montevideo, Uruguay

Dra. Nilda A.G.G. de Fernícola
Centro Panamericano de Ecología Humana y
Salud
Organización Panamericana de la Salud
Metepec, México

Prof. Ronald Walker
Department of Biochemistry
University of Surrey
Guildford, England

CONTENIDO

Primera Parte - Aspectos Básicos	Página
1. Nociones Básicas de Toxicología Nilda A.G.G. de Fernícola	001
2. Toxicología Prospectiva: Base Lógica, Manera de Abordar y Aplicaciones Prácticas G. Vettorazzi	009
3. Evaluación Biológica de la Exposición Humana Nilda A.G.G. de Fernícola	023
4. Risk Assessment for Human and Environmental Health Protection E. Smith	035
5. Evaluación de Riesgo Nilda A.G.G. de Fernícola	053
6. Ensayos Necesarios para la Valoración Toxicológica de las Sustancias Químicas G. Vettorazzi	067
7. La Extrapolación de los Datos Toxicológicos Obtenidos en Animales de Laboratorio para el Hombre y su Utilidad en la Determinación de Niveles de Seguridad para las Sustancias Químicas Un Caso Ilustrador: • La Contaminación Biótica y Abiótica de los Alimentos con Especial Referencia al Caso del Mercurio G. Vettorazzi	079
8. Xenobiotic Substances: Harmonization of Toxicological Conclusions G. Vettorazzi	097
Segunda Parte - Organismos Internacionales	
9. The International Programme on Chemical Safety. An Overview E. Smith	107
10. El Codex Alimentarius y Otros Organismos Internacionales en Cuanto Instrumentos de Armonización Internacional y Acuerdo para la Determinación de Niveles de Seguridad de las Sustancias Químicas. Un Caso Específico: La Valoración Toxicológica de los Aditivos Alimentarios a la Luz de Recientes Opiniones G. Vettorazzi	117
11. An Approach to the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals. The IARC Monographs Programme J.R.P. Cabral	133

Tercera Parte - Aspectos Bioquímicos

- 12. Biochemical Mechanism of Toxicity R. Walker 147
- 13. Neurotoxicity A.D. Dayan 165

Cuarta Parte - Aspectos Ocupacionales

- 14. Exposición Laboral a Plaguicidas M. Burger, A. Laborde 177
- 15. Neuropatía Periférica por Plaguicidas Organofosforados M. Burger,
C. Alonzo, L. Heuhs, A. Laborde, J. Lacuague, L. Alfonso 181

Quinta Parte - Aspectos Carcinogénicos

- 16. Análise Crítica de Alguns Testes de Curta Duração como
Previsores do Potencial Carcinogênico de Compostos Químicos
M.N. Rabello-Gay 187
- 17. Critical Analysis of Long-Term Test for Carcinogenicity
J.R.P. Cabral 197
- 18. Carcinogenicity of Pesticides J.R.P. Cabral 209

NOCIONES BASICAS DE TOXICOLOGIA

Nilda A.G.G. de Fernícola

Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud
Organización Panamericana de la Salud
Meteppec, México

1. GENERALIDADES

La toxicología es la ciencia que estudia los efectos nocivos producidos por los agentes químicos sobre los organismos vivos, y su objetivo principal es evaluar el riesgo y establecer el uso adecuado de los agentes químicos.

En los últimos 50 años, la toxicología ha avanzado fundamentalmente, debido al aporte de diferentes áreas de otras ciencias. A partir de la década de 1940 se han desarrollado nuevas metodologías de estudio, las cuales poseen mayor sensibilidad y especificidad, aplicables sobre todo a la toxicología ambiental, siendo ésta una de las disciplinas que más implicaciones tiene hoy día sobre la salud humana.

2. CONCEPTOS BASICOS

Daremos previamente algunos conceptos necesarios para el estudio de la toxicología, tales como:

- Agente Químico: Es cualquier sustancia, orgánica o inorgánica, con una estructura química definida;
- Agente Químico Peligroso: Es aquel que es inflamable, explosivo, corrosivo, tóxico, radioactivo, reactivo o que se descompone a temperaturas generando oxígeno (Meyer, 1977);
- Agente Químico Tóxico: Es cualquier agente químico que al ser absorbido es capaz de producir un efecto nocivo en un organismo vivo, desde el daño de sus funciones hasta la muerte;
- Toxicidad: Es la capacidad inherente a un agente químico de producir un efecto nocivo sobre el organismo vivo. De acuerdo con la definición de toxicidad, se requiere la interrelación de tres elementos: un agente químico capaz de producir un efecto, un sistema biológico con el cual el agente químico pueda interactuar para producir el efecto y un medio por el cual el agente químico y el sistema biológico puedan entrar en contacto e interactuar. De esta interrelación resulta el efecto nocivo, Figura 1.



Figura 1 - Interrelación entre agente químico y organismo vivo.

El toxicólogo es el profesional especialmente entrenado para estudiar los efectos nocivos producidos por los agentes químicos y evaluar la probabilidad de que éstos se presenten.

Así, las tareas principales del toxicólogo son: evaluar el riesgo relacionado con el uso de las sustancias químicas y establecer los límites de seguridad en el uso de las mismas. Esto se alcanza evaluando la toxicidad de cada agente químico y sus posibles interacciones.

3. AGENTES QUIMICOS

La vida humana moderna ha sido mejorada por el desarrollo de compuestos químicos tales como productos farmacéuticos, cosméticos, aditivos para alimentos, materiales para la construcción, artículos de uso en el hogar, plaguicidas, compuestos químicos de uso industrial y otros. Con el uso de productos químicos se puede incrementar la producción de alimentos, tratar enfermedades, construir casas más confortables, mejorar el aspecto de los hogares y lugares de trabajo, hacer a las personas más atractivas y hasta enviar al hombre a la luna.

Se ha considerado que la vida no sería la misma sin los agentes químicos. Cualquier rincón del mundo y cada etapa de nuestra vida se beneficia con el uso de las sustancias químicas. Al mismo tiempo deben tomarse las precauciones necesarias para asegurar que la vida, en especial la humana, no esté en peligro debido al uso incontrolado y generalizado de los agentes químicos, de los cuales hay muchos que desconocemos o conocemos muy poco.

3.1. CLASIFICACION DE LOS AGENTES QUIMICOS TOXICOS

Los agentes químicos son clasificados en diferentes formas, dependiendo del interés y necesidades de quien hace dicha clasificación.

Así, se les puede clasificar de acuerdo con:

- el órgano blanco: hígado, riñón, sistema hematopoyético, etc;
- su uso: plaguicida, disolvente, aditivo para alimentos, etc;
- el origen: animal, vegetal;
- su efecto: carcinogénico, mutagénico, teratogénico.

A los agentes químicos también se les puede clasificar de acuerdo con:

- su estado físico: gas, polvo, etc;
- las exigencias para el rotulado; según Naciones Unidas: explosivos, gas comprimido, líquidos inflamables, sólidos inflamables, sustancias oxidantes, sustancias tóxicas y sustancias infecciosas, material radiactivo, sustancias corrosivas y sustancias peligrosas (Fernicola, 1987);

- su composición química: derivado de la anilina, hidrocarburo halogenado, etc.
- su potencial de toxicidad: supertóxico, extremadamente tóxico, etc.

La clasificación de los agentes químicos tóxicos con base en su mecanismo de acción bioquímico tal como inhibición de grupos sulfhidrilos o agentes metahemoglobinizantes, es más informativa que la clasificación por términos generales como irritantes y corrosivos. La clasificación, más general, por ejemplo en contaminantes de aire, agentes químicos de interés ocupacional o que causan intoxicación aguda o crónica puede ser útil para enfocar problemas específicos.

Con base en lo expuesto, es evidente que una clasificación única no será aplicable para incluir a todos los agentes químicos y será, por lo tanto necesario considerar una clasificación combinada con otros factores de acuerdo al propósito especial a que se destine la clasificación.

Los sistemas de clasificación que consideran las propiedades químicas y las propiedades biológicas del agente tóxico, así como las características de la exposición parecen ser más útiles para fines legislativos y de aplicación de medidas de control y para el estudio de la toxicología general.

4. AREAS DE LA TOXICOLOGIA

La toxicología puede dividirse en diferentes áreas de acuerdo al uso que el hombre haga del agente químico para cumplir con algunas de las necesidades relacionadas con la vida (Fonseca Moraes, 1978). Podemos considerar así cinco áreas: toxicología de alimentos, toxicología ambiental, toxicología de los medicamentos, toxicología ocupacional, y toxicología social.

La constitución de grupos multidisciplinarios favorece el desarrollo de las distintas áreas de la toxicología en sus diferentes aspectos, sea analítico, clínico, de investigación o legal (Fernicola, 1985), Figura 2.

4.1. Toxicología de Alimentos

Los agentes químicos presentes en los alimentos pueden tener orígenes diferentes, ya sean naturales, adicionados, contaminantes u originados por condiciones inadecuadas de conservación.

Ciertos alimentos contienen compuestos químicos naturalmente presentes en ellos, que al ser ingeridos pueden producir efectos nocivos tanto en el hombre como en los animales. Es el caso de la presencia del glucósido cianógeno en la mandioca (Gilbert, 1984).

La práctica de adicionar compuestos o agentes químicos a los alimentos es muy antigua y comenzó cuando el hombre aprendió a conservar la carne agregándole sal (cloruro de sodio). Con posterioridad se idearon otros métodos, bien para conservar los alimentos, bien para realzar la calidad de los productos o para modificar su aspecto. En la actualidad se usan alrededor de 2500 sustancias en los alimentos para darle aroma, sabor, color, preservarlos, o con otro fin.

Por otro lado en los alimentos se encuentran agentes químicos contaminantes como resultado de la práctica del uso de plaguicidas, fertilizantes y otros compuestos destinados a mejorar las cosechas, o provenientes de una manipulación o proceso inadecuado. También por

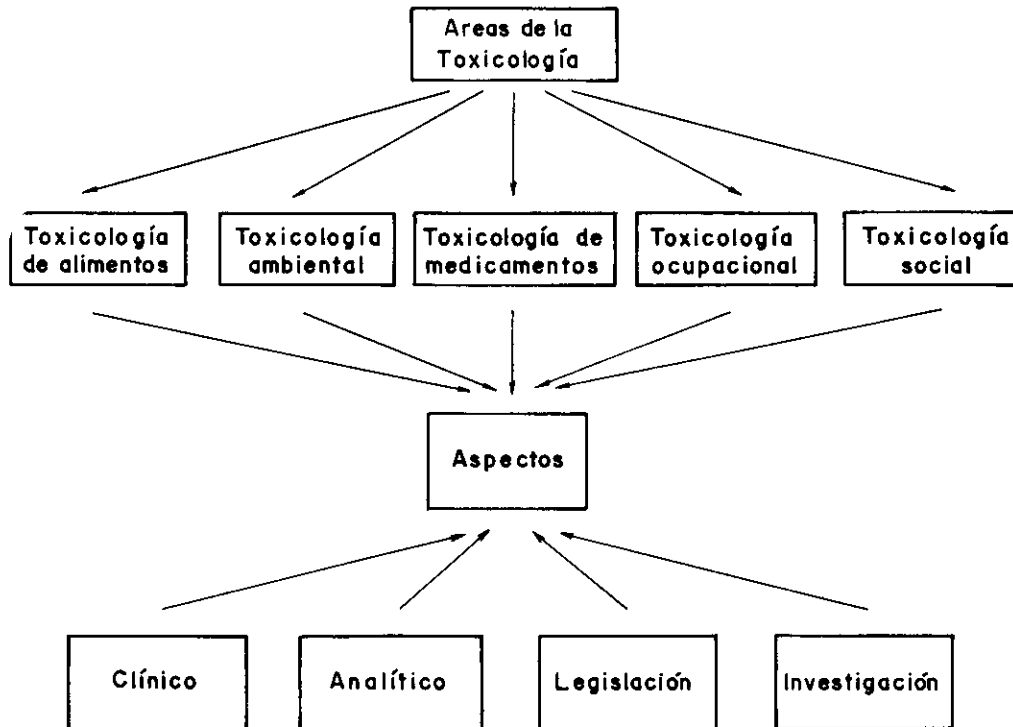


Figura 2 - Areas y Aspectos de la Toxicología

descuidos en su conservación pueden originarse agentes químicos tóxicos, como es el caso de la presencia de micotoxinas.

4.2. Toxicología Ambiental

Con el nombre de toxicología ambiental se designa usualmente al estudio de los efectos de los agentes químicos, contaminantes ambientales, sobre los organismos vivos, y cómo éste afecta al ecosistema. El término se usa algunas veces para denominar las evaluaciones toxicológicas realizadas en relación al ser humano con referencia a esos agentes (Doull & Bruce, 1986).

En esta área interesan los agentes químicos presentes como contaminantes del agua, aire y suelo, sean estos de origen natural o antropogénico. En lo referente a los contaminantes del aire debe recordarse que la atmósfera está compuesta por un volumen enorme de gases que permite la dilución de los agentes contaminantes presentes en ella, a veces a niveles de concentración inferiores a los que producen efectos nocivos. El poder de dilución de la atmósfera es limitado y depende tanto de las condiciones meteorológicas como de la cantidad de agentes químicos presentes, ya sean gases como el monóxido de carbono, dióxido de azufre, óxidos de nitrógeno, o partículas de polvo o en aerosol.

La contaminación del agua y del aire no es sólo indeseable desde el punto de vista estético, sino que una gran parte de la población está expuesta a una variedad de agentes químicos que pueden producir efectos agudos por exposición a corto plazo y efectos crónicos por exposición a corto y largo plazo (Loomis, 1976).

4.3. Toxicología de Medicamentos

La toxicología de medicamentos se ocupa del efecto nocivo de las sustancias químicas usadas como tales por indicación del médico o por automedicación. El empleo terapéutico de medicamentos puede producir efectos colaterales o indeseables, conociéndose éstos como efectos iatrogénicos. El problema es más frecuente cuando se emplean varios medicamentos en forma simultánea (Ariens & col., 1978).

4.4. Toxicología Ocupacional

La toxicología ocupacional se ocupa del estudio de los efectos nocivos producidos en el hombre expuesto a agentes químicos en su ambiente de trabajo. El concepto de toxicología ocupacional es más amplio que el de toxicología industrial, ya que el primero abarca toda actividad laboral que realiza el hombre.

El objetivo principal de la toxicología ocupacional es la prevención de la alteración en la salud de los trabajadores que manipulan o están expuestos en el ambiente de trabajo a agentes químicos. Este objetivo sólo podrá ser alcanzado si son definidas las condiciones de exposición o trabajo que no representen un riesgo inaceptable para la salud. Esto implica en la práctica la definición de límites o niveles permisibles de exposición a los agentes químicos. En los últimos años, este campo de la toxicología ha experimentado un gran avance.

4.5. Toxicología Social

La toxicología social se ocupa del estudio de aquellos agentes químicos que el hombre utiliza como consecuencia de su vida cotidiana. El consumo de alcohol y de drogas, como por ejemplo la heroína y la marihuana producen daños en determinados grupos de población que hacen uso de ellas. Estas sustancias provocan hábito de consumo, es decir, dependencia psíquica; en ocasiones pueden llegar a producir adicción, o sea, dependencia psíquica y fisiológica.

5. REFERENCIAS.

1. Ariens, E.J.; Lehman, P.A. & Simonis, A.M. (1978). Introducción a la toxicología general. Editorial Diana, México.
2. Doull, J. & Bruce, M.C. (1986). Origin and Scope. In Toxicology. The Basic Science of Poisons. Editores: C.D. Klaassen; M.C. Amdur & J. Doull. 3^a Ed., MacMillan. New York.
3. Fernícola, N.A.G.G. de (1985). Contribución de la toxicología para alcanzar la meta de salud para todos en el año 2000. Bol. Of. Sanit. Panam. 99(6).
4. Fernícola, N.A.G.G. de (1987). Aspecto toxicológico de las sustancias peligrosas. En: Cap. 6: Memorias del Seminario sobre desastres tecnológicos asociados con agentes químicos. Secretaría de Salud. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. México, D.F., México, 27-29 mayo.
5. Fonseca Moraes, E. de C. (1978). Toxicología na atualidade. Estudo de problemas brasileiros. Universidade de São Paulo, Brasil.
6. Fukushima, S. & Cohen, S.M. (1980). Saccharin-induced hyperplasia of the rat urinary bladder. Cancer Res. 40:734.
7. Gilbert, C. (1984). Bocio endémico: el factor mandioca. Foro Mundial de la Salud 5(2): 198-203.
8. Loomis, T.A. (1978). Essentials of Toxicology. 3th Ed. Lea and Febiger, Philadelphia (PA).
9. Meyer, E. (1977). Chemistry of hazardous materials. Prentice Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey.

TOXICOLOGIA PROSPECTIVA: BASE LOGICA, MANERA DE ABORDAR Y APLICACIONES PRACTICAS

G. Vettorazzi

Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas
Organización Mundial de la Salud
Ginebra, Suiza

SUMARIO

La toxicología prospectiva representa hoy un instrumento importante para la valoración toxicológica de las sustancias químicas xenobióticas. Su origen y evolución son relativamente recientes. Algunas de sus ramas, v.g. la toxicología experimental y de reglamentación se vinieron desarrollando a medida que el mundo industrializado condicionó, el progreso en gran parte, a la disponibilidad de sustancias químicas xenobióticas de síntesis. Estas sustancias ya forman parte de nuestra cultura y civilización. Su empleo se extiende a las casas, tiendas, lugares de trabajo, calles, campos, hospitales, oficinas; las sustancias xenobióticas se encuentran en los alimentos, cosméticos, productos farmacéuticos de uso humano y veterinario.

La toxicología prospectiva, introduciendo el concepto de xenobiosis, superó las clasificaciones tradicionales y populares de sustancias útiles y nocivas. Al mismo tiempo fue introduciéndose el concepto de valoración toxicológica como elemento clave para llegar a la formulación de conclusiones toxicológicas que permitan la determinación del potencial tóxico de las sustancias químicas xenobióticas. Una de las importantes aplicaciones de las conclusiones toxicológicas es la de asistir a una reglamentación para el uso racional de las sustancias químicas y su control.

Sin embargo, la adopción de los modelos de valoración toxicológica ha causado discrepancias que necesitan ser armonizadas. De ahí la necesidad de una colaboración internacional para un efectivo control de las sustancias químicas xenobióticas de probada utilidad social.

INTRODUCCION

Una presentación comprensiva de la toxicología prospectiva debe necesariamente tomar en cuenta los aspectos históricos que están en su origen y evolución.

Desde tiempos inmemoriales el hombre ha procurado establecer y aumentar su comodidad y bienestar. Siguiendo instintos ancestrales, las sociedades modernas han optado por aceptar de modo entusiasta, aunque no siempre discriminadamente, los beneficios que los adelantos y progresos de la ciencia y tecnología les venía ofreciendo.

En el campo de las sustancias químicas, en los últimos años se ha registrado un auge enorme en la producción y empleo de productos químicos orgánicos sintéticos en una larga serie de actividades humanas. Se calcula que la producción anual de estos productos se ha duplicado cada siete u ocho años, pasando de alrededor de un millón de toneladas anuales en la década de los treinta, a varios centenares de millones de toneladas anuales en los últimos tiempos. A estas cantidades se deben añadir las variedades y las modalidades de empleo en las casas, tiendas, lugares de trabajo, calles, campos, hospitales, oficinas; en los alimentos, cosméticos, productos farmacéuticos humanos y veterinarios. La utilización voluntaria de sustancias químicas es solamente una faceta del problema total con relación a la exposición del organismo humano moderno al mundo químico. A esta exposición intencional se debe sumar la exposición a agentes contaminantes que pueden ser de origen natural (v.g. micotoxinas), o bien de efecto colateral por el empleo de productos sintéticos (v.g. clorofluorocarbonos), o como derivados de la asociación de empleo intencional y el fondo natural (v.g. mercurio).

Al hacer referencia a este universo exposicional abiótico no hay que infravalorar al mismo tiempo el universo biótico, bacteriano y no-bacteriano, con el cual la medicina tradicional ya tenía afortunadamente más familiaridad.

De cara a esta realidad, la postura histórica ha sido la de preguntarse cual podría ser el impacto sobre el organismo humano en particular, y sobre todo organismo viviente en general, de la exposición generalizada a tantos productos químicos, cuyos efectos biológicos no estaban caracterizados. La retórica a esta pregunta fue muy rápidamente eliminada por los accidentes y desastres que vinieron a dar un toque de alarma a toda la humanidad conciente.

En primer lugar, en 1959, se notificó en el Japón la aparición de una enfermedad insólita en los alrededores de la Bahía de Minamata y, ulteriormente, en la región del río Niigata. eventualmente Se pudo comprobar que esa enfermedad estaba asociada con la descarga industrial de compuestos de mercurio en las corrientes de agua de la zona. El mercurio alcanzaba altísimas concentraciones en los peces locales, que acumulaban ese producto. Más de un millar de personas que habían comido regularmente pescado de esa zona cayeron enfermas y más de cincuenta de ellas murieron a consecuencia de la llamada "enfermedad de Minamata".

Dos años más tarde se produjeron los terribles efectos de un somnífero de acción suave llamado Talidomida que habían ingerido mujeres embarazadas. Más de seis mil niños nacieron, 1959 a 1962, con severas malformaciones de sus extremidades, cuya similitud con las aletas de las focas les ha merecido el concepto diagnóstico de focomelia. Esta verdadera catástrofe inició medidas para incluir en las pruebas de toxicidad de nuevos fármacos, métodos capaces de reconocer a tiempo los riesgos potenciales para el niño aún no nacido. La capacidad de la Talidomida para causar graves anomalías en el desarrollo (teratogénesis) tuvo profundos efectos en la evolución de la toxicología, tanto desde el punto de vista científico como desde el legislativo.

En 1968, un lote de aceite de arroz fue contaminado accidentalmente por un líquido industrial de uso muy generalizado. Ese líquido, compuesto de bifenilos policlorados (BPC), era utilizado en la industria como líquido para frenos, en transformadores y en intercambiadores térmicos, porque era un producto estable, un buen dieléctrico y aparentemente inocuo. Más de un millar de personas cayeron enfermas como consecuencia de haber empleado el aceite contaminado para cocinar. Este accidente puso de relieve el hecho de que aún exposiciones relativamente bajas pueden dar lugar a efectos tóxicos si se repiten durante un largo periodo y aunque las exposiciones de breve duración no parezcan producir ningún

efecto adverso de consideración. Del mismo accidente se derivó mas tarde otra lección importante, a saber, que la evacuación, sin las debidas precauciones, de productos químicos estables podía traducirse en una amplia dispersión de los mismos en todo el medio ambiente.

Una nueva dimensión vino a añadirse cuando se descubrió, en 1974, que uno de los productos químicos básicos utilizados en la industria de los plásticos era un carcinógeno humano. Ese producto, el monómero del cloruro de vinilo o MCV (utilizado, por ejemplo, en la producción de cloruro de polivinilo o CPV); se consideraba tan inocuo y estable que se empleó durante algun tiempo como propulsor en productos de uso muy generalizado tales como los rociadores de laca para el cabello. Se comprobó que era causa de la aparición de un cancer poco frecuente, el angiosarcoma hepático, en los trabajadores, y en particular en los que habían estado expuestos a altas concentraciones. Los resultados de los estudios efectuados en animales confirmaron esa observación. Inmediatamente se planteó la cuestión de la seguridad de muchos otros productos químicos utilizados en la industria de los plásticos, acerca de los cuales se disponía de escasa información en cuanto a sus posibles propiedades tóxicas.

Incidentes y descubrimientos como los que se acaban de describir condujeron a investigar muchos otros sucesos que hasta entonces se había ignorado por considerárseles insignificantes. Además, algunos de los graves acontecimientos relacionados con la descarga de sustancias sumamente tóxicas, tales como la descarga de dioxina TCDD (2,3,7,8, - tetraclorodibenzo-p-dioxina) que se produjo en Seveso, Italia, en 1976, fueron estudiados con la mayor atención por equipos de especialistas internacionales.

Los accidentes y catástrofes tuvieron el inmediato efecto de promover la toxicología moderna como una actividad científica de extrema importancia y tanto el mundo científico como el ciudadano cobraron cada vez mayor consciencia de los posibles efectos nocivos que podían derivarse de la exposición a los productos químicos.

Así, pues, a fines del decenio de los años setenta, se admitía ya sin lugar a dudas que la exposición a ciertos tipos de sustancias químicas podía producir no sólo efectos tóxicos agudos sino también efectos a largo plazo de considerable gravedad tales como cáncer, trastornos nerviosos, trastornos de la reproducción, enfermedades cardiovasculares, y reacciones alérgicas que podían traducirse en efectos como las enfermedades cutáneas, las afecciones asmáticas y los trastornos nasofaríngeos. A esa lista alarmante debe anadirse la prueba obtenida experimentalmente, y corroborada en el curso de los últimos dos decenios, de que algunos productos químicos pueden causar daños en el sistema hereditario de los organismos vivientes, dando lugar a mutaciones que pueden manifestarse en generaciones subsiguientes como enfermedades hereditarias.

Es muy importante notar que la problemática de la seguridad química no concierne solamente a los aspectos científicos/toxicológicos, sino que más bien atañe a toda la sociedad moderna como tal, incluyendo su capacidad decisional en determinadas dimensiones espacio-temporales y su voluntad de opción entre riesgos y beneficios. Son precisamente estos aspectos los que hacen de la toxicología moderna un fenómeno científico complejo debido a las inevitables interfases entre ciencia y ley.

La capacidad decisional y voluntad de opción de varias sociedades con relación al problema de las sustancias químicas está documentada, en orden cronológico hasta el año 1980, en la Tabla 1.

HACIA UNA DEFINICION DE TOXICOLOGIA

Actualmente, tanto en la literatura especializada como en la de divulgación y en la prensa diaria, se utiliza el término "toxicología" con enorme profusión y, a su amparo ha surgido un elevado número de profesionales que se titulan toxicólogos, pero que se dedican a actividades extraordinariamente dispares. De esta forma, si desde el principio fue difícil disponer de una buena definición de toxicología, actualmente esta tarea se hace aún más problemática. Repetto (1981) en su manual de Toxicología Fundamental intentó definir la toxicología como la ciencia que estudia las sustancias químicas y los fenómenos físicos en cuanto son capaces de producir alteraciones patológicas en los seres vivos, a la par que estudia los mecanismos de producción de tales alteraciones y los medios para contrarrestarlas, así como los procedimientos para detectar, identificar y determinar tales agentes y valorar su grado de toxicidad.

Tabla 1 - Avances en el Control de las Sustancias Químicas

FAO/OMS	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives	1956
FAO/OMS	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	1961
Switzerland	Law on Trade in Toxic Substances	1969
UN	Stockholm Conference on the Human Environment	1972
Japan	Chemical Substances Control Act	1973
Sweden	Act on Products Hazardous to Man and the Environment	1973
Canada	Environmental Contaminants Act	1974
U.S.A.	Toxic Substances Control Act	1976
France	Control of Chemical Products Act	1977
CEE	Sexta enmienda. Instrucción (79/831/EEC)	1979
OMS/OIT/PNUMA	International Programme on Chemical Safety (IPCS)	1980

A pesar de que una definición al estilo antiguo y académico no parezca todavía viable, una descripción en términos operativos de lo que se entiende por toxicología se hace sin embargo imperativa.

En primer lugar se puede afirmar que la toxicología abarca un campo pluridisciplinario. Esto resulta evidente cuando se observa lo que los operadores en toxicología hacen. Hay un sinnúmero de profesionales que “hacen toxicología” sin ser llamados toxicólogos. Por ejemplo, el médico que atiende las víctimas de intoxicaciones agudas ejerce como el toxicólogo; las intoxicaciones de este tipo son de causas múltiples y a menudo originales como accidentales, iatrogénicas, profesionales, endémicas, suicidas, homicidas, sociales (toxicomanías), genéticas y rurales. El farmacólogo que estudia las reacciones a los fármacos que él mismo diseña, ejerce como toxicólogo. El químico analista que identifica y caracteriza niveles de contaminación ambiental, también ejerce como toxicólogo. Y así sucesivamente.

En resumen se puede concluir que en la actualidad es posible llegar a un acuerdo sobre los siguientes puntos: a) hay un grupo de profesionales que opera en actividades relacionadas a tóxicos; b) existe una literatura científica especializada en toxicología; y c) existe una comprensión de lo que los operadores en esta área hacen o tratan de hacer.

Una descripción exhaustiva de las nuevas ramas o especialidades toxicológicas, vinculadas a las más clásicas, se encuentra en la literatura (Galli y Vettorazzi, 1980; Bertaux y Vettorazzi, 1980; Repetto y Vettorazzi, 1983). Entre éstas hay tres que son de inmediato interés, a saber, la toxicología experimental, la toxicología prospectiva y la toxicología de reglamentación. Una breve aclaración sobre el contenido de estos términos es importante para el objetivo de este artículo. Sin embargo, considerando las definiciones operativas que deben utilizarse, débese notar que muy a menudo los términos no son exclusivos uno de otro, y que será de utilidad recordar los principios lógicos que guían la formulación de definiciones, a saber “quo major extensio minor comprehensio” y “quo major comprehensio minor extensio” (cuanto mayor es la extensión del término tanto menor será su comprensión y viceversa”).

1. Toxicología experimental: esta área de la toxicología se ocupa principalmente de llevar a cabo experimentaciones *in vivo* e *in vitro* utilizando animales, órganos y células con el objetivo de determinar el potencial tóxico de las sustancias químicas y, a menudo, confirmar o poner en duda, el valor de los datos experimentales en lo que concierne a su aplicación al hombre. En toxicología ambiental, la toxicología experimental juega un papel primario en elaborar curvas de dosis-efecto y dosis-respuesta que permitan establecer límites tolerables u aceptables para el organismo humano e, indirectamente, niveles tolerables o aceptables en los medios ambientales (alimento, agua, aire, suelo). Se ocupa también de elaborar y actualizar la respectiva metodología. Los “5 musts” (los 5 elementos esenciales) para un ensayo experimental son los siguientes: “a toxicological test should be properly planned, properly designed, properly conducted, properly reported, and properly interpreted” (un ensayo experimental deberá ser debidamente planeado, debidamente esbozado, debidamente ejecutado, debidamente presentado y debidamente interpretado) (Tabla 2).

2. Toxicología prospectiva: el término es más extensivo que el de toxicología experimental y, algunas veces, se usa intercambiamente, ya que la toxicología experimental forma parte del ejercicio de pronosticar los efectos tóxicos potenciales de una sustancia. El término ha sido usado para indicar todo el proceso de evaluación de seguridad de las sustancias químicas (safety assessment) incluyendo la valoración toxicológica, la valoración del riesgo y los

aspectos epidemiológicos para confirmar o poner en duda los datos prospectivos experimentales.

3. Toxicología de reglamentación: esta área de la toxicología hace referencia a una de las aplicaciones más corrientes de la toxicología ambiental como se observa en el mundo de hoy, es decir, la relación entre toxicología ambiental y los aspectos de reglamentación que miran a la preservación del medio ambiente. Una presentación más completa sobre el tema ciencia y ley se encuentra en la literatura (Vettorazzi, 1984). Es un dato incontrovertible que en la actualidad la mayor parte de los ensayos toxicológicos se llevan a cabo para fines de registro o de homologación de sustancias químicas que tienen un valor económico y comercial. Una exposición de las características y consecuencias por parte de la presión económico-comercial sobre la orientación moderna de la toxicología de reglamentación se encuentra también en la literatura (Vettorazzi, 1987).

Antes de concluir esta sección dedicada a la terminología puede ser de interés hacer referencia a un concepto que se utiliza con amplitud en toxicología moderna, a saber, el concepto de xenobiótico o de sustancia xenobiótica.

Clasificar las sustancias químicas en grupos absolutos de útiles y nocivas ha sido una práctica tradicional y popular. Por ejemplo, todos saben que los alimentos son sustancias que se pueden consumir y que son aceptadas por el organismo viviente sano; que los medicamentos son sustancias que se toman cuando el cuerpo está enfermo y que las sustancias que se conocen como venenos se deben evitar. A la inversa, el principio de que es la dosis o la cantidad la que hace que una sustancia sea o no tóxica es un concepto un poco más difícil de comprender - y mucho más arduo de probar. El concepto, y su término técnico, "xenobiótico" es de cuño más reciente y ha resultado ser más apropiado para clasificar las sustancias químicas desde el punto de vista toxicológico. Su significado original es el siguiente:

En primer lugar, este término no debe tomarse como sinónimo de tóxico sino únicamente para indicar que la sustancia xenobiótica es una sustancia extraña al sistema biológico viviente (xenos = extranjero; bios = vida). La sustancia xenobiótica no forma parte del sistema biológico viviente y éste no puede utilizarla de ninguna forma aunque pueda entrar en íntimo contacto con ella.

**Tabla 2 - The 5 "Musts" in Experimental Toxicology
Los 5 Elementos Esenciales en Toxicología Experimental**

The Toxicological Test Should Be:
El Ensayo Experimental Deberá Ser:

- | | |
|-------------------------|--------------------------|
| 1. PROPERLY PLANNED | DEBIDAMENTE PLANEADO |
| 2. PROPERLY DESIGNED | DEBIDAMENTE ESBOZADO |
| 3. PROPERLY CONDUCTED | DEBIDAMENTE EJECUTADO |
| 4. PROPERLY PRESENTED | DEBIDAMENTE PRESENTADO |
| 5. PROPERLY INTERPRETED | DEBIDAMENTE INTERPRETADO |

La peligrosidad o la inocuidad de un xenobiótico deben ser demostradas. Así que entre los xenobióticos hay sustancias de probada toxicidad, las hay de probada inocuidad y las hay cuya toxicidad o inocuidad aún tiene que ser de ser demostrada.

Si se compara la clasificación popular de las sustancias químicas anteriormente mencionadas con la clasificación elaborada y adoptada por la toxicología moderna, se podrán apreciar las fundamentales diferencias. Además esta clasificación implica una serie de importantes consecuencias por la metodología propia de la toxicología prospectiva y la de reglamentación.

En efecto, la clasificación popular no tiene en cuenta que los que se llaman tradicionalmente alimentos, en la realidad son una mezcla compleja de sustancias nutritivas y de xenobióticos; que la mayoría de los medicamentos son xenobióticos y los que se consideran venenos pueden contener xenobióticos de importancia farmacológica.

Por consiguiente, cada sustancia química para ser considerada biológicamente segura deberá ser valorada toxicológicamente para ver, en primer lugar, si es utilizable por el sistema biológico viviente o si se trata de un xenobiótico; en segundo lugar, si es que se trata de una sustancia xenobiótica, una ulterior valoración toxicológica deberá demostrar su inocuidad o su toxicidad; y, en tercer lugar, en el caso de que la sustancia xenobiótica sea tóxica, una ulterior valoración toxicológica deberá establecer los niveles de tolerabilidad y/o aceptabilidad para el sistema biológico viviente que se quiere defender. Este esquema puede todavía hacerse aún más complicado como en el caso de las sustancias dotadas de ambivalencia biológica. Este caso viene ejemplificado por algunos de los metales pesados que en bajas concentraciones son esenciales a la nutrición y en altas concentraciones provocan efectos tóxicos. En este último caso, la función de la valoración toxicológica deberá ser acompañada por una valoración nutricional con el objetivo de establecer dosis óptimas. Este último concepto viene representado en forma gráfica en la Figura 1.

¿Cuántas de los millares de sustancias químicas con las cuales el organismo humano entra diariamente en contacto han sido sometidas a valoración toxicológica? La respuesta es muy fácil: muy pocas.

De todos modos, el explosivo interés en la toxicología moderna acoplado a la realidad de un mundo siempre más industrializado y los adelantos de las ciencias toxicológicas permiten cultivar una visión optimista para el futuro.

La valoración toxicológica es la clave para el progreso en el conocimiento del potencial tóxico de las sustancias químicas. La dinámica de este proceso será explicada a continuación.

VALORACION TOXICOLOGICA: CLAVE DE LA TOXICOLOGIA PROSPECTIVA

La valoración o evaluación toxicológica de una sustancia xenobiótica es un procedimiento que tiene por objetivo la formulación de conclusiones que permitan la determinación de su potencial de toxicidad. No es un procedimiento automático o de fácil ejecución.

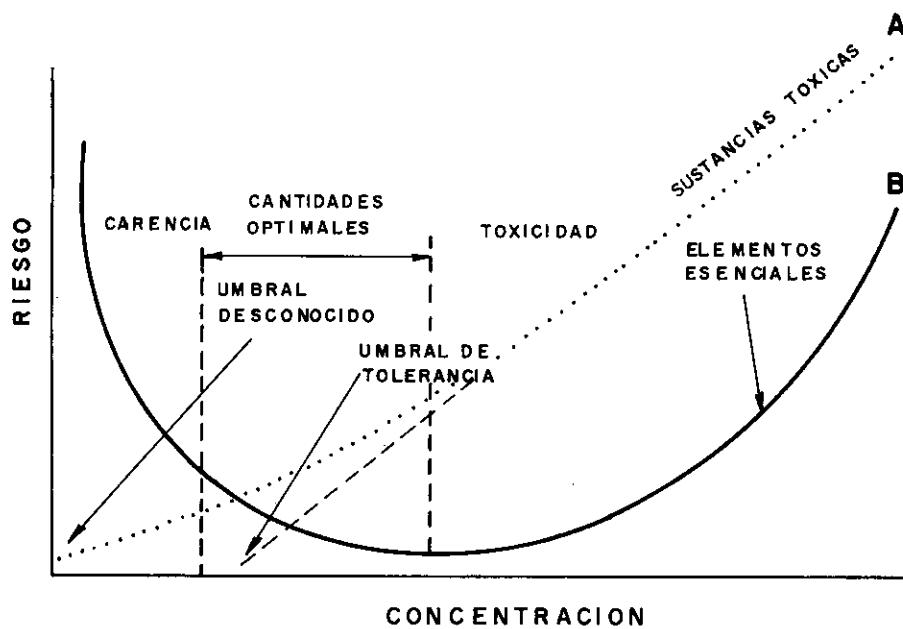


Figura 1 - Riesgos Asociados con Estados de Carencia y de Exceso de Elementos Esenciales y Sustancias Tóxicas

El modelo de evaluación toxicológica que es más conocido y que está respaldado por larga experiencia internacional es aquel que se fué desarrollando dentro de dos comités internacionales de expertos en toxicología, a saber: el Comité Mixto FAO/OMS en Aditivos Alimentarios (JECFA), que inicio sus actividades en 1956, y la Reunión Conjunta FAO/OMS en Residuos de Plaguicidas en Alimentos (JMPR) que inicio sus actividades en 1961. De la Tabla 1 que ilustra los avances en el control de las sustancias químicas, se puede apreciar como los primeros xenobióticos sometidos a valoración toxicológica han sido precisamente los aditivos alimentarios y los plaguicidas utilizados en agricultura.

Este modelo está ilustrado en el esquema reportado en la Figura 2. Como se puede observar, en la valoración toxicológica de una sustancia xenobiótica pueden distinguirse dos etapas. La primera consiste en la recolección de todos los datos toxicológicos y biológicos relevantes que en línea de máxima son derivados de ensayos en animales y, en lo posible, de observaciones en el hombre. La segunda etapa consiste en la interpretación y evaluación de estos datos. Más en detalle, el esquema puede interpretarse de la siguiente manera: la METODOLOGIA TOXICOLOGICA (1) lleva a la ejecución de ENSAYOS O ESTUDIOS APROPIADOS (2) que deberán producir INFORMACIONES ADECUADAS Y SUFICIENTES (3) que des-

pués de una correcta INTERPRETACION (4) permitirá la formulación de CONCLUSIONES TOXICOLÓGICAS (5) para servir de base racional a la REGLAMENTACION. Los puntos 4 y 5 podrán o no podrán, o podrán sólo ser combinados parcialmente puesto que la interpretación de los resultados de los ensayos experimentales hecha por los mismos investigadores que llevaron a cabo los estudios experimentales podrá o no ser aceptada por el grupo científico encargado de formular las conclusiones toxicológicas. Los puntos 4 y 5 representan el procedimiento de valoración toxicológica propiamente dicho.

A la luz de los documentos producidos por el JECFA y JMPR, es lógico concluir que la valoración toxicológica debe ser considerada como un procedimiento dinámico puesto que los resultados de nuevos estudios pueden exigir una reconsideración de las conclusiones toxicológicas anteriores. Las flechas que unen los puntos 1 y 2 a los puntos 4 y 5 tienen por objeto ilustrar este aspecto.

Es necesario notar que el esquema propuesto en la figura 2 es válido sólo para los objetivos especificados anteriormente, por ejemplo, para la formulación de una reglamentación sobre el uso seguro de un xenobiótico o para indicar su riesgo potencial. La valoración del riesgo real acarrea otras consideraciones, entre ellas la estimación de la exposición y observaciones epidemiológicas.

En términos de "outputs", las Tablas 3 y 4 indican de manera sintética los principales "end-points" característicos de los grupos JECFA y JMPR. La Tabla 5 indica, a manera de ejemplo, algunas de las conclusiones toxicológicas sobre algunos metales pesados formuladas por el grupo JECFA mediante la utilización del modelo de valoración descrito. Los "end-points" del grupo científico del JECFA han sido recientemente el objeto de una extensa reseña histórico-analítica (Vettorazzi, 1987a).

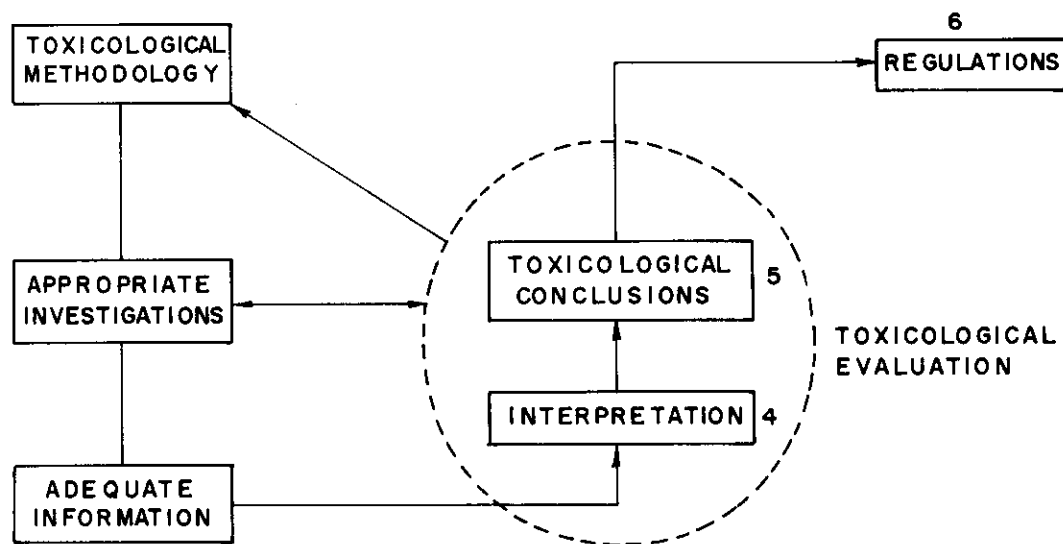


Figure 2 - Flow Diagram Identifying the Critical Points and Objectives of Toxicological Assessment of Xenobiotics.

Tabla 3 - J E C F A. FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS

OUTPUTS

WHO →	ADI (Acceptable Daily Intake) PTWI (Provisional Tolerable Weekly Intake) PMTDI (Provisional Maximum Tolerable Daily Intake) IR (Irreducible level) Toxicological Methodology
FAO →	Chemical Specifications Analytical Methods Reports Toxicological Monographs Chemical Profiles

Tabla 4 - J M P R. PESTICIDE RESIDUES IN FOOD

OUTPUTS

WHO →	ADI (Acceptable Daily Intake) Toxicological Methodology
FAO →	MRLs (Maximum Residue Limits) Analytical Methods Reports Toxicological Monographs

Tabla 5 - Evaluation End-Points. Some Selected Contaminants

	mg/person	mg/kg bw*	ug/kg bw*
Arsenic (1)		0.002	
Cadmium (2)	0.5	0.0083	8.3
Copper (1)		0.05-0.5	50-500
Iron (1)		0.8	
Lead (2)	3.0	0.05	50.00
Lead (2)(infants & children)			25.00
Mercury, Total (2)	0.3	0.005	5.0
Mercury, Methyl (2)	0.2	0.0033	3.3
+Phosphorus (3)		70.0	70,000.0
Tin, Inorganic (1)		2.0	2,000
Zinc (1)		0.3-1.0	300-1000

* Body weight

+ This figure applies to diets that are nutritionally adequate in respect of calcium. However, if the calcium intake were high, the intake of phosphate could be proportionately higher, and the reverse relationship would also apply.

(1) Provisional Maximum Tolerable Daily Intake (PMTDI)

(2) Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI)

(3) Maximum Tolerable Daily Intake (MTDI)

(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA)

En la determinación de estos “end-points” la técnica adoptada puede ser resumida en la siguiente serie de etapas:

- a) La aceptación de una dosis máxima carente de efecto en el curso de uno o varios ensayos a largo plazo, debidamente ejecutados, en animales de laboratorio.
- b) La aplicación a la dosis máxima carente de efecto en los animales de un factor de seguridad arbitrario y convencional que, en la opinión de los expertos toxicólogos, guarda relación con la naturaleza del compuesto que se evalúa, con las circunstancias del uso a que se le destina y con la calidad y cantidad de los estudios experimentales disponibles incluso la existencia de observaciones en el hombre;
- c) La determinación, cuando procediera, de ingestiones diarias admisibles (IDAs) u otros “end-points” de acuerdo a los casos.

La adopción de este modelo fuera del contexto de los grupos anteriormente indicados ha causado problemas de armonización de las conclusiones toxicológicas llevadas a cabo por grupos individuales tanto a nivel nacional como interregional. Los problemas conectados a esta situación se analizaron muy recientemente (Vettorazzi, 1987b). En este estudio se identifican algunas de las razones que están a la raíz de eventuales discrepancias tales como el asincronismo de las valoraciones, valoraciones llevadas a cabo con datos no completos, la literatura “gris”, la existencia de grupos de alto riesgo, las idiosincrasias prevalentes, la imitación irracional, y el factor de la vida media (Tabla 6).

A pesar de todo, el problema de la armonización de las conclusiones toxicológicas es un problema actual y apremiante porque de él depende el éxito futuro del control internacional de las sustancias químicas xenobióticas.

Tabla 6 - Stumbling Blocks in Harmonization

1. Lack of synchronism
2. Dearth of complete data
3. The “gray” literature
4. Populations at risk
5. Prevalent idiosyncrasies
6. Blind imitation (monkey effect)
7. Life expectancy

REFERENCIAS

1. Bertaux, J.F. & Vettorazzi, G. (1980) Trois niveaux operationnels en toxicologie. En: Intoxications par les pesticides. Louis Roche (Ed.) Masson, Paris.
2. Galli, C.L. & Vettorazzi, G. (1980) Modern toxicology and its complexity. Riv. Soc. Ital. Sci. Alim, 9: 295-8.
3. Repetto, M. & Vettorazzi, G. (1983) Complejidad de la toxicología moderna. Rev. Toxicol. (Sevilla, Espana), 1: 5-13.
4. Repetto, M. (1981) Toxicología Fundamental. Ed. Científico - Médica. Barcelona, Espana.
5. Vettorazzi, G. (1980) General principles in the toxicological evaluation of food additives and pesticide residues. En: G. Vettorazzi (Ed.) Handbook of International Food Regulatory Toxicology. Volume 1, SP Medical & Scientific Books, New York, London.
6. Vettorazzi, G. (1984) Tendências para uma real política de segurança alimentar. Bol. SBCTA (Campinas, São Paulo, Brasil), 18(4): 344-350.
7. Vettorazzi, G. (1987) Residui di pesticidi negli alimenti: problemi e prospettive internazionali. Riv. Soc. Ital. Sci. Alim., 16: 343-351.
8. Vettorazzi, G. (1987a) Advances in the safety evaluation of food additives: a conceptual and historical overview of the Acceptable Daily Intake (ADI) and Acceptable Daily Intake "not specified". Food Addit. & Contam. 4: 331-356.
9. Vettorazzi, G. (1987b) Sostanze xenobiotiche: armonizzazione delle conclusioni tossicologiche. Riv. Soc. Ital. Sci. Alim., 16: 165-169

EVALUACION BIOLOGICA DE LA EXPOSICION HUMANA

Nilda A.G.G. de Fernícola

Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud
Organización Panamericana de la Salud
Metepéc, México

1. INTRODUCCION

Esta época se caracteriza por el uso intenso de sustancias químicas, ya sea en las áreas agrícolas o en la actividad industrial y por la preocupación de la población en cuanto a los efectos nocivos producidos por esos agentes químicos. Cabe, por lo expuesto, abordar un área de la ciencia que trata de esos problemas: la toxicología.

El uso en la práctica de indicadores biológicos para evaluar la calidad del ambiente tiene una larga historia remontándose al uso de canarios por los mineros, al reconocimiento del efecto del dióxido de azufre en la vegetación de la vecindad de fundiciones y, ya en el inicio de este siglo, al efecto de agentes químicos contaminantes sobre la flora y fauna existente en cursos de agua (Goldstein, 1972).

Desde esas épocas hasta la actualidad, el conocimiento de los efectos biológicos de varios agentes químicos, contaminantes ambientales, ha aumentado enormemente y se han propuesto esquemas en los que se emplean organismos como indicadores biológicos (Goldstein, 1972).

Sin embargo, ha de ser el hombre, en última instancia, el indicador biológico de los efectos de los agentes contaminantes ambientales. En efecto, para uno de los contaminantes del aire cuando menos, el monóxido de carbono, el organismo humano actúa como un mecanismo continuo de muestreo, y la medida de la carboxihemoglobina en sangre está en relación con la concentración del monóxido de carbono en el aire.

La disminución de la actividad de la colinesterasa en suero, es otro indicador biológico de la exposición humana a los insecticidas organofosforados (OMS, 1968).

2. EXPOSICION OCUPACIONAL Y AMBIENTAL

Profesionales de muchas áreas, además de aquéllos de la toxicología, necesitan información acerca de los efectos tóxicos de sustancias en relación a la exposición humana y de cómo evaluar la exposición. Entre esas áreas se incluyen higiene industrial, medicina ocupacional, química clínica, salud pública, epidemiología y la reglamentación ambiental.

A los profesionales que trabajan en el aspecto toxicológico relacionado con agentes químicos de interés ambiental u ocupacional, les es difícil obtener información completa debido a que la misma se halla dispersa o en algunos países o regiones es escasa o no existe (Carsoon et al., 1986).

2.1 Exposición Ambiental

El desarrollo industrial y social está a menudo acompañado por aumento de contaminación ambiental, ésto puede entrar en conflicto con los objetivos de mantener y mejorar la salud de los individuos y de su ambiente. Muchos de los problemas ambientales relacionados con el desarrollo son generalmente reconocidos, pero frecuentemente poca o ninguna acción puede ser tomada debido a la escasez de información y datos precisos sobre exposición humana.

Se considera exposición a la concentración de un contaminante ambiental en particular (incluyendo sustancias peligrosas de residuos biológicos y agentes físicos) que alcanzan un organismo dado (WHO, EFP/83,52). Para otros, exposición a un agente químico contaminante es la medida del contacto entre el agente y la superficie externa e interna del cuerpo humano (Miller, 1983).

La información sobre exposición humana es requerida para varios propósitos en el control o prevención de la contaminación ambiental, desde el establecimiento de la relación exposición-efecto, en la cual basan normalmente los patrones y reglamentaciones, hasta la continua o periódica evaluación de los niveles de contaminación a los cuales la población está expuesta (WHO, EFP/83,52).

2.2 Exposición Ocupacional

Uno de los objetivos principales de los programas de higiene del trabajo es la prevención de los efectos nocivos a la salud de los trabajadores expuestos a agentes químicos en el ambiente laboral. Uno de los medios más importantes para conseguir ese objetivo es el de establecer límites admisibles del agente químico en el aire del ambiente de trabajo, es decir determinar el nivel en el cual un agente químico no causa efectos adversos sobre la salud durante toda la vida del trabajador (OMS, 1980).

El nivel o límite admisible ha sido definido como un patrón cuantitativo de higiene para un nivel que se considera inocuo, expresado como concentración para un tiempo determinado (WHO, 1977).

Por otro lado un Grupo de Trabajo de la OMS ha preferido utilizar la expresión "límite de exposición profesional recomendado por razones de salud", en lugar de nivel o límite admisible. Esta expresión está en armonía con el Convenio Internacional adoptado por la Conferencia General de la Organización Internacional del Trabajo. En ese Convenio se utiliza la expresión "límite de exposición profesional" (OMS, 1980).

3. EVALUACION DE LA EXPOSICION

3.1 Evaluación Ambiental

Se entiende por evaluación ambiental a la medida y la evaluación del agente en el lugar de trabajo y en el ambiente y del riesgo para la salud comparado con una referencia apropiada (Zielhuis, 1985).

Así los componentes esenciales de un programa de evaluación y vigilancia ambiental son:

control sistemático y continuo de fuentes de emisión, de niveles y efectos; recopilación, análisis y evaluación de datos importantes en relación a los criterios y patrones disponibles; la aplicación de medidas indicadas por estos hallazgos; y los mecanismos de retroalimentación para facilitar la actualización del conocimiento científico y tecnológico.

Los programas de monitoreo y vigilancia ambiental deben ser iniciados por varias razones: para propósitos de gestión de calidad ambiental en el caso de agentes contaminantes para los cuales se han establecido criterios y patrones; para abordar problemas específicos en una región geográfica amplia; para facilitar una evaluación retrospectiva una vez que ha sido identificado un nuevo agente contaminante o se ha desarrollado una técnica analítica más sensible; para determinar tendencias de la contaminación; y para idear modelos para exposición humana (WHO, 1974).

3.2 Evaluación del Ambiente de Trabajo

La exposición a sustancias químicas presentes en el aire del ambiente de trabajo ha sido determinada tradicionalmente por medio del análisis del aire de esos ambientes. Este método tiene muchas ventajas para evaluar las condiciones del lugar de trabajo, pero no es el ideal; ya que aún el más exhaustivo de los programas de muestreo de aire, no puede proveer una completa evaluación del nivel real de exposición de los trabajadores (Djuric, D.).

Entre las ventajas, puede mencionarse que la evaluación del ambiente de trabajo es esencial para la vigilancia de las condiciones de higiene y para una identificación del riesgo (Foa, V.).

Entre las fallas que pueden atribuirse a la evaluación ambiental puede mencionarse que ese método no es el ideal en alguna de las situaciones siguientes:

- en exposiciones donde las concentraciones del agente químico sufren fluctuaciones;
- cuando el agente químico se absorbe simultáneamente por varias vías por ejemplo, dérmica y respiratoria;
- cuando el agente está presente en el ambiente de trabajo y en el ambiente general, como es el caso del plomo;
- cuando existen diferencias de hábitos individuales de trabajo, carga de trabajo y condiciones fisiológicas (Djuric, D.).

3.3 Evaluación Biológica de la Exposición

El objetivo de la reducción de la exposición humana a agentes químicos, a un nivel donde no existan efectos nocivos, es el cuidado de la salud (IPCS, 1986).

Los agentes químicos se encuentran, usualmente, en concentraciones más altas en los ambientes ocupacionales que en el ambiente; y la especie química está mejor definida en el ambiente ocupacional; es por esta razón que mucha de la información sobre la evaluación de exposición a agentes químicos se origina en estudios realizados en los ambientes de trabajo (IPCS, 1986).

Una parte integral de la investigación en esos ambientes es la estimación exacta de la exposición. Esto se obtiene, tradicionalmente a través de la determinación de la concentración

del agente en el aire del ambiente de trabajo (IPCS, 1986).

Otra aproximación es el uso de indicadores biológicos que apunta a una evaluación de los riesgos para la salud o absorción del agente químico. Esto se alcanza por medidas sistemáticas y repetitivas del agente químico y/o sus productos de biotransformación en muestras biológicas obtenidas del trabajador expuesto y la evaluación del significado de las concentraciones halladas (IPCS, 1986).

De los estudios toxicológicos referentes a la interacción del agente químico y el organismo humano, se deduce que el efecto depende de la cantidad del agente químico que llega al sitio crítico donde se produce la acción del agente químico (Foa, V.).

La evaluación biológica es la medida y evaluación de agentes o sus productos de biotransformación en tejidos, secreciones, excreciones, aire espirado o alguna combinación de datos obtenidos en esas muestras para evaluar la exposición y riesgos para la salud, comparado con una referencia apropiada (Zielhuis, 1985). Esto se aplica para los trabajadores y para la población en general.

De las relaciones exposición-respuesta se pueden derivar límites de exposición tales como valores umbral límite (VUL), concentración máxima permitida (CMP), ingesta diaria aceptable IDA (en inglés TLC, MAC y ADI, respectivamente) o patrones de calidad del aire, ambiente o límites biológicos de exposición (Zielhuis, 1985).

Zielhuis, 1978, dice que se reserve el término (biological monitoring) evaluación biológica como un concepto específico considerado como la medida o estimación de la exposición.

La evaluación biológica está esencialmente relacionada con la toxicinética de los agentes químicos y no con efectos sobre la salud, toxodinámica.

La evaluación biológica es el análisis rutinario de tejidos humanos o excretas para evidenciar directa o indirectamente la exposición a sustancias químicas. Se usa para detección precoz de deterioro de la salud debido a agentes químicos industriales (Miller, 1984).

La mayor ventaja de la evaluación biológica es el hecho de que el parámetro biológico de exposición está usualmente más directamente relacionado con los efectos adversos sobre la salud que van a prevenirse, que lo que es cualquier medida ambiental. Así la evaluación biológica ofrece una mejor estimación del riesgo que la evaluación ambiental (Miller, 1984). Vigilancia de la salud (health effects monitoring) es el examen médico-fisiológico periódico de los trabajadores expuestos con el objetivo de proteger su salud y prevenir enfermedades ocupacionales. La detección de enfermedades ya establecidas está fuera del alcance de esta definición (Zielhuis, 1985).

La distinción entre evaluación biológica y evaluación de efecto en la salud no es sólo una cuestión de semántica.

La determinación de un agente en sangre, orina, etc., da información sobre la exposición y el riesgo para la salud, no sobre el estado de salud.

4. TIPOS DE INDICADORES BIOLÓGICOS

Los indicadores biológicos o parámetros biológicos pueden indicar la dosis absorbida o el efecto producido.

Los indicadores biológicos de dosis absorbida pueden dividirse en:

- indicadores verdaderos de dosis, es decir capaces de indicar la cantidad del agente químico en el local donde ejerce el efecto;
- indicadores de exposición, que proveen una estimación indirecta del grado de exposición desde que el nivel del agente en las muestras biológicas está estrechamente relacionado con los niveles de concentración del agente en el ambiente;
- indicadores de acumulación, que puede proveer una evaluación de la concentración de la sustancia en órganos y/o tejidos donde el agente se acumula y es liberado lentamente.

Los indicadores del efecto son aquellos que pueden identificar alteraciones tempranas y reversibles. El objetivo es hacer posible la evaluación de alteraciones que se desarrollan en el órgano crítico, es decir en el órgano donde la concentración del agente tóxico, que puede causar alteraciones funcionales, es alcanzada primero (Foa, V.).

La mayoría de los agentes químicos, incluyendo disolventes orgánicos, son absorbidos inicialmente por el organismo humano y eliminados bastante rápido, usualmente con valores iniciales de vida media de pocas horas o a veces minutos. Los cambios rápidos en las concentraciones en los líquidos biológicos complican la interpretación de datos y la carga media corporal alcanzada durante una jornada de trabajo puede ser fácilmente pronosticada en exceso o por defecto. Además las medidas biológicas fallan en muchas instancias para detectar períodos cortos de exposición excesiva durante la jornada. Debido a que la eliminación de agentes químicos y sus productos de biotransformación, como también cambios biológicos inducidos por la exposición a los agentes, son eventos de cinética, los índices biológicos de exposición se refieren a 8 horas de exposición y al tiempo específico de recolección de las muestras biológicas (ACGIH, 1986).

5. INFORMACION OBTENIDA A TRAVES DE EVALUACION BIOLOGICA. INDICADORES BIOLOGICOS

La evaluación biológica se realiza a través de la determinación, en muestras biológicas del organismo expuesto, de agentes exógenos, sus productos de biotransformación o los efectos que producen los agentes sobre el metabolismo. Estas determinaciones son usadas y denominadas como indicadores biológicos.

Las muestras biológicas donde los indicadores pueden ser determinados son: sangre, orina, saliva, sudor, materia fecal, pelos, uñas y aire espirado (Foa, V.).

A través de la evaluación biológica se puede obtener información sobre:

- exposición y/o absorción durante un período prolongado de tiempo;
- sobre la cantidad de la sustancia absorbida a través de exposiciones de diferente intensidad en el ambiente donde se encuentra el trabajador o por exposiciones a concentraciones altas debidas a accidentes (Foa, V.).

La evaluación biológica debe diferenciarse de la evaluación de efectos en la salud, por ejemplo disminución de leucocitos, cambios en los patrones enzimáticos o función pulmonar. Esto está dirigido a la detección de individuos con riesgo, a efecto evidente en la salud. Mientras que la evaluación biológica está dirigida a determinar la exposición de grupos de individuos y de miembros de tales grupos (Zielhuis, 1978).

Muchos efectos sobre la salud no son específicos del agente que causa el efecto, mientras que la evaluación biológica trata con parámetros altamente específicos para el agente en consideración (Zielhuis, 1978).

6. DIFERENCIAS ENTRE EVALUACION BIOLOGICA Y EVALUACION AMBIENTAL

Se pueden mencionar las siguientes diferencias (Zielhuis, 1978):

- La evaluación biológica puede valorar más adecuadamente los grupos expuestos que la evaluación ambiental;
- Es más fácil estimar la exposición a través del organismo humano que actúa como instrumento de muestro, que a través de la medida de la concentración en aire;
- La evaluación ambiental no toma en cuenta la carga física de trabajo y el volumen respiratorio por minuto ni tampoco la indicación de la absorción por vía dérmica;
- El individuo está expuesto a varios agentes químicos simultáneamente por varias vías; a través de la evaluación biológica se detecta el ingreso por todas las vías y no sólo por aire o alimentos, información ésta obtenida a través de la evaluación ambiental o de alimentos;
- La evaluación ambiental no aporta datos sobre la exposición en los ambientes fuera de aquél que se está evaluando;
- La evaluación ambiental ofrece sólo una aproximación de la dosis. Así la evaluación biológica da mayores posibilidades, dado que considera las características individuales del sujeto expuesto;
- La evaluación biológica permite la medida de varios parámetros simultáneamente en una sola muestra biológica;
- Otra ventaja de la evaluación biológica de la exposición es que se gasta menos tiempo y potencial humano que para la evaluación ambiental.

El estudio de la concentración de una sustancia en el ambiente de trabajo y la determinación simultánea de los indicadores biológicos en los sujetos expuestos dan información sobre la relación entre la exposición ocupacional a un agente y la concentración del agente en las muestras biológicas y además entre el agente y los efectos (Foa, V.).

El conocimiento de la relación entre la dosis de un agente y el efecto producido en el organismo es un requisito esencial para realizar un programa de evaluación biológica.

7. PROBLEMAS PARA USO DE INDICADORES BIOLOGICOS DE EXPOSICION

Dos problemas impiden el amplio uso de las medidas biológicas como indicadores de la exposición a ambientes seguros: primero, la relativa amplitud en la respuesta individual a una sustancia así como la amplitud de la respuesta normal a ser considerada; segundo; la falta de métodos analíticos específicos simples y de suficiente sensibilidad. Los dos problemas tienen solución y se cree que se ha alcanzado suficiente progreso como para comenzar a utilizar indicadores biológicos de exposición que pueden ser usados como una guía para exposiciones seguras a agentes químicos (ACGIH, 1986).

3. INDICES Y LIMITES

8.1 Indices Ambientales

Un índice es un número que expresa la relación entre una cantidad variable y un valor fijado como patrón. Tal número puede ser usado para simplificar la presentación de datos y así no es necesario un conocimiento detallado para su interpretación. Entonces, un índice es un medio para que aquéllos no especialistas puedan disponer de un conocimiento especializado.

Numerosos índices han sugerido para definir la calidad del ambiente. Así en U.S.A. fue establecido el Índice Patrón para Contaminantes (Pollutant Standards Index, PSI). El índice, incluye los límites de calidad del aire para cinco agentes químicos contaminantes ambientales, a saber: partículas totales suspendidas, dióxido de azufre, monóxido de carbono, ozono y dióxido de nitrógeno. Se usan cinco categorías descriptivas para aclarar el significado de los números índices, publicados en los periódicos junto con una reseña de los efectos sobre la salud y las medidas de prevención (Duffus, 1980).

8.2 Límites para Ambientes de Trabajo

Además de los “límites de exposición profesional recomendados por razones de salud”, están los límites biológicos basados en consideraciones sanitarias, es decir, el nivel sin efectos nocivos a que pueden encontrarse los agentes tóxicos o sus productos de biotransformación en material biológico humano. En algunos casos se recomienda un ámbito en vez de una cifra determinada. Para mayor seguridad el Grupo de la OMS recomienda límites para exposición y límites biológicos que están por debajo de los niveles detectados de efectos adverso-respuesta (OMS, 1980).

Existen diferencias entre países con relación a esos límites. La American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) ha propuesto algunos índices biológicos de exposición (ACGIH, 1986).

Según la ACGIH, 1986, los índices biológicos de exposición representan niveles de aviso de la respuesta biológica a los agentes químicos o niveles de aviso de los agentes químicos o sus productos del metabolismo en tejidos, líquidos o aire espirado de trabajadores expuestos, sin importar si el agente químico fue inhalado, ingerido o absorbido por la piel.

8.3 Límites Biológicos de Exposición

Límites de exposición operacionales deben ser establecidos en un proceso de dos pasos: primero, un grupo de expertos (toxicólogos, médicos de industria, higienistas) proponen los límites recomendados fundamentados en criterios para proteger la salud. Posteriormente deben ser consideradas las restricciones tecnológicas y socioeconómicas, concluyendo en un proceso de toma de decisión del que participan todas las partes interesadas como empleados, empleadores, representantes del público en general y del gobierno (Zielhuis, 1985).

A los límites operacionales todavía deben aún dárseles un nivel de “patrones”. Ambos pasos tienen que estar apoyados en una documentación que esté disponible también para quienes corren el riesgo de la exposición.

Así, los límites operacionales son el resultado de evaluaciones basadas en salud de datos toxicológicos, seguidos de un proceso político de toma de decisión. Los límites de exposición deben ser dirigidos a los grupos de mayor riesgo (Zielhuis, 1985).

Los índices biológicos de exposición se basan en datos obtenidos en estudios epidemiológicos y de campo o determinados como equivalentes biológicos a un límite ambiental permitido (un TLV), TLV valor ambiental límite permitido ambiental por medio de análisis de datos de estudios toxicocinéticos, en estudios controlados realizados en humanos (ACGIH, 1986).

Hay otros factores que deben considerarse cuando se aplican límites biológicos de exposición, tales como: cambios inducidos por actividad física intensa; cambios inducidos por condiciones ambientales (altura, calor, dieta, etc.); por ingestión de agua; cambios en las funciones fisiológicas inducidas por enfermedad preexistente o variación congénita; cambios en el metabolismo inducidos por variación congénita del camino metabólico; cambios inducidos por la administración de otro agente (ACGIH, 1986).

Antes de comenzar un programa de evaluación biológica se deben responder cinco preguntas: Quién, qué, dónde, cuándo y por qué. Quién, se refiere al grupo a ser estudiado; qué, al parámetro más relevante y dónde, la muestra biológica. Por qué, significa tener una hipótesis sobre la relación exposición-respuesta (Zielhuis, 1978).

8.4 Criterio para Métodos de Evaluación Biológica

Los métodos analíticos y los criterios usados en la evaluación biológica se caracterizan porque:

- El método debe ser apropiado para la evaluación de la exposición y efectos sobre la salud;
- Los resultados deben ser igualmente válidos para individuos y para grupos;
- El método debe ser reproducible dentro del laboratorio e interlaboratorio;
- El método debe ser preciso y específico;
- Los límites de detección deben ser lo suficientemente bajos para permitir una determinación precisa de niveles de no efecto;
- Las variaciones interindividuos e intraindividuos de la respuesta de poblaciones referencia no expuestas, debido a raza, sexo y edad, deben ser documentadas;
- El efecto de posibles factores interferentes tales como dieta, uso de tabaco y de alcohol debe ser documentado;
- Los niveles base del indicador biológico deben ser lo más bajos posible;
- El método debe ser simple y si es posible no debe requerir instrumental sofisticado;
- El método debe permitir la posibilidad de almacenar las muestras (Ho, 1986).

9. CONCLUSIONES

Se evidencia, de forma clara, las ventajas de la realización de la evaluación biológica humana, ya sea en la exposición a agentes químicos contaminantes del ambiente o del ambiente de trabajo y de la necesidad de contar con esta información en la realización de estudios epidemiológicos.

Para la instalación de programas de evaluación biológica humana, será necesario contar con profesionales especializados en el aspecto analítico de la toxicología. Sólo así se obtener datos confiables.

10. REFERENCIAS

- 1 - American Conference Governmental Industrial Hygienist. Biological Exposure Indices for Threshold Limit Values. 1986-1987. Cincinnati, Oh; 1986.
- 2 - Carson, B.L.; Ellis, H.V.; Mc Cann, J.L. - Toxicology and biological monitoring of metal in humans. Lewis Publishers, Inc. Chelsea, Michigan, 1986.
- 3 - Duffus, J.H. - Environmental toxicology. Edward Arnold Ltd, Publishers. London, England. 1980.
- 4 - Djuric, D. - Exposure limits: biological. In: International labour office. Encyclopaedia of occupational health and safety. 3rd. Edition; Geneva, pag. 816-819.
- 5 - Foa, V.; Alessio, L. - Biological monitoring. In: International labour office. Encyclopaedia of occupational health and safety. 3rd. Edition; Geneva, pag. 271-274.
- 6 - Goldstein, G. Biochemical indicators of environmental pollution; pág. 109-131; in: Indicators of environmental quality. Thomas, W.A. Plenum Publishing Corporation, New York, N.Y. 1972.
- 7 - Ho, M.H. & Dillon, H. - Biological monitoring. Environ. Sci. Technol. 20(2), 124-127; 1986.
- 8 - International Programme on Chemical Safety, IPCS - Principles of toxicokinetic studies. Environmental Health Criteria 57. World Health Organization. Geneva, 1986.
- 9 - Miller, S. - A monitoring report. Environ. Sci. Technol. 17(8), 343A-346A; 1983.
- 10 - Miller, S. - Biological monitoring. Environ. Sci. Technol. 18(6), 188A-190A; 1984.
- 11 - Organización Mundial de la Salud - Serie de Informes Técnicos 647; Ginebra; 1980.
- 12 - Organización Mundial de la Salud - Investigaciones sobre contaminación del medio. Serie de informes técnicos n 406. Ginebra, 1986.
- 13 - World Health Organization - Health aspects of environmental pollution control: planning and implementation of national programmes. Technical Report Series 554; Geneva, 1974.
- 14 - World Health Organization - Methods used in establishing permissible levels in occupational exposure to harmful agents; Technical Report Series 601; Geneva; 1977.

- 15 - World Health Organization - Assessment of human exposure to environmental pollutants EFP/83, 52.
- 16 - Zielhuis, R.L. - Biological monitoring. Scand. J. Work Environ. and Health 4, 1-18; 1978.
- 17 - Zielhuis, R.L. - Biological monitoring: confusion in terminology. Am. J. Ind. Med. 8, 515-516; 1985.
- 18 - Zielhuis, R.L. - Biological exposure limits: the fetus and EEC politics. Brit. J. Ind. Med. 42(3), 145-146; 1985.

RISK ASSESSMENT FOR HUMAN AND ENVIRONMENTAL HEALTH PROTECTION

E. Smith

International Programme on Chemical Safety
World Health Organization
Geneva, Switzerland

INTRODUCTION

This lecture is an overview of approaches to the risk assessment of chemicals and does not attempt to prescribe procedures. In addition, the views expressed are those of the author and do not necessarily reflect the decisions or the stated policy of the cooperating organizations of the IPCS. Risk assessment is usually the first step in risk management and procedures are directed to identifying adverse effects, establishing management criteria and setting legal exposure limits. Thus, the procedures are often legal administrative instruments and subject to national prerogatives and practices. However, there is wide international agreement on the toxicity tests which are used and the fundamentals of these are described. In all risk assessments it is essential that the scientific basis - toxicological and ecotoxicological - is maintained and not supplanted by purely administrative procedures.

It is of considerable importance that laboratory test data are reliable because they are central to risk assessment. While sound data will not necessarily result in a good risk assessment, due to the variables involved in the process, it is certain that bad, poor or inadequate data will never produce a good assessment.

When dealing with risk and hazard it is essential to define terms. They are often used synonymously or inconsistently to denote either possibility or probability. To achieve some uniformity of usage within the environmental health components of the World Health Organization these, and some related terms, are defined as:

Risk - A quantitative probability that a health effect will occur after a specified "amount" of a hazard has exposed an individual.

Hazard - A source of danger; a qualitative term expressing the potential that an environmental agent can harm health.

Risk Estimation - The quantification of dose-effect and doseresponse relationships for a given environmental agent, showing the probability and nature of the health effects of exposure to the agent in a general scientific sense.

Hazard Identification - The identification of the environmental agent of concern, its adverse effects, target populations and conditions of exposure.

Exposure Assessment - The quantification of the amount of exposure to the hazard for an individual or a group.

Risk Characterization - The outcome of "hazard identification" and "risk estimation" applied to a specific use or occurrence of an environmental health hazard (e.g. a chemical compound). The risk characterization thus requires quantitative data on the human exposure in the specific situation. The end product is a quantitative statement about the proportion of affected people in a target population.

Risk Assessment - A combination of the four steps: **Hazard Identification - Risk Estimation - Exposure Assessment - Risk Characterization**

Risk Evaluation - The comparison of calculated risks or public health impact of the exposure to the environmental agent with risks caused by other agents or societal factors together with the benefits associated with the agent. This may lead to a decision about "acceptable risk".

Exposed or Non-Exposed - Qualitative terms defining the existence of or lack of hazard in the environment of individuals.

Exposure or dose - Quantitative terms defining the amount of an environmental agent that has reached the individual (external dose) or has been absorbed into the individual (internal dose, absorbed dose).

PERCEPTION OF RISK

The existence of risks to health has been an integral part of life since evolution began, but recently, our attitudes to, and acceptance of, risk have undergone major changes. In the evolutionary process, organisms have had to adapt and adjust to endogenous and exogenous toxic chemicals in order to survive. The human race has adapted through natural selection and physiological processes and also culturally by taboos and dietary patterns designed to avoid or minimize exposure. Conscious social adjustments now include the legal regulation of risky activities. Risks are no longer regarded as unavoidable.

A significant event in the public perception of chemical risk has been the rapid growth of environmental protection movements which consider chemicals as one of the major threats to mankind. Environmental concerns extend beyond the chemical pollution of air, land and water, to cover nuclear power plants, noise in the urban environment and industrial installations particularly of the chemical industry. Pesticides receive particular attention, followed by environmentally persistent chemicals such as organochlorine compounds and environment threatening chemicals such as chlorofluorocarbons. The public concern for human and environmental health has been sharply focused by events, such as pollution incidents in Italy (Seveso, dioxin); Japan (Minemata Bay, mercury); England (London, smog); USA and Taiwan

dverse (polybrominated biphenyls (PBBs)) and chemical warehouse fires in Switzerland, Australia and England which polluted waterways. These incidents have been among the driving forces for imposing controls on potentially toxic chemicals. The awareness of environmental threats was rapidly followed by a realization of the dangers of delayed human health effects, such as cancer or genetic diseases, due to exposure to toxic chemicals for long periods of time at low concentrations.

Chemical risk assessment is a crucial part of ensuring human and environmental health. In many countries risk assessments are made for all chemicals produced or imported and for industrial developments (industrial impact assessment) to ensure that there will be no adverse health effects.

COMPONENTS OF RISK ASSESSMENT

Risk assessment is not a new discovery. It has been at the core of the insurance business for centuries starting with risk assessments for shipwreck and cargo loss. These risk assessments were relatively straightforward because they were based directly on a large body of real data: well into the last century shipwrecks were common. Life insurance also developed on the basis of actuarial experience and now risk assessment is widely applied in calculating premiums for a variety of insurable risks. The pace of development quickened in World War II, with the development of sophisticated statistical risk assessment techniques for predicting failure rates and thus reliability for aircraft and mechanical components.

The term risk assessment, as used in this lecture, comprises the identification of possible undesirable effects (hazard) the likelihood of occurrence and magnitude of these effects (estimation of risk), the quantitative assessment of exposure and, finally, the risk characterization which is a quantitative statement about the effects and the proportion of a population which will be affected. Risk assessment is a scientific process which precedes risk evaluation and risk management and control measures.

Hazard identification can be predictive or actual. If actual, it may follow observation of adverse effects on humans or the environment or the detection by environmental monitoring of toxic chemical pollution. Hazard identification has advanced rapidly because of the development of knowledge on the ways in which chemicals can adversely affect health. This has led, worldwide, to demands that chemicals are tested thoroughly before production or sale. However, attention has focused largely on "new" chemicals and little has been done about the systematic testing of the tens of thousands of chemicals already in use, unless there are major grounds for suspicion.

For "new" chemicals, notification schemes have been introduced by many countries. Notifications usually contain specified health, environmental and physical and chemical properties test data. In some countries the data requirements are specified in detail, while in others regulatory bodies must prescribe for each notifiable chemical the tests which are to be performed.

Predictions of lack of significant risk of a chemical do not remove the need for continued vigilance. For chemicals in use or present in the environment, even where safety seems assured, possible health hazards still need to be monitored. Epidemiology is one way of linking exposure to chemicals with adverse effects but has not yet been fully exploited for studies on the effects of specific chemicals on general populations. There is also a role for clinical diagnosis and

observation which have frequently raised the first suspicion that a chemical is the cause of a disease. In order to establish objectively the existence of a hazard, diagnosis in an individual needs to be followed by monitoring and epidemiological studies of population groups exposed to the same chemical(s).

EXPOSURE ASSESSMENT

Exposure assessment can be predictive or actual. At the pre-manufacture or pre-marketing stage it is predictive, although experience of chemically similar substances may sometimes be available. Predictive exposure assessment for chemicals which will disperse widely in the environment may be difficult. However, estimates can be made on the environmental behaviour of chemically similar substances, from laboratory data on physical and chemical properties and the use of mathematical models of distribution in environmental compartments and chemical fate.

Exposure assessment at the post-marketing stage is often carried out for chemicals or formulations used in consumer products or for chemical food additives, residues or impurities. In these cases, the general environment is not a significant pathway of exposure. It is the quantities and use patterns of individuals and populations which are the main determinants of exposure. Exposure can be estimated by surveys of lifestyle and dietary patterns by, for example, "market basket" surveys, or measured by biological monitoring of human body tissues or fluids.

Exposure assessment for chemicals which have entered and dispersed in environmental compartments requires a combination of environmental monitoring and mathematical modelling. These assessments are resource intensive and need sophisticated analytical techniques and should only be performed after a thorough review of the problem. For significant chemical pollutants, both local and general exposure assessments may be necessary. In every case, it is essential to define the sources of a chemical pollutant, its locations and levels in the environment, and the time-course and variability of exposure. These data, combined with information on human and environmental health effects, contribute to the risk characterization and assessment of the overall health risk.

RISK CHARACTERIZATION

When a hazard has been identified, the nature, magnitude and probability of occurrence of adverse effects, the target populations and the exposure must be examined. The conditions of exposure should be defined in terms of concentrations, distribution in environmental compartments and trends and target groups. These are then linked to the dose effect and doseresponse (group) toxicity relationships, in order to relate the predicted or actual exposure to the effects and their probability of occurrence. Estimation of dose-effect and dose-response relationships and the assessment of exposure are often complicated. Even for direct and relatively simple environmental pathways, the estimation or measurement of exposure can present problems. The assessment of exposure resulting from intentional use or from accidental release of chemicals presents different problems to those presented by chemicals widely dispersed in the environment. For intentional use an assessment can be based on

expected sites and levels of production, use patterns and quantities, complemented by data on physical and chemical properties. For widely dispersed chemicals the original sources and detailed environmental distribution may be difficult to establish.

In summary the steps are:

Hazard Identification

The identification of the chemical and its inherent dangerous properties by knowledge of:

- Chemical and physical properties;
- Toxicity;
- Ecotoxicity;
- Persistence in the environment;
- Bioaccumulation;
- Environmental mobility and fate.

Risk Estimation

The quantification of dose-effect and dose-response, the type of adverse effects, their reversibility or irreversibility, threshold dose and no-adverse-effect-level, using data from:

- laboratory animals **in vivo**;
- **in vitro** studies;
- environmental biota under laboratory conditions;
- field studies.

Exposure Assessment

The quantification of exposure of targets or target systems, such as human populations, environmental species and/or ecosystems based on:

- environmental concentrations;
- environmental distribution, pathways, fate;
- receiving environments, compartments, target populations.

Risk Characterization

The probability that a chemical would cause adverse effects as a result of specified production, use and emission into the environment, using data on:

- exposure (intensity, frequency and duration)
- routes of exposure
- toxicity and ecotoxicity.

and concludes in a quantitative relationship between exposure and the proportion of a population likely to be affected.

A RISK ASSESSMENT PROCESS

Predictive risk assessment for humans is generally based on toxicity data from experimental animals. Human data would be the most relevant but with the exception of some dermal effects testing and clinical use of therapeutic agents, experimental information will not be available. However, where there has been human exposure to similar chemicals there may be clinical and epidemiological data which could help.

Although toxicity testing in animals is used for predicting health risks to humans, these tests do not provide absolute assurance that there is no significant human health risk. Acute toxicity testing in animals is useful in predicting similar effects and toxic doses for humans, but the situation is less clear for the effects of long-term exposure. Chronic toxicity tests in animals are used to establish "safe" levels for long-term human exposure. However, the extrapolation of chronic laboratory animal studies to humans depends on many factors, such as the test species, the routes of administration, the number and range of doses, the detailed design of the test procedure, and metabolic differences and similarities.

At the present time, it is not practicable because of cost and resource implications, to test chemicals for every possible toxic effect and testing strategies are used. For example, many countries use sequenced approaches with the steps related to the quantities produced, chemical use patterns, toxic and ecotoxic properties, the type of human exposure, and the exposed populations.

Because animal toxicity data are basic to risk assessment the tests commonly used merit a brief description. They fall into the following main categories:

- acute exposure;
- local effects on the skin and eye;
- allergic sensitization;
- subchronic exposure;
- chronic exposure;
- effects on reproduction;
- effects on the nervous system;
- mutagenicity;
- carcinogenicity;
- toxicokinetics.

Internationally, there is good agreement on how these studies should be designed and carried out. Data produced for regulatory purposes in accordance with good laboratory practice are usually acceptable internationally.

While the use of mathematical modelling or quantitative structure - activity relationships as a part of risk assessment has become more common, risk assessment is still essentially a scientific judgmental process dependent on reliable data. In exercising judgment, it is essential to know what information a toxicity test can provide and what it cannot. Speculation or specious extrapolation must be avoided.

ACUTE TOXICITY

The usual initial step is the acute toxicity test. It deals with the effects following immediately or soon after the administration of a single dose of a chemical or a series of doses over a short interval. The objective of this test is to examine the nature of acute toxic effects and not just the end-point of lethality. In an acute test, lethality is usually expressed as a median lethal dose, or LD50, a statistically derived expression of a single dose of a material that can be expected to kill 50% of the exposed animals when administered by the oral or parenteral routes. A median lethal concentration, or LC50 is used for lethality by inhalation or for fish in the aquatic medium and must be qualified by the duration of exposure to provide meaningful information. The LD50 and LC50 are widely used numbers, particularly for classification purposes, but they are crude measures of toxicity and have limited scientific usefulness. Unfortunately, they are widely and falsely assumed to represent the overall toxicity of a chemical.

Acute testing should establish the signs of acute poisoning, possibly indicate mechanisms, identify sensitive systems or organs and determine if the effects are reversible. Post-mortem examination and histopathological studies of affected organs, particularly in animals surviving for the observation period, may provide valuable information. Where different routes of exposure are used, e.g. oral, respiratory or parenteral, the relative hazard of different pathways of exposure can be assessed. The use of animals of both sexes is common because there may be differences in acute toxic response.

Acute toxicity studies will identify highly toxic substances and provide information on the possible hazards of acute human exposure. In addition, the slope of the dose-effect and dose-response curves and the type of toxic responses observed are important for the design of subchronic, reproductive and toxicokinetic tests.

SUBCHRONIC TOXICITY

Subchronic tests are designed to assess toxic effects following regular daily exposures over relatively short periods of time (ranging up to 90 days). For many new chemicals, 28-30 day tests are becoming common because they can be used for notification purposes. Subchronic testing is important because it is the first, and for some chemicals, the only, repeated dose study. This means that every effort must be made to derive the maximum amount of information. A subchronic test should establish a spectrum of toxicological effects, their nature, target organs, severity and time course. Examination for delayed effects and determining whether or not they are due to the accumulation of a chemical is an important part of a subchronic study. It is important to establish if the toxic effects are reversible and a post-dosing observation period may be needed. A subchronic test may also indicate if particular toxic effects, for example, neurotoxicity, need further special testing.

A single species can provide an indication of potential effects for human health but a demonstration of similar toxic effect and dose-effect relationships in two or more species greatly increases the relevance of the results to man. The dose-effect relationship derived from subchronic studies is used for setting doses for long-term chronic toxicity and carcinogenicity tests and can provide a usable no-adverse-effect level. A subchronic test may, in the absence of chronic data, be used with caution for establishing acceptable daily intakes (ADIs) for

substances such as food additives, or for setting threshold limit values or maximum acceptable concentrations for workplace exposure.

CHRONIC TOXICITY - CARCINOGENICITY

Although subchronic toxicity testing with comprehensive histopathology, and complemented by toxicokinetic studies, can provide valuable information about the toxic effects of a chemical, it has limitations. For example, subchronic tests are not reliable for the prediction of carcinogenic or mutagenic effects and are not designed to investigate teratogenesis. They cannot detect other effects on reproduction except for direct effects on the gonads. Thus, a full toxicological testing programme requires chronic toxicity testing, involving the exposure of animals for a major part of their lifespan to examine the effects of a chemical on organs and tissues. Similarly, the objective of a carcinogenicity test is to determine if long-term exposure to a chemical causes neoplastic lesions. Comprehensive and careful histopathology is a crucial element in the interpretation of these tests. Chronic and carcinogenicity testing require extensive laboratory facilities, careful planning, a reliable source of identifiable test animals, and excellent animal husbandry because intercurrent disease or early death of animals can ruin a test. The dose-effect and dose-response relationships obtained in chronic tests should provide reliable no-adverse-effect-levels and define thresholds for chronic toxic effects. These data are used extensively for setting human exposure limits.

TOXIC EFFECTS ON SKIN AND EYE

Tests for local effects on the skin and eye are of particular relevance to human risk assessment. For example, chemicals in cosmetics are deliberately applied and accidental exposure to chemicals, such as in the workplace industry, is a frequent occurrence. Standard test procedures have been developed for examining the effects of chemicals on the skin and eye. Common effects observed after application of a substance to the skin or eye of a test animal are reversible inflammatory responses or even corrosion which results in necrosis of tissue. The degrees of erythema, associated oedema and skin or eye damage can be scored numerically but, in all cases, a careful and systematic description of the procedures and effects is also needed. Extrapolation is less easy, because the test species, (usually rabbit for skin and eye, occasionally guinea pig for skin tests) differ from humans in their response to irritant chemicals. Because these species tend to be more sensitive, the tests may exaggerate the risks, but this introduces a greater safety factor.

ALLERGIC SENSITIZATION

This can affect the skin, respiratory and gastrointestinal tracts. Skin sensitization to chemicals is a widespread problem in the workplace and among the general population. Sensitization reactions of the respiratory tract can be caused by many natural substances such as pollen, hair and insect scales as well as by industrial chemicals. Gastrointestinal tract intolerance is assuming more importance because of food allergies. The use of the guinea pig

for determining the potential of a chemical for skin sensitization is well established, but there are currently no satisfactory animal models for studying allergic reactions of the respiratory and gastrointestinal tracts. For skin sensitization testing most methods use guinea pigs whose immune system has been pre-stimulated by adjuvant treatment. These are treated intradermally or epicutaneously, with the test substance and then challenged a week or so later with another dose. A positive response is indicated by the induction of skin erythema and oedema by the challenge dose. There are a number of test methods but, in practice, the results are not directly comparable. The widely used guinea pig maximization test probably overestimates the sensitization risk for humans but, again, this introduces a greater safety factor.

REPRODUCTIVE TOXICITY

Reproductive toxicology covers the effects of chemicals on the entire reproductive cycle, from mating through pregnancy to sexual maturity of the offspring. It ranges from overt teratogenic effects to the more subtle influences of chemicals on the whole reproductive cycle. The potential of chemicals to affect the reproductive process has led to reproductive toxicity testing being required in many countries for drugs, food additives, pesticides and other chemicals. The increasing number of women in the child-bearing period of life employed in industry and also exposed to chemicals in the home has added to the need for this type of testing.

The reproductive system and function are complex. Testing must examine function in the male and female, mating behaviour, the oestrous cycle, male and female fertility, implantation, pregnancy rate, embryonic and fetal growth and development, litter size, nursing behaviour and lactation, viability, neonatal growth and development and sexual maturation. Reproduction toxicity involves a series of tests examining gametogenesis, embryonic development, fetal growth and post-natal development.

The design and dose patterns vary with to the part of the cycle being investigated. For example, treated males are mated with untreated females, or vice versa, or both sexes are treated prior to mating. In males, a full cycle of spermatogenesis should be covered. Growth and development of the embryo are extremely important. If *in utero* exposure to a chemical alters the structure or function of offspring it is a teratogen. If a chemical kills the developing embryo or causes a reduced rate of fetal growth without any detectable structural or functional alterations, it is embryotoxic or fetotoxic (depending upon the stage of development affected). To test for teratogenic effects, a chemical is given to the pregnant test animals (usually mice, rats or rabbits) at high doses during the period of organogenesis. For embryotoxic effects, a chemical is given throughout pregnancy at lower doses. In both cases, the contents of the uteri are studied in some animals before term to look for structural changes in fetuses. For functional and behavioural studies, pregnancy is allowed to proceed to term and the neonatal development studied. Other effects of chemicals on the reproductive cycle may require studies extending over several generations.

MUTAGENICITY

Heritable mutations in germ cells can result in defects in offspring. Mutagenicity is accepted as a potential hazard for humans. Although many countries require some mutagenicity testing it is directed more to screening chemicals for potential carcinogenicity.

In mutagenicity testing, effects on the gene and chromosome are examined. A widely used test is the detection of point mutations in bacteria using special strains of *Salmonella typhimurium* or *Escherichia coli* with and without the use of a metabolic activation system based on liver S9 homogenate.

Mammalian cells grown *in vitro* are used to examine the ability of a chemical to damage chromosomes. Human cells such as lymphocytes and cells obtained from laboratory animals can be used. The induction of gene mutation in cultured mammalian cells *in vitro* can be detected by alterations at the gene loci responsible for the activity of the enzymes hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase (HGPRT) and thymidine kinase (TK). Another gene mutation test is the induction of recessive lethal mutations in the fruit fly *Drosophila melanogaster*.

The mutagenic potential of a chemical and its metabolites can also be examined by *in vivo* mutagenicity tests in mammals in the intact animal. Tests include the detection of chromosomal damage by metaphase analysis of bone marrow cells, the micronucleus test, tests for germ cell damage such as the dominant lethal test, and effects on skin pigmentation (mouse spot coat test).

While basic mutagenicity screening procedures will detect the majority of potential chemical mutagens, the extrapolation of the results for human health risk assessment is difficult, particularly in any quantitative sense.

TOXICOKINETIC STUDIES

The routine use of toxicokinetic studies is not yet general because of the technical complexities. However, this is an important area because chemical toxicity is frequently due to metabolites. In extrapolating from test species to humans, similarities or differences in metabolic handling of a chemical are important in the risk assessment. For example, it is useful to be able to compare the kinetics of oxidative metabolism, and have quantitative information on the pathways and rates of formation of reactive intermediates.

Metabolic processes and pathways vary in different animal species. The activities of various enzymes such as mixed function oxidases, epoxide hydrolases, glutathione-S-transferase, and glucuronyl transferases, vary within and between animal species. The tissue concentrations of detoxifying substances, such as glutathione, have important effects on toxicity, and these substances also vary with species, nutrition, dose of toxic chemical and concurrent exposure to other environmental chemicals. There are species differences in receptors for hormones and other regulatory molecules and a comparison of tissue receptor concentrations between animal species and humans may contribute to quantitative risk assessment.

With continuous exposure to toxic environmental chemicals, longer lived animal species must have a more effective protective system against chemical toxicity. The longer lived species are, in general, larger and have lower tissue oxygen tensions than the smaller, short-lived

species. Oxidative metabolism, which is frequently responsible for the activation of chemicals to toxic and reactive intermediates, is heavily dependent on tissue oxygen concentration. Smaller animal species (mouse, rat, hamster) generally metabolize toxic chemicals more rapidly than larger species (dog, primate, human).

Dose is important, particularly when there is continuous high exposure. Under these conditions protective mechanisms and enzyme reactions may be depleted or inactivated, while, on the other hand, activating metabolism can increase. Comparisons of dose effect and toxicokinetics in animal species and humans may be crucial for interpreting animal toxicity data and assessing human risk.

EPIDEMIOLOGY

Epidemiology can complement laboratory data when the exposure of a human population to a chemical is known.

Epidemiological investigations may be descriptive or analytical. Descriptive studies deal with patterns of distribution of a disease, symptom, physiological variable or any definable health condition in one or more human groups. Analytical studies test hypotheses about the aetiology of disease and may be cross-sectional, retrospective (case control) or prospective (follow-up) studies. Disease patterns are described on the basis of the occurrence. The two main measures are prevalence and incidence. Prevalence specifies how many cases of a disease are present at a given moment in a population whereas incidence is a measure of the number of new cases occurring during a defined time interval.

To link a chemical cause with a human health effect the nature and extent of exposure must be known. Because human exposure to chemicals is always complex this is often difficult. Even where a specific chemical is being investigated, obtaining reliable information on exposure and exposure concentrations may present problems. Exposure may be measured or estimated by means of biological monitoring which gives information on the body burden, air samples from individuals' breathing zones, spot samples in a workplace, classification of exposure by work area, type of work, occupation, or simply classified as either "exposed" or "not exposed". Epidemiological methods can assist in the determination of causes to the quantification of exposure-response relationships. In all cases, reliable information on exposure, morbidity and mortality is essential for good epidemiology.

Data screening may be used to look for cause-effect associations, and to generate hypotheses. For example, registers of mortality or morbidity and registers of exposures may be linked.

In epidemiology demonstration of a chemical cause of a disease is difficult and it is important to choose a statistical strategy designed to minimize or avoid false positives and false negatives and to eliminate the effects of confounding factors. When establishing a cause and effect relationship, quantification of exposure-response, the assessment of possible synergistic or antagonistic effects with other chemicals, and external or host factors such as age and sex, must be included.

EXTRAPOLATION IN RISK ASSESSMENT

Extrapolation is basically a mathematical process of estimating in values or terms a series on either side of known values. Extrapolations are thus, strictly speaking, quantitative but in biology they may be semi-quantitative or even qualitative. Extrapolations may be from laboratory animals to humans, from laboratory species to environmental biota, from high to low exposure situations, from short-term to chronic exposure, from single to multiple chemical exposure, or from one chemical to another. Most toxicological extrapolations contain a large element of uncertainty.

A widely used extrapolation is from animal data to man. Because this provides the basis for the majority of chemical risk assessments, it is a crucial part of methodology. The use of animal toxicity studies in extrapolation is based on the assumption that they are relevant for predicting toxic effects in humans because of the anatomical and physiological similarities of mammalian species and similar responses to many toxic chemicals. However, prediction of toxicity in humans from animal data is dependent on many factors, including laboratory animal species, test design and the procedures used for extrapolation. For acute toxicity, humans are generally considered to be more sensitive than experimental species, but there are cases where animal species are more sensitive than man. Marked species differences also occur in response to the chronic effects of chemicals. Species differences in sensitivity to toxic chemicals are mainly related to differences in biotransformation. Metabolic rate is an important determinant and small mammals, such as those used in laboratories, have a higher metabolic rate than humans. Sensitivity may also depend on biotransformation producing either more or less toxic products as well as on the rate of biotransformation. The extrapolation from relatively small numbers of genetically homogeneous laboratory animals to highly heterogeneous human populations, including especially sensitive individuals, also introduces uncertainty. Empirical approaches have been developed for the extrapolation of effects in one animal species to another and to humans. Species conversion factors have been derived. One conversion is based on the assumption that equally effective doses can be calculated per unit of body surface area which, in turn, is equal to body weight $\times 2/3$. Another conversion, the "body weight rule", relates acute toxicity and body weight.

To deal with uncertainties it is customary to apply safety factors to animal data which are used to provide safe levels of exposure for humans. A safe level is usually based on an experimentally established "no effect level (NEL)" modified by a safety factor. Safety factors are themselves arbitrary and can be related to the type of toxic effect, its reversibility, the shape of dose-effect curve, the degree of difference between test species response, bioaccumulation, and the quality of toxicological data.

In setting a safety factor one approach assumes that the human is 10 times more sensitive than the most sensitive test species and that within human populations there is a tenfold range of individual sensitivities. Thus a safety factor of 100 (10 \times 10) may be used in setting acceptable exposure limits. However, depending on circumstances, a lower or a higher safety factor may be applied.

ECOTOXICITY TESTING

This is an area that is still being developed. Relatively few countries have requirements for these data even though concerns for the environment are being strongly expressed. At the present time, ecotoxicological data are generated mainly for pesticides but these are not always adequate to permit the full environmental impact assessment. The behaviour of a chemical in the environment is important because the environment is an important source of long-term human exposure and persistent chemicals can thus pose a threat to human health.

Most regulatory test requirements for chemicals include physical and chemical properties with some tests relevant to environmental behaviour such as biodegradability in water and soil, abiotic degradation in air, biological oxygen demand and effects on some environmental biota including toxicity and bioaccumulation in fish. The physical and chemical properties of a chemical can be useful in predicting environmental behaviour. Thus,

- Melting Point;
- Boiling Point;
- Vapour Pressure;

indicate the physical state of a chemical under ambient conditions

- Density;
- Viscosity;
- Solubility in water;
- Particle size;
- Partition coefficient (n-octanol/water);

indicate behaviour in aquatic media and allow some prediction of environmental distribution and the parts of an ecosystem likely to be affected.

Tests that provide information for predicting environmental behaviour and fate are:

- Vapour pressure curve;
- Solubility in water;
- Absorption/desorption;
- Volatility from aqueous solution;
- Complex formation in water;
- Density;
- Particle size distribution;
- Viscosity;
- Surface tension.

These help to predict the mobility of a substance in the environment and indicate its likely distribution between air, water and soil assuming that accumulation or degradation are insignificant.

Test data for degradation, hydrolysis, persistence and accumulation will refine the predictions. Partition coefficient and fat solubility help in predicting the extent of absorption, distribution and storage in biota.

Effects on some non-mammalian biota can be tested in the laboratory. Test methods exist for:

- Alga, growth inhibition;
- Daphnia sp., toxicity and reproductive effects;
- Fish (various species), acute and prolonged toxicity;
- Avian (various species), toxicity and reproductive effects;
- Earthworm, acute toxicity;
- Terrestrial plants, effects on growth;
- Bacteria in activated sludge, effects on respiration.

APPROACHES TO ECOTOXICOLOGICAL RISK ASSESSMENT

The extrapolation of data from a few test species studied under laboratory conditions to the multitude of species in the natural environment contains many uncertainties. Ecotoxicity testing using fish and birds is fairly well developed and a range of test species is available. The use of various test species of fish and birds can provide data which may be relevant to indigenous species. The use of different species can also identify the nature and extent of possible species variation in toxic response. In ecotoxicological testing it is important that an indication of the range of effects is obtained because chemicals can cause different effects in different organisms at different concentrations.

Ecotoxicological test results often vary because of the natural variation in test species used. Inbred test species can reduce the degree of variation but are much less representative of the real environment. This variability means that data can only indicate a probability of an adverse effect on a population and it is important to follow up predictions by effective environmental monitoring and observation.

MATHEMATICAL MODELS

The use of mathematical models for estimating human health risks due to chemicals is mainly confined to carcinogenicity, although some countries have developed mathematical approaches as part of "toxicometrics" to estimate risks for other toxicological end-points.

For carcinogenic risk, a number of mathematical models have been developed. These are the probit, logit, Weibull, one-hit, multi-hit and multi-stage models.

The first three are based on the hypothesis of individual tolerances in a population where the minimum tolerance is taken as 0. Stochastic models, namely the one-hit, multi-hit and multi-stage, are based on the hypothesis that a positive response is the result of the random occurrence of one or more biological events. The one-hit model is based on a response occurring when a target site is affected by a single biologically effective unit of dose. The multi-hit model is an extension of the one-hit model and assumes that more than one unit of dose is needed to produce a response. The multi-stage model is based on the hypothesis that an effect such as carcinogenesis depends on the occurrence of a number of different random biological events with the time rate for each event being in strict linear proportion to the dose.

These models provide estimated dose-response curves. The shape of the dose-response

curves in the low-dose region is important because it affects the estimates of risk associated with low levels of exposure which are those of interest for public health. The one-hit model is linear at low doses and provides relatively high estimates of risk at low dose levels. The logit, Weibull and multi-hit models will be linear at low doses only under certain conditions and usually the dose-response curves approach zero at a sub-linear rate. Similarly, the multi-stage model is linear at low doses only under certain conditions. The probit model is inherently sub-linear at low doses and generally gives to relatively low estimates of risk at low exposure levels. However, under other conditions the dose-response for the logit, Weibull and multi-hit models can approach zero at a supralinear rate indicating an increased risk. Low-dose linearity in the logit, Weibull and multi-hit models is found with dose-response curves that are linear at low and moderate doses and decrease at high doses. Complementary metabolic and pharmacokinetic data are important in these extrapolations.

Since all these models are based on different assumptions they will give different results for the same data. Thus, in the use of all mathematical approaches to toxicity and ecotoxicity, risk assessments for chemicals, scientific judgment remains paramount.

CONCLUSION

The use of data from laboratory *in vivo* and *in vitro* studies identifies toxic effects, dose-effect and dose-response relationships with thresholds for effect, and the reversibility or irreversibility of effects. From these data, extrapolations can be made to provide a quantitative predictive estimation of risk to human. On this basis, exposure limits and precautionary measures can be based. Monitoring and epidemiology then play a part in ensuring that predictions are valid. If evidence of effects is found in human populations, the exposure limits must be reduced or, if effects can be attributed to inadequate control, the control measures must be stepped up.

Predictions from animal data contain uncertainty because of the frequent differences in toxic response between test animals and human and the size and heterogeneity of human populations by comparison with small homogeneous experimental groups. Uncertainty can be dealt with by the use of safety factors. However, with the rapid development of predictive toxicology and its data base, extrapolation is becoming more refined and accurate.

Setting legally-binding exposure limits is a national responsibility. The role of international bodies, such as the cooperating organizations in the International Programme on Chemical Safety - UNEP, ILO and WHO, is advisory. The advice given ranges from publications on the scientific basis for deriving exposure limits, such as for chemicals in food, water and air, and recommending health-based guideline limits such as Acceptable Daily Intake (ADI) values and occupational exposure limits which countries can adopt or adapt to their needs.

Finally, it is crucial that scientists and administrators in countries who have responsibility for chemical risk assessment and establishment of national legal exposure limits understand the scientific complexities and uncertainties involved. The pace of development of the scientific basis for risk assessment indicates that an open-minded and practical approach is essential.

REFERENCES

1. CMEA (1988) Recommendations on the methods of toxicometry, Moscow, Council for Mutual Economic Assistance (in press)
2. CRC (1985) Toxicological Risk Assessment; Vol.I Biological and statistical criteria; Vol. II General criteria and case studies eds. Clayson, D.B., Krewski, D. & Munro, I. Baton Roca, CRC Press Inc. Vol.I pp. 230; Vol.II pp.264.
3. OECD (1987) Guidelines for testing of chemicals; Section 4 (Health Effects). Paris, Organization for Economic Cooperation and Development.
4. RSC (1986) Toxic hazard assessment of chemicals; ed. Richardson M.R.; London, The Royal Society of Chemistry. pp. 361.
5. SCOPE (1987) Methods for assessing the effects of mixtures of chemicals, eds. Vouk, V.B., Butler, G.C., Upton, A.C., Parke D.V. & Asher, S.C., Scientific Committee on Problems of the Environment, Chichester, John Wiley & Sons. pp. 894.
6. WHO (1982) Evaluation and risk assessment of chemicals; Proceedings of a Seminar, Lodz, Poland, 1-6 September 1980. Interim Document No. 6; Copenhagen, World Health Organization. pp. 333.
7. WHO (1983) Health effects of combined exposures to chemicals in work and community environments; Proceedings of a course, Lodz, Poland, 18-22 October 1982. Interim Document No. 11; Copenhagen, World Health Organization. pp. 453.
8. WHO (1987) Setting environmental standards: guidelines for decision-making, ed. de Konig, H.W., Geneva, World Health Organization. pp. 98.
9. WHO (1987) Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food; Environmental Health Criteria No. 70, Geneva, World Health Organization. pp. 174.

EVALUACION DE RIESGO

Nilda A.G.G. de Fernícola

Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud
Organización Panamericana de la Salud
Metepac, México

1. CONCEPTO DE RIESGO

La revisión de la bibliografía en relación a qué es riesgo evidencia que existen diferencias. Así para Rowe (1977) riesgo es el potencial de un evento para producir una consecuencia negativa, no deseada.

La Comisión Preparatoria de la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Humano, (WHO, 1978), definió riesgo como un concepto estadístico, diciendo que es la frecuencia esperada de un efecto nocivo producido por la exposición a un agente químico.

O'RIORDAN (1979) considera riesgo tanto un suceso peligroso como la probabilidad de ocurrencia.

Rosenbluth (1980) ofrece la siguiente definición: el riesgo de una actividad es la probabilidad de pérdida o daño a que da lugar la actividad en cuestión. Para otros, riesgo es la probabilidad medida o estimada de daño, enfermedad o muerte (RODRICKS & TAYLOR, 1983).

Todas las definiciones anteriores comprenden la noción de daño y probabilidad. OKRENT (1980) cita un ejemplo simple para aclarar estas ideas. Si se consideran dos personas cruzando el océano, una en un bote y la otra en un gran navío, el peligro de muerte por ahogamiento es el mismo en ambos casos, aunque la probabilidad (riesgo) de morir ahogado es diferente entre los dos.

El concepto de riesgo y la noción de incertidumbre están estrechamente relacionados. Cuando se dice que el riesgo de cáncer durante todo el período de vida para una exposición determinada es de 25%, significa que alrededor del 25% de toda la población desarrollará cáncer durante su vida. Una vez que el individuo desarrolla el cáncer, no se puede hablar más de riesgo de cáncer, porque ya es un efecto evidente, es una certeza (DOWD, 1988).

2. CLASES DE RIESGO

Los riesgos están relacionados principalmente con dos categorías de agentes o situaciones (McCULLOUGH & BURTON, 1982): naturales: terremotos, inundaciones, tornados, etc; y, fabricados por el hombre, es el caso de agentes químicos, que aunque inadvertidamente pueden presentar riesgos.

Los riesgos pueden también ser clasificados de acuerdo con el receptor en: riesgos para las personas, para los objetos o el ambiente.

Los riesgos para las personas pueden ser voluntarios o involuntarios. Los riesgos voluntarios para el hombre pueden estar relacionados con actividades recreativas tales como alpinismo, carreras de automóviles o con ciertos hábitos como el de fumar. Entre los riesgos involuntarios pueden considerarse la exposición a agentes radiactivos como consecuencia de un accidente, o la exposición a agentes químicos diversos, ya sea en el ambiente ocupacional o en el ambiente general.

3. SUSTANCIAS QUIMICAS

Recientemente el "Chemical Abstract Service (CAS)" de la "American Chemical Society" registró la sustancia química número siete millones. Alrededor del 75% de los compuestos registrados desde 1965 han sido mencionados en la literatura química sólo una vez, lo que parece indicar que una gran cantidad de compuestos no tienen el interés científico o comercial para garantizar su atención posterior. Así todo, la información disponible y proveniente de los países industrializados muestran que aproximadamente 70.000 compuestos químicos, es decir el 1% de todos los conocidos, están actualmente en uso común (IRPTC, 1985).

En el ámbito laboral y en el ambiente, el hombre puede estar expuesto a alguna sustancia química con propiedades carcinogénicas, mutagénicas o teratogénicas.

Debe recordarse que la toxicidad de un agente químico está relacionada con la vía de introducción al organismo humano, las características individuales y la dosis. El riesgo depende de cómo se usa, manipula y fabrica la sustancia (WEIL, 1975), figura 1.

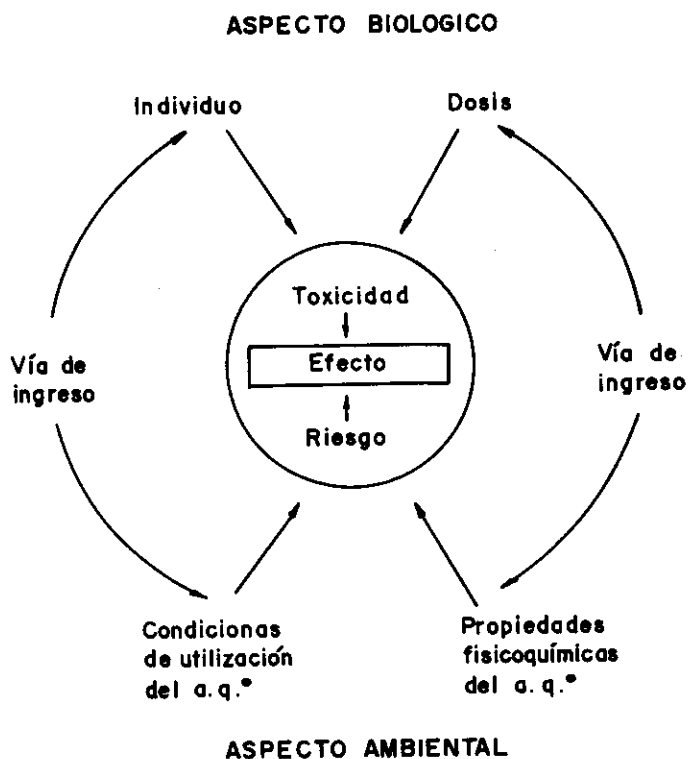
4. CONCEPTO DE EVALUACION DE RIESGO

El término "riesgo" ha sido indefinidamente aplicado dentro de diferentes contextos y la toma de decisiones a nivel político dentro del proceso de gestión de riesgo requiere una medida cuantitativa del mismo y así, debe ser evaluado.

Evaluación de riesgo, denominado en inglés como "risk assessment", es el uso de datos obtenidos de hechos reales, para definir los efectos sobre la salud en la exposición de individuos o poblaciones, a sustancias o situaciones peligrosas (NRC, 1983). Otros autores consideran la evaluación de riesgos como el proceso científico por el cual son identificadas y evaluadas las propiedades tóxicas de una sustancia (RODRICK & TAYLOR, 1983). Para otros autores y refiriéndose en especial a agentes contaminantes ambientales, evaluación de riesgo significa la caracterización de los efectos potenciales adversos sobre la salud en relación con la exposición a agentes peligrosos ambientales (BRISTOL y col, 1984).

Gestión de riesgo, del inglés "risk management", es el proceso de pesar alternativas políticas y elegir la acción legal más apropiada, integrando los resultados de la evaluación de riesgo con datos de ingeniería y de importancia legal para alcanzar una decisión (NRC, 1983).

El riesgo es usualmente expresado en términos cuantitativos tomando valores entre 0 y 1, es decir desde la certeza, de que daño, enfermedad o muerte no ocurrirán, hasta la certeza de que sí ocurrirá daño, enfermedad o muerte. En algunos casos no es posible describir el riesgo en términos cuantitativos y son usadas expresiones cualitativas como alto, bajo o despreciable (RODRICKS & TAYLOR, 1983).



* a. q. : agente químico .

Figura 1 - Relación entre Riesgo y Toxicidad (Weil, 1975)

5. CONCEPTO DE SEGURIDAD

El término “seguro” es considerado comúnmente como sinonimo de “sin riesgo”. Uno de los primeros principios en la evaluación de la seguridad de las sustancias, es que no pueden ser clasificadas simplemente como seguras o inseguras. El riesgo asociado con una sustancia es una función de dos factores, sus propiedades tóxicas y las condiciones de exposición del hombre a esa sustancia.

Además, seguridad implica la ausencia de riesgo. Mientras ciertos riesgos son mensurables, las limitaciones de la ciencia hacen imposible el identificar con absoluta exactitud las condiciones bajo las cuales el riesgo se vuelve 0. Así, para los propósitos de tomar decisiones de política en salud pública se ha vuelto una necesidad práctica definir seguridad como una condición de muy bajo riesgo. Esta es la aproximación usual tomada por las agencias reglamentadoras cuando definen límites aceptables de exposición humana a sustancias químicas.

Por el análisis cuidadoso de la toxicidad y los datos de exposición a un agente químico, es posible definir las condiciones bajo las cuales una sustancia es peligrosa como también aquellas bajo las cuales el riesgo es suficientemente bajo, para proteger así la salud de la población expuesta. Recordemos que el concepto de evaluación de riesgo implica, para algunos autores, el proceso científico por el cual las propiedades tóxicas de una sustancia son identificadas y evaluadas. Así este proceso determina la relación entre el organismo humano expuesto a un agente químico y la probabilidad de que sea afectado adversamente y caracteriza la naturaleza o tipo de efectos que puede experimentar.

Usando esta información, las agencias encargadas de la reglamentación pueden emitir un juicio acerca de cuándo la exposición a una sustancia, bajo condiciones definidas, puede ser considerada aceptable o segura. Esta última conclusión acerca de seguridad, como parte de la gestión de riesgo, se presenta como una decisión política del grado de riesgo a ser tolerado (RODRICKS & TAYLOR, 1983).

En la evaluación de los riesgos para la salud de la población relacionados con agentes contaminantes ambientales es importante considerar la exposición, las características individuales y las características de los grupos de población (estado de salud, edad, herencia) así como su estilo de vida (hábitos sociales, nutrición y otros factores).

Los métodos para evaluar riesgo incluyen pruebas de toxicidad en animales, estudios epidemiológicos y modelos matemáticos. El conocimiento científico existente referente a salud ambiental y en particular a la evaluación de riesgo está limitada por varios problemas (WHO, 1983): dificultades en la identificación del agente (causa); limitaciones en los métodos de análisis; limitaciones en la aproximación epidemiológica, de efectos sobre la salud de origen ambiental; conocimiento limitado de los sistemas de defensa biológica y de su activación; y falta de identificación de muchos receptores biológicos que actúan como blanco de las reacciones tóxicas.

En muchas instancias no pueden tomarse decisiones, con base científica de evaluación de riesgo, porque están faltando investigaciones fundamentales. Así todo, las decisiones deben ser tomadas dentro de una escala de tiempo, limitada por las administraciones nacionales, y sobre la base de la evidencia disponible, sea ella científicamente buena o no. Es por tanto que la información debe estar disponible en una forma accesible para las autoridades encargadas de tomar decisiones.

6. ESTUDIOS APLICABLES A LA EVALUACION DE RIESGO

La evaluación de riesgo para el hombre relacionados con agentes químicos es una tarea compleja y requiere del conocimiento obtenido en las diferentes fases del estudio toxicológico como exposición, toxicocinética y toxicodinámica. Por eso mismo es necesaria una actividad interdisciplinaria y es positivo realizarla con un equipo integrado por profesionales químicos, ingenieros, biólogos, toxicólogos y otros científicos, todo ejecutado como un trabajo conjunto o en programas coordinados (BRISTOL y col. 1984), según se indica en la figura 2.

En las investigaciones referentes a exposición a agentes químicos y los efectos nocivos producidos, que serán de aplicación en la evaluación de riesgo, se requiere una consideración y estudio cuidadoso de los datos generados en las diferentes fases, (figura 3.)

La evaluación de riesgo, incluye varios elementos, ellos son: descripción de los efectos potenciales adversos sobre la salud, basados en una evaluación de resultados de investiga-

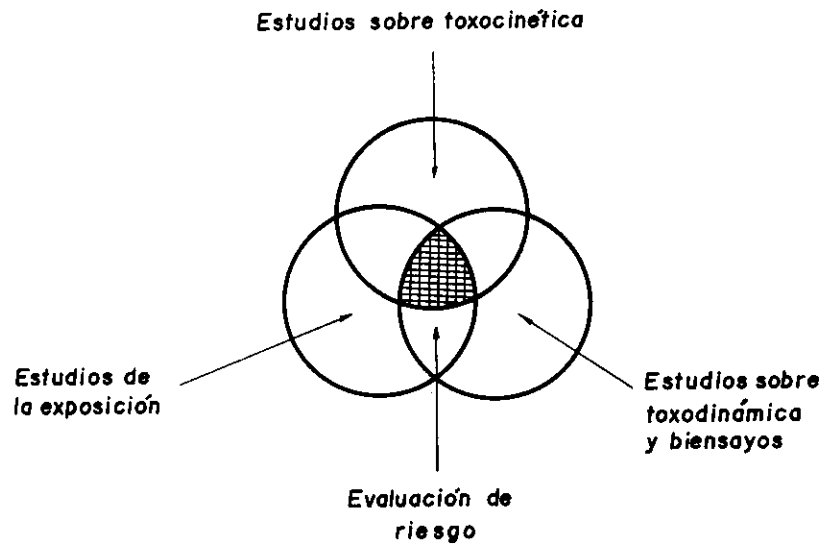
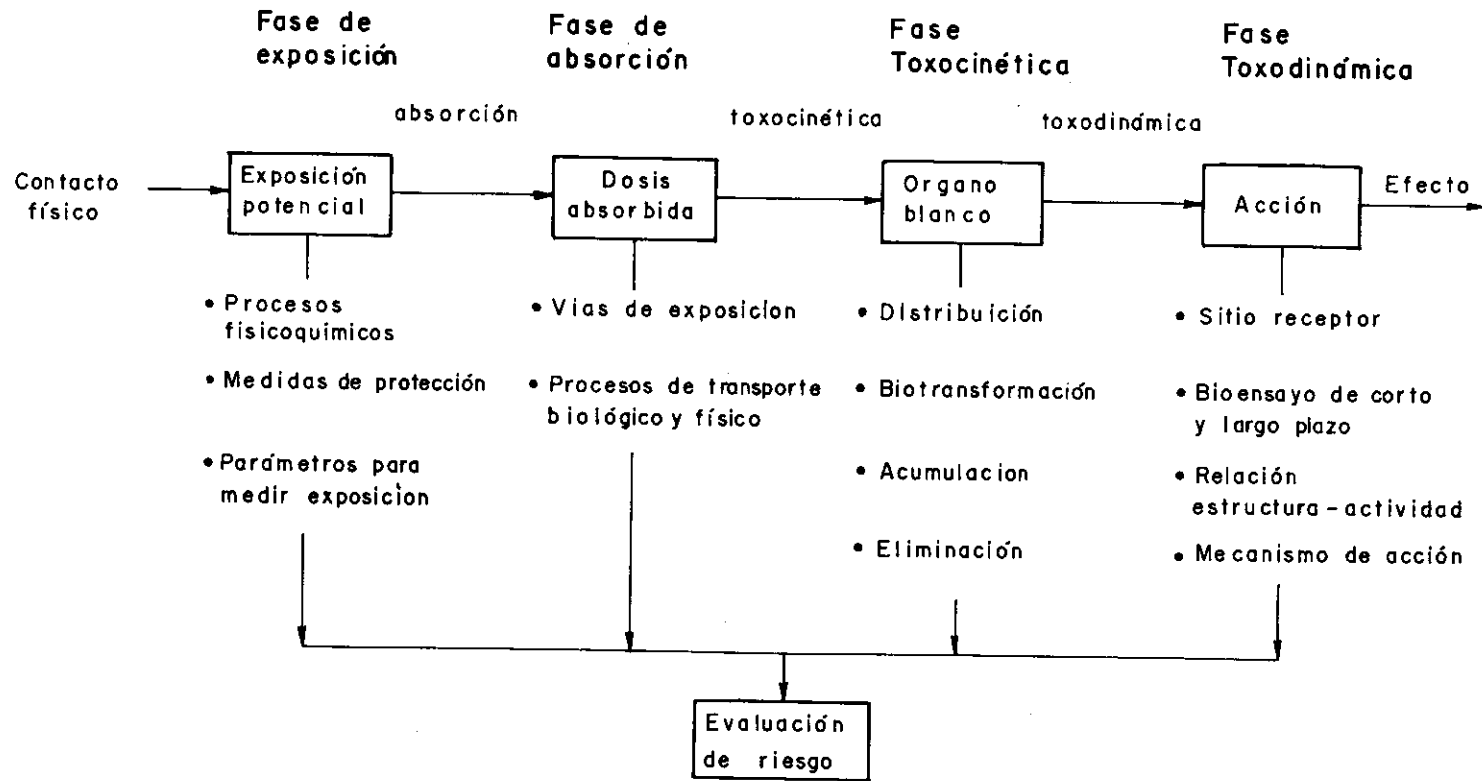


Figura 2 - Actividad Interdisciplinaria para la Evaluación de Riesgo (Bristol y col., 1984)



ciones epidemiológicas y ambientales; extrapolación de esos resultados para predecir el tipo y estimar la extensión de los efectos sobre la salud humana, bajo condiciones de exposición; número y característica de las personas expuestas a diferentes intensidades; denominación y opinión sumaria sobre la existencia y sobre todo, la magnitud de los problemas de salud pública (BRISTOL y col., 1984).

La evaluación de riesgo se basa en la premisa de que un efecto tóxico es el resultado final de una compleja serie de fenómenos y no un simple escalón. En resumen, en un organismo vivo en contacto solamente físico con un agente químico (exposición) no se produce efecto tóxico, sólo cuando ese agente químico ha sido absorbido, es que se produce el efecto nocivo.

Varios factores referentes a las vías y parámetros de exposición, determinan la dosis que será absorbida y como consecuencia la responsable del efecto tóxico. La evaluación de riesgo puede ser más exacta y significativa cuando se dispone y se considera la información crítica pertinente de cada fase (BRISTOL y col., 1984).

La evaluación de riesgo es un proceso de gran importancia y en ella deben tomarse en cuenta todas las vías de exposición, incluyendo agua, aire, alimento y el ambiente de trabajo, y se deben considerar los riesgos relacionados con agentes microbiológicos, físicos, químicos y sociales. El impacto potencial sobre la salud de procesos tecnológicos nuevos y productos nuevos deben ser estudiados (WHO, 1983), de acuerdo con la figura 4.

Debe recordarse que es necesario evaluar los riesgos combinados e indirectos. Una aproximación holística se requiere para la evaluación de riesgo tomando en cuenta factores económicos, sociales u otros, considerando sus aspectos benéficos y nocivos.

Las bases científicas de la evaluación de riesgo deberían ser fortalecidas. Además se deberían tomar medidas para asegurar una identificación más sistemática de nuevas sustancias peligrosas y sus riesgos para la salud.

Según Sagan, (1984), la evaluación de riesgo para la salud es una ciencia inexacta, lo mismo que es inexacto nuestro modo de entender la salud, pero también es un arte que requiere criterio y sentido común.

Al evaluador de riesgo se le solicita que, en lo posible, sea explícito en sus suposiciones y que presente los alcances de sus estimaciones. Si hace esto puede contribuir en las decisiones, en forma importante para la sociedad y para las deliberaciones sobre la aceptación de una tecnología determinada.

7. PASOS EN LA EVALUACION DE RIESGO

La evaluación de riesgo está basada en el uso de hechos verdaderos para definir los efectos en la salud de individuos o grupos de población expuestos a situaciones o materiales peligrosos.

La evaluación de riesgo contiene alguno o todos de los cuatro pasos siguientes: identificación del peligro (efecto); evaluación dosis-respuesta; evaluación de la exposición; e identificación del riesgo (NCR, 1983).

Identificación del Peligro

La etapa inicial de toda evaluación de riesgo debe ser la evaluación del peligro de la sustancia química. Es la más fácil en las acciones correspondientes a instituciones que reglamentan.

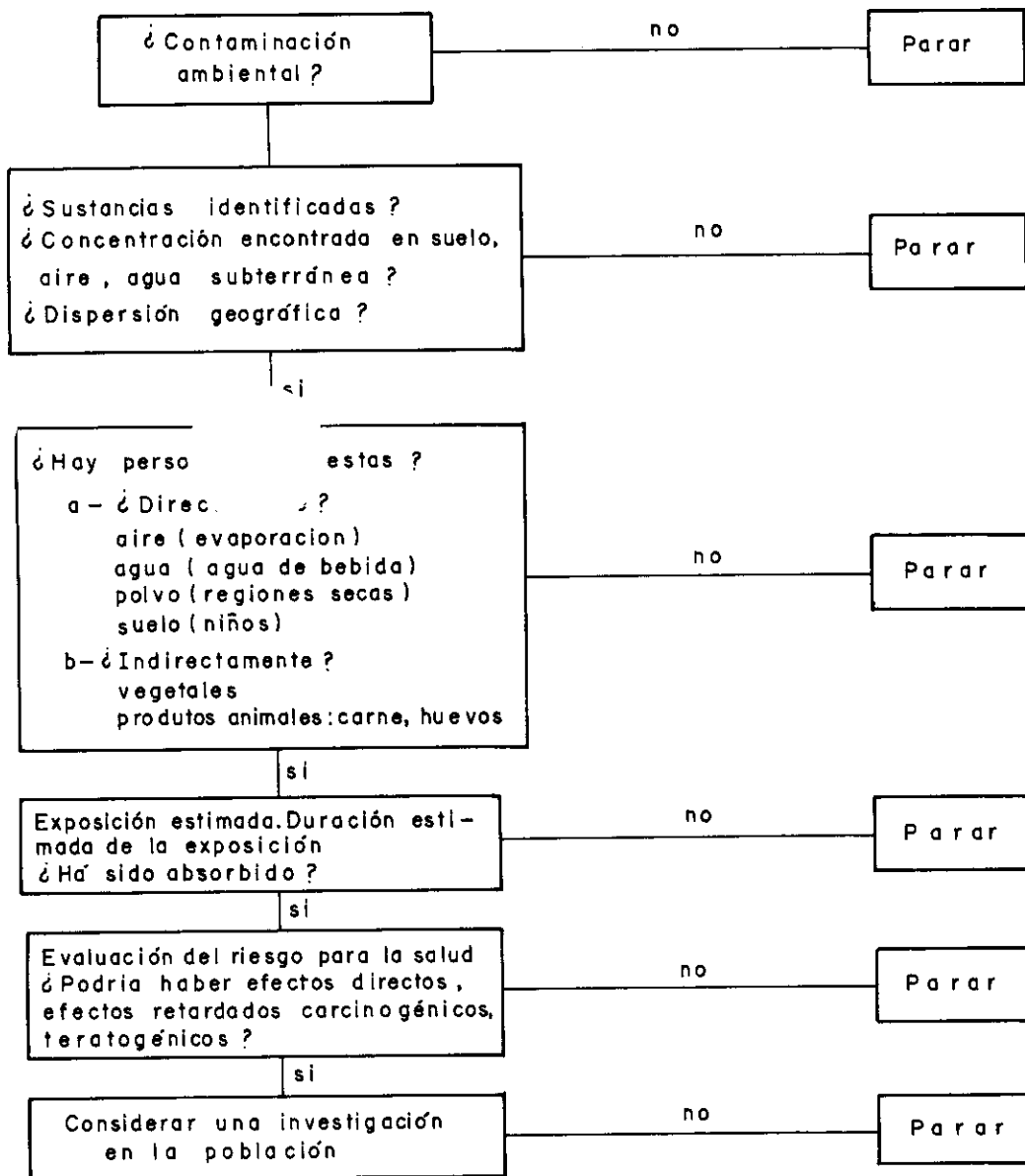


Figura 4 - Evaluación de Riesgo para la Salud Relacionado con Agentes Contaminantes Ambientales (WHO, 1983)

Comprende el proceso para determinar si la exposición a un agente puede producir un aumento en la incidencia de un efecto, como cáncer, defecto de nacimiento, etc.

Al respecto de cáncer u otro efecto adverso hay pocos datos definitivos en humanos. Por eso el asunto se apoya en el efecto producido en animales de laboratorio o información en otro sistema, como pruebas in vitro, o similitud en la estructura química. Cuando es positivo, se toma como evidencia de que ese agente puede producir cáncer en el humano expuesto.

El objetivo de la identificación del peligro es mostrar que el agente induce un efecto adverso en la salud. Las bases científicas para muchos de los análisis de los resultados están bien establecidas. Cuatro clases de información general pueden ser usadas en esta etapa: datos epidemiológicos, datos de bioensayos en animales, estudios a corto plazo de efectos in vitro, datos de comparación de la estructura molecular del compuesto químico.

Evaluación Dosis-Respuesta

Es el proceso que caracteriza la relación entre la dosis administrada o recibida de un agente químico y la incidencia de un efecto adverso en la población expuesta y estima la incidencia de un efecto como una función de la exposición humana al agente.

En este proceso se considera la intensidad de la exposición, la época de exposición, y otras posibles variables tales como sexo, estilo de vida y otros factores; que pueden afectar la respuesta. Generalmente se requiere extrapolación de dosis alta para dosis bajas, y de extrapolación de resultados en animales para humanos. El interés de este paso está relacionado con dosis a las cuales el hombre puede estar expuesto y tales dosis usualmente son mucho más bajas que aquéllas administradas en los animales en estudio. Así la evaluación dosis-respuesta requiere extrapolación de datos actuales de dosis. Además, diferencias en tamaño y biotransformación entre el hombre y animales de laboratorio son factores que hacen que en las dosis usadas experimentalmente al ser convertidas, se evidencien estas diferencias.

La evaluación dosis-respuesta deberá describir y justificar los métodos de extrapolación usados para predecir incidencia y deberá identificar la incertidumbre estadística y biológica en estos métodos.

Evaluación de la Exposición

Es el proceso de medida o estimación de la intensidad, frecuencia y duración de la exposición humana a un agente presente en el ambiente o de una exposición hipotética estimada que deberá prevenir la liberación al ambiente de un nuevo compuesto químico.

En su forma más completa describe la magnitud, duración, descripción y vía de exposición; el tamaño, tipo y clases de la población humana expuesta y la incertidumbre en todos los estimados.

La evaluación de la exposición es a menudo usada para identificar opciones posibles de control y predecir los efectos de la disponibilidad tecnológica de control de la exposición.

Identificación del Riesgo

Es el proceso de estimar la incidencia de los efectos sobre la salud bajo varias condiciones de exposición humana, descritas en la evaluación de la exposición. Es realizado por la combinación de la evaluación de exposición y la evaluación dosis-respuesta.

La "EPA, U.S. Environmental Protection Agency", ha publicado guías para la evaluación de riesgo en cinco áreas: carcinogenicidad, mutagenicidad, mezclas de sustancias químicas, agentes sospechosos de toxicidad en el desarrollo y estimación de exposición. Las guías fueron desarrolladas para promover calidad de alta tecnología y consistencia, dentro de EPA, en los procesos de evaluación de riesgo (EPA, 1987).

La evaluación de riesgo ha surgido como una herramienta analítica importante para apoyar la toma de decisiones en el área ambiental. Sirve para dar soporte a la gestión de riesgo.

La evaluación de riesgo provee, en forma ordenada, explícita y consistente, un camino para tratar los resultados científicos y así, evaluar si existe un peligro y cual puede ser su magnitud.

En la década pasada la evaluación de riesgo ha tenido un gran impacto en la reglamentación con relación a sustancias carcinogénicas. Esto ha proporcionado un medio para evaluar y comparar la magnitud de la amenaza para la salud relacionada con un gran número de agentes carcinogénicos presentes en baja concentración en aire, agua y suelo. Además la evaluación de riesgo, para agentes químicos carcinogénicos y para otros agentes químicos que se sospecha puedan causar efectos adversos sobre la salud humana, es muy usada por las agencias ambientales. Así la evaluación de riesgo es de gran importancia para continuar el registro de un plaguicida, para sustancias químicas contaminantes del aire y del agua potable. El apoyo de la ciencia en las decisiones de la reglamentación ambiental es complejo y evoluciona rápidamente; y muchas de las amenazas más importantes para la salud humana y el ambiente son de gran incertidumbre (NORTH & YOSIE, 1987).

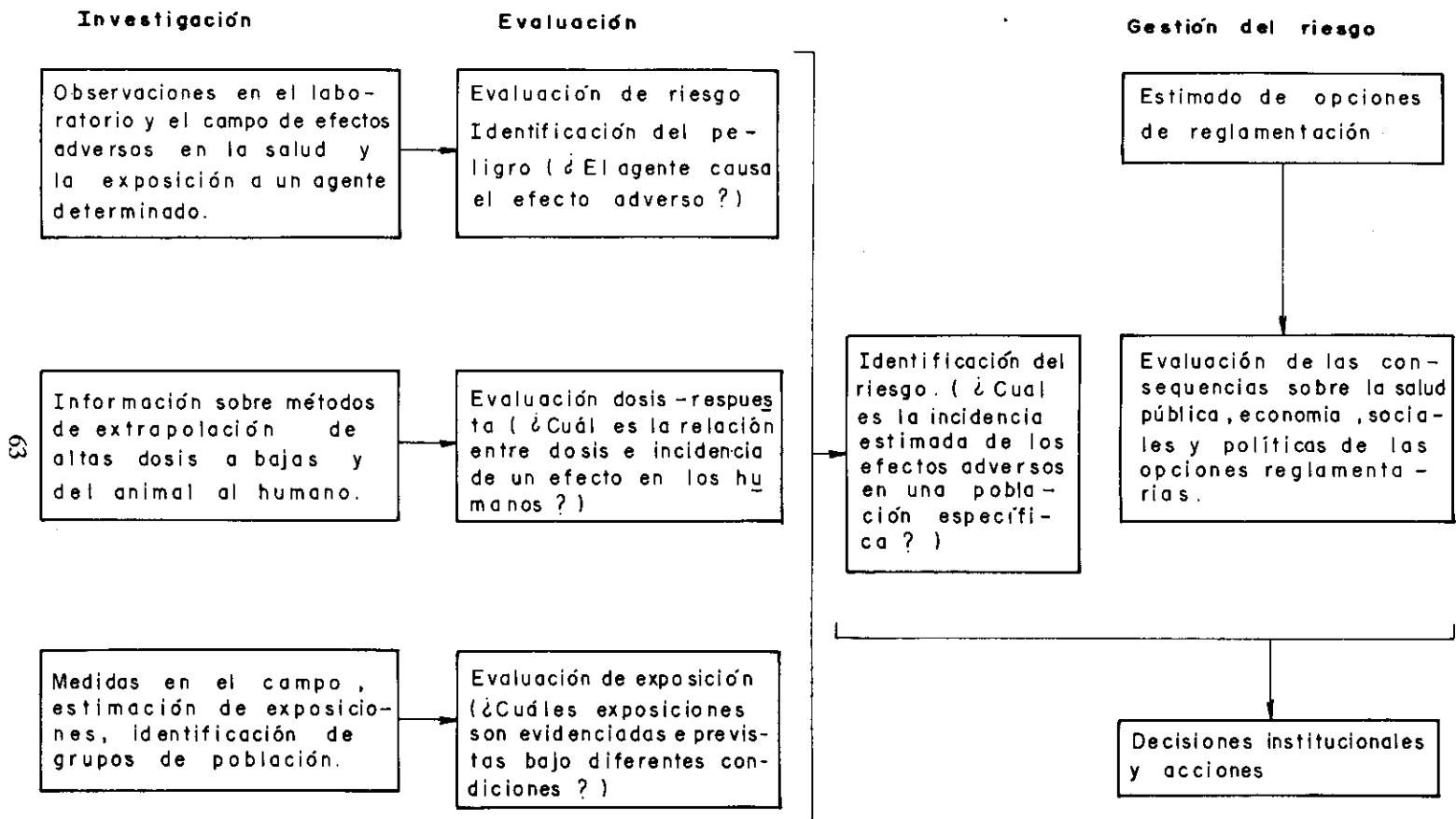


Figura 5 - Elementos en la Evaluación de Riesgo y en la Gestión de Riesgo (NCR, 1983)

9. REFERENCIAS

1. BRISTOL, D.W.; Mac LEOD, K.; LEWIS, R.G. - Direct and indirect chemical methods for exposure assessment. In: SIEWIERSKI, M. Determination and assessment of pesticide procedure. Studies in Environmental Science 24. Elsevier Science Publishing Company Inc.. New York, N.Y. 1984, U.S.A.
2. DOWD, R.M. - Improving health: related risk assessment. Environ. Sci. Technol. 748, 22(7); 1988.
3. EPA, - The Risk Assessment Guidelines of 1986. Office of Health and Environmental Assessment. EPA/600/8-87/045. Washington, DC. August, 1987.
4. IRPTC. - Editorial: The quest for chemical safety. IRPTC Bulletin 7(2), 1-2; 1985.
5. McCULLOUGH, R.S.; BURTON, I. - The nature of risk and risk management. In: Burton, I.; Fowle, C.D. & McCullough, R.S. Living with risk: environmental risk management in Canada. Environmental Monograph no 3. Institute for Environmental Studies, University of Toronto. Canada, 1982.
6. NCR - National Research Council. Risk assessment in the Federal Government: managing the process. National Academy Press. Washington, D.C.; 1983.
7. NORTH, W. & YOSIE, T.F. - Risk assessment: What it is; How it works. EPA Journal 13(9), 13-15; 1987.
8. OKRENT, D. - Comment on societal risk. Science 208, 372-375; 1980.
9. O'RIORDAN. - The scope of environmental risk management. Ambio 8, 260-264; 1979.
10. RODRICKS, J.V. & TAYLOR, M.R. - Application of risk assessment to food safety decision making. Reg. Toxicol. Pharmacol. 3, 275-307, 1983.
11. ROSENBLUTH, R. - Fair risk and technology change. Engineering Digest, February pag. 35-38, 1980.
12. ROWE, W.D. - The anatomy of risk. Wiley, New York, 1977.
13. SAGAN, L.A. - Problems in health measurements for the risk assessor. In: Ricci, P.F.; Sagan, L.A.; Whipple, C.G. Technological Risk Assessment. NATO ASI Series (1984).

14. WEIL, E. - *Eléments de Toxicologie industrielle*. Masson et Cie, Editeurs. Paris, 1975.
15. WHO - *Principles and methods for evaluating the toxicity of chemicals. Part 1. Environmental Health Criteria 6*. World Health Organization, Geneva, 1978.
16. World Health Organization Regional Office for Europe. *Health and the environmental EURO Reports and Studies 100*. Vienna, 1983.

ENSAYOS NECESARIOS PARA LA VALORACION TOXICOLOGICA DE LAS SUSTANCIAS QUIMICAS

G. Vettorazzi

Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas
Organización Mundial de la Salud
Ginebra, Suiza

SUMARIO

La necesidad de control en el uso de sustancias químicas, requiere que cada sustancia química de síntesis a la cual el hombre está potencialmente expuesto, sea homologada. La legislación de varios países ha establecido reglamentaciones que toman en cuenta, entre otros elementos, el potencial tóxico de estas sustancias. Esta situación ha determinado el desarrollo de una rama de la toxicología moderna conocida como toxicología de reglamentación, que cuida de los aspectos científicos y técnicos de las pruebas toxicológicas necesarias para llevar a cabo una valoración toxicológica. La valoración toxicológica es de gran importancia para el proceso de homologación y control de las sustancias químicas.

El número y tipos de pruebas toxicológicas para fines de homologación varía de país a país. Sin embargo, organizaciones internacionales como, por ejemplo, la OMS, FAO y la OECD han desarrollado protocolos toxicológicos con el objetivo de auxiliar el proceso de armonización internacional en este campo.

En este artículo, el autor resume los puntos esenciales de un protocolo toxicológico usando principalmente fuentes internacionales.

INTRODUCCION

La naturaleza y la extensión de las investigaciones toxicológicas necesarias para obtener una satisfactoria garantía de seguridad de una sustancia química puede variar de una sustancia a otra. La determinación de cuales sean los ensayos toxicológicos más apropiados en cada circunstancia es una tarea que requiere la asistencia de un juicio toxicológico muy experimentado. Varias organizaciones nacionales e internacionales han desarrollado directrices en este sentido: las más conocidas entre ellas son la "Food and Drug Administration" (FDA), la "Environmental Protection Agency" (EPA), el "Department of Health and Social Security" (DHSS) (nacionales), la "Commission of the European Communities" (CEC) (interregional), la "World Health Organization (International Programme on Chemical Safety - IPCS)" y la "Organisation for Economic Cooperation and Development" (OECD) (internacionales).

Existen también directrices de grupos independientes como el "Food Safety Council" y la "National Academy of Sciences".

A pesar de que cada una de estas directrices tenga sus peculiaridades, todas ellas tienen en común los elementos fundamentales que se resumen a seguir.

INFORMACIONES PRELIMINARES

La sustancia que se somete a la investigación toxicológica deberá ser suficientemente caracterizada antes de iniciar cualquier investigación toxicológica. El material destinado al ensayo toxicológico deberá evidentemente ser representativo del material utilizado en su uso práctico. Su pureza e identidad química deberán ser claramente definidas. Un estudio atento de la estructura química de una nueva sustancia puede revelar características comunes a otras sustancias cuyas actividades biológicas ya se conocen.

La naturaleza y las cantidades de las impurezas presentes en el material que se quiere investigar deberán ser bien conocidas ya que éstas pueden influenciar de modo significativo el potencial tóxico de la sustancia en cuestión. Las propiedades químicas y las características físicas de la sustancia, tales como el olor, la volatilidad, etc. determinarán la posibilidad de formular regímenes de alimentación de adecuada estabilidad y aceptación por parte del animal; o sí, en su lugar, será necesario de suministrar la sustancia por otra vía que no sea la normal, como, por ejemplo, por intubación gástrica.

Para el diseño experimental del ensayo será también importante tener una información, aunque aproximativa, del nivel de la exposición potencial a la sustancia. Esta información será de utilidad en la selección de las dosis apropiadas y en la interpretación de los resultados.

ENSAYOS DE TOXICIDAD AGUDA

En el caso de una sustancia desconocida, las investigaciones se comienzan generalmente con ensayos de toxicidad aguda. Estos ensayos tienen por objeto obtener datos sobre los efectos producidos en el animal después de una única exposición del material de ensayo. En el caso de aditivos alimentarios, el procedimiento básico consiste en una administración por vía oral de una serie de dosis que van de cero hasta una dosis que produzca 100% de mortalidad ("quantal toxicity data"). De la relación entre dosis y mortalidad se puede calcular estadísticamente la así llamada dosis letal 50% o DL-50. Tal dosis calculada, proporciona, entre otros, un medio aproximativo para comparar la toxicidad aguda de diferentes sustancias.

Es necesario notar que la simple determinación de una DL-50 es de valor muy limitado; la observación detallada de los síntomas que conducen a la muerte es mucho más importante que la fórmula tradicional de medir la toxicidad aguda en términos estadísticos como es el caso en la determinación de una dosis letal 50. Un ensayo de toxicidad aguda puede proporcionar mucho más información si las observaciones vienen extendidas a otros efectos que no sea el efecto "quantico" vida-muerte; a saber, efectos tales como el inicio, naturaleza y duración de la sintomatología tóxica asociada con la mortalidad. Estas observaciones acopladas a las observaciones macro- y microscópica de los tejidos de animales muertos y/o sobrevivientes pueden proporcionar elementos indicadores de "target organs" de toxicidad potencial.

La utilización de diferentes especies animales de ambos sexos puede revelar diferencias significativas entre especies y entre sexos con relación a la sustancia en cuestión. Las informaciones recogidas serán de gran auxilio en el planeamiento de estudios toxicológicos de larga duración con el objetivo de obtener datos sobre los efectos producidos por exposición continua (“graded or continuous toxicity data”).

En el caso de aditivos alimentarios, es muy raro que una sustancia se revele tan tóxica en la fase aguda para que deba ser rechazada en esta fase de valoración. Normalmente, el procedimiento de valoración deberá extenderse a investigaciones sobre el metabolismo y estudios a largo plazo.

ESTUDIOS METABOLICOS

Por ensayos metabólicos se entienden los estudios destinados a establecer el destino metabólico de la sustancia, a saber, la extensión y velocidad de absorción a nivel intestinal, su distribución en el organismo, su posible acumulación en determinados órganos y tejidos, las posibles transformaciones metabólicas y la manera y velocidad de su excreción. El objetivo de los estudios metabólicos es muy amplio, pero no siempre se necesitan investigaciones muy detalladas.

El metabolismo puede notablemente influenciar la toxicidad de una sustancia; por consecuencia, es muy importante para una nueva sustancia la determinación de sus metabolitos. Puede suceder que la nueva sustancia produzca metabolitos de conocido potencial tóxico y, por consecuencia, la necesidad de emprender estudios adicionales será notablemente reducida. Por otra parte el metabolismo puede dar origen a especies químicas reactivas capaces de producir intermediarios de toxicidad significativa. Cuando exista esta posibilidad, o cuando se identifiquen metabolitos con potencial de producir efectos tóxicos, entonces serán necesarios ulteriores estudios metabólicos que sirvan para identificar las circunstancias de formación de los metabolitos activos. Estos estudios podrán indicar que la sustancia en examen no está calificada para emplearse o podrán indicar la necesidad de ulteriores estudios a largo plazo.

El metabolismo de una sustancia química puede ser diferente cualitativa y cuantitativamente en diferentes especies animales. Por consecuencia, es importante la obtención de información sobre el comportamiento metabólico de la sustancia en varias especies animales, incluido el hombre. Esta información es de gran utilidad para la aplicabilidad en el hombre de los efectos observados en el animal y en la selección de la especie animal más apropiada para emprender estudios de mediano y largo plazo.

La información sobre los aspectos cinéticos de la absorción, distribución y excreción son también de gran importancia en la determinación de la toxicidad potencial de una sustancia. Por ejemplo, una sustancia que es relativamente poco absorbida ofrece más garantía de no alcanzar niveles tóxicos de concentración en órganos y tejidos que la que se absorbe muy rápidamente y en más altas cantidades. Por otra parte, una sustancia que se excreta muy rápidamente puede representar menor peligro que una sustancia que se excreta más lentamente y, por consecuencia, puede más fácilmente acumularse en el organismo debido a su prolongada estancia.

Con relación al planeamiento de estudios toxicológicos ulteriores en animales, es muy importante notar que los caminos metabólicos y de excreción pueden completamente satu-

rarse por el uso de altas concentraciones que se empleen en estudios de mediana y larga duración. Los efectos que resulten de estas situaciones deberán ser claramente distinguidos de los efectos que reflejan la actividad biológica normal de la sustancia en examen.

La mayor parte de las sustancias químicas xenobióticas que entran en contacto con el organismo humano se metabolizan por el "drug metabolizing system" (el sistema metabolizador de los medicamentos) el cual, en línea de máxima, ejerce su actividad a nivel hepático. Mediante repetidas exposiciones, muchas sustancias xenobióticas pueden aumentar sensiblemente la actividad de este sistema enzimático y pueden influenciar no solamente su propio metabolismo, también el de otras sustancias xenobióticas a las cuales el hombre está expuesto. Este hecho puede tener importantes implicaciones toxicológicas y también fisiológicas, ya que varias sustancias endógenas del organismo humano, e.g. hormonas esteroides, vitamina D, son también sustratos del mismo sistema enzimático. Por esta razón, existe hoy una tendencia siempre más marcada, a pedir estudios de los efectos de nuevas sustancias sobre este sistema enzimático.

ESTUDIOS DE CORTA DURACION

Por estudios de mediana duración o corto plazo se entienden los estudios de toxicidad que van desde los 21 días hasta los 90 días en los roedores y hasta un año en los animales más grandes como, por ejemplo, el perro. El objetivo de estos estudios es el de identificar y caracterizar los efectos que pueden producirse a raíz de una exposición repetida de la sustancia en objeto, incluyendo la posibilidad de acción acumulativa, con la finalidad de determinar los niveles aproximativos de las dosis asociadas con los efectos, con el fin de planear estudios de larga duración.

El ensayo a corto plazo, de 3 o 4 semanas, utilizando dosis relativamente altas son a veces llevados a cabo para identificar los órganos "blanco"; de todas maneras, los protocolos que consideran la duración de 90 días son los más frecuentes. En estos estudios, grupos de animales, generalmente roedores, se exponen a la sustancia mezclada al alimento o al agua por un periodo de 90 días consecutivos. Una serie de dosis es utilizada; dosis que van idealmente desde la dosis que no produce ningún efecto observable hasta dosis que producen efectos observables. Durante el ensayo, los animales se observan en su aspecto general, comportamiento, cantidad de alimento consumido, crecimiento y mortalidad. Se deberán hacer exámenes clínicos periódicos de sangre y orina, a menudo, también de funcionalidad de los órganos más importantes, incluido del sistema inmunológico y endócrino. A la terminación del ensayo (que puede incluir un período de observación) cada animal viene sometido a detallado estudio post-mortem. Los pesos absolutos y relativos de los órganos y glándulas más importantes vienen apuntados; muestras de órganos y tejidos son conservadas para el análisis microscópico.

Si el ensayo de corta duración está bien hecho, es muy probable que se revelará la mayor parte de los efectos tóxicos. La utilización de varias dosis permitirá establecer curvas de dosis-efecto y dosis-respuesta y a menudo permite establecer la dosis sin efecto.

Los ensayos a largo plazo siguen fundamentalmente los mismos criterios, con la diferencia, naturalmente, de la duración.

REPRODUCCION Y TERATOGENICIDAD

La capacidad de una sustancia para causar efectos tóxicos en el sistema reproductivo está recibiendo hoy una atención particular. Existen varios diseños experimentales y protocolos para determinar efectos en el proceso reproductivo desde la espermatogénesis hasta la madurez de la prole.

Teóricamente, los animales destetados crecen hasta la completa madurez, se aparean y la prole se somete a un completo ciclo reproductivo: durante todos estos procesos los animales están expuestos a la sustancia de ensayo. El estudio reproductivo proporciona información sobre el comportamiento de acoplamiento, fertilidad, progreso del embarazo y post-partum de la madre como de la prole. Estudios de este tipo son generalmente llevados a cabo separadamente, cuando ensayos anteriores (corto plazo, metabólicos, de mutagenicidad) hayan revelado la posibilidad de que el proceso reproductivo esté particularmente implicado. Sin embargo, el protocolo de un ensayo a corto plazo podrá ser adaptado para incluir un estudio de reproducción con evidente economía de tiempo y animales.

Las sustancias que pasan la barrera placentaria pueden influir directamente en el desarrollo y sobrevivencia del embrión in utero. Tales efectos podrán no revelarse completamente en un protocolo del tipo indicado anteriormente, cuando el ensayo se lleva a cabo con roedores, por la tendencia de estos animales a canibalizar la prole que nace muerta o malformada. En este caso el sacrificio de las ratas grávidas, inmediatamente antes del parto normal, permitirá un examen directo del contenido real del útero. Tal procedimiento es la base de la disciplina llamada teratología experimental.

ENSAYOS DE LARGA DURACION

Estos estudios tratan del suministro de la sustancia a animales de laboratorio durante toda la vida de la especie utilizada, con el fin de detectar efectos tóxicos que se desarrollan sólo en exposiciones prolongadas. Con respecto a muy pocas excepciones, esto se refiere casi exclusivamente a los efectos cancerígenos, ya que la mayoría de los otros efectos se hacen generalmente evidentes en ensayos de corta duración.

El ensayo de larga duración está sujeto a la influencia de muchas variables debido a su extensión y complejidad; por consecuencia, la elaboración del diseño experimental tiene una importancia particular en la planificación de un ensayo de larga duración. Existen muchos análisis críticos de los procedimientos que pueden ser adoptados con respecto a los ensayos de larga duración, pero todavía no existe un consenso general acerca de muchos de los múltiples aspectos que complican sus diseños experimentales.

Uno de estos aspectos se refiere a la selección de la especie animal y de su cepa. Diferentes especies y sus cepas defieren considerablemente en la sensibilidad a los agentes cancerígenos químicos y en la susceptibilidad en la producción de tumores espontáneos, a saber, no relacionados con el tratamiento experimental. Los animales, por consecuencia, deberían ser seleccionados a la luz de la máxima información posible con respecto a sus antecedentes biológicos y experiencia previa; en el momento presente no existe consenso acerca del cómo hacer esta selección.

Otro aspecto se refiere a la selección de las dosis y, particularmente, a la selección de dosis máximas. Una dosis demasiado alta puede causar la muerte prematura del animal, mientras que una dosis demasiado baja puede reducir la sensibilidad del experimento. A veces la experiencia adquirida en ensayos de corta duración puede ser de ayuda en estos casos. En general, se puede afirmar que la utilización de varias dosis reduce el riesgo de perder el valor de un ensayo de larga duración y aumenta el valor de los resultados porque ofrece la oportunidad de establecer una curva dosis-respuesta. Existen hoy en día algunos modelos matemáticos que permiten utilizar informaciones resultantes de ensayos de larga duración para generar una valoración cuantitativa del riesgo.

Otro punto contencioso se refiere a la duración óptima de un ensayo de este tipo. Los progresos alcanzados en el campo de la calidad de los animales de laboratorio permiten una sobrevivencia de los ratoncitos y de las ratas, que va mucho más allá de los límites tradicionalmente recomendados, que son de 18 meses y de dos años, respectivamente. Por consecuencia se piensa que el aumento en la duración de exposición a la sustancia en examen, debida a la extensión del ciclo vital de los animales, debería aumentar la probabilidad de revelar el efecto carcinógeno. Sin embargo, es preciso observar que la incidencia de los tumores espontáneos también aumenta con la extensión de la duración de la vida y esto puede crear un ruido de fondo que puede interferir con la incidencia de los tumores inducidos y complicar su clara diferenciación.

En cuanto estos problemas están en discusión, en la actualidad, existe un consenso de que el ensayo de larga duración deba ser llevado a cabo en por lo menos dos especies de roedores; de que se deba utilizar un mínimo de 50 animales por sexo y por cada dosis; de que el experimento tenga que durar por lo menos dos años; de que otras especies animales tendrán que ser utilizadas si los estudios metabólicos diferenciales revelan una incompatibilidad entre el hombre y los ratoncitos o las ratas. A este respecto, es importante notar que dificultades prácticas limitan considerablemente el uso de especies animales de tamaño mayor.

TOXICOLOGIA GENETICA

La creciente conciencia de que uno de los efectos menos deseable que una sustancia xenobiótica puede causar es aquello de inducir mutaciones genéticas, es la base de que hoy la toxicología genética representa uno de los aspectos de la toxicología que es más reciente y de mayor desarrollo. Desde hace mucho se conocía que mutaciones genéticas espontáneas ocurren continuamente en el organismo humano y en otros organismos. Más recientemente, la demostración de que ciertas sustancias químicas pueden inducir mutaciones genéticas en bacterias y en células de mamíferos, engendró la sospecha de que por lo menos algunas de las mutaciones que ocurren en el hombre puedan estar causadas por agentes químicos ambientales.

La toxicología genética, por consecuencia, se ocupó de identificar agentes mutagénicos y de cuantificar el peligro que estos agentes pueden representar en cuanto a inductores de daño genético transmisible por herencia.

Una gran cantidad de técnicas de laboratorios para detectar eventos mutantes está hoy a la disposición de la toxicología genética. Estas técnicas se desarrollaron a raíz de los progresos hechos en el campo del conocimiento de las bases moleculares de la mutagénesis, en términos de daños causados al material genético, el DNA.

La multiplicidad de los ensayos genéticos disponibles en la actualidad no solamente refleja las diferencias entre metodologías diversas, sino también las diferencias que existen entre los diversos mecanismos moleculares, a través de los cuales puede inducirse el daño genético y por el cual ningún ensayo genético hoy en existencia, tomado individualmente, es todavía capaz de revelar. La variedad de los ensayos genéticos va desde los sistemas *in vitro* que utilizan bacterias (e.g el test de Ames), hongos y cultivos de células de mamíferos, hasta los sistemas *in vivo* como el ensayo del micronúcleo, el ensayo letal dominante y los ensayos de aberraciones cromosómicas.

Con respecto a las sustancias químicas hasta ahora examinadas por su potencial mutagénico, una proporción de las que producen una respuesta positiva se ha también probado que está dotada de potencial carcinogénico como se ha demostrado en ensayos de laboratorio y también en observaciones epidemiológicas en el hombre. La fuerte correlación que existía entre carcinogenicidad y mutagenicidad indicó la posibilidad de utilizar ensayos de mutagenicidad para valorar también y, al mismo tiempo, el potencial carcinogénico de la sustancia en examen; como bien se sabe, los ensayos de mutagenicidad son más rápidos y, en principio, más económicos que los estudios de carcinogenicidad que son de larga duración. Se explica, por consecuencia, la popularidad que han gozado y siguen gozando en ciertos ambientes, los ensayos de mutagenicidad. En el momento presente, los ensayos en que se tiene mayor experiencia son el test de Ames, el ensayo de transformación celular, y los ensayos basados en la medición del grado de reparación del DNA como índice del dano causado por la sustancia en examen.

La correlación que se pretendía entre carcinogenicidad y mutagenicidad nunca fue mas allá del 80-90% (hoy es todavía mucho mas baja). Tal pronóstico indica la posibilidad de respuestas positivas falsas y, correspondientemente, de respuestas negativas falsas; por lo tanto, no existe todavía la posibilidad de que los ensayos de toxicidad genética puedan tomar el lugar de los ensayos tradicionales de cancerogenicidad de larga duración que usan animales enteros. Sin embargo, desde que los diversos sistemas difieren entre sí en su capacidad de revelar el potencial carcinogénico de las sustancias, el uso simultáneo de diferentes ensayos de toxicología genética pueden garantizar una mejor precisión predictiva. En la actualidad, los ensayos rápidos de mutagenicidad sirven como examen preliminar en las fases de desarrollo de una nueva sustancia química de síntesis y en la fijación de prioridad entre las valoraciones toxicológicas de sustancias.

TENDENCIAS MODERNAS

Las tendencias modernas con respecto a la selección de los ensayos toxicológicos son varias y de mucho interés. Durante los últimos años la práctica toxicológica ha sido muy influenciada por el efecto carcinogénico. Ahora, los ensayos de larga duración son los únicos aceptados para establecer el potencial carcinogénico de una sustancia. Sin embargo, estos estudios son muy lentos, de gran costo y la demanda por tales estudios es tal que supera de mucho la capacidad de los laboratorios que existen en el mundo. La decisión de llevar a cabo ensayos de larga duración para la valoración de inocuidad de una sustancia o, por el contrario, si es posible establecer la misma inocuidad mediante ensayo de corto plazo o mediante consideraciones de actividad biológica y estructura química y niveles de exposición, son consideraciones cruciales en estos momentos históricos de la toxicología experimental y ambiental.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DE ENSAYOS TOXICOLOGICOS

La determinación de niveles aceptables de exposición humana de una sustancia química xenobiótica de uso general por parte de una población humana requiere la traducción de los resultados obtenidos en animales de laboratorio al hombre en términos cuantitativos y prácticos.

Esta área de la toxicología es una de las más difíciles, porque la aplicación de los resultados obtenidos en animales a la situación humana no se puede hacer de forma automática y directa. Las variables que se encuentran en esta operación son numerosas e incluyen las diferencias en sensibilidad entre diferentes especies biológicas, la utilización de dosis mucho más altas de las que son de exposición normal para el hombre, la posibilidad de efectos sinérgicos en el hombre que está expuesto simultáneamente a múltiples agentes químicos, y al hecho de que la población animal sometida a un ensayo toxicológico representa en general, una población sana y homogénea, en cuanto la población humana es altamente heterogénea.

Tradicionalmente, los niveles aceptables para el hombre han sido basados en la dosis más alta de la sustancia en examen que no produce efecto tóxico en el animal. A esta dosis viene aplicado un factor de seguridad para compensar a las incertidumbres mencionadas anteriormente; un factor de seguridad del valor convencional de 100. Por ejemplo, si la dosis sin efecto en el ratón viene establecida al nivel de 100 miligramos por kilo de peso corpóreo (100mg/kg pc), la dosis diaria aceptada como segura para el hombre vendría a ser 1 miligramo por kilo de peso corpóreo (1mg/kg pc), lo que equivale a una dosis total de 60-70 miligramos para un adulto de edad media. A pesar de que este método representa un método tradicional y de uso común, aun tiene sus limitaciones.

FACTOR DE SEGURIDAD

El factor de seguridad 100 es un factor arbitrario y, por consecuencia, su aplicación no podrá ser rígida. Cuando una sustancia es metabolizada rápida y completamente en productos del metabolismo que son constituyentes normales del organismo humano, o son componentes ordinarios de la alimentación humana, un factor de seguridad menor que 100 es indudablemente justificado. Del mismo modo, la aplicación de un factor de seguridad menor se justifica cuando para la valoración toxicológica se emplean estudios hechos directamente en el hombre, o cuando los niveles de uso de la sustancia a ser valorada toxicológicamente son sumamente pequeños, o cuando los efectos observados en el animal son de toxicidad muy marginal. Por otra parte, el factor de seguridad deberá ser aumentado en el caso de que los efectos tóxicos observados en los animales sean muy importantes, o cuando su consumo sea fluctuante, e.g. el helado, o cuando la sustancia es consumida en cantidades notables por grupos de población particularmente muy sensibles, e.g. niños.

LA DOSIS SIN EFECTO

La dosis diaria aceptable está basada en la dosis sin efecto establecida en el animal. Todavía es necesario notar que el valor predictivo de tal dosis depende mucho de la sensibilidad del

procedimiento usado para observar el efecto biológico. También depende mucho del número de animales utilizado en el ensayo toxicológico dado que las consecuencias estadísticas son diferentes cuando se compara e.g. O versus 10, o O versus 100.

Desde un punto de vista pragmático, puede ser muy difícil decidir si un cambio observado experimentalmente representa un efecto tóxico o si el cambio refleja una respuesta de adaptación fisiológica u otro. Un buen ejemplo de tal situación es la interpretación que se debe dar a una dilatación de hígado, sintomatología que frecuentemente se observa en ensayos animales.

Si el hígado dilatado revela señas histológicas de daño, tal efecto puede considerarse indudablemente un efecto tóxico. A menudo, el hígado dilatado aparece histológicamente normal y el significado de su dilatación no podrá ser explicado sin la asistencia de ulteriores estudios. Estudios en este sentido han indicado que un hígado dilatado, pero histológicamente normal, puede ser el resultado de la inducción de las enzimas responsables por el metabolismo de los fármacos como respuesta a la dosis alta de xenobióticos suministradas. Por consecuencia, la dilatación de este hígado se interpreta a menudo como un fenómeno fisiológico de adaptación en vez de un efecto tóxico.

Existen muchos ejemplos semejantes. Una diarrea puede representar un efecto tóxico o puede ser de origen osmótica debida a las dosis altas de sustancia suministrada. Una pérdida ponderal puede ser causada por una forma de anorexia tóxica, o simplemente ser debida al mal sabor de la sustancia de ensayo mezclada al alimento del animal.

LA DOSIS SIN EFECTO Y EL EFECTO CARCINOGENICO

El concepto de dosis sin efecto presume la existencia de una dosis umbral que es característica de cada sustancia; lo que significa que debajo de esta concentración, en principio, ningún efecto tóxico se debería observar. Si tal concepto puede aplicarse o no a las sustancias químicas de potencial carcinogénico es una de las más debatidas cuestiones en el campo de la toxicología contemporánea.

Si por un lado la relación entre dosis y efecto ha sido ya demostrada por varias sustancias de potencial carcinogénico, por el otro lado es todavía posible arguir que una sola molécula con poder cancerogénico puede ser suficiente para iniciar el proceso tumoral. Es todavía prematuro esperar una clara solución a este problema, porque el estudio de la relación dosis-respuesta está disminuido por los niveles experimentales cuando se utilizan dosis muy bajas y porque se conoce todavía muy poco sobre los mecanismos de inducción química de la carcinogénesis. Sin embargo, desde el punto de vista práctico, podría ser de utilidad a la valoración entre dosis y respuesta la estimación del periodo latente desde que, a pesar de que todavía no se pueda establecer una dosis umbral absoluta para sustancias con potencial cancerogénico, se podría establecer una dosis umbral relativa; a saber, una dosis que esté por debajo del periodo latente establecido por cada sustancia, por debajo del cual el desarrollo del tumor no exceda la duración normal de la vida del animal y del hombre.

Estas cuestiones están más allá del puro ejercicio académico desde que sustancias carcinogénicas fueron demostradas como existentes en los alimentos no manufacturados o pueden producirse durante el proceso normal de cocción como es el caso de las nitrosaminas en el pescado y carnes tratadas con nitritos.

REFERENCIAS

1. OECD (1981 & up-dated addenda). Guidelines for testing of chemicals. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, France.
2. Vettorazzi, G. (1980). General principles in the toxicological evaluation of food additives and pesticide residues. En: G. Vettorazzi (Ed.) Handbook of International Food Regulatory Toxicology. Volume I, SP Medical & Scientific Books, New York, London.
3. Vettorazzi, G. (1988). Duplicated lecture notes. Post-graduate course in Experimental Toxicology. (Academic year 1987/1988) (In Italian). Institute of Pharmacological Sciences. University of Milan. Milan, Italy.
4. WHO (1978). EHC 6: Principles and methods for evaluating the toxicity of chemicals, Part 1. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
5. WHO (1983). EHC 27: Guidelines on studies in environmental epidemiology. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
6. WHO (1984). EHC 30: Principles for evaluating health risk to progeny associated with exposure to chemicals during pregnancy. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
7. WHO (1985). EHC 46: Guidelines for the study of genetic effects in human population. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
8. WHO (1985). EHC 51: Guide to short-term tests for detecting mutagenic and carcinogenic chemicals. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
9. WHO (1986). EHC 57: Principles of toxicokinetics. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
10. WHO (1986). EHC 59: Principles for evaluating health risks from chemicals during infancy and early childhood. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
11. WHO (1986). EHC 60: Principles for the assessment of neurobehavioural toxicology. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
12. WHO (1987). EHC 70: Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

**LA EXTRAPOLACION DE LOS DATOS TOXICOLOGICOS
OBTENIDOS EN ANIMALES DE LABORATORIO PARA EL
HOMBRE Y SU UTILIDAD EN LA DETERMINACION DE
NIVELES DE SEGURIDAD PARA LAS SUSTANCIAS QUIMICAS.
UN CASO ILUSTRADOR:
LA CONTAMINACION BIOTICA Y ABIOTICA DE LOS
ALIMENTOS CON ESPECIAL REFERENCIA AL CASO
DEL MERCURIO**

G. Vettorazzi

Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas
Organización Mundial de la Salud
Ginebra, Suiza

SUMARIO

La reducción de la contaminación de alimentos, sea biótica o abiótica, a un nivel tolerable para el organismo humano es el objetivo de múltiples programas nacionales e internacionales. Para alcanzar este objetivo es necesario: 1) identificar los agentes contaminadores y las fuentes de contaminación; 2) caracterizar el potencial tóxico de los agentes y de las sustancias contaminantes individualmente; 3) valorar en términos reales el impacto sobre la salud del consumidor; 4) controlar los niveles de los contaminantes en los alimentos; 5) establecer programas prácticos que apunten a educar a las personas involucradas en todos los sectores de la cadena alimentaria (productores primarios y secundarios, transportadores, comerciantes, órganos de control y consumidores).

La complejidad del proceso para llegar a producir alimentos sanos, organolépticamente aceptables, nutricionalmente adecuados y toxicológicamente seguros, supone la interacción y colaboración de muchas especialidades entre las cuales la tecnología alimentaria, la toxicología de alimentos y nutricional, los factores económicos, los aspectos de control legales y educacionales juegan un papel importante.

En este artículo serán ilustrados, brevemente, en forma descriptiva éste y otros aspectos relacionados con la contaminación de los alimentos. Se presentara también, a manera de ejemplo, una forma moderna de tratar el problema de contaminación por mercurio y metilmercurio en los productos de la pesca.

1. INTRODUCCION

El alimento puede ser un vehículo muy importante de exposición a diferentes agentes capaces de causar enfermedades en el hombre. Los diferentes productos alimenticios, tanto de origen animal como vegetal, pueden fácilmente contaminarse a causa de agentes biológicos,

químicos o físicos durante una o más fases de su producción, transporte, almacenaje y distribución; así como durante las fases de su elaboración industrial, manipulación e inmediata preparación para el consumo.

La verificación de cómo un alimento contaminado puede representar un riesgo para la salud está documentada a través de una serie de epidemias y endemias cuyos orígenes, históricamente, han sido muchas veces atribuidos a otras causas. En nuestros días el interés en la seguridad de los alimentos se fundamenta en parte sobre esta verificación.

En la actualidad mucho se conoce sobre la contaminación de origen bacteriano, habiendo sido esta forma de contaminación, la primera en ser descrita e investigada. También existe suficiente información sobre muchos agentes contaminantes de origen químico, derivados de la actividad del hombre; y sobre contaminantes naturales de origen no bacteriano como las aflatoxinas y los alcaloides pirrolicidínicos. Sobre los agentes físicos tales como los radionucleidos existe, actualmente, un interés científico muy especial debido a los progresos en los usos pacíficos de la energía nuclear.

En la Figura 1 se presenta una clasificación general de enfermedades de origen alimenticio y sus más importantes agentes etiológicos.

La Tabla 1 presenta la lista de los contaminantes metálicos evaluados por el Comité Mixto FAO/OMS en Aditivos Alimentarios (JECFA) con sus "end-points" de tolerabilidad con respecto al organismo humano; la Tabla 2 presenta la lista de los límites en los alimentos contaminantes metálicos de varios contaminantes por el Comité Codex sobre Aditivos Alimentarios (CCAD) y el número de Normas Alimentarias Internacionales en las cuales estos límites fueron incorporados.

Desde el punto de vista operativo existe el problema de cómo estos límites establecidos, ya sea para el organismo humano como para los alimentos, pueden ser utilizados en la práctica diaria por las autoridades sanitarias y de control. En otras palabras el problema es de traducción, en la práctica, de elementos teóricos. Este ejercicio no es automático fácilmente ejecutado, ya que exige un trabajo de adaptación e interpretación.

Se ha escogido, en este artículo, un ejemplo típico que puede servir para ilustrar como, límites toxicológicos y límites legales o de precaución, pueden ser utilizados para resolver un problema de interés común, es decir la protección de la salud del consumidor, sin perjuicio de las reservas alimentarias. Este ejemplo es la contaminación del mercurio y metilmercurio en los peces y productos de la pesca.

2. CONTAMINACION ALIMENTARIA POR EL MERCURIO

El hombre puede entrar en contacto tanto con las formas orgánicas como inorgánicas del mercurio. El riesgo toxicológico que deriva de la exposición a los compuestos inorgánicos, de mercurio está predominantemente limitado a las situaciones de exposición industrial y ocupacional. La exposición a las formas orgánicas, al presente, se reduce casi exclusivamente al metilmercurio y puede afectar a un grupo poblacional muy amplio, representado por los consumidores de pescado y productos de la pesca.

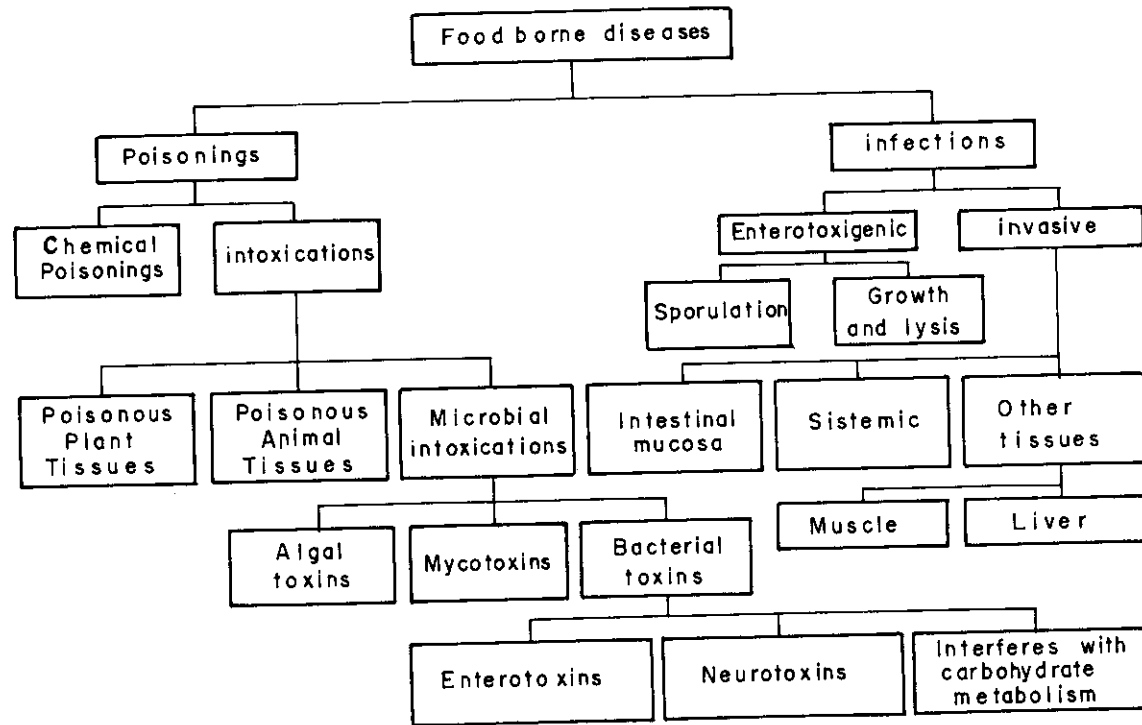


Figure 1: Classification of Foodborne Diseases

Table 1 - Evaluation End-Points of Some Selected Contaminants

	mg/person	mg/kg bw*	ug/kg bw*
Arsenic (1)		0.002	
Cadmium (2)	0.5	0.0083	8.3
Copper (1)		0.05-0.5	50-500
Iron (1)		0.8	
Lead (2)	3.0	0.05	50.00
Lead (2)(infants & children)			25.00
Mercury, Total (2)	0.3	0.005	5.0
Mercury, Methyl (2)	0.2	0.0033	3.3
+Phosphorus (3)		70.0	70,000.0
Tin, Inorganic (1)		2.0	2,000
Zinc (1)		0.3-1.0	300-1000

* Body weight

+ This figure applies to diets that are nutritionally adequate in respect of calcium. However, if the calcium intake were high, the intake of phosphate could be proportionately higher, and the reverse relationship would also apply.

(1) Provisional Maximum Tolerable Daily Intake (PMTDI)

(2) Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI)

(3) Maximum Tolerable Daily Intake (MTDI)

(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA)

Tabla 2 - Comité Codex Sobre Aditivos Alimentarios (CCAA)

Arsénico (As)	No de normas: 60 Rango: 0.1-2 mg/kg
Cadmio (Cd)	
Cobre (Cu)	No de normas: 61 Rango: 0.1-50 mg/kg
Estano (Sn)	No de normas: 32 Rango: 150-250 mg/kg
Hierro (Fe)	No de normas: 44 Rango: 1.5-50 mg/kg
Plomo (Pb)	No de normas: 63 Rango: 0.1-2 mg/kg
Zinc (Zn)	No de normas: 19 Rango: 5 mg/kg

(CAC/VOL. XVII - Ed. 1, 1984)

Takeuchi (1968) y Wood (1976) han demostrado claramente que altas concentraciones de metilmercurio en pescados y crustáceos pueden ser el origen de graves efectos para la salud del hombre. Con respecto a la toxicidad del metilmercurio para el hombre como para otros organismos vivientes existe una literatura muy extensa. Se hace aquí referencia solamente a dos reseñas científicas sobre este tema; una se refiere a un documento publicado por el Programa Internacional de Seguridad Química (OMS, 1976) y la otra se refiere al trabajo de Piotrowski & Inskip (1981).

Se cita también un trabajo de Saliba y Silano (1982) que da cuenta sobre algunos aspectos de actividades internacionales del impacto sobre la salud humana representado por el metilmercurio en la zona mediterránea.

3. CONCENTRACIONES DE MERCURIO EN LOS ALIMENTOS

Actualmente se acepta que los alimentos representan la fuente más importante de exposición potencial al mercurio y, muy particularmente, el pescado y productos de la pesca son las fuentes más frecuentes de la exposición al metilmercurio. Las concentraciones varían de 60 microgramos/kilo en alimentos ordinarios hasta 100-200 microgramos/kilo en peces provenientes de aguas contaminadas. En las especies carnívoras de gran tamaño como el tiburón, el pez espada y el atún, las concentraciones de mercurio pueden variar de 200 a 1500 microgramos/kilo (OMS, 1976).

En la tabla 3 está relacionado el contenido total de mercurio en peces y mariscos relat por el Codex Comité en Aditivos de Alimentos.

Tabla 3 - Total Mercury (ug/kg) in Fish and Shellfish. Report by the Codex Contact P (Galal-Gorchev, 1987)

	Range	Mean/Median typical value	90th percentile/ range
Moluscs			
abalone	10-100	30	
clams	10-450	50	100-170
mussels	5-150	30	50-300
octopus	15-130	50	30-250
oysters	10-200	50	10-300
Crustaceans			
crab	10-500	100	80-120
lobster	50-200	100	60-230
shrimp	25-200	100	30-250
Fish			
anchovy	10-400	100	30-220
bonito	90-400	250	130-700
bream	10-500	100	50-400
cod	20-500	100	50-300
flounder	20-360	100	120-430
hake	10-300	100	100-810
herring	10-200	50	50-1210
mackerel	50-300	150	100-500
mullet	10-300	70	40-80
perch	50-700	500	100-800
salmon	10-400	100	80-400
shark	100-2500	1000	1600-7000
sole	20-800	100	20-800
swordfish	400-1500	1000	1400-3000
trout	10-300	50	60-4000
tuna	10-1500	300	50-2000

NIVELES DE INGESTION

La ingestión de mercurio debida al consumo de alimentos contaminados es muy difícil de calcular. Como ya se mencionó, se reconoce que la mayor parte del metilmercurio ingerido en la dieta proviene del pescado y productos de la pesca. Como consecuencia, los niveles de ingestión de metilmercurio se relacionan directamente con los niveles de concentración de este compuesto en el producto de consumo y con las cantidades de producto consumido.

El promedio de consumo de pescado en términos de porción comestible en diferentes países del mundo varía desde unos 3 gramos hasta unos 90 gramos/persona/día (UNEP/FAO/OMS, 1983; UNEP/FAO/OMS, 1985; Piotrowski & Inskip, 1981). Muy pocos individuos consumen más de 500 gramos por día (OMS, 1976). (Tabla 4).

Tabla 4 - Average Fish Consumption (g/person/day)

Food Balance Sheets:			
Algeria	6	Libya	18
Cyprus	21	Malta	48
Egypt	13	Marocco	15
France	65	Spain	94
Greece	46	Syria	5
Israel	41	Tunisia	22
Italy	35	Turkey	14
Lebanon	8	Yugoslavia	8

Food Consumption Surveys:			
Australia	21		
Belgium	18		
Denmark	27		
Finland	53		
Guatemala	3		
Japan	90		
Netherlands	10		
Thailand	60		
UK	20	(50 for coastal areas)	
USA	10	- 76	

(UNEP/FAO/WHO Food Contamination Monitoring Programme's Data)

En la mayoría de los casos la ingestión diaria de mercurio es de alrededor de 20 microgramos; donde existe un consumo insólitamente alto de pescado, la ingestión diaria de mercurio en ciertos países puede llegar hasta a los 75 microgramos persona/día. Finalmente, en algunos pueblos costeros que dependen en gran escala del pescado para satisfacer sus necesidades proteicas, se han estimado niveles que llegan hasta a los 200-300 microgramos de mercurio/persona/día (OMS, 1976; Haxton et al. 1979; Sherlock et al., 1984).

MONITOREO BIOLÓGICO

En varios países se ha llevado a cabo monitoreo biológico de poblaciones humanas particularmente al metilmercurio. Por ejemplo en Irán (Bakir et al., 1973), Canadá (Methylmercury Study Group, 1980), Japón (Takeuchi & Eto, 1975). En el sector del monitoreo biológico, los análisis de mercurio en la sangre tienen todavía un papel muy importante en la valoración del nivel de exposición. Por otra parte la determinación del mercurio orgánico total en la forma de metilmercurio viene en general aceptada como criterio válido para definir el índice de exposición, desde que tal forma de presentación del mercurio en el pescado represente más del 95% del mercurio total (Phelps et al., 1980). Mas recientemente, el análisis del mercurio en el cabello ha recibido mayor atención que antes, por parte de los investigadores, como un índice de exposición, independientemente que tal análisis sea o no acompañado por efectos clínicos de intoxicación (Marsh et al., 1976). La correlación cabello/sangre parece ser constante a condición de que las muestras de la sangre sean comparadas con segmentos de cabello contemporáneos (time-matched) (Clarkson et al., 1976). A este respecto se hace aquí referencia a los trabajos llevados a cabo en la zona mediterránea por Paccagnella y colegas (1973); Bacci y colegas (1976), y Riolfatti (1977).

MEDIDAS DE PRECAUCION

Las medidas de precaución para evitar riesgos potenciales a la salud del consumidor expuesto al mercurio se han concentrado sobre tres aspectos fundamentales; 1) medidas de control de las áreas contaminadas y de las fuentes contaminadoras; 2) establecimiento de límites tolerables de mercurio por parte del organismo; y 3) establecimiento de límites aceptables de concentración de mercurio en los diferentes alimentos, con referencia especial al pescado y productos de la pesca.

A. Control de las áreas contaminadas

Sobre este tema se cita un documento producido por UNEP/FAO/OMS en 1983 que trata de la valoración de los niveles de contaminación en la zona mediterránea; en este documento se recomienda una serie de medidas prácticas y destinadas a reducir al mínimo la contaminación.

B. Establecimiento de límites tolerables para el organismo

En 1972 el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) estableció un Límite Tolerable de Ingestión Semanal (PTWI- Provisional Tolerable Weekly Intake) de 0.3 miligramos de mercurio total por persona, del cual no más de 0.2 miligramos podrá ser representado por metilmercurio (expresado como mercurio total); estas cantidades son equivalentes a 0.005 y 0.0033 por kilo de peso corporal respectivamente (FAO/OMS, 1972). En 1978 el comité JECFA nuevamente confirmó estos mismos límites (FAO/OMS, 1978).

Al establecer estos límites, el comité JECFA admitió que las concentraciones de metilmercurio existentes en los alimentos de ciertas poblaciones consumidoras de pescado, llevarían a una ingestión de mercurio que excede los límites establecidos por el comité; por esta razón el comité observó que este hecho, con toda probabilidad, podrá ser tolerado durante cierto período sin que resulten daños para la salud de los consumidores. Se recomendó que sean llevadas a cabo investigaciones apropiadas de monitoreo biológico (FAO/OMS, 1972)

C. Establecimiento de límites aceptables de concentración de mercurio en los alimentos

Algunas naciones decidieron establecer límites máximos de concentración de mercurio y metilmercurio en alimentos y productos alimentarios, particularmente en pescados y productos de pesca, como medidas preventivas contra eventuales peligros a la salud (WHO, 1976-1983; IRPTC, 1980 y 1983; Nauen, 1983; Mollenhauer, 1985). En la mayoría de los casos, los límites se refieren al mercurio más bien que al metilmercurio; estableciendo con mayor frecuencia un límite de 0.5 miligramos de mercurio/kilo de alimento. Ciertos países también han divulgado recomendaciones dietéticas para orientar al consumidor con respecto a los peces más indicados para el consumo, así como aquellos peces provenientes de aguas contaminadas, etc. y han aportado pautas de comportamiento alimentario a los grupos más expuestos a los riesgos del mercurio como los niños y las mujeres grávidas.

El documento citado anteriormente, publicado por UNEP/FAO/OMS en 1983 y que se refiere a la contaminación por mercurio de la zona mediterránea, llegó a la conclusión de que, con base en la evidencia disponible, la imposición de límites legales máximos para concentraciones de mercurio en organismos marinos comestibles no parecía necesaria. El documento se limita a recomendar que los límites de ingestión establecidos por el comité JECFA no sean rebasados y que para que ésto pueda ser alcanzado las naciones mediterráneas podrán tomar ventaja de las siguientes opciones y otras semejantes: 1) Facilitar a los consumidores los consejos necesarios acerca del consumo de peces, en cuanto al tipo, especie, tamaño apropiado, frecuencia de comidas que contengan pescado, etc.; 2) Establecer niveles de precaución en especies comestibles de animales marinos; 3) Limitar la pesca en las áreas marinas contaminadas; y 4) Limitar las fuentes antropogénicas de contaminación que puedan ser causas de concentraciones excesivas de metilmercurio en los peces. "Los estados miembros de UNEP/FAO/OMS deberán escoger entre estas y otras opciones, valorando la eficacia, los costos, y los beneficios de acciones alternativas que se adopten en situaciones específicas" (UNEP/FAO/OMS, 1980; Saliba, 1984).

LA POSICION DEL CODEX ALIMENTARIUS

El Codex Alimentarius es un importante proyecto del Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias el cual participan la mayoría de los Estados miembros de la FAO y de la OMS. Entre los múltiples comités satélites de este proyecto existe el Comité Codex sobre Aditivos Alimentarios (CCAA); este comité no tiene solamente la responsabilidad de sancionar o establecer dosis máximas permitidas para diversos aditivos alimentarios en determinados productos alimenticios, sino también la de sancionar o establecer límites máximos de contaminantes. Hasta ahora límites máximos han sido establecidos para arsénico, cobre, estaño, hierro, plomo, y zinc (FAO/OMS, 1984) (Tabla 2).

La Comisión del Codex Alimentarius fue creada en 1962 para poner en práctica el Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Siendo esta Comisión un órgano esencialmente político-administrativo, recibe la asistencia técnico-científica del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) en materia de seguridad de aditivos y contaminantes. Este comité, a diferencia del comité del Codex, tiene un carácter estrictamente técnico-científico en el cual los expertos internacionales participantes no deben representar los intereses particulares de sus naciones sino los intereses comunes a todos los países. Es necesario notar que el comité JECFA no es un órgano de regulación internacional o supranacional, teniendo sus conclusiones toxicológicas y decisiones solamente el carácter de "recomendaciones", ya sea para la Comisión del Codex como para todos los países miembros de la FAO y de la OMS. El comité JECFA se limita, en general, a establecer límites máximos para aditivos y contaminantes aceptables o tolerables por el organismo humano y no establece límites máximos de concentración de estas sustancias en los alimentos, siendo una tarea específica del Comité Codex sobre Aditivos Alimentarios.

En consecuencia, se puede apreciar que los límites máximos de concentraciones de aditivos y contaminantes en los alimentos, establecidos por el Comité Codex sobre Aditivos Alimentarios no representan factores derivados directamente de conclusiones técnico-científicas si no que más bien son elementos que derivan de factores de armonización entre los diferentes puntos de vista de representantes nacionales que tratan de conciliar cada situación teniendo en cuenta, por supuesto, las recomendaciones del comité JECFA. Con esto no se quiere rebajar la importancia de los límites establecidos por el Codex Alimentarius sino que se trata de trazar una línea de demarcación entre la contribución de la ciencia y la contribución de la ley, cuando se entrecruzan en materias de salud pública y de bienestar del consumidor.

El Comité Codex sobre Aditivos Alimentarios se ha cuestionado acerca del valor jurídico de los límites de contaminantes en las normas alimentarias establecidas por el mismo. Este asunto se discutió durante la decimotercera sesión del Comité en noviembre de 1985. De la discusión emergió que el Comité se responsabiliza de establecer dos tipos de límites. El primer tipo se refiere a Límites Máximos Permitidos (Maximum Permitted Levels - MPL) y el otro a límites de Precaución (Guideline Levels - GL); los primeros representan instrumentos legales que los Estados miembros deberán adoptar y los segundos representan límites que tienen por finalidad la de asistir a las autoridades nacionales de control en el establecimiento de medidas preventivas, como por ejemplo en el caso en cuestión, la de identificar las fuentes de contaminación y la de sugerir medidas prácticas para reducir tal contaminación (ALI-NORM 87/12, 1985).

Para el mercurio en los peces, el Comité Codex sobre Aditivos Alimentarios en su decimonona sesión decidió lo siguiente:

- 1) Los límites de mercurio en peces y productos de la pesca son límites de precaución (Guideline Levels - GL) y no límites legales (Maximum Permitted Levels - MPL);
- 2) Los límites de mercurio total en peces de rapiña (tiburón, pez espada, atún, y lucio) no podrán exceder de 1 miligramo/kilo (1 ppm); para todos los otros peces y productos de la pesca el límite no podrá superar de 0.5 miligramos/kilo (0.5 ppm);
- 3) Los límites establecidos por el comité con respecto al mercurio serán llevados a la Comisión del Codex Alimentarius para que ella autorice su transmisión a los Estados miembros, con la finalidad de obtener sus apreciaciones y para que, después, tales límites sean incorporados definitivamente en las normas alimentarias internacionales.

CALCULO DE INGESTION

La relación entre límites legales nacionales o límites Codex de precaución y salud pública, con respecto a los efectos del mercurio, no es obvia. Como se indicó antes, estos límites no derivan directamente de datos técnico-científicos, y todavía menos de datos toxicológicos o epidemiológicos. Desde el punto de vista sanitario la relación significativa no es tanto aquella que se piensa pueda existir entre límites legales o de precaución y los peligros para la salud pública, sino en cuanto a la relación que actualmente existe entre los niveles de concentración de metilmercurio en el pescado y la cantidad de pescado consumido por un determinado consumidor

La Figura 2 fue elaborada con el objetivo de ilustrar este concepto. Esta figura toma en consideración la suposición, bien asentada, en la realidad que la exposición humana al metilmercurio es debida predominantemente al consumo de pescado y productos de la pesca. El eje vertical del gráfico indica las concentraciones de metilmercurio en miligramos/kilo que se puede encontrar en peces; el eje horizontal indica el consumo de pescado en gramos/persona/semana. El peso corporal está supuesto en 60 kg/persona.

La curva del gráfico se obtiene fijando los puntos que resultan de la coincidencia entre las distintas concentraciones de metilmercurio en peces (eje vertical) y las correspondientes cantidades de pez potencialmente consumibles sin efectos para la salud (eje horizontal), cuando, en efecto, se respeta el límite tolerable semanal establecido por el JECFA. Los puntos se calculan siguiendo la fórmula siguiente:

$$\frac{L \text{ MeHg (1)}}{1000} \times C_g (2) = \text{PTWI (3)}$$

Donde:

- (1) es igual al nivel de concentración de metilmercurio en el pez (mg/kg);
- (2) es igual al consumo de pescado (gramos/semana), y
- (3) es igual al límite tolerable semanal de ingestión de metilmercurio establecido por el comité JECFA, a saber, 0.2 miligramos/semana consumido por una persona de 60 kilos de peso corporal. Las fórmulas derivadas son:

$$C = \frac{PTWI \times 1000}{L}$$

$$L = \frac{PTWI \times 1000}{C}$$

Por ejemplo, si la concentración media de metilmercurio en un lote de pescado es de 1 miligramo/kilo (1 ppm), una persona de 60 kilos de peso corporal podrá consumir alrededor de 200 gramos de pescado por semana o cerca de 30 gramos/día de parte comestible de pescado.

En Japón, donde el consumo de pescado es muy alto, alrededor de 91 gramos/día (UNEP/FAO/OMS, 1985), un límite de precaución de 0.3 miligramos/kilo de metilmercurio ha sido establecido por la autoridad sanitaria con la recomendación que el consumo semanal no exceda de 170 microgramos en una persona de peso medio de 50 kilogramos y que la dieta de niños y mujeres grávidas sea cuidadosamente controlada (Nauen, 1983).

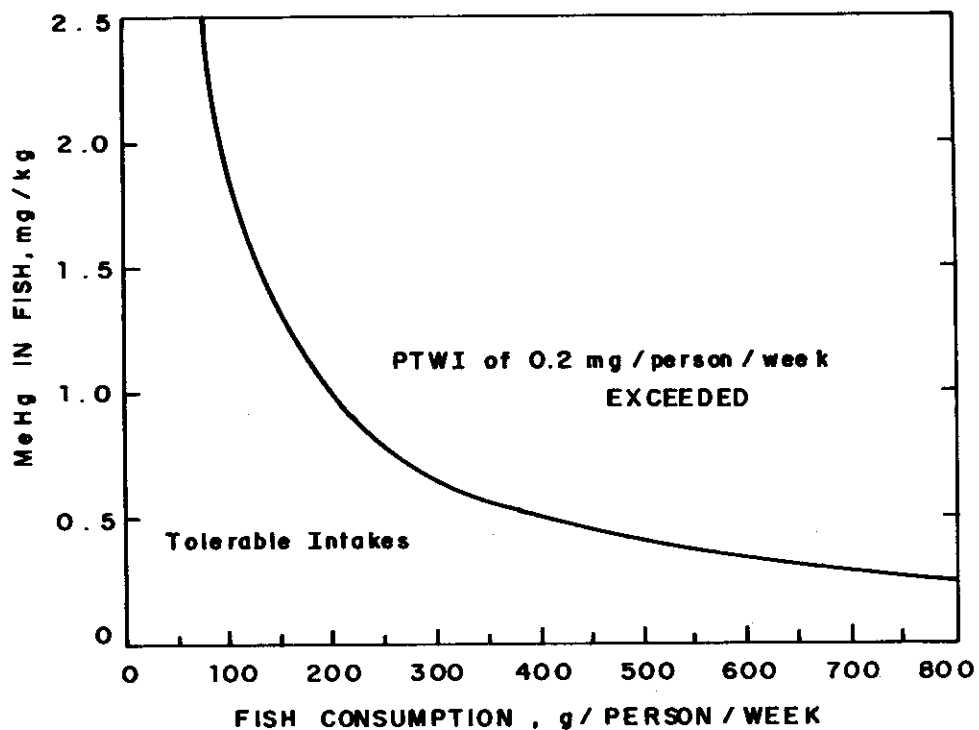


Figure 2 - Dietary Intake of Mercury

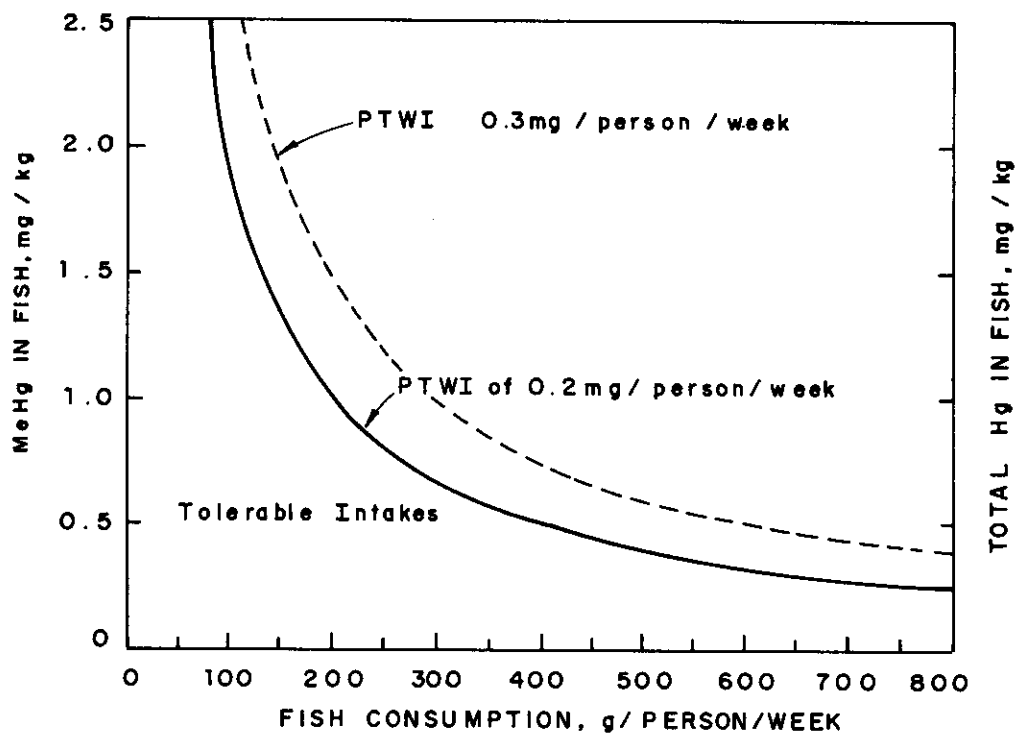


Figure 3 - Dietary Intake of Mercury

Un resultado comparable a esta situación en Japón se puede obtener en el gráfico reportado en la figura 3, donde en lugar del PTWI para el metilmercurio (0.2 mg/persona/semana) se utiliza el valor recomendado por el comité del JECFA para el mercurio total (0.3 mg/persona/semana).

El consumidor orientado podrá por tanto sacar provecho del gráfico y conformar su consumo de pez de acuerdo con los límites de precaución.

CONCLUSIONES

Las etapas seguidas en la caracterización toxicológica del metilmercurio están marcadas por los episodios epidémicos de Minamata en los años 1953-1960, de Niigata de 1964 a 1965; por las intoxicaciones en Irak en los años 1956, 1960 y 1971; por los casos de Guatemala en los

años de 1963-1965; por los eventos de Ghana en 1967 y por aquellos descubiertos en 1970 en las reservas indias del White Dog y Grassy Narrows en Canadá. Desde entonces, los progresos en el conocimiento de la toxicología del metilmercurio y los avances en la comprensión del ciclo biogeoquímico del mercurio han permitido a las autoridades de salud pública la promoción de una gran variedad de medidas de precaución y de evaluar los riesgos del metilmercurio en sus reales proporciones, sin merma ni exageración. La Organización Mundial de la Salud que ha colaborado activamente con el Grupo de Acción del Mediterráneo, con los comités de expertos FAO/OMS en Aditivos Alimentarios y Contaminantes, y más recientemente con el Comité Codex sobre Aditivos Alimentarios está, hoy en día, en condición de ofrecer a sus Estados miembros las recomendaciones más racionales y actuales, en este caso, sobre la contaminación de alimentos por mercurio; recomendaciones dirigidas que miran a la protección de la salud del consumidor, preservando al mismo tiempo el valor del patrimonio alimentario, nutricional y económico ofrecido por las reservas marinas mundiales.

REFERENCIAS

1. Bacci, E., Angotzi, G., Bralia, A., Lampariello, L. et Zanette, E. (1976). Etude sur une population humaine esposee au methylmercure par la consommation de poisson. *Rev. Int. Oceanogr. Med.* 41-42, 127-141.
2. Bakir, F., Damlougi, S.F., Amin-Zaki, L., Murtadha, M., Khalidi, A., Al-Rawi, N.Y., Al-Tikriti, S.D.K., Dhahir, H.I., Clarkson, T.W., Smith, J.C., and Doherty, R.A. (1973). Methylmercury poisoning in Iraq. *Science*, 181, 230-241.
3. Clarkson, T.W., Amin-Zaki, L., and Al-Tikriti, S.D.K. (1976). An outbreak of methylmercury poisoning due consumption of contaminated grain. *Fed. Proc.* 35 (12), 2395-2399.
4. FAO/WHO (1972). Evaluation of certain food additives and the contaminants mercury, lead and cadmium. Sixteenth report of the Joint FAO/OMS Expert Committee on Food Additives (JECFA), Geneva, Switzerland, WHO Technical Report Series no 505.
5. FAO/WHO (1978). Evaluation of certain food additives and contaminants. Twenty-second report of the Joint FAO/OMS Expert Committee on Food Additives (JECFA), Geneva, Switzerland, WHO Technical Report Series no 632.
6. FAO/WHO (1984). Codex Alimentarius. Volume XVII. Contaminants. CAC/Vol. XVII-Ed. 1.
7. FAO/WHO (1985). Report of the eighteenth session of the Codex Committee on Food Additives. The Hague, 5-11 November 1985. ALINORM 87/12.
8. FAO/WHO (1987). Report of the nineteenth session of the Codex Committee on Food Additives. The Hague, 17-23 March 1987. (draft report).
9. Galal-Gorchev, H. (1987). Mercury in Fish and Fishery Products. Unpublished document presented at the nineteenth session of the Codex Committee on Food Additive, The Hague, 17-25 March 1987 (available from the Codex Secretariat, FAO, Rome, Italy).
10. Haxton, J., Lindsay, D.G., Hislop, J.S., Salmon, L., Dixon, E.J., Evans, W.H., Reid, J.R., Hewitt, C.J., and Jeffries, D.F. (1979). Duplicate diet study on fishing communities in the United Kingdom: mercury exposure in a critical group. *Environmental Research*, 18, 351-368.
11. IRPTC (1980). International Register of Potentially Toxic Chemicals. Data profile on mercury with special emphasis on data from the Mediterranean region. UNEP, Geneva, Switzerland.

12. IRPTC (1983). International Register of Potentially Toxic Chemicals. Legal File 1983. UNEP, Geneva, Switzerland.
13. Marsh, D.O., Myer, G.J., Clarkson, T.W., Amin Zaki, L., Al-Tikriti, S.D.K., and Majeed, M.A. (1980). Fetal methylmercury poisoning: clinical and toxicological data on twenty nine cases. *Ann. Neurol.* 7, 348-353.
14. Methylmercury Study Group (1980). Methylmercury study. McGill University, Montreal, Canada.
15. Mollenhauer, M.H. (1985). Information on legal and other administrative limits for contaminants in food. Annex I to CX/FA 85/18, (available from the Codex Secretariat), FAO, Rome, Italy.
16. Nauen, C.E. (1983). Compilation of legal limits for hazardous substances in fish and fishery products. FAO Circular no 764, pag. 102.
17. Paccagnella, B., Prati, L. e Bigoni A. (1973). Studio epidemiologico sul mercurio nei pesci a la salute umana in un'isola italiana del mediterraneo. *Ig. Mod.*, 66, 479-503.
18. Phelps, R.W., Clarkson, T.W., Kershaw, T.G., and Wheatley, B. (1980). Interrelationship of blood and hair mercury concentrations in a North American population exposed to methylmercury. *Arch. Environ. Health*, 35, 161-168.
19. Piotrowsky, J.K., and Inskip, M.J. (1981). Health effects of methylmercury. MARC Report no 24, London.
20. Riolfatti, M. (1977) Further epidemiological studies on mercury levels in fish and human blood and hair. *Ig.Mod.*, 70, 169-186.
21. Saliba, L.J. (1984). Measures to abate and control mercury pollution in the Mediterraneo Sea. Paper presented at the meeting on the biogeochemical cycle of mercury in the Mediterranean, Siena, Italy, 27-31 August 1984, FAO Fishery Report no 325 - Supplement. In: FAO/UNEP/WHO/IOC/IAEA (1986).
22. Saliba, L.J. and Silano, V. (1982): Health hazards from methylmercury in the Mediterranean region: review of international activities. Document ICP/RCE 211/7. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
23. Sherlock, J., Hislop, J., Newton, D., Topping, G., Whittle, K. (1984). Elevation of mercury in human blood from controlled chronic ingestion of methylmercury in fish. *Human Toxicol.*, 3, 117-131.
24. Takeuchi, T. (1968). Pathology of the Minamata disease. In: Minamata Disease, edited by the Study Group on Minamata Disease, Kumamoto University, Kumamoto, Japan, pp. 141-228

25. Takeuchi, T. and Eto, K. (1975) Minamata Disease. Chronic occurrence from pathological viewpoints. In: *Studies on the Health Effects of Alkylmercury in Japan*, T.Tsubaki (Ed.), Environmental Agency, Japan.
26. UNEP/FAO/WHO (1980). Report of a meeting of experts on environmental quality criteria for mercury in Mediterranean seafood. Limited distribution document UNEP/MED-HG/14 (available from WHO, Geneva, Switzerland).
27. UNEP/FAO/WHO (1983). Assessment of the present state of pollution by mercury in the Mediterranean Sea and proposed control measures. Limited distribution document UNEP/WG.91/5 (available from WHO, Geneva, Switzerland).
28. UNEP/FAO/WHO (1985). Global Environmental Monitoring System (GEMS); Guidelines for the study of dietary intakes of chemical contaminants. WHO Offset Publication no 87 - WHO, Geneva, Switzerland.
29. WHO (1980). Mercury. Environ. Health Criteria no 1. WHO, Geneva, Switzerland.
30. WHO (1980). Report of a consultation to re-examine the WHO Environmental Criteria n 1 on mercury. Limited distribution document EHE/EHC/80.22 (available from WHO, Geneva, Switzerland).
31. WHO (1983). International Digest of Health Legislation (1976-1983). WHO, Geneva, Switzerland
32. Wood, J.M. (1976). Les metaux toxiques dans l'environnement. *La Recherche*, 7, 711.

XENOBIOTIC SUBSTANCES: HARMONIZATION OF TOXICOLOGICAL CONCLUSIONS

G. Vettorazzi

International Programme on Chemical Safety
World Health Organization
Geneva, Switzerland

DEFINITION OF TERMS AND INTRODUCTION

The title contains three terms whose meaning ought to be defined in order to limit their purpose in the present context. The first term is xenobiotic substances, the second is harmonization, and the third is toxicological conclusions.

The term xenobiotic is used to indicate all substances foreign to living organisms and with which they may come in contact. Specifically, when the term is referred to man it indicates substances which are not normal constituents of the human body, but which may be in intimate contact with it through various routes of exposure. Among the xenobiotics there are substances of known toxicity, substances known to be inert and substances whose toxicity or inertness have yet to be established. It should be stressed that the term xenobiotic should not be taken as a synonym for toxic.

The second term appearing in the title is harmonization and it should be defined accordingly. In the literature the word harmonization is often used interchangeably with the word "standardization". Linguistically if not conceptually, there is a fundamental difference between these two words; standardization and its action form "to standardize" have their origin from the military tradition and were developed from the environment of competition. Warring factions are to be visualized as two or more groups striving among themselves under different flags, banners or "etandards"(French) carried at the top of a pole to mark a rallying point. The options offered to the individuals running behind these emblems are either to conform to the norms peculiar to each group or to drop out and become renegades or deserters. In turn, the word harmonization and its verbal form "to harmonize", come from musical culture and tradition. They signify the bringing into consonance or accord different musical notes which should be played together to provide a chord.

The conceptual difference between the act of standardization and that of harmonization is that while in the first instance the parts constituting the group disappear in the amalgam of the group, in the second instance the entities maintain their individuality apart from the group since they are being defined by the hierarchical order of a harmonic complex: the dropping out of one or more notes from a chord would modify the balance but it would not suppress the harmony.

One of the first example of standardization came from the field of systems of weights and measures. The development of the metric system started in the seventeenth century. The idea, at that time, was that everything to be measured in length should conform to the length of a bar of platinum and iridium called a meter. This bar was carefully kept in the cellars of the Paris Bureau of Weights and Measures. Similarly, everything to be weighed was expected to conform with a cylinder of the same metal, known as kilogram. These optimistic views went through a series of failures and successes leading the way to the modern concept of harmonization.

The last term to be defined is that of toxicological conclusions. In previous publications the term "toxicological decisions" was used to indicate the same concept (Vettorazzi, 1975, 1980). However, the word "conclusion" was found to be better suited for a process which should be considered scientific rather than regulatory.

In this context the phrase toxicological conclusion refers to the ultimate and decisive phase of a process known as toxicological evaluation of xenobiotics (food additives, pesticide residues, residues of veterinary drugs, etc) entrusted to a group of specialists who, after an in depth study of all available information, formulate end-points of assessment such as Acceptable Daily Intakes (ADIs), Provisional Tolerable Weekly Intakes (PTWIs) and the like, for regulatory purposes.

The proliferation of groups undertaking toxicological evaluations of xenobiotics is today a fact that is being looked upon with concern by national regulatory agencies as well as industry since the end-points of these evaluations often diverge from one another. In particular, this problem was perceived in the area of food additives when it was realized that there were several international groups involved in the safety assessment of these substances and that the conclusions of these groups were sometimes different from those of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). It was observed that such discrepancies could be due to different interpretation of data, but generally they arose because of a difference in the data available for safety evaluation. It was therefore recommended that if an international group has new substantial data and consequently arrives at an evaluation of a compound different from that of the above mentioned international committee, then these data should be requested and the compound should be re-evaluated promptly by the JECFA. However, mechanisms to effect a better liaison between various groups in order to assure a greater degree of uniformity of the various evaluations should be sought (WHO, 1978).

The scope of this paper is to present a brief account of the critical points underlining the process of harmonization of toxicological conclusions; it will specifically deal with identification of potentially harmonizing groups, harmonizable criteria, rational basis for harmonization and description of major stumbling blocks in harmonization.

POTENTIALLY HARMONIZING GROUPS

There exist a number of potentially harmonizing groups whose identification might be of value; the most well-known of them are listed below.

A recent publication of the Council of the European Communities (EC) and the Representatives of the Government of the Member States on a program of action of the EC on toxicology for health protection has identified several of these groups (Anonymous, 1986). The groups mentioned by the resolution are: the World Health Organization (WHO), the United Nations Environmental Program (UNEP) and the International Labour Organisation (ILO), through

their joint International Program on Chemical Safety (IPCS), as well as the International Agency for Research on Cancer (IARC) and the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). The resolution stresses the need for harmonization by helping to ensure the quality and comparability of toxicological data and ongoing testing programs which should help eliminate any unnecessary duplication of efforts by promoting a more rational and more economical use of the toxicological experiments carried out within the Community and facilitate their acceptance at an international level. The achievement of this goal would be for the common benefit of the EC in areas such as the fostering of developments in experimental toxicology, clinical toxicology and the integration of experimental and clinical data; this, in turn, should help to ensure the quality and comparability of data and of testing methods, and to promote the elimination of certain non-tariff barriers to trade; whereas to this end a better understanding must be achieved of the normal variability of biochemical and physiological parameters, and staff training in toxicology must be improved; whereas for the same reasons the exchange of experience and information in this field should be encouraged.

To those international groups mentioned in the resolutions of the Council of the European Communities, other potentially harmonizing groups should be added. These are: the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), especially through joint programs with the WHO and the International Atomic Energy Agency (IAEA) like the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), which also considers food contaminants and residues of veterinary drugs in food, the Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR), the joint FAO/IAEA/WHO on the Wholesomeness of Irradiated Food, and the Joint FAO/WHO Food Standards Program.

There are likewise other groups which are exerting a strong influence on national regulatory activities at the international level. These are: the Scientific Committee for Food and the Scientific Committee on Pesticides of the Commission of the European Communities (CEC), the United States Food and Drug Administration (FDA), the United States Environmental Protection Agency (EPA), the United States Department of Agriculture (USDA) and the association of American scientific agencies grouped in the National Toxicology Program (NTP) and others.

The picture is still not complete, though, since account should also be taken of those potentially harmonizing groups which exert a clear influence on the development of scientific thinking in toxicology, and are essential for development of methodology. These groups are either homogeneous or heterogeneous. Among the homogeneous groups are the various national toxicology societies, university departments and university specialized laboratories and institutes as well as private institutions which foster the relationship between the scientific progress in toxicology and centers of socio-political influence such as the Collegium Ramazzini and others. Those belonging to the second category are the World Federation of Associations of Clinical Toxicology and Poison Control Centers, the International Union of Toxicology (IUTOX), the Toxicology Forum and other emerging groups such as the International Life Sciences Institute (ILSI) and others. Finally, the listing of potentially harmonizing groups should also include institutions responsible for the development of the toxicology sub-culture represented by the "gray" literature, national regulatory agencies and industrial-commercial testing laboratories.

The spectrum of potentially harmonizing groups is thus varied and complex; it extends from national to the interregional and international levels and it encompasses the most salient facets of toxicology: clinical, occupational and environmental.

If an exhaustive identification of these groups is difficult, the task of comprehensively enumerating their outputs is not easy either. Their products range from experimental and epidemiological studies to recommended indexes of safety and acceptable or tolerable environmental exposure levels. In the outputs of these groups is found the vast majority of the techno-scientific and decisional aspects which characterize the risk assessment and risk management activities related to the human health problems originating from the current exposure to xenobiotic substances.

HARMONIZABLE CRITERIA

The outputs of these groups may be examined in term of harmonizable criteria as they may be identified in the course of toxicological evaluations.

It has been observed that there are two distinct stages in the evaluative process (Vettorazzi, 1980). The first is the collection of relevant data on a given xenobiotic. These data are usually derived from experimental testing in laboratory animals and, whenever possible, from epidemiological surveys and observations in man. The second stage is the interpretation and assessment of the data in order to arrive at conclusions on the full or limited acceptability or rejection of the substance under examination.

The place of toxicological conclusions in safety assessment is indicated in Figure 1, which shows the flow of the operation. The diagram may be interpreted as follows: the TOXICOLOGICAL METHODOLOGY (1) leads to the design of APPROPRIATE INVESTIGATIONS (2) which ought to supply ADEQUATE INFORMATION (3) which, after proper INTERPRETATION (4) could assist in the formulation of TOXICOLOGICAL CONCLUSIONS (5) which should provide a rationale for REGULATION (6) on the safe exposure to the xenobiotic in question. Steps 4 and 5 may, may not or may be only partially combined since the interpretation of the results made by the same investigator who conducted the investigation would have to be taken into consideration by the group or the individual charged with formulating conclusions. Steps 4 and 5 may be considered as representing the phase denoted as toxicological evaluation which falls into the direct task entrusted to an expert group. It is important to visualize the assessment of toxicity of a xenobiotic as a complex process having a dynamic rather than static character, since new scientific findings may at any time challenge the results of previous evaluations. The two-way arrows "a" and "b" in the diagram are intended to point to this aspect.

From the diagram the following harmonizable criteria may be derived: toxicological methodology, appropriate investigations, adequate information, interpretation of the data, toxicological conclusions and regulations. Each deserve a brief explanation.

1. Toxicological methodology. This criterium is today the subject of considerable controversy among different schools of thought. In experimental toxicology the controversy principally relates to the most suitable species to be utilized, number of animals in the experiment, dose range and the duration of the experiment.

2. Appropriate investigations. While there is in general sufficient consensus on the principle that experimental tests should simulate the route of human exposure, there is still no agreement on the type and number of tests necessary to conclusively establish the safety of a

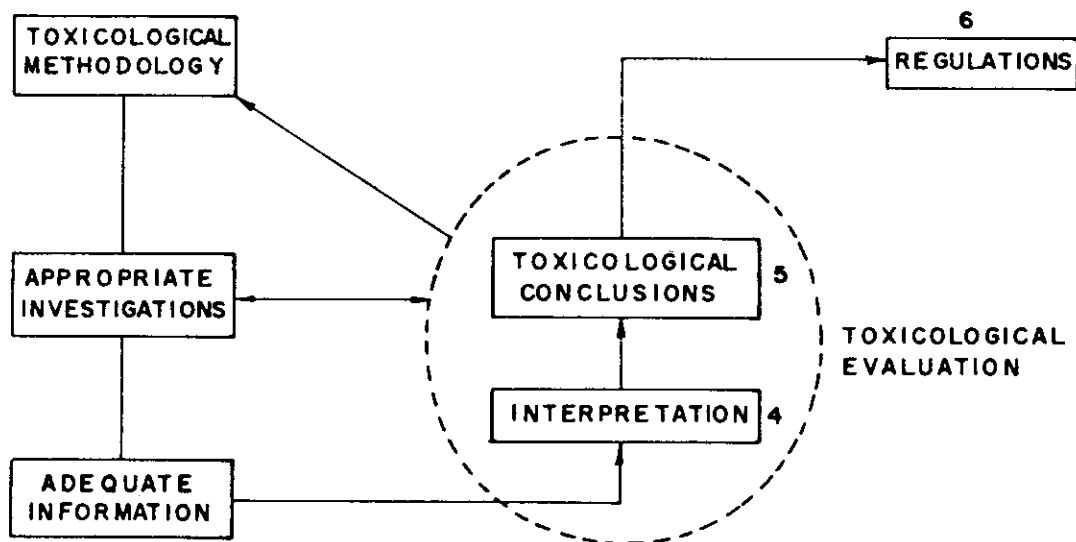


Figure 1 - Flow diagram identifying the critical points and objectives of toxicological assessment of xenobiotics

xenobiotic. The international expert committees, JECFA and JMPR, suggest the following series of tests as useful for an evaluation: biochemical studies, metabolism, effect on enzymes, acute toxicity, reproduction studies, carcinogenicity, mutagenicity and teratological studies, sub-chronic and chronic toxicity studies and observations in man.

3. Adequate information. There is no general agreement on the value to be attributed to the "gray" literature. This kind of literature includes documents such as reports of scientific studies and institutional writings which are not ipso facto available for peer review. In toxicology this literature is represented by reports of original studies developed in the majority of cases by commercial testing laboratories and commissioned by the industry which seeks the registration of its products. The characteristics of this literature have been dealt with in a recent article (Vettorazzi, 1986a).

Direct controversy exists on the value to be attributed in the course of a toxicological evaluation to in vitro mutagenicity tests and on their assumed role in establishing the carcinogenic potential of a xenobiotic. This aspect also is the subject of a recent presentation (Vettorazzi, 1986 b).

4. Interpretation. This is perhaps the most controversial criterium in experimental toxicology. What is the value of statistical versus biological significance of an observed effect? What interpretation should be given to an effect observed in a laboratory animal species or strain when it has been demonstrated that the animal species or strain in question metabolizes the xenobiotic in a different manner than man? These and thousand other similar questions are today debated in scientific meetings, symposia, congresses and round-tables.

5. Toxicological conclusions. In this area the most sensitive issue has to do with the practical significance of the extrapolation from animal data to man. The long standing experience, for example, of utilizing the concept of the ADI clearly suggests that this safety index may play a significant role in the process of harmonization. However, routes of exposure other than ingestion are still waiting for comparable indexes of safety.

6. Regulation. Toxicological conclusions resulting from the evaluation process indicated in Figure 1 solely concern the levels of a xenobiotic acceptable or tolerable by the human body and are not directly relevant to the establishment of acceptable or tolerable levels in the environment (water, food, air or soil). The transcription of levels acceptable by the body into levels acceptable in the environment is one of the most difficult tasks to be accomplished. Harmonization in this sector goes beyond the exclusive domain of toxicology and lies at the interface between the toxicological sciences and the law.

Science and, consequently, toxicology and the law operate in territories which often are diametrically antipodal since science thrives in uncertainties while the law thrives in certainty. At this point in time the harmonization in this area may only advance by developing formulas for a *modus vivendi*.

Although briefly reviewed the harmonizable criteria are of deep significance for the progress of regulatory toxicology with respect to xenobiotic substances.

RATIONAL BASIS FOR HARMONIZATION

To understand what is today meant by harmonization is rather difficult. The difficulty arises in part from the complexity of interests affected by regulatory decisions when acceptable or tolerable levels of a xenobiotic are proposed or established.

In spite of possible divergent views on the significance, need and type of harmonization it may be useful identifying certain elements which may contribute to clarify the issue and could lead the way to the building of a rational basis for harmonization. Here are some proposed elements: A potentially harmonizing group may first wish to acquire a working knowledge of what the other groups are doing or propose to do; Secondly, a potentially harmonizing group may wish to achieve a deep perception of all the reasons underlining the conclusions reached by other groups; and thirdly, a potentially harmonizing group may wish to exercise a critical judgement on whether what has been done by another group represents the best way of doing it.

When these principles are applied to the harmonization of toxicological conclusions the rational framework may look as follows: 1) A potentially harmonizing group would wish to keep close contact with other potentially harmonizing groups holding similar toxicological

interests in order to gain timely information on existing new advances which may lead to the formulation of new toxicological conclusions or modifications in pre-existing ones on a particular xenobiotic; in turn, the group having information on the intention of another group to undertake a toxicological evaluation may wish to offer to the other group all the information in its possession on the xenobiotic of common interest; 2) A potentially harmonizing group when informed of conclusions reached by other groups may wish to thoroughly inquire into the reasons which led to those conclusions (see following section on stumbling blocks in harmonization); 3) A potentially harmonizing group interested in accepting or going along with other groups' conclusions may wish to critically examine if the conclusion it is ready to accept represents the best conclusion within its time and space circumstances.

It should be mentioned that among the harmonizable criteria listed earlier there are some which are more liable to harmonization than others. It is easier, for example, to harmonize divergent toxicological conclusions than divergent regulations.

Furthermore, it should also be noted that application of the elements discussed as factors of harmonization will not necessarily lead to complete uniformity of results; they, however, very often supply the rational justification for differences and keep open the door for further mediation.

STUMBLING BLOCKS IN HARMONIZATION

There are several reasons for the existing differences in toxicological conclusions; some are more identifiable than others. The following are noteworthy:

1. Lack of synchronism. Not all potentially harmonizing groups may reach a conclusion at the same time. The international expert committee JECFA, for instance, may meet in June of one year and arrive at a conclusion on a specific food additive; the Scientific Committee for Food of the Commission of the European Communities may meet in November of the same year and arrive at a different conclusion on the same additive previously examined by the JECFA due to the fact that in the meantime new toxicological studies have become available. In principle, the JECFA committee could have reached the same conclusion. The JECFA however will not be able to examine the new data until June of the following year or later since for reasons of priority it may well postpone the re-evaluation of that additive for another couple of years. The conclusions of the two committees will then not be attuned for some time, independently of their intentions.

2. Dearth of complete data. A potentially harmonizing group may not have access to a complete data file on a given xenobiotic and consequently its toxicological conclusions may be in disaccord with the conclusions of other groups. The attuning will not be automatic because it may require some time to fill the knowledge gap.

3. The gray literature. This literature is currently being accepted for review by international expert committees like the JECFA and JMPR and by national regulatory agencies, but is not accepted by international agencies like IARC. In addition, several national regulatory agencies refuse to consider toxicological studies carried out outside their national territories.

4. **Populations at risk.** Human exposure to xenobiotics may be different from country to country. Therefore, toxicological conclusions taking into account levels of exposure may differ from place to place.
5. **Prevalent idiosyncrasies.** Different interpretations of identical data base by individual expert committees may result in divergent toxicological conclusions for the same xenobiotic.
6. **Blind imitation (monkey effect).** One potentially harmonizing group may decide to accept the toxicological conclusions made by another group for reasons other than toxicology, science or human exposure.
7. **Life expectancy.** The life expectancy in one geographical area may be different from another. The toxicological conclusions may thus be different since more weight may be given to acute versus chronic effects: the latter effects may not affect a population if the life expectancy is too short.

CONCLUSION

The development of modern toxicology, and particularly environmental toxicology, constitutes a novel and explosive phenomenon in the history of science and medicine. In many respects, toxicology is still considered developing science and in spite of its pervasive character it is deemed to be a scientific activity in its infancy. It would then be logical to give it time to develop the necessary experience before fully satisfactory results may be expected. In the meantime, efforts directed towards harmonization of toxicological conclusions that utilize rational bases may be helpful in dealing with the problem of xenobiotics in the human environment.

REFERENCES

1. Anonymous (1986). Resolution of the Council of the European Communities and the Representatives of the Governments of the Member States within the Council. Off.J.Europ.Com., No.C. 184/1, 23.7.86.
2. Vettorazzi, G. (1975). Safety evaluation of food additives: dynamics of toxicological decisions. *Lebensm.-Wis.und Technol.*,8, 195, 1975.
3. Vettorazzi, G. Handbook of International Food Regulatory Toxicology. Volume 1: Evaluations. SP Medical & Scientific Books, New York, 1980.
4. Vettorazzi, G. (1986a). The role of short-term in vitro tests in the toxicological evaluation of pesticide chemicals. International Symposium on Short-Term Test for Genotoxicity. Pisa, Italy, April 5-8, 1986.
5. Vettorazzi, G. (1986b). Residui di pesticidi negli alimenti: problemi e prospettive internazionali. XIV Convegno Nazionale "Ambiente e Risorse", Università degli Studi di Padova (Sede estiva). Brixen, Italy, September 8-11, 1986.
6. WHO (1978). Evaluation of certain food additives and contaminants. Twenty-second Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series, No. 631.

THE INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. AN OVERVIEW

E. Smith

International Programme on Chemical Safety
World Health Organization
Geneva, Switzerland

INTRODUCTION

Chemicals are essential for producing and sustaining national development. They are of major importance in virtually every industry, and have a key role in preventing and controlling disease, increasing agricultural productivity and facilitating food storage and preservation. While chemicals have brought many benefits they have also had negative effects on human health and on the integrity of the environment, notably when they are produced, used and disposed of carelessly and indiscriminately.

The safe production, use and disposal of chemicals is often seen, mistakenly, as a problem confined to the developed industrialized countries. However, the growing production of chemicals in the developing countries and the ever-increasing international trade means that all countries are now either producers, formulators or users of chemicals and are exposed to the possibility of adverse effects. Chemical safety is relevant to all, from national authorities to individuals, because all are exposed to chemicals in the home, the workplace and the natural environment.

The primary purpose of chemical safety is to ensure that exposure to chemicals, natural as well as synthetic, does not harm humans or the environment. This is not only to avoid the dramatic effects of acute poisoning but also to prevent the possible insidious effects of long-term low-level exposures of large populations.

A large number of chemicals is available commercially with, for example, around 70,000 listed in the US Toxic Substances Control Act inventory and 100,000 in the European Economic Community's list. However, the volumes of production and use, and the range of uses vary widely. The number of mixtures and formulations in use worldwide is many times greater.

The number, type and quantities of chemicals used in countries vary widely according to factors such as the national economy, its industrial base and the extent of agriculture. The productivity, ingenuity and competitiveness of chemicals industries are noteworthy and innovation is vigorously pursued. Thousands of chemicals are synthesized experimentally each year to determine if they offer advantages over their predecessors and are viable commercially.

Of this number, probably over 1,000 enter commerce. The chemical scenario is constantly changing because new chemicals and formulations come on the market, older ones are superseded by better alternatives, and the quantities produced and used vary with demand.

DEVELOPMENT OF THE INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS).

The IPCS is a cooperative programme of the United Nations Environment Programme (UNEP), the International Labour Office (ILO), and the World Health Organization (WHO). WHO is the executing agency for the programme and the Central Unit of the IPCS is located in the WHO Division of Environmental Health in Geneva, Switzerland.

In 1972 the United Nations Conference on the Human Environment took place in Stockholm, Sweden. There was intense international concern about the dangers of chemicals for humanity and the natural environment. This conference recommended that programmes, to be guided by WHO, should be undertaken for the early warning and prevention of the harmful effects of the various environmental agents, acting singly or in combination, to which humans were being increasingly exposed, directly and indirectly, and for the assessment of the potential risks for human health.

As the Specialized Agency for Health in the United Nations system, WHO has a mandate from its Member States to address all the factors which have an impact on human health and this includes chemicals. WHO is striving for Health for All by the Year 2000, based on balanced social and economic development, with health both a result of, and a key factor in, this development.

In 1977 the World Health Assembly requested the Director-General to study the problem of long-term strategies to control and limit the impact of chemicals on human health and the environment. On this basis a programme was developed and structured by WHO. The interest of other international organizations in chemical safety was clearly demonstrated by ILO and UNEP joining with WHO in the IPCS which was formally launched in 1980 when a Memorandum of Understanding (MOU) was signed between the three organizations.

OBJECTIVES OF THE IPCS

The objectives are to catalyse and coordinate activities in relation to chemical safety, and in particular to:

- (i) carry out and disseminate evaluations of the risk to human health and the environment from exposure to chemicals, mixtures of chemicals or combinations of chemicals and physical and biological agents;
- (ii) promote the development, improvement, validation, and use of methods for laboratory testing and ecological and epidemiological studies and other methods suitable for the evaluation of health and environmental risks and hazards from chemicals;
- (iii) promote technical cooperation with Member States, in particular developing countries to:
 - (a) facilitate the use of available evaluations of health and environmental risks and hazards from chemicals;
 - (b) improve the capabilities of national authorities in conducting their own evaluations of health and environmental risks and hazards from chemicals;
 - (c) strengthen infrastructures for safety aspects relating to chemicals - their production, importation, transportation, storage, use, and disposal.

- (iv) promote effective international cooperation with respect to **emergencies and accidents** involving chemicals;
- (v) support national programmes for prevention and treatment of poisonings involving chemicals;
- (vi) promote **training** of the required manpower.

In order to ensure efficient use of resources and integration of the results the IPCS works closely with other international and WHO programmes which are also involved in the area of safe use of chemicals. Examples are collaboration with the Council for Mutual Economic Assistance (CMEA), the Organization for Economic Research and Development (OECD), the Commission of the European Communities (CEC) and the WHO programmes on environmental pollution, occupational health, safe use of pesticides and food safety. There is close collaboration with the Food and Agriculture Organization (FAO) for the joint safety evaluations of food additives, pesticide residues in food and veterinary drug residues in meat.

ACTIVITIES AND OUTPUTS OF THE IPCS

For each objective there are outputs. These include the worldwide dissemination of information and publications directed to a wide range of readers, meetings of international experts and training courses for students from many countries.

PUBLICATIONS ON RISK ASSESSMENT

ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA (EHC) DOCUMENTS

This series covers evaluations of specific chemicals or groups of chemicals, monographs dealing with methodology and monographs on physical hazards.

Up to the present, July 1988, seventy-three EHC documents have been published, two are in press, and thirty-nine are in various stages of preparation. Of those published there are fifty-five monographs on chemicals, ten on methodology and eight on physical hazards. These documents, prepared in collaboration with experts from all parts of the world, review and evaluate current knowledge and provide a basis for assessment of hazards.

Priority chemicals for assessment by IPCS and publication as EHCs are identified with the participation of international experts and in collaboration with IARC, IRPTC and allied WHO programmes. A new list has recently been prepared based on inputs from international bodies, governments and industries using broad selection criteria such as quantity of production, types and extent of uses, toxicity, ecotoxicity and environmental persistence.

IPCS publications are disseminated widely to international organizations, national authorities, and scientific and industrial associations to provide a basis for chemical safety planning and for the development and implementation of control measures. The documents are available in English and French and many have been translated into other languages.

HEALTH AND SAFETY GUIDES (HSGs)

To make information on chemicals more widely available these booklets have been designed to meet of a wide range of administrators, managers and decision-makers in

governmental ministries and agencies, and in commercial and industrial undertakings to enable them to achieve chemical safety and avoid human and environmental health hazards. Health and Safety Guides are short documents summarizing in simple, non-technical language the relevant physical and chemical properties and evaluated information on toxicity and ecotoxicity. They give practical advice on safe storage, handling and disposal, accident prevention, and human health and environmental protection measures. First aid and medical treatment in cases of human exposure and clean-up procedures for environmental contamination are important sections for handling emergencies. HSGs also give information on permitted occupational exposure levels and other limits for a range of countries. The aim is to keep these booklets concise and use a simple style and presentation to ensure that the advice is easy to read, understand and apply. Simplicity of text facilitates translation into other languages. To date, eleven HSGs have either been published or are in press. HSGs for another sixty-four chemicals will be produced in 1988-89. HSGs are prepared routinely for all the chemicals reviewed and evaluated in EHCs and also for other priority chemicals.

INTERNATIONAL CHEMICAL SAFETY CARDS (ICSCs)

These are being developed to provide a simple summary of essential chemical identity data and health and safety information on a card (or poster). They are designed for use by people who use chemicals in their work or may be involved with them in storage and transportation. The cards also provide useful information to people involved in handling cases of poisoning such as "first-aiders", workplace safety officers, police, firemen, para-medical personnel, and primary health care workers. A standard format for the cards will ensure wide acceptability, easy use and facilitate translation into many languages. It is planned to publish ICSCs on 400 chemicals in 1988-89.

MONOGRAPHS ON I) FOOD ADDITIVES AND II) PESTICIDE RESIDUES IN FOOD

In collaboration with FAO, the IPCS has evaluated or re-evaluated more than 200 food additives, food contaminants and growth-promoting agents in order to establish acceptable daily intakes. For pesticides, maximum residue levels in food have been set for 140 used extensively in agriculture and public health. Monographs are published annually and the evaluations provide information on toxicology and safe levels of exposure and assist governments in establishing permissible legal levels of these substances in foodstuffs. Veterinary drugs are now coming under similar scrutiny because their use can leave residues in meat and similar evaluations will be made by an expert advisory committee.

DEVELOPMENT OF METHODOLOGY

An important task of the IPCS is to foster the development of internationally accepted approaches and methods for testing, assessing and predicting the effects of chemicals on human health and the environment. In this context, human epidemiological studies linked with chemical exposure on a global level are important. Such test methods will facilitate comparability, general acceptance and use of data obtained in different countries and promote effective chemical safety. These international activities will bring national test methods closer together and also produce a better understanding of the philosophy and scientific basis for testing.

In this area IPCS works closely with intergovernmental organizations such as the Council for Mutual Economic Assistance (CMEA), the Commission of the European Communities (CEC), and the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) and with scientific groups. This ensures coordination and avoids duplication of effort and waste of scarce resources. The involvement of IPCS contributes to the work of other organizations because it facilitates truly international understanding and agreement on the basic principles on which national requirements for testing and assessing chemicals for their toxic and ecotoxic effects can be based. A crucial part of the development of methodology is publication of monographs which provide a critical analysis of current test methods and approaches to predicting health and environmental risks. Better testing strategies for producing more reliable and comparable results are developed in these monographs.

Another important IPCS activity in the field of methodology is the organization, coordination and facilitation of inter-laboratory collaborative studies aimed at validating existing test methods, developing new methods and improving the interpretation of results. This is reserved for test areas where the international cooperation of scientific bodies and institutions is essential for the work to be carried out satisfactorily and meaningful results produced. Other intergovernmental and scientific organizations may collaborate with IPCS in these studies. Currently international collaborative studies are being planned for neurotoxicity and immunotoxicity and will be initiated this year.

An outstanding feature of the development of methodology is the active participation of scientists from all over the world. This participation, and the interactions between individual scientists and institutions, contribute greatly to the harmonization of testing and risk assessment in the developing, industrializing countries as well as in the developed countries. An international approach to the principles and methodology of risk assessment is of particular benefit to countries where rapid industrialization and expansion of agriculture give rise to serious potential hazards from chemicals because their scientists normally have to use data and risk assessments generated elsewhere and apply them to their own national situation. Participation also directly contributes to the development of scientific and institutional expertise at national level.

MANAGEMENT OF CHEMICAL EMERGENCIES

The large number and volume of chemicals extracted, manufactured, transported, marketed, stored, used and disposed of as wastes, constitute a significant risk of accidental exposure and poisoning. Accidents ranging from major catastrophes to minor leakages and spills occur frequently. More rational and effective approaches are needed to prevent, or where prevention fails, to tackle the consequences of chemical accidents in order to avoid damage to human health and the environment. At a practical level, IPCS is working with the World Federation of Clinical Toxicology Centres and Poison Control Centres to define the type of information and institutional capacity required for the treatment of poisoning and structured poison prevention and control programmes. The clinical diagnosis and treatment of poisoning is now a regular feature of EHC documents on chemicals and Health and Safety Guides. Special attention is given to specific antidotes and their use, although it must be recognized that these are available for relatively few chemicals; frequently, general supportive treatment is all that can be given. A primary aim is to make developing countries, whose populations experience a high proportion of poisoning by chemicals, self-sufficient in poison control and

treatment. The training of manpower and production of teaching material is an important part of this activity.

MANPOWER DEVELOPMENT IN THE FIELD OF CHEMICAL SAFETY

The capacity of countries to ensure the safe use of chemicals and to adapt to their needs toxicological and ecotoxicological data and risk assessments made elsewhere is conditioned by the availability of resources (financial, individual, institutional) and scientific and managerial expertise. Achieving chemical safety requires governmental initiative, trained manpower development and an informed population. The IPCS gives high priority to manpower development and promotes training in understanding the nature of chemical hazards, the uses of toxicological and ecotoxicological test data, risk assessment and safe use of chemicals under a variety of conditions.

Training materials are prepared and courses and seminars are organized. Training materials and approaches to training must be adapted to meet the needs of different countries to make them self-reliant and able to manage their own chemical safety and training programmes. Workshops are organized to promote chemical safety, provide awareness of the practical uses of toxicology and ecotoxicology and stimulate the development of national programmes. The majority of training activities are funded and organized jointly with other international and national bodies.

Activities organized with national authorities are especially valuable because they provide a firm foundation on which countries can develop and run their own courses.

TECHNICAL COOPERATION

This is an integral part of all IPCS activities. In WHO, technical cooperation is a primary responsibility of Regional Offices. WHO is divided into six Regions. Each Region defines its priorities for health based on the conditions prevailing within its countries. Some Regions already have established programmes dealing with chemical safety and others are in the process of doing so. To deal with the increasingly complex health and environmental problems caused by the use of chemicals, it is obviously in the interest of all to share knowledge and resources. Scientific knowledge needs to be shared otherwise developing countries will not be able to achieve the expertise needed to tackle their problems. The IPCS has a key role because it is directed to international cooperation rather than isolated national efforts. Public demand for protection from chemical (and other) hazards is not unique to any country and assessments of risk and hazard provided by IPCS and its internationally recognized and independent experts have an important role to play in ensuring chemical safety worldwide.

CONCLUSION

Chemical safety is important to all. As individuals, and consumers, we use chemical in our daily lives - in the home, office, factory and farm - . We are exposure to a multitude of chemicals arising from the activities of our fellow human beings. Within the national responsibilities for ensuring that the production, transport, use and disposal of chemicals do not damage human health or the environment, each member of society has a responsibility for ensuring chemical safety. Because many chemicals and their transformation products can be transported over

great distances by the natural means of wind and water, countries have international as well as national responsibilities to control the release of chemicals into the environment.

The importance of a healthy environment as one of the deciding factors in maintaining human health is fully recognized. This recognition must be turned into action. Appropriate and effective actions depend on good information and the primary task of the IPCS is to generate, stimulate and catalyze the production and use, worldwide, of information to enable countries to understand and implement chemical safety. This information is not intended to be restricted, instead it must be widely disseminated so all members of society know that many useful and beneficial chemicals have disadvantages if misused or abused. Scientists, administrators, managers and teachers are among the groups with a special responsibility for conveying to others in their society the concepts of chemical safety and their practical application. All must work together to safeguard human health and the integrity of the environment.

ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA SERIES

1. Mercury
2. Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls
3. Lead
4. Oxides of Nitrogen
5. Nitrates, Nitrites, and N-Nitroso Compounds
6. Principles and Methods for Evaluating the Toxicity of chemicals, Part 1.
7. Photochemical Oxidants
8. Sulfur Oxides and Suspended Particulate Matter
9. DDT and its Derivatives
10. Carbon Disulfide
11. Mycotoxins
12. Noise
13. Carbon Monoxide
14. Ultraviolet Radiation
15. Tin and Organotin Compounds
16. Radiofrequency and Microwaves
17. Manganese
18. Arsenic
19. Hydrogen Sulfide
20. Selected Petroleum Products
21. Chlorine and Hydrogen Chloride
22. Ultrasound
23. Lasers and Optical Radiation
24. Titanium
25. Selected Radionuclides
26. Styrene
27. Guidelines on Studies in Environmental Epidemiology
28. Acrylonitrile
29. 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D)
30. Principles for Evaluating Health Risks to Progeny Associated with Exposure to Chemicals during Pregnancy
31. Tetrachloroethylene
32. Methylene Chloride
33. Epichlorohydrin
34. Chlordane
35. Extremely Low Frequency (ELF) Fields
36. Fluorine and Fluorides
37. Aquatic (Marine and Freshwater) Biotoxins
38. Heptachlor
39. Paraquat and Diquat
40. Endosulfan
41. Quintozene
42. Tecnazene
43. Chlordecone
44. Mirex
45. Camphechlor
46. Guidelines for the Study of Genetic Effects in Human Populations
47. Summary Report on the Evaluation of Short-Term Tests for Carcinogens (Collaborative Study on in vitro Tests)
48. Dimethyl Sulfate
49. Acrylamide
50. Trichloroethylene
51. Guide to Short-Term Tests for Detecting Mutagenic and Carcinogenic Chemicals
52. Toluene
53. Asbestos and Other Natural Mineral Fibres
54. Ammonia
55. Ethylene Oxide
56. Propylene Oxide
57. Principles of Toxicokinetic Studies
58. Selenium
59. Principles for Evaluating Health Risks from Chemicals During Infancy and Early Childhood: The Need for a Special Approach
60. Principles and Methods for the Assessment of Neurotoxicity Associated With Exposure to Chemicals
61. Chromium (in press)
62. 1, 2- Dichloroethane
63. Organophosphorus Insecticides - A General Introduction
64. Carbamate Pesticides - A General Introduction
65. Butanols - Four Isomers
66. Kelevan
67. Tetradifon
68. Hydrazine
69. Magnetic Fields
70. Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food
71. Pentachlorophenol
72. Principles of Studies on Diseases of Suspected Chemical Etiology and their Prevention
73. Phosphine and Selected Metal Phosphides
74. Diaminotoluenes
75. Toluene Diisocyanates
76. Thiocarbamate Pesticides - A General Introduction
77. Man-Made Mineral Fibres

HEALTH AND SAFETY GUIDE SERIES

1. Acrylonitrile	(1986)	38. Camphechlor	(in preparation)
2. Kelevan	(1987)	39. Mirex	(in preparation)
3. Methylene Chloride	(1987)	40. Chlordecone	(in preparation)
4. Tetrachloroethylene	(1987)	41. Paraquat	(in preparation)
5. 1-Butanol	(1987)	42. Diquat	(in preparation)
6. 2-Butanol	(1987)	43. Tetramethrin	(in preparation)
7. Tert-Butanol	(1987)	44. Deltamethrin	(in preparation)
8. Isobutanol	(1987)	45. Cyhalothrin	(in preparation)
9. 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D)	(1987)	46. 1-Propanol	(in preparation)
10. Epichlorohydrin	(1987)	47. 2-Propanol	(in preparation)
11. Tetradifon	(1987)	48. Beryllium	(in preparation)
12. Chlordane	(in preparation)	49. Nickel	(in preparation)
13. Heptachlor	(in preparation)	50. Magnetic Fields	(in preparation)
14. Quintozene	(in preparation)	51. Hydrazine	(in preparation)
15. Tecnazene	(in preparation)	52. 1,2-Dichloroethane	(in preparation)
16. Ethylene Oxide	(in preparation)	53. Ammonia	(in preparation)
17. Propylene Oxide	(in preparation)	54. Dimethyl Sulfate	(in preparation)
18. Aldrin and Dieldrin	(in preparation)	55. Phenol	(in preparation)
19. Pyrrolizidine Alkaloids	(in preparation)	56. Vanadium	(in preparation)
20. Dimethoate	(in preparation)	57. Acrylamide	(in preparation)
21. Endosulfan	(in preparation)	58. Acetaldehyde	(in preparation)
22. Pentachlorophenol	(in preparation)	59. Acroleine	(in preparation)
23. Dichlorvos	(in preparation)	60. Aldicarb	(in preparation)
24. Cypermethrin	(in preparation)	61. Chlorobenzenes	(in preparation)
25. Resmethrins	(in preparation)	62. Chlorophenols	(in preparation)
26. Allethrins	(in preparation)	63. Endrin	(in preparation)
27. Phosphorus Trichloride	(in preparation)	64. Ethylbenzene	(in preparation)
28. Phosphorus Oxychloride	(in preparation)	65. Fenitrothion	(in preparation)
29. Phosphine	(in preparation)	66. Hexachlorobenzene	(in preparation)
30. Formaldehyde	(in preparation)	67. Hexachlorobutadiene	(in preparation)
31. Diaminotoluene	(in preparation)	68. Hexachlorocyclopentadiene	(in preparation)
32. Toluene Diisocyanates	(in preparation)	69. Isobenzan	(in preparation)
33. Toluene	(in preparation)	70. Malathion	(in preparation)
34. d-Phenothrin	(in preparation)	71. PCBs/PCTs	(in preparation)
35. Permethrin	(in preparation)	72. Propachlor	(in preparation)
36. Fenvalerate	(in preparation)	73. Selected Glycol Ethers	(in preparation)
37. Dimethylformamide	(in preparation)	74. Trichlorphon	(in preparation)
		75. Xylenes	(in preparation)

**EL CODEX ALIMENTARIUS Y OTROS ORGANISMOS
INTERNACIONALES EN CUANTO INSTRUMENTOS DE
ARMONIZACION INTERNACIONAL Y ACUERDO PARA LA
DETERMINACION DE NIVELES DE SEGURIDAD DE LAS
SUSTANCIAS QUIMICAS. UN CASO ESPECIFICO:
LA VALORACION TOXICOLOGICA DE LOS ADITIVOS
ALIMENTARIOS A LA LUZ DE RECIENTES OPINIONES**

G.Vettorazzi

International Programme on Chemical Safety
World Health Organization
Geneva, Switzerland

SUMARIO

El problema de la seguridad de los aditivos alimentarios, de los contaminantes, residuos de plaguicidas en los alimentos de origen vegetal y los residuos de medicamentos veterinarios en alimentos de origen animal son problemas de gran importancia internacional. La contribución de los organismos internacionales tales como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas (FAO) ha sido y sigue siendo muy válida para proteger la salud del consumidor y asegurar prácticas equitativas en el comercio internacional de los alimentos. En particular, estos organismos internacionales patrocinan desde hace muchos años los programas del Codex Alimentarius, del JECFA y del JMPR.

Apesar de que estos programas son muy conocidos y apreciados por la comunidad internacional, algunas veces ciertos autores han dado opiniones que revelan una falta de conocimiento de los reales objetivos, límites y extensiones de estos programas internacionales sobre la seguridad de los alimentos.

En este artículo se presenta el papel que importantes programas internacionales juegan en proporcionar a la comunidad internacional una significativa contribución en el campo de la seguridad alimentaria.

INTRODUCCION

Una presentación comprensiva de la toxicología bromatológica o alimentaria y de los riesgos potenciales de aditivos alimentarios, debe tomar en cuenta la visión completa del alimento, en cuanto forma parte del ambiente químico complejo en el cual el hombre vive. En las tablas 1 y 2 están representadas algunas de las clases de sustancias de posible importancia toxicológica que pueden presentarse en los alimentos.

El interés actual tanto por parte de la comunidad médico-científica como del público en general, por los asuntos de nutrición y de toxicología alimentaria es indicativo de una época de transición: la transición del alimento producido, preparado y consumido en el ambiente del medio rural y familiar a la época del supermercado, es decir, de la producción, conservación y transporte de masa.

Este interés por la nutrición y la toxicología alimentaria tuvo prácticamente su inicio cuando la evolución biológica determinó la diferenciación del aparato gastro-intestinal como sistema intermedio entre el ambiente interno y el ambiente externo en los organismos vivientes complejos; se incrementó cuando las causas de las grandes endemias de carácter carencial (beriberi, pelagra, escorbuto, raquitismo, etc.) fueron identificadas. Este mismo interés reaparece en la actualidad como resultado de la introducción de los aditivos alimentarios y del descubrimiento de contaminantes naturales e industriales en los alimentos, convergiéndose hacia el concepto de que los alimentos modernos pueden presentar para el consumidor riesgos potenciales y efectos tóxicos de largo plazo.

No cabe la menor duda de que el rápido progreso de la toxicología alimentaria y el adelanto impresionante en los medios de comunicación ambos contribuyeron sensiblemente a orientar al público hacia los problemas asociados a la producción de alimentos sanos, apetitosos y nutricionalmente adecuados. Esta toma de conciencia es un índice de madurez social y como tal es bien recibida. Sin embargo, cuando esta conciencia no está acompañada de un grado suficiente de conocimiento, puede llevar ocasionalmente a excesos y consecuencias desastrosas, como en aquellas circunstancias en que por librarse de los peligros, reales o imaginarios, de los aditivos químicos algunas personas hacen uso imprudente de alimentos y de métodos de procesamiento conocidos como "orgánicos" o "naturales", como viene ilustrado en el ejemplo trágico referido por Osterud et al. (1). Estos autores describen algunos casos de intoxicación aguda por plomo, acontecido en 1973 en una comunidad hippie del estado de Oregon, en los Estados Unidos, como consecuencia de haber tomado vino fermentado en viejas baneras. Seguramente "los hijos de las flores" de la Green Parrot Goat Farm no tomaron en consideración las teorías del historiador americano Gilfillan de Santa Mónica de California, según las cuales la caída del imperio romano sería debida al plomo que migraba de las vasijas hechas de aquel metal para el vino que alegraba el corazón de los alegres romanos. El plomo, entre otros efectos, habría también interferido con la fertilidad tanto del hombre, y sobre todo, de la mujer (2).

En este artículo serán discutidos algunos temas generales acerca de la identidad y uso de los aditivos alimentarios utilizados en el moderno procesamiento de los alimentos y se discutirán aspectos de interés sobre el procedimiento de evaluación y de inocuidad de estos productos químicos.

DEFINICIONES

En la literatura, la definición de aditivo alimentario varía según el conocimiento y los objetivos de quienes usan estos términos. Para el operador industrial de alimentos, el aditivo es una sustancia química añadida intencionalmente al alimento durante su procesamiento para producir efectos de conservación y aceptación de su producto. Para el microbiólogo o el higienista, el aditivo puede ser representado por la carga bacteriana tanto intencional como no intencional que se encuentra en el producto terminado. Para el ambientalista, el aditivo puede modificar de mejor para peor sus características originales.

Las definiciones que derivan de la literatura técnica son también algo diferentes. Para la OMS/FAO el aditivo alimentario es una sustancia sin valor nutricional que viene adjunta intencionalmente al alimento, generalmente en pequeñas cantidades, con el fin de mejorar las propiedades de estructura y de conservación, así como los aspectos organolépticos del alimento al cual se le adjunta (3). El comité americano del Consejo de Investigación para la Protección Alimenticia define el aditivo como una sustancia adjunta al alimento, directa e intencionalmente para fines funcionales o indirectamente durante una fase de la producción, procesamiento y embalaje sin la intención de que tal sustancia permanezca o ejerza una función en el producto final (4). Es evidente que todas estas definiciones son estrictamente funcionales.

TABLA 1
Sustancias de Posible Importancia Toxicológica
que se Pueden Encontrar en los Alimentos

De origen natural

- a. Componentes naturales del alimento (glucósidos)
- b. Contaminantes naturales
 - 1. De origen bacteriano (Toxinas)
 - 2. De origen no bacteriano (Hg, Cd, aflatoxinas)

Derivadas de la actividad del hombre

- a. Residuos de plaguicidas y fertilizantes
- b. Aditivos químicos
- c. Productos provenientes de contenedores y embalajes
- d. Sustancias producidas en el procesamiento
- e. Contaminantes accidentales/negligencias
- f. Contaminantes ambientales

TABLA 2
Fuentes de Aditivos no Intencionales en los Alimentos
de Posible Importancia Toxicológica

Fase de producción

1. Excremento de animales, insectos y sus partes
2. Residuos de antibióticos y otros medicamentos
3. Agentes anabólicos
4. Microorganismos de importancia toxicológica
5. Partes de parásitos
6. Residuos de plaguicidas
7. Metales y compuestos metálicos tóxicos
8. Compuestos radiactivos

Fase de procesamiento

1. Excrementos de animales, insectos y sus partes
2. Microorganismos y sus metabolitos
3. Residuos de procesamiento y objetos extraños
4. Radionucleidos

Fase de embalaje y transporte

1. Excremento de animales, insectos y sus partes
2. Materiales de embalaje, etiquetas, sellos
3. Microorganismos y sus metabolitos
4. Productos que migran de contenedores
5. Sustancias tóxicas provenientes del exterior (vapores, solventes, etc.)

CLASIFICACION

La clasificación de los aditivos en la literatura sigue, asimismo, diferentes pautas. A menudo se los divide en voluntarios e involuntarios. Los voluntarios son los que vienen añadidos al alimento durante una u otra fase de su procesamiento industrial o de su preparación casera: desde luego, su uso puede ser controlado. Algunos autores subdividen esta categoría en aditivos esenciales (antimicrobianos, antioxidantes, etc.) y cosméticos (colorantes, aromatizantes, etc.). Los aditivos involuntarios son aquellos que pueden formar parte integral del alimento durante todas las fases de su evolución, desde su origen vegetal u animal, hasta su fase final. Ellos pueden ser el resultado de la aplicación voluntaria de plaguicidas (insecticidas, fungicidas, etc.), de manipulación negligente o de niveles de contaminación ambiental de fondo (5).

Otra clasificación distingue entre aditivos voluntarios y fortuitos. Los voluntarios incluirían también las vitaminas y minerales esenciales y los productos químicos necesarios para el procesamiento técnico del alimento, los fortuitos serían constituidos por los residuos de plaguicidas, medicamentos veterinarios, etc.

En resumen, las definiciones y clasificaciones técnicas son de importancia para la descripción científica de las propiedades y usos de los aditivos y sirven a la comprensión de su justificación tecnológica.

Sin embargo, las definiciones y clasificaciones más importantes para el tema tratado en esta presentación, son las definiciones y clasificaciones legales en cuanto ellas indican los elementos que reglamentan el empleo permitido de estos productos en el alimento.

Existen tantas definiciones y clasificaciones legales como las naciones modernas con un sistema desarrollado de reglamentación alimentaria, incluyendo en esta lista también aquellas de la Comunidad Económica Europea y las del Codex Alimentarius.

ASPECTOS HISTORICOS

En el curso de la historia han habido múltiples esfuerzos legislativos por parte de algunos países para tutelar la salud del consumidor en materia de alimentos. Entre 1860 y 1870, por ejemplo, Inglaterra, Alemania y Suecia instituyeron leyes generales contra fraudes y falsificaciones de alimentos. En 1875, Inglaterra aprobó el "Safe Food and Drug Act", acción legislativa que contenía la más completa lista de medidas sobre el tema que existiera hasta entonces. En el mismo año, el parlamento canadiense emitió una ley para "prevenir la adulteración de los alimentos, bebidas y medicamentos". En 1938, los Estados Unidos de América aprobaron el "Food, Drug and Cosmetic Act", la ley que con sus enmiendas posteriores comenzó a ser administrada por la "Food and Drug Administration", el órgano de regulación y control en materia de alimentos y de medicamentos fundado en el mismo año. En 1955, Inglaterra incorporó todas las leyes existentes hasta entonces en su "Revised Food and Drug Act".

Se puede afirmar que en la actualidad casi todos los países poseen una legislación alimentaria. Muchas de las leyes nacionales primitivas seguían el modelo inglés de 1875. Más recientemente, el modelo más adoptado ha sido la ley americana de 1938, la cual hacía hincapié sobre el control de los aditivos alimentarios. Como consecuencia, comenzó la aparición de listas positivas de aditivos. Ejemplos muy recientes son las listas aprobadas por Italia (6),

Suecia (7), Dinamarca (8) y Japón (9). Las listas nacionales de aditivos causó varios problemas serios: un aditivo estaba aprobado por un país y no aprobado para su uso en otro, causando de esta manera una gran confusión en el comercio internacional de alimentos. Ha sido exactamente esta confusión la que determinó el presente papel de las organizaciones internacionales como FAO y OMS en materia de aditivos alimentarios y “standards” alimentarios. Por pedido de sus estados miembros estas organizaciones elaboraron proyectos de armonización y evaluación de aditivos alimentarios.

En el ámbito de las Naciones Unidas, la FAO (Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) constituyeron el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios, conocido mundialmente por el apellido de JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), cuya primera sesión se convocó en Ginebra, Suiza, en 1955. En esta reunión se delineó el objetivo y se definieron las tareas: preparar normas de identidad y pureza para los aditivos más usados por los estados miembros y llevar a cabo evaluaciones toxicológicas para establecer su inocuidad. Desde entonces el comité JECFA se reunió cada año alternativamente en Ginebra (OMS) y Roma (FAO). La más reciente reunión - la trigésima - tuvo lugar en Roma durante el mes de junio de 1986; con esta última reunión el comité JECFA se volvió el más antiguo comité técnico de las Naciones Unidas. Durante sus años de actividad el comité elaboró informes y monografías sobre los principios que deben guiar el uso racional de los aditivos, métodos de evaluación de inocuidad - incluyendo evaluaciones del riesgo cancerígeno, mutágeno y teratógeno, normas de identidad y pureza y métodos analíticos - para los principales aditivos alimentarios intencionales y algunos contaminantes. Al mismo tiempo otros aspectos de la inocuidad de los alimentos han sido objeto de los trabajos de otros comités técnicos emparentados científicamente con el comité JECFA. Estos son la Reunión Conjunta FAO/OMS sobre los Residuos de Plaguicidas (JMPR) y el Comité Mixto FAO/OMS/IAEA sobre los Alimentos Irradiados (JECFI). Las principales recomendaciones de estos comités con relación a la inocuidad alimentaria toman la forma de conclusiones toxicológicas del tipo de “Ingesta Diaria Admisible” (IDA), expresada en miligramos de sustancia por kilo de peso corporal (mg/kg p.c.). La IDA representa así la cantidad de aditivo que puede ser ingerida diariamente con el alimento - incluso durante toda la vida - sin riesgo apreciable por la salud del consumidor. Esta cantidad es establecida sobre la base de estudios toxicológicos y epidemiológicos disponibles en el momento de su determinación (10; 11).

Siempre dentro del ámbito de las Naciones Unidas, la Comisión Mixta FAO/OMS del “Codex Alimentarius” se ocupa de un punto de vista administrativo, de armonizar las normas nacionales en materia de aditivos a través de su comité sobre los Aditivos Alimentarios, el cual - mediante estudios de ingestión llevados a cabo por los estados miembros - cuida de que las concentraciones de aditivos incluídas en los “standards” alimentarios internacionales no lleven a que la IDA sea excedida. Es preciso notar que los comités técnico-científicos mencionados - JECFA, JMPR y JECFI - actúan también como cuerpos consultivos y asesores de la Comisión del Codex Alimentarius.

En el ámbito del Consejo de Europa, los esfuerzos de armonización en el campo alimentario son también coordinados con el Comité JECFA. Notable a este respecto ha sido el proyecto del Consejo sobre los aromatizantes (“Libro Azul”) (12).

En el ámbito de la Comunidad Económica Europea existe igualmente una coordinación técnica apreciable entre el Comité Científico para la Alimentación de la CEE y el Comité JECFA. Varios autores, a quienes se hace referencia, han ilustrado más en detalle los

diferentes aspectos de la reglamentación internacional a este respecto (13; 14; 15; 16; 17; 18).

PROBLEMAS DE ACTUALIDAD

Una manera práctica de abordar los problemas de los aditivos alimentarios es revisar los artículos aparecidos en la prensa tanto científica como popular.

Un hecho inquietante que se observa en un número creciente de países es la constatación de como la opinión pública - representada y creada por los "mass media" - es hostil a los agentes químicos en general y manifiesta pesimismo sobre la calidad de la vida actual - riesgos químicos, tóxicos en los alimentos, destrucción del medio ambiente, etc. sin dar a menudo una información adecuada con relación a la extensión de estos problemas. No es menos inquietante notar, asimismo, la divergencia de opinión en la prensa de diferentes países, lo cual se ha caracterizado, por ejemplo, en las distintas valoraciones, muy divergentes entre ellas, sobre los recientes accidentes nucleares.

Es también deplorable que el público en general sepa muy poco del enorme trabajo que se está llevando a cabo, tanto del punto de vista nacional como internacional, para defender el medio ambiente, proteger la salud contra agentes químicos y asegurar alimentos sanos.

Por otra parte, existen sectores de la población que no están bien informados de los daños causados al medio ambiente como consecuencia de sus propios actos, como por ejemplo, las deposiciones sin control de desechos industriales y agrícolas cerca de fuentes de agua potable, destrucción de bosques, florestas y otros. Recientes accidentes causados por agentes químicos han demostrado también una falta general de preparación, ya sea física como mental de todas las partes concernientes.

Con relación al uso y consumo de aditivos alimentarios existen opiniones que reflejan muy de cerca las ideas generales sostenidas con relación a otra clase de agentes químicos.

A continuación se ilustra, en forma crítica, una serie de afirmaciones extraídas de artículos recientes.

1. **FAO/OMS:** "La FAO y la OMS consienten el uso de un gran número de aditivos alimentarios en lugar de limitarlos".

Aclaración: Esta frase deberá ser interpretada a la luz de las resoluciones y cartas constitucionales de estas organizaciones.

Existe una diferencia substancial, por ejemplo, entre organizaciones internacionales como FAO/OMS y la CEE dado que la FAO/OMS formula, en la gran mayoría de los casos, solamente recomendaciones, en cambio la CEE solicita o simplemente ordena. La FAO y OMS siguen la voluntad de sus estados miembros quienes pidieron que la FAO, organización encargada de promover el desarrollo de la agricultura y de la alimentación en el mundo, y la OMS encargada de promover la salud pública, se encargaran de reunir uno o más comités de expertos para estudiar los aspectos técnicos de los aditivos alimentarios. Estos comités son el comité JECFA y JMPR como se ha mencionado anteriormente.

Es preciso esclarecer que las recomendaciones de estos comités en materia de uso y consumo de aditivos alimentarios y de residuos de plaguicidas no son propiamente recomendaciones de la FAO o de la OMS, mas bien son recomendaciones de los dos comités. Estas

recomendaciones proporcionadas por la FAO y la OMS a sus estados miembros son de gran valor científico para los mismos.

Las conclusiones del comité JECFA y JMPR son de carácter científico y no de carácter legal o administrativo, dado que los dos comités no pueden pronunciarse en términos legales sobre el uso de las sustancias que examinan ni mucho menos, prohibirlas o permitir las; ellos se pronuncian solamente sobre su toxicidad y recomiendan niveles de ingesta aceptable o admisible. En caso de que un aditivo se revele nocivo, los comités piden a la FAO y a la OMS que recomienden a los gobiernos de sus estados miembros su prohibición, lo que es muy distinto del hecho de prohibir y/o permitir. Una frase como “La FAO y la OMS consintieron en 1973 el uso de por lo menos 100 aditivos” - frase que se encuentra en trabajos publicados - deberá ser interpretada por el lector como sigue: “La FAO y la OMS, a través del comité JECFA han llevado a cabo una valoración toxicológica de 100 aditivos”; lo que significa que ya en 1973 los gobiernos de los estados miembros de las dos organizaciones tenían a su disposición una gama de productos toxicológicamente valorados que les daban un poder de elección muy considerable. Actualmente, la gama de compuestos químicos es todavía más grande y la presión sobre el comité JECFA para que evalúe mayor número de compuestos es cada vez más fuerte; presión que es ejercida por los estados miembros, los cuales, durante los 30 años de existencia de este comité, encontraron sus recomendaciones extremadamente útiles.

2. Aditivos Intencionales y Accidentales: “La IDA para los plaguicidas es siempre menor que la IDA para los aditivos: esto significa que las valoraciones toxicológicas de los plaguicidas son más severas que las de los aditivos”.

Aclaración: Es preciso distinguir claramente entre la evaluación toxicológica de los aditivos intencionales, añadidos directamente a los alimentos por razón tecnológica - a menudo con objeto de proteger la salud - y la valoración de los aditivos accidentales - residuos que derivan del uso racional de plaguicidas. En el caso de aditivos intencionales el objeto de la valoración es de conocer la concentración de la sustancia que causa efectos tóxicos mientras que en el caso de plaguicidas el objetivo es de conocer el nivel de la sustancia que no causa toxicidad.

Los aditivos, a diferencia de los plaguicidas, no son producidos para que sean tóxicos y por lo tanto su toxicidad deberá ser demostrada; en el caso de plaguicidas, estos son producidos y usados estrictamente por sus propiedades tóxicas, dicho de otro modo, no hace falta probar su toxicidad, mas bien es necesario identificar el nivel en que dejan de ser tóxicos para que su grado de contaminación de los alimentos sea tolerado.

No debe, por lo tanto, extrañar que los niveles de la ingesta diaria aceptable (IDA) para los aditivos, sean más altos que aquellos recomendados para los residuos de plaguicidas. Existen, inclusive, casos en que no es posible demostrar dosis tóxicas para algunos aditivos; en estos casos el comité JECFA recomienda una “IDA sin especificar”. Esta denominación significa que, tomando como base los datos disponibles (químicos, bioquímicos, toxicológicos y de otro carácter), la ingesta diaria total de la sustancia que se deriva de su uso a las dosis necesarias para alcanzar los efectos deseados, y de su concentración admisible anterior en los alimentos, no representa, en opinión del comité, un peligro para la salud. Por esta razón, y por las razones establecidas en las evaluaciones individuales, la determinación numérica de una ingesta diaria admisible no se considera necesaria.

3. Aditivos y Fármacos: Algunos autores se preguntan por que la metodología toxicológica recomendada para establecer la inocuidad de un aditivo intencional no sigue el mismo protocolo que aquella recomendada para los fármacos. En su opinión, los “test” toxicológicos de los aditivos son menos estrictos y severos que los que se utilizan para los fármacos.

Aclaración: A pesar de que la evaluación de un fármaco sigue pautas mucho más amplias que aquellas de los aditivos, por razones óbvias pues sus usos son diferentes, los estudios preclínicos de los fármacos no revelan grandes divergencias con los de los aditivos. En el caso de los fármacos el objeto principal del protocolo es el de fijar la magnitud del intervalo o espacio entre dosis terapéutica y la dosis tóxica - el índice terapéutico - en cuanto por los aditivos, el objetivo es de fijar la dosis “sin efecto”. Además, en el campo de los aditivos se da más importancia a los efectos observados después de un largo periodo de ingestión, dado que el aditivo viene consumiendo durante todo el ciclo de la vida, lo que no es el caso de la mayoría de los fármacos.

Es precisamente esta característica metodológica la que permite establecer valores de IDA que pueden variar desde cero hasta un máximo. Por lo tanto, las divergencias metodológicas entre las investigaciones con fármacos o aditivos, no están ligadas al hecho de ser más o menos estrictas y severas, sino mas bien al hecho de que tienen finalidades diferentes.

En todo caso, es preciso recordar que la toxicología es una ciencia que está todavía en su infancia y está lejos de ser lo que todos desearíamos que fuera.

4. Niveles de Ingesta y Niveles en Alimentos: Confundir estos dos aspectos es tal vez el error más común en que muchos articulistas - y a veces hasta autores - caen inadvertidamente. Un ejemplo es proporcionado por la frase siguiente: “Una sustancia experimentada en animales puede ser introducida en el alimento después de experimentar un ajuste de seguridad, reduciendo, por ejemplo, la dosis tolerada por los animales de 50 hasta 100 veces (en general de 100 veces)”.

Aclaración: Esta frase deberá interpretarse teniendo en cuenta la diferencia sustancial entre nivel de ingestión y nivel de concentración en el alimento. La dosis de un aditivo que el organismo humano puede tolerar representa el nivel de ingesta diaria admisible, en otras palabras, la IDA. La concentración en el alimento es algo totalmente diferente. El factor de seguridad (50; 100 o más) es utilizado solamente para establecer el nivel de ingesta admisible y no para determinar concentraciones del aditivo en los alimentos. Lo que se introduce en el alimento es una concentración de aditivo que toma en cuenta los aspectos tecnológicos y el cálculo de su aporte potencial a la dieta total. Este valor calculado deberá luego ser confrontado con la dosis que el cuerpo humano puede tolerar (IDA) antes de que sea aprobada una concentración segura en el alimento. Esta distinción es un punto de importancia fundamental para comprender todo el proceso de reglamentación de los aditivos por parte de los organismos gubernamentales o de los programas internacionales, como por ejemplo, aquel de la Comisión del Codex Alimentarius y de sus organismos subsidiarios.

Con el propósito de limitarnos al campo internacional del programa antes mencionado, podemos decir que el comité JEFCA establece una IDA para un aditivo, mientras que el comité Codex establece una concentración de tal aditivo en los diversos alimentos con el objeto de que se elaboren normas alimentarias internacionales. Mientras que la decisión que conduce a formular una IDA se basa estrictamente en datos científicos, aquella que conduce

a la fijación de una concentración de este aditivo en el alimento es solamente una decisión técnico-político-administrativa que debe tomar en cuenta la IDA si se desea una concordancia con la salud del consumidor. Una frase surgida recientemente: “se puede afirmar que en cuanto a la inocuidad de todas las sustancias como aditivos no se puede tener conocimientos suficientes; en lo que concierne a la aceptabilidad de los resultados (por lo menos en parte) es necesario que estén basados en compromisos que tomen también en cuenta motivaciones de carácter económico y social”. Esta afirmación deberá ser interpretada a la luz de las diferencias anteriormente mencionadas.

5. Aspectos Científicos, Jurídicos y Administrativos: Recientemente se ha observado como sorprendente el hecho de que la FAO/OMS no haya examinado - en sus normas recomendadas - la diferencia entre el concepto de “peligro” y la medida efectiva del “riesgo de peligro”.

Aclaración: Aparte de la interpretación personal de estos términos por el autor, si esta afirmación está dirigida a los comités científicos del JECFA y JMPR, la explicación es muy simple. Conforme lo mencionado anteriormente, el mandato de estos dos comités es de carácter científico y no administrativo; ellos determinan las dosis aceptables pero no pueden aplicarlas en los casos concretos de cada país. La aplicación de estas dosis depende exclusivamente de la capacidad de los gobiernos de los estados miembros quienes aceptan estas recomendaciones. La razón es muy evidente: los cálculos de las probabilidades de riesgo tanto como los cálculos sobre la ecuación riesgo-beneficio no pueden ser establecidos en un plano teórico y global, sino sobre la base de situaciones concretas. Por ejemplo: la probabilidad de riesgo ligada al desplazamiento en coche es ciertamente diferente si ésta es calculada en Nueva York, Los Angeles o en un pueblo recóndito de los Pirineos.

En el dominio de la toxicología, una evaluación cuantitativa del riesgo sería bastante vaga y sin significación real si no estuviera basada en indicaciones precisas concernientes a la exposición de una dada población a un aditivo alimentario. Por el contrario, tal evaluación en el sector ocupacional es más fácilmente justificable dado que los dos factores esenciales al cálculo - sustancia a la cual el trabajador está expuesto y el tiempo de exposición - pueden ser definidos con bastante precisión.

Si la afirmación mencionada anteriormente concierne las normas establecidas por el Codex Alimentarius, es importante precisar que en el Comité Codex para los aditivos alimentarios existe un grupo de trabajo que se ocupa de estos problemas. Este grupo está compuesto de delegados de diferentes países. Sus conclusiones proveen una ayuda muy importante a la interpretación del posible peligro de ciertas concentraciones propuestas para los aditivos en las diferentes normas alimentarias del Codex. Sin embargo, aquellos que tienen una experiencia directa en este trabajo pueden afirmar que los resultados de este tipo de cálculo, complicado y laborioso, son muy aleatorios. Por otra parte, creer en la panacea de la medida cuantitativa del cálculo de probabilidades de riesgo es ciertamente una visión muy optimista del problema. El cálculo de probabilidades conviene más al administrador o al agente de seguros, que al toxicólogo.

6. Muchos, Pocos, Nada: Una de las frecuentes propuestas para encontrar una salida a los problemas planteados por los aditivos es de reducir su número.

Aclaración: A primera vista tal solución parece natural dado que la reducción del número

de agentes químicos en los alimentos debería conducir a una reducción proporcional de la tasa de exposición del hombre a estos agentes. La reducción puede ser total o parcial. Analicemos como el toxicólogo se comporta delante de estas tres alternativas: ningún aditivo, pocos o muchos.

a) **Ninguno:** Tal opción implica una eliminación total de los aditivos en la alimentación humana. Los aditivos que deberían ser eliminados son ciertamente aquellos intencionales, ya que una acción que prohibiera los aditivos involuntarios implicaría la destrucción de más del 90% de todos los alimentos existentes. No se puede prohibir que el mercurio entre en los peces ni que las aflatoxinas se formen en los cereales. Los plaguicidas asimismo deberían ser rechazados dados que son las causas de aditivos involuntarios con sus residuos y pueden ser sujetos a una acción legislativa directa, independientemente de consideraciones económicas, sociales y nutricionales. Si esta opción fuera adoptada, el toxicólogo debería encontrar otras soluciones con respecto a problemas como el botulismo, la contaminación bacteriana, los productos tóxicos de oxidación, etc. Una posible solución podría ser ofrecida por las cadenas del frío y del calor o por las irradiaciones ionizantes. En el caso de esta opción el toxicólogo alimentario deberá convertirse en toxicólogo clínico dado el fuerte incremento de intoxicaciones agudas. Tal opción pondría a la industria alimentaria en muy mala posición mientras que favorecería la industria farmacéutica.

b) **Pocos aditivos:** Esta alternativa eliminaría el consumo de la mayoría de los aditivos voluntarios para dejar solo un número muy limitado de los cuales quedarían solo los más importantes, necesarios y de perfecta seguridad del punto de vista toxicológico. Tal opción facilitaría el control y disminuiría los riesgos provocados por una gran variedad de agentes químicos. Por ejemplo uno de los defensores de esta alternativa desearía eliminar todos los agentes de conservación con excepción del ácido ascórbico. Tal sugestión es sorprendente tanto para el técnico en alimentos como para el toxicólogo. Por supuesto que la población estaría menos expuesta a una gran variedad de agentes químicos, pero de otro lado se vería expuesta a grandes cantidades por parte de un pequeño número de entre ellos. A pesar de la seriedad científica utilizada en la evaluación toxicológica de aditivos, el toxicólogo no puede dejar de pensar que el principio fundamental de su especialidad reposa en el hecho de que, en general, el efecto tóxico depende de las dosis. Del punto de vista sanitario es preferible exponerse a pequeñas cantidades de varios agentes químicos o correr el riesgo de una intoxicación debida a grandes dosis de un número limitado de aditivos? Teóricamente, no existen respuestas a esta pregunta aparte de aquella formulada en su época por Paracelsius.

c) **Muchos aditivos:** Tal opción dejaría la libre elección de productos alternativos según las necesidades tecnológicas y el desarrollo científico, con la condición de que estos productos sean debidamente evaluados en su toxicidad y debidamente registrados y controlados por las autoridades sanitarias.

Si la primera opción preocupa al toxicólogo, la segunda lo sorprende, mientras que la tercera, la cual considera la utilización libre de cualquier aditivo, lo deja bastante confuso. Si, como ya se ha comentado, no existe una respuesta a la pregunta si es mejor ser expuesto a una pequeña concentración de varios productos o a una concentración grande de pocas sustancias, disponemos todavía de algunas observaciones pragmáticas. Si aceptamos la teoría según la cual es la dosis la que hace la diferencia entre la inocuidad y la toxicidad, existen sin embargo

circunstancias en las cuales una dosis aunque infinitesimal puede ser extremadamente peligrosa. Por ejemplo la dosis mortal de neurotoxinas botulínicas está evaluada a 0.15- 0.20 microgramos por kilo. Esto quiere decir que solo 5 gramos de un alimento que contiene esta toxina puede ser fatal para el consumidor. Por otro lado 1 microgramo de aflatoxina B1 ya produce tumores en la rata.

La mayoría de los países occidentales ha optado por la alternativa de la exposición a dosis pequeñas de aditivos en los alimentos. Esta alternativa no ha sido escogida directamente en base a consideraciones de orden toxicológica, sino más bien en el contexto de un sistema social y económico existente.

No se puede negar, no obstante, que la toxicología se ha aprovechado de este sistema lo cual permitió estudiar un gran número de agentes químicos, incluidos los aditivos alimentarios. Mucho camino se ha recorrido desde la época de Paracelsus o de Orfila donde los principales agentes de conservación utilizados y conocidos eran la sal y el sol.

La tercera opción implica un continuo desafío a toda la sociedad que la adopta: a los científicos, a los consumidores, a la industria y a los gobiernos, un desafío, que quizás no tenga antecedentes en la historia de la seguridad alimentaria.

CONCLUSIONES

La aparente dicotomía entre producción-inocuidad es la principal causa de los debates sobre los aditivos alimentarios entre consumidores desorientados, industriales a la defensiva y desprevenidos organismos de regulación. Esta aparente dicotomía puede y debe ser solucionada. Como contribución a esta solución, este autor se permite formular algunos consejos que podrían servir de materia de reflexión y de verificación.

1) Por parte del consumidor:

- a) La excesiva preocupación en la selección de alimentos puede conducir a síndromes de carencia en el campo de la nutrición;
- b) La falta de un sentido crítico frente a malas informaciones puede engendrar trastornos síquicos sin razón;

2) Por parte de la industria y de la agricultura:

- a) El uso de buenas prácticas industriales y agrícolas puede contribuir a eliminar la mayor parte de los peligros causados por los aditivos, residuos de plaguicidas y contaminantes;
- b) La falta de controles de calidad, de una tecnología adecuada, de la puesta en práctica de los adelantos en la ciencia alimentaria, así como la insuficiente información toxicológica acerca de sus productos pueden conducir a desastrosos efectos para la salud pública y la economía;

3) Por parte de los organismos de reglamentación:

- a) El desarrollo y la observación de la más reciente información y adelantos en el campo de la toxicología alimentaria servirán para estabilizar los criterios de credibilidad ya sea en el ámbito nacional como internacional;
- b) La implementación continua de las medidas de control servirán para aumentar la confianza pública;

4) Por parte de la comunidad médico-científica:

- a) La seriedad científica basada en la pura observación de los hechos ayudará a eliminar el sensacionalismo y el charlatanismo científico;
- b) La adaptación de los adelantos en materia de toxicología evitará poner al alcance del interés privado, datos científicos mal fundados;

5) Por parte de los organismos de información:

- a) La información proveniente de profesionales bien orientados servirá para educar al consumidor;
- b) Los artículos de periódicos serios y de buena ética (que publican lo que se sabe y nada más) evitarán la conversión de problemas técnico-científicos en problemas políticos.

REFERENCIAS

1. Osterud, H.T., Tuft, E., y Holmes, M.A., Plumbism at the Green Parrot Goat Farm. *Clin. Toxicol.*, 6, 1-7, 1973.
2. Gilfillan, S.C., Lead poisoning and the fall of Rome. *J.Occup.Med.*, 7, 53-60, 1965.
3. OMS/FAO, Conferencia mixta FAO/OMS sobre los aditivos alimentarios (Primera Conferencia). OMS, Serie de Informes Técnicos, No. 107, 1956.
4. National Research Council (US-National Academy of Sciences). *Evaluation of Chemicals in Food*. Washington, D.C., 1970.
5. National Research Council (US-National Academy of Sciences). *Toxicants occurring naturally in food*. Washington, D.C., 1973.
6. Porcelli, G. y G. Folliero. *Additivi e coloranti negli alimenti*. Bulzoni Edit., Roma, 1977.
7. Swedish National Food Administration. *Swedish food regulations: Food additives*, 1976.
8. National Food Institute in Denmark. *List of approved food additives*. Octubre, 1977.
9. Japanese Union of Food Additives Associations. *Food Additives in Japan*. Fourth Edition, 1974.
10. Vettorazzi, G., *Handbook of International Food Regulatory Toxicology*. Vol.I. *Toxicological Methodology and Principles of Interpretation of Experimental Findings*. Spectrum Medical & Scientific Books, Inc., Jamaica, New York 11432, USA, 1980.
11. Vettorazzi, G. *International Regulatory Aspects for Pesticide Chemicals*. Vol.I. *Toxicity Profiles*, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida 33431, USA, 1979.
12. Council of Europe (Partial Agreement). *Natural and artificial flavoring substances*. Strasbourg, 1970.
13. Luckey, T.D., Introduction to food additives. In: Furia, T.E. (Ed.). *Handbook of Food Additives*. CRC, Ohio, USA, 1968.
14. Egan, H., y A.W. Hubbard, Food additives especificaciones. *Chem. Ind.*, 1971, 1181-83, 1971.
15. Kent-Jones, D.W., Modern food and food additives. *Chem.Ind.*, 1971, 1275-83, 1971.

16. Elias, P.S., Food additives, toxicology and the EEC. *Chem.Ind.* 1972, 139-44, 1972.
17. Vettorazzi, G., The safety evaluation of food additives: the dynamics of toxicological decisions. *Lebensm.-Wiss.U.- Technol.* 8, 192-201,1975.
18. Vettorazzi, G., Safety factors and their application in toxicological decisions. Proceedings of the Intern. Coll.on the Eval. of Tox. Data for the Protection of Public Health, pp.207-223, Luxembourg, December 7-8, 1976.

AN APPROACH TO THE EVALUATION OF THE CARCINOGENIC RISK OF CHEMICALS. THE IARC MONOGRAPHS PROGRAMME

J.R.P. Cabral

International Agency for Research on Cancer
World Health Organization
Lyon, France

OBJETIVE

In 1969, the International Agency for Research on Cancer (IARC) initiated a programme to evaluate qualitatively the carcinogenic risk of chemicals to humans. The objective of the programme has been to collect all available relevant epidemiological and experimental data on chemicals to which humans are known to be exposed and for which some evidence of carcinogenicity exists, to evaluate the data in terms of human risk with the help of international groups of experts and to publish the conclusions of those groups as a series of IARC monographs. Forty two volumes have been published or are in press (IARC, 1972-86). These evaluations are intended to assist national and international authorities in formulating decisions concerning preventive measures. The general principles used in the evaluation of the epidemiology and animal carcinogenicity data as well mutagenicity and other short-term test data will be illustrated with the help of a few selected examples.

CRITERIA FOR THE SELECTION OF CHEMICALS AND COMPLEX EXPOSURE FOR MONOGRAPHS

The chemicals (natural and synthetic) and complex exposures are selected for evaluation on the basis of two main criteria: a) there is evidence of human exposure, and b) there is some experimental evidence of carcinogenicity and/or there is some evidence or suspicion of a risk to humans. In certain instances, chemical analogues are also considered. The scientific literature is surveyed for published data relevant to the Monographs programme; the "IARC Survey of Chemicals Being Tested for Carcinogenicity" and the "Directory of On-going Research in Cancer Epidemiology" (IARC 1986 a,b) often indicate those chemicals that may be considered for future meetings.

WORKING PROCEDURES

Approximately one year in advance of a meeting of a working group, a list of substances or complex exposures to be considered, is prepared by IARC staff in consultation with other experts. Subsequently, all relevant biological data are collected by IARC. Representatives from industrial associations may assist in the preparation of sections describing industrial processes.

The collection of data and the preparation of first drafts for the sections on chemical or physical properties, on production and use, on occurrence and on analysis are carried out by Tracor Jitco (USA). Most of the data so obtained refer to USA and Japan. IARC attempts to supplement this information with that from other sources in Europe.

Six months before the meeting, reprints of articles containing relevant biological data are sent to the experts for the preparation of the first drafts. These drafts are compiled by IARC staff and sent, prior to the meeting, to all participants of the Working Group for their comments. With regard to biological data, only reports that have been published or accepted for publication are reviewed by the working groups, although a few exceptions have been made: in certain instances, reports from Government Agencies that have undergone peer review and widely available are considered. The monographs do not cite all of the literature on a particular chemical, only those data considered by the Working Group to be relevant to the evaluation of carcinogenic risk to humans are included.

GENERAL PRINCIPLES APPLIED BY THE WORKING GROUP IN EVALUATING CARCINOGENIC RISK OF CHEMICALS OR COMPLEX MIXTURES

A. Evidence for Carcinogenicity in Experimental Animals

In evaluating studies from experimental animals, both the interpretation and evaluation of a particular study as well as the overall assessment of the carcinogenic activity of a chemical (or complex mixture) involve several considerations of qualitative importance, including: (a) the experimental parameters under which the chemical was tested, including route of administration and exposure, species, strain, sex, age, etc; (b) the consistency with which the chemical has been shown to be carcinogenic e.g. in how many species and at which target organ(s); (c) the spectrum of neoplastic response, from benign neoplasms to multiple malignant tumours; (d) the stage of tumor formation in which a chemical may be involved. Some chemicals act as complete carcinogens and have initiating and promoting activity, while others may have mainly promoting activity; and (e) the possible role of modifying factors.

Many chemicals induce both benign and malignant tumours. Among chemicals that have been studied extensively, there are few instances in which the neoplasms induced are only benign. Benign tumours may represent a stage in the evolution of a malignant neoplasm or they may be "end-points" that do not readily undergo transition to malignancy.

Dose-response studies are important in the evaluation of carcinogenesis. The confidence with which a carcinogenic effect can be established is strengthened by the observation of an increasing incidence of neoplasms with increasing exposure.

The evidence of carcinogenicity in experimental animals is assessed by the working group and judged to fall into one of four groups, defined as follows:

- (1) Sufficient evidence of carcinogenicity is provided when there is an increased incidence of malignant tumours (a) in multiple species or strains; or (b) in multiple experiments (preferably with different routes of administration or using different dose levels); or (c) to an unusual degree with regard to incidence, site or type of tumour, or age at onset. Additional evidence may be provided by data on dose-response effects.
- (2) Limited evidence of carcinogenicity is available when the data suggest a carcinogenic effect but are limited because (a) the studies involve a single species, strain or experiment; or (b) the experiments are restricted by inadequate period of follow-up, poor survival, too few animals, or inadequate reporting; or (c) the neoplasms produced often occur spontaneously and, in the past, have been difficult to classify as malignant by histological criteria alone (e.g., lung and liver tumours in certain strains of mice).
- (3) Inadequate evidence is available when, because of major qualitative or quantitative limitations, the studies cannot be interpreted as showing either the presence or absence of a carcinogenic effect.
- (4) No evidence applies when several adequate studies are available which show that, within the limits of the tests used, the chemical or complex mixture is not carcinogenic.

It should be noted that the categories sufficient evidence and limited evidence refer only to the strength of the experimental evidence that these chemicals or complex mixtures are carcinogenic and not to the extent of their carcinogenic activity nor to the mechanism involved. The classification of any chemical may change as new information becomes available.

B. Mutagenicity and Other Short-Term Test Data

Most established short-term tests for mutagenicity employ as end-points well defined genetic markers in prokaryotes and lower eukaryotes and in mammalian cell lines. The tests can be grouped according to the end-point detected:

- (1) Tests of DNA damage. These include tests for covalent binding to DNA, induction of DNA breakage or repair, induction of prophage in bacteria and differential survival of DNA repair-proficient/deficient strain of bacteria.
- (2) Tests of mutation (measurement of heritable alterations in phenotype and/or genotype). These include tests for detection of the loss of alteration of a gene product, and change of function through forward or reverse mutation, recombination and gene conversion; they may involve the nuclear genome, the mitochondrial genome, and resident viral or plasmid genomes.
- (3) Tests of chromosomal effects. These include tests for detection of changes in chromosome number (aneuploidy), structural chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges, micronuclei and dominant-lethal events. This classification does not imply that some chromosomal effects are not mutational events.

- (4) Tests for cell transformation, which monitor the production of preneoplastic or neoplastic cells in culture, are also of importance because they attempt to simulate essential steps in cellular carcinogenesis. These assays are not grouped with those listed above since the mechanisms by which chemicals induce cell transformation may not necessarily be the result of genetic changes.

The data from short-term tests are summarized by the working group and the test results tabulated as positive, negative or equivocal according to the end-points detected and the biological complexities of the test systems (see the example shown in Table 1).

An overall assessment of the evidence for genetic activity is then made on the basis of the entries in the Table 1, and the evidence is judged to fall into one of four categories, defined as follows:

- (1) **Sufficient evidence** is provided by at least three positive entries, one of which must involve mammalian cells in vitro or in vivo and which must include at least two of three end-points- DNA damage, mutation, and chromosomal effects.
- (2) **Limited evidence** is provided by at least two positive entries.
- (3) **Inadequate evidence** is available when there is only one positive entry or when there are too few data to permit an evaluation of an absence of genetic activity, or when there are unexplained, inconsistent findings in different test systems.
- (4) **No evidence** applies when there are only negative entries; these must include entries for at least two end-points and two levels of biological complexity, one of which must involve mammalian cells in vitro or in vivo.

In general, emphasis is placed on positive results; however, in view of the limitations of current knowledge about mechanisms of carcinogenesis, certain cautions should be respected: (a) at present, short-term tests should not be used by themselves to conclude whether or not an agent is carcinogenic, nor can they predict reliably the relative potencies of compounds as carcinogens in intact animals. (b) Since the currently available tests do not detect all classes of agents that are active in the carcinogenic process (e.g.hormones), one must be cautious in utilizing these tests as the sole criterion for setting priorities in carcinogenesis research and in selecting compounds for animal bioassays. (c) Negative results from short-term tests cannot be considered as evidence to rule out carcinogenicity, nor does lack of demonstrable genetic activity attribute an epigenetic or any other property to a substance.

**Table 1 - Overall assessment of data from short-term tests:
CYCLOPHOSPHAMIDE**

	GENETIC ACTIVITY			
	DNA damage	Mutation	Chromosomal effects	Other
Prokaryotes	+	+		
Fungi/green plants		+	+	
Insects		+		DL (-)
Mammalian cells (in vitro)	+	+	+	T (+)
Mammals (in vivo)		+	+	DL (+)
Humans (in vivo)			+	

Degree of evidence in short-term tests for genetic activity:sufficient

C. Evaluation of Carcinogenicity in Humans

Evidence of carcinogenicity can be derived from case reports, descriptive epidemiological studies and analytical epidemiological studies.

An analytical study that shows a positive association between an exposure and a cancer may be interpreted as implying causality to a greater or lesser extent, on the basis of the following criteria: (a) there is no identifiable positive bias. By 'positive bias' is meant the operation of factors in study design or execution that lead erroneously to a more strongly positive association between an exposure and disease than in fact exists. Examples of positive bias include, in case-control studies, better documentation of the exposure for cases than for controls, and, in cohort studies, the use of better means of detecting cancer in exposed individuals than in individuals exposed. (b) The possibility of positive confounding has been considered. By 'positive confounding' is meant a situation in which the relationship between an exposure and a disease is rendered more strongly positive than it truly is as a result of an association between that exposure and another exposure which either causes or prevents the

disease. An example of positive confounding is the association between coffee consumption and lung cancer, which results from their joint association with cigarette smoking. (c) The association is unlikely to be due to chance alone. (d) The association is strong. (e) There is a dose-response relationship.

In some instances, a single epidemiological study may be strongly indicative of a cause-effect relationship. However, the most convincing evidence of causality comes when several independent studies done under different circumstances result in 'positive' findings.

Analytical epidemiological studies that show no association between an exposure and a cancer ('negative' studies) should be interpreted according to criteria analogous to those listed above: (a) there is no identifiable negative bias; (b) the possibility of negative confounding has been considered; and (c) the possible effects of misclassification of exposure or outcome have been weighed. In addition, it must be recognized that the probability that a given study can detect a certain effect is limited by its size. This can be perceived from the confidence limits around the estimate of association or relative risk. In a study regarded as 'negative', the upper confidence limit may indicate a relative risk substantially greater than unity; in that case, the study excludes only relative risks that are above the upper limit. This usually means that a 'negative' study must be large to be convincing. Confidence in a 'negative' result is increased when several independent studies carried out under different circumstances are in agreement. Finally, a 'negative' study may be considered to be relevant only to dose levels within or below the range of those observed in the study and is pertinent only if sufficient time has elapsed since first human exposure to the agent. Experience with human cancers of known etiology suggests that the period from first exposure to a chemical carcinogen to development of clinically observed cancer is usually measured in decades and may be in excess of 30 years.

The evidence for carcinogenicity from studies in humans is assessed by the working group and judged to fall into one of four groups, defined as follows:

1. **Sufficient evidence** of carcinogenicity indicates that there is a causal relationship between the exposure and human cancer.
2. **Limited evidence** of carcinogenicity indicates that a causal interpretation is credible, but that alternative explanations, such as chance, bias or confounding, could not adequately be excluded.
3. **Inadequate evidence**, which applies to both positive and negative evidence, indicates that one of two conditions prevailed: (a) there are few pertinent data; or (b) the available studies, while showing evidence of association, do not exclude chance, bias or confounding.
4. **No evidence** applies when several adequate studies are available which do not show evidence of carcinogenicity.

D. Relevance of Experimental Data to the Evaluation of the Carcinogenicity of Drugs

Long-term carcinogenicity studies have been conducted on a relatively small number of drugs. Drugs evaluated by IARC as definitely carcinogenic or suspect of being carcinogenic in experimental animals are listed in Tables 2 and 3. Results of experimental studies and their relationship to observations in humans raise a series of problems, in terms both of public health and basic knowledge.

- a) Drugs for which there are positive findings for humans or laboratory animals. No qualitative differences seem to exist between laboratory animals and humans as far as their susceptibility to drugs recognized as carcinogenic to man is concerned. Among treatments listed in Table 4, mixtures of anticancer agents, analgesic abuse, conjugated estrogens and combined oral contraceptives are not easy to test in the laboratory. However, procarbazine, nitrogen mustard, phenacetin, ethinyloestradiol, mestranol, 17-B oestradiol and norethisterone are carcinogenic in experimental animals. Chlorambucil, cyclophosphamide, melphalam, diethylstilboestrol and methoxsalen + UVA have been shown to be carcinogenic in both humans and laboratory animals (Table 2). The **limited evidence** for experimental carcinogenicity of azathioprine, myleran and chlornaphazine (Table 3) may be due to the small size of the studies. There are no experiments reported on treosulphan. Arsenic and derivatives have been considered as one of the few examples of a chemical failing to reproduce in animals the carcinogenic effect known to occur in humans. However, recent observations indicate that under certain experimental conditions arsenic trioxide produces cancer in laboratory animals.
- b) The experimental findings for drugs with **limited evidence** of carcinogenicity in humans (Table 5). For most of the drugs listed no conclusion can be drawn from the animal studies because of inadequacies in the experiments. The findings with phenytoin are difficult to interpret due to contradictory results observed in different strains and to unusual experimental conditions. There are no animal studies on oxymetholone. The carcinogenicity of chloramphenicol has not been adequately tested. Of all the drugs listed in Table 5 only phenacetin was adequately studied and the experimental results consistently indicate **sufficient evidence** of carcinogenicity.
- c) Drugs for which the suggestions of carcinogenicity in laboratory animals seem to contradict 'negative' human data: Tables 2 and 3 list a number of drugs with either **sufficient** or **limited evidence** for carcinogenicity in laboratory animals. For some of these drugs some data have been reported on carcinogenicity in humans. The quality of such observations in man is far from homogeneous. We have already dealt with a few examples in which there is correspondence between human and animal data. For some other drugs the observations in man are limited to sporadic case reports or inadequate studies, which are hardly meaningful. For one last group, comparisons can be made on more reliable observations (e.g. isonicotinic acid hydrazide, dapson). These two drugs are respectively used for the treatment of tuberculosis and leprosy. Epidemiological observations have suggested no cancer excess in leprosy patients. A possible excess of lung cancer in tuberculosis patients has been suggested, for which a role of isonicotinic acid hydrazide is far from being established. For these two drugs the comparisons between human and animal are complicated by inconsis-

tencies of the experimental findings. Both have been adequately studied in laboratory animals and were found to produce tumours in one species but not in others (isonicotinic acid hydrazide only produces lung tumours in mice). Depsone is not mutagenic in Salmonella whereas isonicotinic acid hydrazide gave inconsistent results in a series of short-term tests. In the case of these two drugs the priority for research should be centered on the understanding of mechanisms of action both in conditions which produced cancer in laboratory animals and in those which it did not.

Table 2: Drugs for which there is Considered to be SUFFICIENT EVIDENCE, for Carcinogenicity in Experimental Animals (IARC, 1982)

Antineoplastic Agents	
Adriamycin	Azaserine
BCNU	Chlorambucil
CCNU	Decarbazine
Daunomycin	Melphalen
Merphalan	Mitomycin C
Nitrogen Mustard	Procarbazine
Streptozotocin	Thiotepa
Sex Hormones	
Diethylstilboestrol	Ethinylloestradiol
Mestranol	Norethisterone
Oestradiol-17B	Oestrone
Progesterone	Testosterone
Antithyroid Agents	
Methylthiouracil	Propylthiouracil
Drugs used for the control of infectious or parasitic diseases	
Furaltadone	Furium
Metronidazole	Nifuradine
Niridazole	Panfuran S
Miscellaneous	
Cyclophosphamide (antineoplastic and immunosuppressive agent)	
Iron-dextran complex (control of iron-deficiency anaemia)	
Methoxsalen + Ultraviolet A therapy (antipaoriasis, control of skin vitiligo)	
Phenacetin (analgesic and antipyretic)	
Phenazopyridine (analgesic and antiseptic)	
Phenoxybenzamine (-adrenergic blocking agents)	

Table 3: Drugs for which there is Considered to be LIMITED EVIDENCE for Carcinogenicity in Experimental Animals (IARC, 1982)

Antineoplastic and Immunosuppressive agents

Actinomycin D	Azathioprine
Chlornaphazine	Cisplatin
Myleran	

Sex Hormones

Chlormadinone acetate	Ethinodiol diacetate
Medroxyprogesterone ac.	Megestrol acetate
Norethynodrel	

Miscellaneous

Clofibrate (treatment of hyperlipidemia)
Dapsone (treatment of leprosy and oermatitis herpetiformis)
Hydralazine (antihypertensive agent)
Isonicotinic acid hydrazide (treatment of tbc)
Phenelzine (monoaminooxidase inhibitor)
Phenobarbital sodium (hypnotic, sedative, antiepileptic)
Phenytoin (antiepileptic)
Reserpine (antihypertensive agent)
Rifampicin (treatment of tbc and other infectious diseases)
Spironolactone (aldosterone antagonist)
Sulfamethoxazole (antibacterial agent)

Table 4: Drugs and Therapeutic Treatment Causally Associated to Cancer in Man and their Target Organs (IARC, 1982)

	Target Organs		
	Sufficient evidence	Plausible	Mints
Azathioprine	lymphoma	liver soft tissues skin(total)	lung thyroid leukaemia bladder melanoma
Chlorambucil	leukaemia		
Cyclophosphamide	bladder	leukaemia	skin(total) lymphatic and hematopoietic system(total)
Melphalan	leukaemia		
Myleran	leukaemia		
Treosulphan	leukaemia		
Chlornaphazine	bladder		
Diethylstilbestrol	cervix vagina	endometrium	breast ovary
MOPP*	leukaemia		lymphoma
Methoxsalen + Ultraviolet radiation	skin(total)		
Analgesic mixtures containing phenacetin	renal pelvis	bladder	ureter
Arsenic and certain As compounds	lung skin(total)	liver**	lymphatic and hematopoietic system(total)
Conjugated estrogens	endometrium		breast ovary testis
Combined oral contraceptives	liver adenoma		breast cervix

* Nitrogen mustard, Procarbazine, vincristin and prednisone

** angiosarcoma

Table 5: Drugs with Limited Evidence for Carcinogenicity to Humans (IARC, 1982)

Drug	Reasons for uncertainty	Suggested target organs	Evidence for experimental carcinogenicity
Phenacetin	confounding by other analgesics	renal pelvis	sufficient
Chloramphenicol	association only in patients with bone marrow depression	leukaemia	inadequate
Dienoestrol	confounding by other estrogens	vagina endometrium	inadequate
Oximetholone	case reports and case series only	liver	no data
Phenytoin	case reports only	neuroblastoma neural crest	limited
Combined oral contraceptives	case reports and case series only	liver (malignant tumours)	
Sequential oral contraceptives	findings in contrast with apparent protective effect of combined contraceptives	endometrium	

CONCLUSIONS

Only epidemiological evidence can be used to conclude that a chemical is carcinogenic to humans. As emphasized in the relevant paragraphs above most of the known human carcinogens have been found to be carcinogenic in laboratory animals. For many of the chemicals evaluated in the IARC Monographs for which there is sufficient evidence of carcinogenicity in animals, data relating to carcinogenicity for humans are either insufficient or nonexistent. In the absence of adequate data on humans, it is reasonable, for practical purposes, to regard chemicals for which there is sufficient evidence of carcinogenicity in animals as if they presented a carcinogenic risk to humans.

Extrapolation to man is a very difficult process. The ideal would be to study the mechanisms of carcinogenesis involved in increasing the tumour incidence in experimental animals and to try to determine whether such mechanisms would be applicable to man. In the present stage of our knowledge, it would be difficult to define a predictable relationship between the dose of a particular chemical required to produce cancer in test animals and the dose that would produce a similar incidence of cancer in humans. Some data, however, suggest that such a relationship may exist, at least for certain classes of carcinogenic chemicals, although no acceptable method is currently available for quantifying the possible errors that may be involved in such extrapolation procedure.

Hazards from toxic chemicals depend upon how they are used. What might be done to protect people from the introduction of drugs that could put some or all of them at some risk? One could aim at least two of a few targets (a) better education: which would be aimed at the persons responsible for the administration and distribution of drugs so that only people in real need received drugs which were of recognised value and of proven safety; (b) better information: through the establishment of registers of drugs already in the market and of priorities for evaluating such drugs for carcinogenicity and the establishment of comprehensive registers of information on the positive as well as the negative results of long-term carcinogenicity studies carried out on chemicals including drugs; (c) more research: continuous support for research might make it possible to distinguish between safe and dangerous drugs before they are given to large numbers of people.

REFERENCES

1. IARC (1972-1986) IARC MONOGRAPHS on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Volumes 1-42, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
2. IARC (1982) IARC MONOGRAPHS on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Supplement 4, Volumes 1 to 29, Chemicals, Industrial Processes and Industries Associated with Cancer in Humans, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
3. IARC (1980) IARC MONOGRAPHS on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Supplement 2, Long-term and Short-Term Screening Assays for Carcinogens: a Critical Appraisal, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
4. IARC (1986) IARC MONOGRAPHS on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Updating of Supplement 2, Long-term and Short-Term Screening Assays for Carcinogens: a Critical Appraisal, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, in press.
5. IARC (1979) Criteria to select chemicals for IARC Monographs. IARC Internal Technical Report No. 79/003, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
6. IARC (1986a) Information Bulletin on the Survey of Chemicals being Tested for Carcinogenicity (No.12) International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
7. IARC (1986b) Directory of on-going Research in Cancer Epidemiology. eds: C.S. Muir and G. Wagner, IARC Scientific Publications No 80, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.

BIOCHEMICAL MECHANISMS OF TOXICITY

R. Walker

University of Surrey
Surrey, England

INTRODUCTION

Most, if not all, pathological lesions encountered in the toxicology of chemicals result from biochemical lesions i.e. derangements of the biochemical processes involved in the function and regulation of the cells, tissues, organs and organisms. Furthermore, differences in the biochemical processes involved in metabolic activation and detoxication also have a major influence on the nature of the toxic response with respect to organotropism or interspecies differences in sensitivity to toxic chemicals. Clearly it is not possible to deal with each of these aspects in detail and it has been necessary to be extremely selective in taking a limited number of examples which illustrate some basic principles which are important in toxicological evaluation of chemicals.

The fact that biochemical lesions are fundamental to the structure or functional changes which characterise toxicity does not mean that every detectable biochemical change in an organism represents a toxic response. The normal metabolic processes have a limited capacity to adapt to environmental influences without adverse effects on the organism and the normal homeostatic mechanisms depend on this adaptability. Conversely, overloading of metabolic processes beyond their ability to adapt can lead to tissue injury and thus any compound, whether nutrient or xenobiotic, has the potential to cause injury if ingested and absorbed in sufficient quantity. It follows that, for most compounds, there exists a threshold level of exposure below which there are no toxic consequences but above which dose dependent toxicity is observed. However, it may be difficult to determine whether a particular, detectable biochemical change should be considered adaptive or adverse and hence to define the "no observable adverse effect level". In fact, it may be argued that the concept does not apply to genotoxic carcinogens (the so-called "single-hit" carcinogens) but this argument overlooks the ability of the cell to repair damage to DNA and of the immune system to detect aberrant mutant cells. This point will be discussed in more detail later.

The concept that toxicity becomes manifest when particular metabolic pathways are deranged or overloaded is fundamental to biochemical toxicology and has important consequences in safety evaluation. Particular examples will be discussed below together with the role of biochemical processes in detoxication or metabolic activation of xenobiotics.

OVERLOADING OF BIOCHEMICAL PROCESSES

(a) Congenital Metabolic Deficiencies

The adverse effects of metabolic overload are most readily seen in the cases of congenital metabolic disorders where dietary concentrations of nutrients which are normally well tolerated elicit an adverse effect i.e. normal dietary constituents may be toxic at relatively low doses. For example, in phenylketonuria (PKU) there is a genetic deficiency of phenylalanine hydroxylase which is involved in converting phenylalanine to tyrosine. Consequently, when ingested at normal dietary levels in protein, phenylalanine and its pyruvate, lactate and acetate derivatives accumulate in blood and cerebrospinal fluid leading to toxic manifestations of severe mental deficiency, neural and dermal lesions and premature death. However, phenylalanine is an essential amino acid even for sufferers of PKU so intakes have to be regulated carefully. The phenylalanine hydroxylase deficiency thus reduces the threshold of toxicity to only slightly above the dose which is physiologically and nutritionally required.

Another congenital disorder, galactosaemia, is due to deficiency of a specific enzyme, galactose-1-phosphate uridyl transferase, involved in converting galactose to glucose. Consequently, dietary galactose (and lactose) elicits toxic symptoms varying in severity from vomiting and weight loss to severe liver injury, jaundice and death.

While these examples serve to illustrate the effects which occur when particular metabolic pathways are blocked due to congenital deficiencies of specific enzymes, they also indicate the sort of adverse effects which might follow the administration of an enzyme inhibitor leading to overloading or total blockage of a biochemical pathway involved in normal metabolic processes. They also serve to warn that the activities of specific enzymes are not immutable and may vary with species or between individuals of the same species. Thus care is needed in extrapolating results of toxicity tests and a knowledge of the biochemical basis of toxicity is essential if this is to have a logical basis.

An example from human toxicology where reduced activity of certain enzymes leads to increased toxicity is seen in the condition of **favism** where susceptible individuals present with acute haemolytic anaemia, often accompanied by fever and, in extreme cases, jaundice after ingesting fava beans (broad beans; *Vicia faba*). The toxic principles in the beans have been identified as divicine and isouramil which are present as their 5-B-glucosides, vicine and convicine; L-dopa also plays a synergistic role. These compounds cause oxidation of glutathione in the erythrocyte which upsets the intracellular redox balance leading to membrane oxidation and haemolysis. Normally glutathione is maintained in the reduced form by an NADPH-dependent glutathione reductase and the reducing equivalents are supplied in the form of NADPH via the pentose phosphate pathway and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH). In normal circumstances, the flow of electrons through to glutathione reductase is adequate and vicine and convicine have relatively low toxicity. However, in susceptible individuals, the activity of G-6-PDH in the erythrocyte is lower than normal and the consequent virtually irreversible oxidation of glutathione leads to lysis of the cell.

G-6-PDH-deficiency has also been associated with an increased susceptibility to methaemoglobinemia by increasing oxidation of haemoglobin or due to depletion of the reducing equivalents required for the reduction of methaemoglobin by a specific reductase (see below).

b) Overload of Specific Enzymes

While the examples cited above may be considered to reflect congenital disorders rather than toxicity per se, the situation is a spectrum in which endogenous activity of an enzyme may vary from zero, where genes coding for the enzyme are defective in the homozygous state, through a range of reduced activities associated with heterozygous deficiency or changes in the functionality or rate of enzyme turnover to what might be considered "normal". The threshold level above which toxicity is manifest may thus be well defined in a highly inbred strain of laboratory animal but highly variable between individuals of a heterogeneous population. However, within the range of what is normal, it is possible to give a rational basis to the "no observable adverse effect level" if the toxicity is known to result from metabolic overload and the quantitative aspects of the toxic mechanism may be better understood.

An example of a situation where metabolic overload determines the threshold of toxicity is seen in the case of methaemoglobinaemia mentioned above. Methaemoglobinaemia is a feature of the toxicity of aniline and some other aromatic amines, hydroxylamines, azo compounds (which are reduced to amines by the gut microflora prior to absorption) and nitrate/nitrite. From the dose-response relationship for azo food colour, Red 2G (Table 1) it can be seen that, in the strain of rat used, blood methaemoglobin levels were about 10% of the circulating haemoglobin and that this level was unaffected by dietary administration of the dye at levels up to 0.1%. At the higher dose of 1% of the diet, an increase of about two-fold was seen in the level of methaemoglobin.

Table 1. Dose-response relationship between Red 2G and methaemoglobinaemia in the rat (Hall, 1975)

Dietary level of Red 2G (%)	0	0.01	0.1	1.0
Methaemoglobin (g/100 ml)	1.45	1.26	1.24	2.28
Methaemoglobin (% of Hb)	10.6	9.17	9.07	19.38

In normal circumstances, there is an equilibrium between circulating haemoglobin and endogenously generated methaemoglobin. The latter is reduced by methaemoglobin reductase and only when this mechanism is overloaded i.e. when haemoglobin is oxidised to methaemoglobin faster than the reduction, does the circulating methaemoglobin level start to rise in a dose dependent way. Initially, the rise may be asymptomatic and reversible but at higher dose levels anoxia may become apparent. Chronic sub-lethal methaemoglobinaemia gives rise to splenomegaly and increased haemopoiesis.

Interspecies differences in susceptibility to compounds which cause methaemoglobinaemia support the conclusion that the limiting factor is methaemoglobin-reductase activity. Thus, methaemoglobin reductase activity is lower in cattle than sheep and, while in both species, nitrate ingested in plants is reduced to nitrite in the rumen before absorption, cattle are more sensitive to the acute toxic effects; there are many cases of cattle suffering fatal methaemoglobinaemia after ingesting plants which had accumulated high levels of nitrate during drought.

Neonatal human infants, too, are particularly sensitive to nitrite-induced methaemoglobinaemia due in part to the fact that fetal haemoglobin (which comprises 60-80% of circulating

haemoglobin at birth) is more readily oxidised than the mature form but also due to the reductase activity not being fully established at birth. Such age-related differences in enzyme activity are not uncommon and, in many species, mature levels of the hepatic enzymes involved in metabolism of xenobiotics are not established until weaning and may diminish in old age. This emphasises the need in safety evaluation to perform toxicity tests covering all ages and stages of development.

Individuals who are congenitally deficient in G-6-PDH are also more sensitive to chemically induced methaemoglobinaemia, presumably due to a deficit in the reducing equivalents required by the methaemoglobin reductase which adds further substance to the proposed mechanism of toxicity being one of metabolic overload.

Overload of intestinal hydrolases or transport processes involved in absorption is a common cause of gastro-intestinal pathology of orally-administered compounds. This may take the form initially of an osmotic diarrhoea, such as is seen with lactose when lactase activity is overloaded. Other poorly absorbed sugars, sugar alcohols or indeed other polar compounds may produce similar effects. Chemical modification of starches may render them more resistant to intestinal amylases, again with similar results. In the rat, such compounds cause caecal enlargement which may initially be an adaptive response to maintain normal osmolality in the presence of osmotically active materials in the lower gut. However, overloading the absorptive processes in this way can lead to secondary changes in the function of the gut wall resulting in adverse effects at remote sites and this serves to illustrate the complexities of homeostatic regulation (see section on Secondary Effects below).

(c) Inhibition of Specific Enzymes

Many toxic compounds exert their toxic effect by inhibition of key enzymes involved in cell function regulation or replication. Such enzyme inhibitors may themselves be toxic by interfering in essential metabolic processes or, by producing a condition analogous to enzyme deficiency, they may increase the toxicity of other substances to which the organism is exposed.

Numerous examples could be cited of toxic compounds which act by enzyme inhibition but a few examples must serve to illustrate the phenomenon. Among these might be cited the cholinesterase inhibitors which may be naturally occurring like the glycoalkaloid solanine, or synthetic like some carbamate and organophosphorus pesticides and nerve gases. The cholinesterase inhibitors block the hydrolysis of acetylcholine which is involved in terminating the neurotransmitter action of acetylcholine in the synaptic nerve endings in the nervous system and smooth muscle. Toxic effects are observed when the activity is reduced to about 50 % normal while at 80-90% inhibition death results from respiratory failure due to a combination of neuromuscular paralysis and central nervous system (CNS) depression.

The inhibition by cholinesterase inhibitors involves blockade of the active site of the enzyme at which a serine hydroxyl group normally reacts with the carbonyl carbon of acetylcholine, cleaving the ester bond and becoming acetylated. Spontaneous hydrolysis of the acetylated enzyme then occurs regenerating the active form. The inhibitor acts as a pseudo-substrate forming, for example, a phosphorylated or carbamylated enzyme which is only slowly hydrolysed and thus effectively blocking the ester-hydrolysis site (Figure 1). Thus the toxicity depends on the affinity of the pseudo-substrate for the enzyme and the rate of regeneration of the active enzyme. This is a common feature of a number of toxic enzyme inhibitors.

The antitubercular drug, isoniazid, causes peripheral nerve degeneration on chronic ad-

ministration, the basis of which is interference with vitamin B 6 metabolism. Isoniazid reacts with pyridoxal phosphate to form a hydrazone (Figure 2) which is a potent inhibitor of pyridoxal phosphate kinase with a much greater affinity for the enzyme than the normal substrate. As a result, the tissues are depleted of pyridoxal phosphate which is important, particularly in nerve tissue, as cofactor for decarboxylases and transaminases. The decarboxylation reactions are most markedly affected.

Among the many drugs which exert their effect by selective enzyme inhibition may be included anti-depressant monoamine oxidase (MAO) inhibitors such as tranlycypromine. MAO is involved in the regulation and detoxication of pressor amines such as tyramine, tryptamine, serotonin, norepinephrine and histamine. The pressor amines act as potent vasoconstrictors causing an elevation of blood pressure and some foods such as banana, cheeses, sauerkraut and some wines may contain substantial quantities of these amines. Hence inhibition of their metabolic deactivation can effectively increase the toxicity of foods which contain them leading to a dramatic increase in blood pressure culminating in some instances in a hypertensive crisis such as cerebral haemorrhage.

Inhibitors of nucleic acid or protein synthesis might be expected to exert a general cytotoxic effect and this is the case, but the rapidly dividing cells of the bone marrow and the gastrointestinal mucosa are particularly vulnerable. Such inhibitors may be useful in the chemotherapy of tumours and cytotoxic drugs are indeed used in this way but there are limitations due to the effects mentioned. Further, interference with cell replication may affect embryogenesis and, for example, 5-fluorouracil which inhibits thymidylate synthetase and cytosine arabinoside, an inhibitor of DNA polymerase are both teratogenic.

Inhibition of RNA polymerases and consequently of protein synthesis by Rifampicin or amanitin leads to the development of fatty liver in the rat and it has been suggested that this is due to impaired synthesis of the apoprotein moiety of the very low density lipoproteins and/or their export. Carbon tetrachloride and ethionine both cause fatty liver by inhibiting protein synthesis whereas hydrazine does so by effects on lipid uptake/synthesis.

Inhibition of protein synthesis is associated with inhibition of DNA synthesis and direct inhibitors of DNA synthesis (such as hydroxyurea or cytosine arabinoside) are cytotoxic. However, the situation is not simple since inhibition of protein synthesis by cycloheximide to the extent of 90 % interrupts the cell cycle in rapidly dividing somatic cells e.g. of the intestinal mucosa, without causing cell death. Cycloheximide, like puromycin, acts by blocking transfer of rRNA.

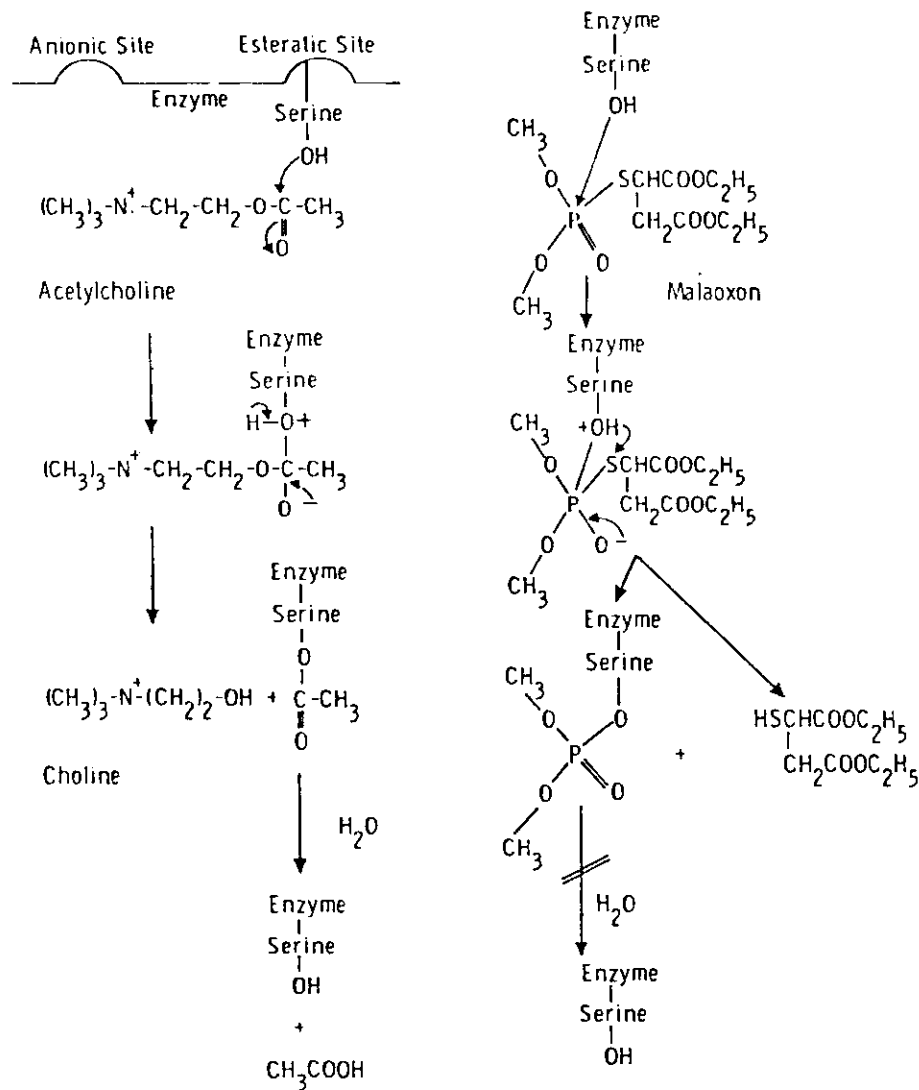


Figure 1 - Mechanism of hydrolysis of acetylcholine by acetylcholinesterase and blockade of the enzyme by malaoxon. With malaoxon as substrate, the final step, regeneration of the enzyme by hydrolysis, is blocked (⊕) leading to inactivated enzyme.

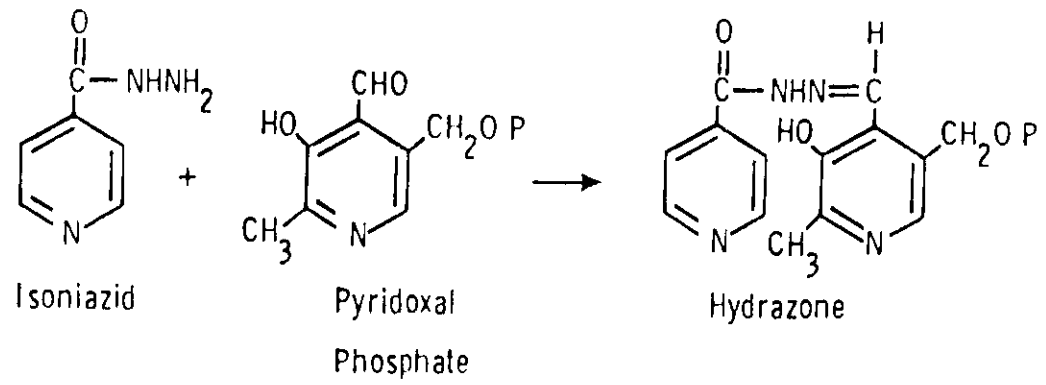


Figura 2 - Reaction of isoniazid with pyridoxal phosphate to form a hydrazone

SECONDARY TOXIC EFFECTS

Caecal enlargement in the rat is not uncommonly accompanied by nephrocalcinosis, a condition which has also been associated with magnesium deficiency and an imbalance in the dietary calcium: phosphate ratio. Normally blood calcium levels are regulated by homeostatic mechanisms involving vitamin D and parathyroid hormone (PTH) as shown in Figure 3. Vitamin D must undergo two hydroxylation steps before it can function on the target cells in the gut and bone. The first hydroxylation step to 25-hydroxy vitamin D takes place in the liver which is then transported to the kidney bound to a carrier protein. A second hydroxylation to 1,25-dihydroxy vitamin D occurs in the kidney and this metabolite is the active form of the vitamin, resembling a hormone in its mode of action. 1,25-(OH)₂-vitamin D acts on target cells in the intestine, bone and kidney, stimulating absorption or mobilisation of calcium and possibly resorption from urine in the tubules. Control of this process is effected at the 1-hydroxylation stage via the trophic effect of PTH. Hypocalcaemia leads to increased PTH secretion which stimulates the 25-OH-vitamin D-1-hydroxylase and increases production of 1,25-(OH)₂-vitamin D in the kidney. This in turn increases synthesis of calcium-binding protein and calcium absorption in the gut, and mobilisation of bone calcium. Phosphate is also involved in the regulatory process, hypophosphataemia increasing synthesis of 1,25-(OH)₂-vitamin D but without affecting PTH secretion.

This delicate homeostatic mechanism can be overloaded or deranged in a number of ways. In the case of caecal enlargement, calcium absorption is facilitated by a non-vitamin D regulated process and the resultant hypercalcaemia may be compensated by renal excretion, leading to the solubility product of calcium phosphate or other sparingly soluble calcium salts being exceeded with calcium deposition in the kidney i.e. nephrocalcinosis. This situation may be exaggerated by a dietary imbalance in the calcium: phosphorus ratio as a result of the regulatory role of phosphate independent of PTH. Experimental diets containing microbial biomass with a high phosphorus content have given rise to nephrocalcinosis, presumably by this mechanism.

Thus, what started as an intestinal overload of hydrolytic or absorptive mechanisms can be seen to have far reaching consequences with pathology at the distant site of the kidney. And the situation does not stop there; the hypercalcaemia associated with facilitated calcium absorption can also give rise to adrenal medullary hyperplasia which, in chronic studies, may progress to neoplasia (phaeochromocytoma). This situation, then, resembles the adrenal changes associated with hyperparathyroidism.

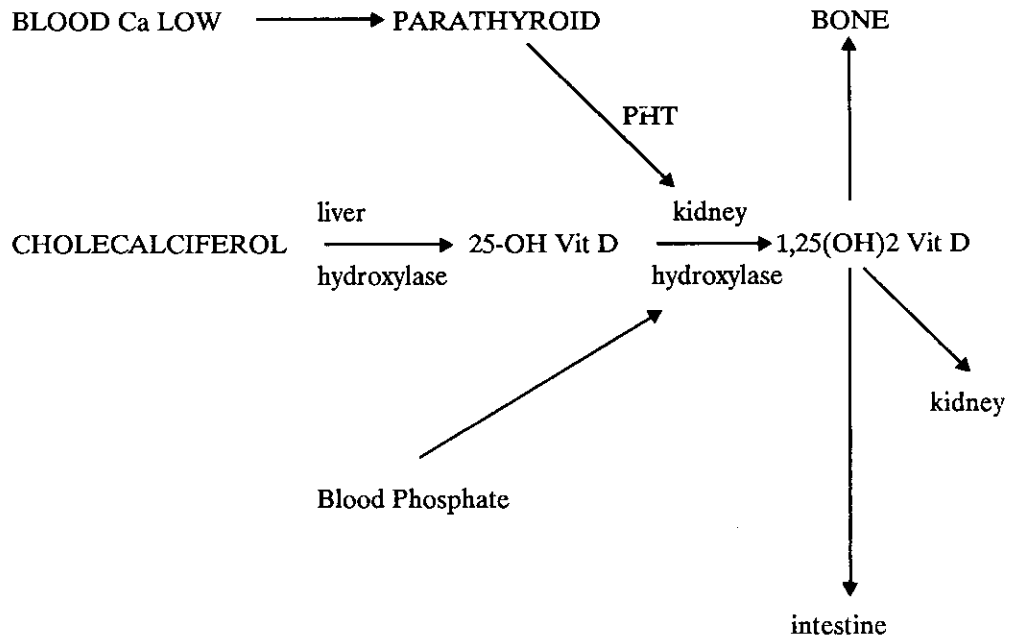


Figure 3. Mechanism of Calcium Absorption Involving Vitamin D, Parathyroid Hormone (PTH) and Blood Phosphate

DETOXICATION AND METABOLIC ACTIVATION

The metabolism of a compound frequently is a major determinant of toxicity. In general, xenobiotics are metabolised in two phases, the first phase involving introduction or unmasking of polar functional groups and the second consisting of conjugation reactions with endogenous substrates such as glucuronic acid, sulphate, amino acids or glutathione. The net result of this series of reactions is that the compound is rendered more polar and may then be excreted in urine or bile. Since this facilitation of excretion prevents accumulation in the body, the term "detoxication mechanisms" was coined to describe these processes - but in some cases this may be a misnomer.

The enzymes involved in biotransformation vary with the structure of the compound in question but a central role in the Phase I reactions is played by a family of mixed function mono-oxygenases of the cytochrome P450 group. However, other oxygenases may also be involved e.g. flavoproteins involved in oxidation of amino compounds and the cyclo-oxygenase involved in prostanoid biosynthesis which may also catalyse the N-hydroxylation of some aminoimidazo carcinogens.

Cytochromes P450 are present in greatest quantity in liver but relatively high levels are also found in lung and kidney where, in addition to oxidation/hydroxylation of xenobiotics, they are also involved in metabolism of endogenous compounds such as steroids. The types of reaction catalysed by these enzymes is shown in table 2. There are significant differences in the amount and type of Cytochrome P450 isoenzymes between tissues, sexes and species and this frequently is associated in differences in organotropism and sensitivity. The primary metabolites commonly undergo secondary (Phase II) reactions prior to excretion.

Although these metabolic processes commonly facilitate excretion and reduce the toxicity of non-polar, lipophilic compounds, in some cases the metabolite is highly reactive and more toxic than the parent compound. In such cases, the compound may be converted into a proximate mutagen and/or carcinogen in a process of lethal synthesis. The cytochrome P450 family of enzymes and particularly cytochrome P448 (cytochrome P450 IA) are quite frequently involved in this kind of metabolic activation.

LETHAL SYNTHESIS

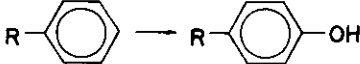
The term lethal synthesis was first coined in relation to conversion of fluoroacetate to fluorocitrate which is a blocker of aconitase activity (the biochemical lesion) (Figure 4).

Examples in which microsomal oxidation reactions lead to metabolic activation include nitrosamines, aflatoxins, benzopyrene and heterocyclic amino imidazoazaarenes of the type which have been identified in foods heated to high temperatures (IQ, MeIQ, MeIQx etc.).

In all these cases, the metabolite is an electrophilic, highly reactive species which can undergo covalent binding to macromolecules such as nucleic acids and proteins. Compounds which undergo covalent binding in this way frequently are mutagens and carcinogens.

It is of interest to note that different cytochrome P450 isoenzymes have different substrate specificities and, in the case of benzo-a-pyrene the epoxidations involved in the formation of the proximate carcinogen, benzopyrene-7,8-dihydrodiol-9, 10-epoxide are catalysed by cytochrome P448 (P450 IA) whereas cytochrome P450 IIB induced by phenobarbitone pretreatment epoxidises in the 4,5-position leading, after reaction with epoxide hydratase, to an unreactive dihydrodiol which may be conjugated and excreted.

Tabla 2 Example of the general type of oxidation reactions catalyzed by the cytochrome P-450-containing monooxygenase

REACTION	EXAMPLE
Aliphatic hydroxylation	$R-CH_2-CH_2-CH_3 \longrightarrow R-CH_2-CHOH-CH_3$
Aromatic hydroxylation	
Epoxidation	$R-CH=CH-R' \longrightarrow R-\overset{\text{O}}{\text{C}}\text{H}-\text{CH}-R'$
N-, O-, or S-dealkylation	$R-\overset{\text{H}}{\text{N, O, S}}-CH_3 \longrightarrow R-(\text{NH}_2, \text{OH}, \text{SH}) + \text{CH}_2\text{O}$
Deamination	$R-CH_2-NH_2 \longrightarrow R-\overset{\text{O}}{\parallel}{C}-H + NH_3$
N-hydroxylation	$R-NH-\overset{\text{O}}{\parallel}{C}-CH_3 \longrightarrow R-NOH-\overset{\text{O}}{\parallel}{C}-CH_3$
Sulfoxidation	$R-S-R \longrightarrow R-\overset{\text{O}}{\parallel}{S}-R'$
Desulfuration	$R_1R_2\overset{\text{S}}{\parallel}{P}-X \longrightarrow R_1R_2\overset{\text{O}}{\parallel}{P}-X + S$
Oxidative Dehalogenation	$R-\overset{\text{X}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-H \longrightarrow R-\overset{\text{X}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-OH \longrightarrow R-\overset{\text{O}}{\parallel}{C}-H + \text{HX}$

* X = halogen

The fact that the same enzyme system may be involved in the metabolism of different xenobiotics and of endogenous substrates can lead to interactions between these processes. Thus, a xenobiotic may induce the cytochrome P450 isoenzyme involved in its own metabolism and as a result modify the metabolism of a second xenobiotic or endogenous substrate. As a consequence, the toxicity of a co-administered compound may be enhanced or reduced depending on whether the increased activity of the enzymes leads to production of toxic or innocuous metabolites. Thus the phenolic antioxidants, BHA and BHT induce particular cyt. P450 isoenzymes in what might be considered an adaptive response. As a consequence, the toxicity of a co-administered compound may be enhanced, diminished or be unaffected depending on whether lethal synthesis or detoxication occur and whether a common isoenzyme

is involved. In the case of the aminoimidazo azaarenes, induction with 3-methylcholanthrene (a cyt. P448 inducer) or Aroclor (a mixed inducer) enhances the metabolic activation to mutagenic metabolites (N-hydroxylation) whereas phenobarbitone (an inducer of cyt. P450 B) is without effect. Conversely, the isoenzymes of cyt. P450 induced by phenobarbitone and some other anticonvulsants is involved in metabolism of steroids, including vitamin D, and prolonged anticonvulsant therapy has been associated with osteomalacia. The problems in defining a unique no observable effect level are obvious.

Other examples of lethal synthesis involving microsomal oxidations are the conversion of parathion to paraoxon, the actual cholinesterase inhibitor and epoxidation of pyrrolizidine alkaloids. Phase II reactions may also lead to activation as in the formation of B-naphthylamine glucuronide.

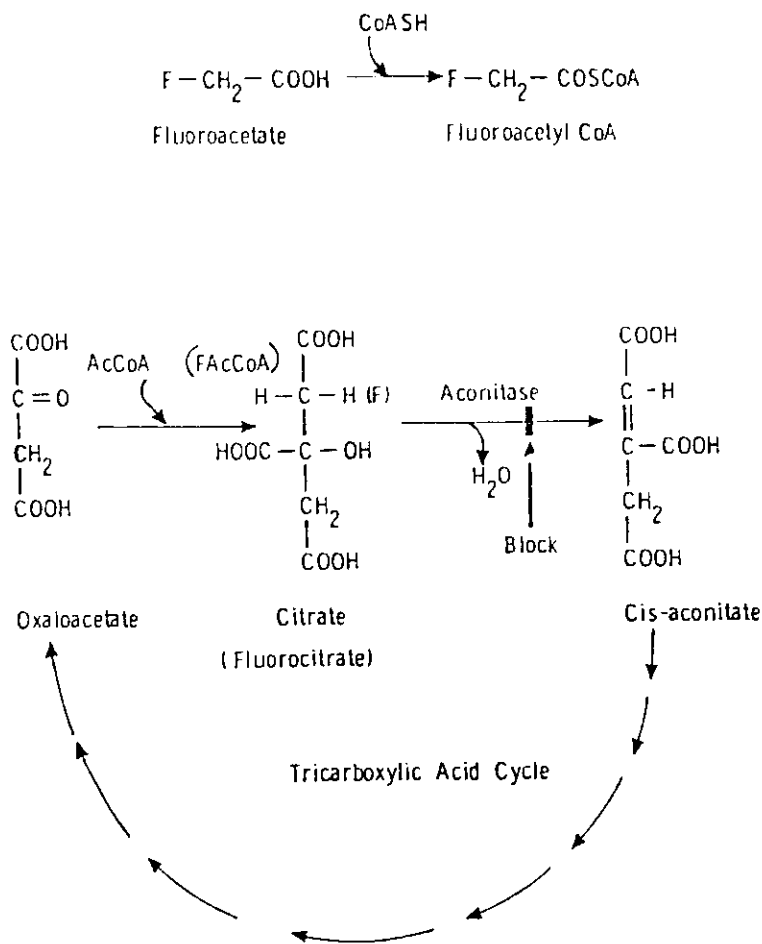


Figura 4 - Metabolism of fluoroacetic acid to fluoroacetyl CoA (FACCoA) and mechanism underlying blockade of the tricarboxylic acid cycle. Fluorocitrate cannot be dehydrated to *cis*-aconitate by aconitase and therefore blocks the cycle at this point.

EXAMPLES OF BIOCHEMICAL MECHANISM OF TOXICITY

(a) Chemical Mutagenesis and Carcinogenesis

Mutagens and many carcinogens are known to act via a direct or indirect effect on genetic or other "informational" molecules (DNA, RNA, regulator molecules). Many such compounds are alkylating agents or are metabolised to such reactive electrophilic molecules, onium ions or radicals.

It can be demonstrated that genotoxic carcinogens do indeed form adducts with bases in DNA, specifically alkylating/aryllating both O- and N-functions e.g. O6 and N7 positions in guanine. Damage such as this may be repairable by excision, but excision of O6-alkyl guanine appears to be poorer than the N7-alkyl derivative, and the extent of O6-alkylation may give a better indication of mutagenicity and carcinogenicity. Further, tissues deficient in ability to repair O6-alkylguanine appear most sensitive to alkylating agents.

It is believed that the ultimate carcinogenic metabolite of many carcinogens is an electrophilic alkylating species e.g. nitrosamines, nitrosamides, alkyl halides, aflatoxins, cycasin etc. It is frequently argued that, for carcinogens of this type, there is no threshold and that a single event may lead to mutation to a precancerous cell. However, clinical experience with congenital defects in DNA repair have indicated that (a) in normal individuals, DNA damage is constantly occurring and being repaired without obvious sequelae, (b) defects in DNA repair alone do not always result in a greatly enhanced tumour incidence, and (c) repair defects together with congenital or induced reduced immuno-competence leads to a high "spontaneous" tumour incidence.

Covalent binding to RNA or proteins may also play a part in carcinogenesis and, in the case of acetylaminofluorene, binding to rRNA correlates more closely with liver tumour development than does the number of DNA bases which are alkylated.

In some cases, non-mutagenic compounds which do not form covalent adducts with DNA are associated with an increase in tumour incidence and various mechanisms may be involved. For example, the phthalate esters and some drugs like clofibrate cause a proliferation of peroxisomes in rat liver and an associated increase in tumour incidence without any evidence of covalent binding of radiolabelled parent compound; nor are such compounds mutagenic in the Ames assay. In these cases, the mechanism appears somewhat indirect but nevertheless leads to damage to the informational molecules. The peroxisomal proliferation appears to lead to an increase in the generation of free radicals, not derived from the molecule which causes the peroxisomal proliferation, and it is these free radicals which cause the genetic injury. Such free radical mechanism may also be involved in the increased tumour incidence associated with animal diets rich in poly-unsaturated fatty acids. Although these carcinogens have been called "epigenetic carcinogens" in the past by some workers, it is clear that they are indeed genotoxic and exert their effect via genetic damage, albeit indirectly.

In some cases where cancer incidence is elevated, however, an epigenetic mechanism may actually be involved. Surgical treatment, such as partial hepatectomy, or other repeated physical or chemical insults which maintain a state of sustained hyperplasia may increase the incidence of neoplasia by mechanisms which are not clear. Such is the case with some triphenylmethane food colours which caused sub-cutaneous sarcomas when repeatedly injected subcutaneously at the same site. When similar doses were administered at different sites for each injection, no such tumours were produced. It might be postulated that maintaining

cells in a state of rapid mitosis may increase probability that cell division will occur before "Spontaneous" DNA damage has been repaired, leading to the establishment of a mutant clone. Such might be the case with saccharin, where proliferation of the bladder epithelium follows the common progression of hyperplasia > neoplasia > malignancy, or the forestomach tumours caused by high concentrations of BHA or propionic acid. Similarly, sustained hyperplasia may be a factor in the genesis of some tumours of hormonally-responsive tissue e.g. the adrenal tumours associated with caecal enlargement, nephrocalcinosis and adrenal medullary hyperplasia caused by polyols, or the thyroid adenomas associated with erythrosine and possibly related to the inhibition of conversion of T4 to T3 in the liver and hence an increase in TSH secretion by the pituitary.

(b) Liver Necrosis

A number of compounds cause liver necrosis among which the most extensively studied are carbon tetrachloride, paracetamol, bromobenzene and isoniazid. Microsomal oxidative mechanisms appear to be operative in these cases, directly or indirectly.

In the case of carbon tetrachloride, microsomal mixed function oxidase inducers generally enhance the toxicity while inhibitors protect, as do free-radical scavengers, suggesting that the mixed function oxidases are involved in metabolic activation. It is believed that the activation involves the generation of a free radical or carbene, a very reactive species with a short half-life and radius of action. The first observed event is destruction of the smooth endoplasmic reticulum and loss of cytochrome P450. Interestingly, as a result, small doses of carbon tetrachloride protect against subsequently larger doses by reducing the levels of cyt. P450 involved in lethal synthesis. Following the generation of free radicals, lipid oxidation is initiated and this is probably involved in events more distant from the smooth endoplasmic reticulum. The oxidation of membrane lipids leads to consequent impairment of protein and DNA synthesis, increased cell permeability and reduced enzyme activity. Ultimately, lysosomal activity may lead to cell suicide and necrosis.

With paracetamol, covalent binding can be demonstrated and this occurs mainly in the areas prone to necrosis. Again, by use of selective inhibitors/inducers, the involvement of microsomal metabolism can be inferred. The major excretory metabolites, however, are the products of phase II reactions, the glucuronide, O-sulphate and mercapturic acid, which are unlikely to react with macromolecules (figure 5)

The proportion of mercapturic acid metabolite is dose dependent and its formation is reduced after toxic doses of paracetamol; associated with this is a depletion of glutathione. The mechanism of toxicity is thought to be via the formation of a quinoneimine (figure 6) which is detoxicated by reaction with glutathione but when this is depleted more covalent binding and cell necrosis is observed. Pretreatment with phenobarbitone reduces hepatotoxicity whereas 3-methylcholanthrene pretreatment increases it, indicating that cytochrome P450 IA is involved.

The depletion of glutathione appears to be an important factor and depletion with diethyl maleate lowers the toxic threshold dose, indicating that reaction with glutathione is indeed a detoxication reaction. Similarly, inhibition of the glucuronidation or sulphate conjugation enhances the toxicity by forcing more metabolism via the quinoneimine pathway.

The recognition of the key role of thiol compounds in the detoxication of paracetamol has led to the development of the use of sulphhydryl compounds such as N-acetylcysteine i.v. as an antidote to paracetamol overdose.

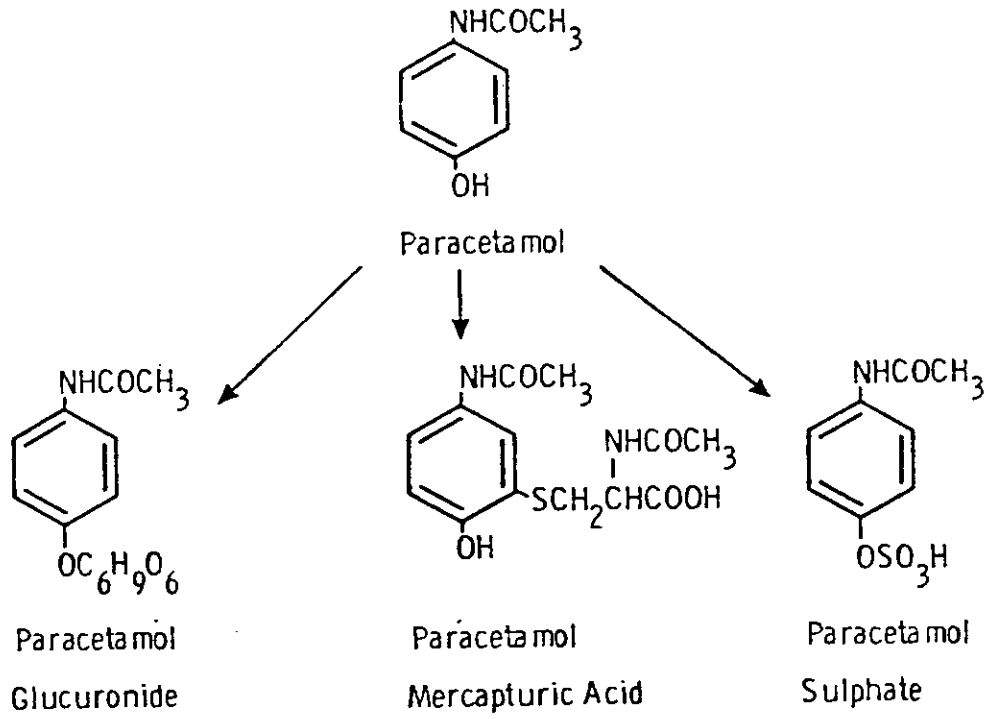


Figure 5 - The major metabolites of paracetamol.

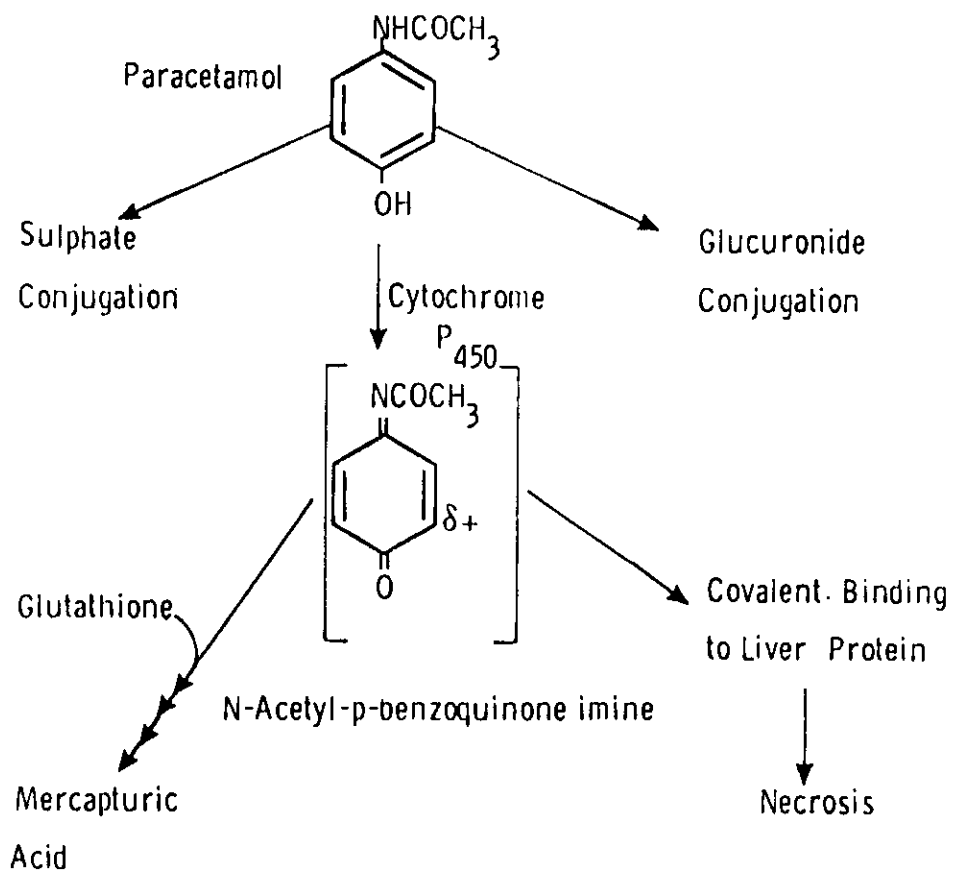


Figure 6 - Proposed metabolic activation of paracetamol to a toxic, reactive intermediate which may be detoxified by conjugation with glutathione or which may react with tissue proteins when glutathione is depleted.

In a similar manner, bromobenzene forms a reactive epoxide metabolite which is detoxicated by conjugation with glutathione and depletion leads to the epoxide binding to macromolecules. In this case, detoxication can also be effected by epoxide hydratase (Figure 7).

Other enzymes which normally have an endogenous substrate may also be involved in the activation of xenobiotic compounds and N-oxidation by the cyclo-oxygenase, prostaglandin synthetase, has already been referred to as an example of lethal synthesis in the conversion of aminoimidazo azaarenes such as IQ to potent mutagens. Alcohol dehydrogenase may also be implicated in lethal synthesis and allyl alcohol specifically causes periportal necrosis due to metabolism to the reactive aldehyde by alcohol dehydrogenase in this region of the liver lobule. Indeed, the toxicity of ethanol may be considered to be due to excessive metabolism via this enzyme to acetaldehyde.

CONCLUSION

These selected and limited examples of biochemical mechanisms of toxicity are illustrative of the general relationship between biochemical lesions and tissue injury. They underline the importance of metabolic studies in elucidating the mechanisms of toxicity and in helping to define the NOEL which may be seen as the limit of loading particular detoxicating pathways or depletion of endogenous protective substrate such as glutathione. Biochemical studies thus have an important role, often underestimated, in determining or confirming safe levels of exposure and may even provide a rational basis for establishing a safe level of exposure to potential carcinogens.

The possible interactions of toxicity and nutritional status are also indicated, for example in those situations where vitamins have a co-factor role in the detoxication of xenobiotics.

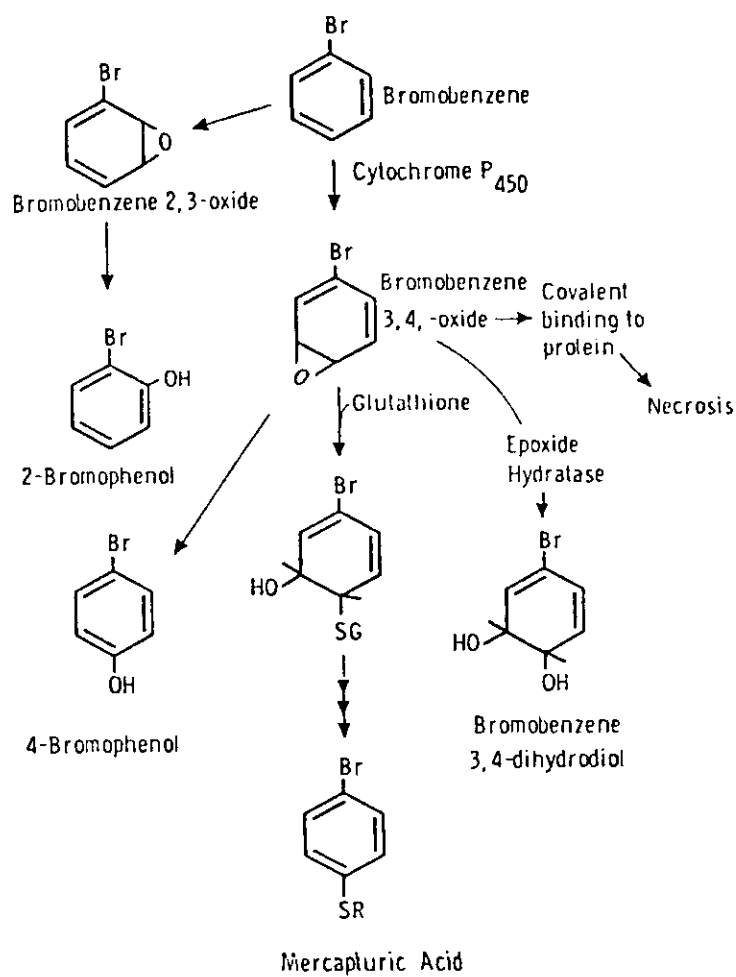


Figure 7 - Metabolism of bromobenzene. The bromobenzene 2,3-oxide and 3,4-oxide may undergo chemical rearrangement to the 2- and 4-bromophenol respectively. Bromobenzene 3,4-oxide may also be conjugated with glutathione and in its absence react with tissue proteins. An alternative, detoxication pathway is hydration to the 3,4-dihydrodiol via epoxide hydratase

NEUROTOXICITY

A. D. Dayan

University of London
London, England

Proper functioning of the nervous system is essential for a normal life. It has considerable functional and structural plasticity, and some ability to regenerate after damage, but it remains a potentially sensitive target for many harmful toxicants, acting specifically or perhaps secondarily via a metabolic process or primary target damage elsewhere.

BASIC FEATURES OF THE NERVOUS SYSTEM

Special features of the nervous system may make its toxicological responses appear different in kind from those of other tissues and organs, although they are fundamentally identical albeit modified by its complexity are:

1. Anatomy

Even at a simplistic level there are 2 distinct systems one of which is further sub-divided:

central	(CNS)	I		
peripheral	(PNS)	I	I	nervous system
autonomic	(ANS)	I	I	

In turn, each of these is subdivided into different structures, interrelated in an anatomically complex fashion based on groupings of neurons and supporting glial cells, and usually demarcating cell bodies from their interconnecting cell processes. The origins of the anatomical complexity are partly evolutionary and partly the physiological need to maintain critical homeostasis of cell bodies by protecting them with membranes of carefully controlled permeability the bloodbrain barrier (BBB) for the CNS, and the blood-nerve barrier (BNB) for the PNS and ANS. Of equal importance is the fact that the nervous system exists to sense and control distant parts of the body. Accordingly, it consists of central areas and long nerve fibres extending to and from the periphery.

It is also important that the neurons, the cells in the body for receiving, integrating and transmitting information about the external and internal worlds, are so specialised that they and their processes require metabolic assistance and anatomical support by specialised glial cells in the CNS (oligodendroglia and astrocytes) and mesodermal cells in the PNS (Schwann cells). The continued health and functioning of a nerve fibre depends on its connection with its cell body and the ability of the latter to function normally.

Development of the nervous system requires complex patterns of cell birth and death, and the growth of connections, which must be integrated in space and time, and which continue to develop throughout life, at least functionally, as the physical substrate of such long-lived changes as memory, and other alterations in use and performance.

2. Physiology

In deliberately simplistic terms, proper functioning of the nervous system depends on normal transmission of electrical impulses along nerve fibres, which requires both the integrity of the axonal extension of the neuronal cell body and its support by the appropriate glial or Schwann cells. It is also dependent on excitatory or inhibitory signal transmission between nerve fibre endings and neuronal cell bodies (at synapses) or end organs (eg muscle) by chemical neurotransmitter and receptors.

The enormous general metabolic demands and importance of the CNS, for example, are shown by its requirement for 25% of the cardiac output of blood, its consumption of up to 20% of the glucose circulating in the blood stream, and its production of more than 60% of body heat output in the neonate (and about 5% in the adult).

3. Pharmacology

The reliance on chemical transmission and synaptic receptors represents a vulnerable point in toxicology, because direct agonist and antagonist analogues of neurotransmitters may affect synaptic function (eg such drugs as beta-blockers at sympathetic receptors, atropine blocking muscarinic cholinergic receptors, and curare blocking cholinergic receptor on muscle cells). The total reliance of nerve fibre on metabolic processes in neuronal cell bodies makes them susceptible to disorders of metabolism at the centre or transport along axons.

4. Dysfunction and Pathology

The complexity of the anatomy and physiology of the Nervous System (NS) makes it essential to dissect every form of disorder, whether due to natural disease or due to chemical toxicant, into its pattern of functional damage and pathological lesions. Once the sites affected and the physiological dysfunction and structural damage have been analysed, the pattern of the disorder will be apparent, and it is that pattern which is likely to give a clue to mechanism, may well suggest a cause, and which will certainly indicate the prognosis of disability and recovery of the affected individual.

The toxicology of the NS in principle is no different from that of any other system in the body. It may appear more complex and so be more difficult to analyse, but that only shows the greater importance of clearly delineating what has happened and where are the lesions.

DETECTION AND ANALYSIS OF TOXIC EFFECTS ON THE NERVOUS SYSTEM

The detection and assessment of the state of the nervous systems are analogous in man and laboratory animals, although the highest functions are best studied in the former and more detailed analysis is possible in the latter and in *in vitro* procedures.

There are different approaches to analysis, which should be synthesised in understanding a problem of toxicity. Which to employ in diagnosing or assessing a particular problem, in following a disorder, or in screening exposed subjects or animals to detect an effect, should depend on the anatomical pattern of pathological lesions and on the nature of the functional disorders produced, as well as on the most effective diagnostic and experimental techniques available.

1. Clinical Examination

In order of complexity of function, what is assessed by clinical examination is:

- (A) **Highest Level Function**
group and individual behaviour
cognitive function (reasoning, intelligence)
memory
learning
spontaneous complaints of illness
All these are closely interrelated and are dependent on subtle, underlying physiological processes.
- (B) **Sensory Perception - special senses - sight, learning, smell, skin sensibility, spontaneous sensibility, sensing the internal milieu, deep sensation, movement disorders.**
- (C) **Motor Function - spontaneous movement and disorders, digit and limb movements, blood pressure.**
- (D) **Visceromotor Function - the functions of the ANS in controlling the internal milieu, eg blood pressure, gastro-intestinal motility, etc.**

In practice, many of these functions are most readily examined as integrated reactions, eg conditioned and reflexes, responses to physiological and pharmacological challenges, special procedures for higher CNS functions etc.

In these ways the central integration of sensory and motor activity can be evaluated together, as well as assessing individual components.

2. Electrophysiological Investigation

So much of the activity of the NS involves nerve impulses that study of spontaneous and induced electrical activity can reveal much about the state of the CNS and PNS, eg the electroencephalogram (EEG) and evoked responses for the CNS, sensory and motor nerve conduction velocities, reflex actions, and the pattern of spread of nerve excitation in muscle (electromyography, EMG).

3. Pathological Investigation

It is essential in affected animals, whether in deliberate experiments or in spontaneous disease, to sample major sites in the CNS and to examine both proximal and distal parts of the PNS to detect dying back (centrifugal) neuropathies, and to distinguish demyelinating and axonal degenerations.

4. Pharmacological and Biochemical Investigations

This is the most complex area, because of the number and variety of processes that might be examined. Studies usually have to be focused on processes that the other evidence suggests may be abnormal.

Pharmacological techniques rely on additional treatment with a known agonist or antagonist to confirm a specific defect by appropriate change in the abnormality, eg atropine blockade of muscarinic features of a cholinergic crisis, or dopamine agonists relieving Parkinsonian features. Biochemical assays may range from measurement of cholinesterase to exploration of central neurotransmitters and Phase I and II metabolism. Pharmacokinetics may be especially important because of the restricted permeability and selective transport processes in the BBB and BNB.

In all these classes of investigative procedure, the essential need is to discern the pattern of the abnormality and to relate it to likely structural and biochemical disorders, which can then be explored in detail by more precise techniques.

5. Developmental Assessment

The nervous system, especially the CNS, continues major development for some time after birth, so it may be markedly affected by post-natal exposure to toxicants. Even in adult man or animal, plasticity is as vital, as in learning and memory.

This means that relating effects to developmental stage, previous experience and training, to the duration of exposure, and adjusting methods to the physiological capabilities of the organism, are more important than in toxicity affecting any other system of the body. Further, the plasticity and adaptive capacity of the CNS and PNS deteriorate with age, and that physiological decline must also be taken into account in considering exposure to a putative toxicant and its consequences.

Details of all these techniques and others can be found in appropriate monographs. It is important, however, always to consider the overall nature and pattern of the actions to be considered, and then to choose the most suitable and efficient methods for the problem to be investigated. Or, if nothing is known about the nature of the effects to be studied, the most general screening techniques should first be employed, reserving more selective methods until there is some information about the pattern of the disorder.

CHEMICAL CAUSES OF NERVOUS SYSTEM DISORDERS

The nature of the substances to be considered and the effects produced cover a very wide range of possibilities. Many neurotoxicants act both on the CNS and PNS, and probably on the

ANS, too, although that has been relatively less well studied, especially in the case of the 'dying back' neuropathies. The general toxicological impression of lesions has been affected by the greater ease of detection and analysis of motor than of sensory disorders, and the simpler procedures for subjective and objective analysis of PNS damage than of CNS dysfunction. The true importance in man of developmental disorders remains to be established, because their study in experimental animals and humans is very difficult, and few rigorous attempts have been made, especially in populations as opposed to heavily exposed individuals. In the following text only selected examples are briefly quoted to illustrate points of importance as full details can be found in appropriate monographs.

1. CNS Neurotoxicants

- (A) The pre-eminent examples here are the well-known problems of organic lead and organic mercury compounds, which have been associated with mass epidemics of poisoning via contamination of urban air and dust (organo-lead) and the food chain (organo-mercurials, eg as seed dressings, and in Minamata disease). Organomercurials have also been associated with pre- and post-natal developmental damage in man and animals.
- (B) Hexachlorophene causes cerebral oedema in man and animals.
- (C) Manganese mining has caused Parkinsonism in man and primates by a selective action on central dopaminergic neurons.
- (D) Alcoholism and thiamine deficiency.
- (E) Organophosphate pesticides and hydraulic fluid additives (triorthocresyl phosphate). These may chronically damage long tracts in the CNS as well as in the PNS, by producing 'dying back' changes (see below).
- (F) Acrylamide and n-Hexane may cause a similar pattern of long tract lesions in the PNS more than in the CNS. Acute poisoning causes the cholinergic crisis.
- (G) Synthetic Pyrethroids. At least in experimental animals, high dose of those containing an (alpha)-cyano-group produce the Type I syndrome of flapping or paddling tremors in the rodent, possibly due to GABA antagonism. Most others cause the Type II syndrome of fine, more rapid, general tremors.
- (H) MPTP. Much interest has come recently from the realisation that a simple contaminant of an illicit, addictive drug, could cause severe Parkinsonism in man and the monkey by selective damage to dopaminergic neurons.

A remote chemical resemblance to paraquat has been used as a basis for hypothetical speculations attempting to link pesticide use and Parkinsonian disease in man.

- (I) Aluminium. Controversy continues about the possible role of ingested aluminium salts and senile dementia of the Alzheimer type (SDAT).

- (J) Solvent Dementia. An even more strongly disputed condition is that of chronic brain damage in workers exposed to solvents in paint, eg the alkanes in white spirit, and toluene and xylene. The alleged clinical disorder is a form of mild to moderate intellectual and memory impairment, which is difficult to diagnose and the link is not generally accepted.
- (K) Prenatal injury. Exposure to cytotoxic agents or irradiation may also damage the developing nervous system.
- (L) Prenatal Malnutrition. Severe protein calorie shortage can certainly retard development of the nervous system, and subsequent catch-up growth may not be possible.
- (M) Prenatal Vitamin Deficiencies. At least in some countries there may be a partial association between relative maternal dietary deficiency of the vitamin B complex and folates and the birth of the children with the Arnold-Chiari malformation of the brain. Genetic and other factors may also be involved.
- (N) Brain Tumours. There are several suggestions in the literature, derived from small epidemiological studies, that human exposure to chemicals may rarely be associated with the development of glial tumours-malignant astrocytomas and neoplasms of the specialised reticuloendothelial system cells of the brain, the microglia, producing cerebral lymphomas. None is yet well established in man because of the small sizes of the groups involved, and hence the limited statistical power of the surveys, and the problems of reproducibility and such confounding factors as social class gradient, etc. The association generally has been with the 'chemical industry' or with 'monomer polymerisation to make plastics' (not particularly vinyl chloride), or, based on experimental results in animal studies, acrylonitrile has been regarded as suspect, because it is capable of producing small cell tumours in the CNS in the rat.

In man, but to be regarded as special case, profound immunosuppression, as in transplantation, does carry a significant risk of the development of cerebral lymphoma, as well as other tumours elsewhere in the body.

2. PNS Neurotoxicants

The pre-eminent examples of industrial and medical importance are organophosphate pesticides, etc., acrylamide and n-hexane and methyl butyl ketone, because they have all caused major human epidemics, due either to ignorance or incompetence.

- A. Organophosphate Pesticides. Ever since 'Ginger Jake Palsy' of the early 1930's it has been known that many organophosphates (OP) developed as pesticides or used as corrosion inhibitors in industrial oils and hydraulic fluids (eg triortho cresyl phosphate, TOCP) are capable of causing a delayed peripheral neuropathy.

The disorder, which affects both motor and sensory fibres, as well as the long tracts in the spinal cord, develops more or less insidiously (depending on dose and species) some about 14 days after ingestion of the compound.

As is well known, it is due to irreversible binding of the compound to Neuronal Target

Esterase (NTE), the normal function of which is unknown. The NTE occurs widely in the brain and spinal cord and peripheral nerves, as well as in lymphocytes.

The pattern of damage follows centripetal degeneration of nerve fibres. There is no good evidence that that is due to failure of intra-axonal transport as such, but more likely it represents degeneration due to lack of some metabolically vital material, which is produced in only a limited amount and is somehow consumed along the length of the nerve fibre.

Organophosphates may also cause a second, quite distinct type of neurological disorder, due to their quite independent ability to inhibit cholinesterase, resulting in the accumulation of acetyl choline, and the diverse feature of the 'cholinergic crisis'. This is an acute and relatively short-lived disorder of CNS and PNS function, due to predictable pharmacological effects. It is reversible with time, as cholinesterase is resynthesised. And it can be treated with atropine, to block certain receptors, and oximes to regenerate cholinesterase. A similar disorder may follow exposure to other cholinesterase inhibitors, such as carbamate pesticides.

Probably all mammalian and avian species are susceptible, but such birds as the chicken are especially sensitive, hence their recommended use as test species - the 'hen neurotoxicity test'. That procedure is only appropriate for organophosphates, although frequently quite incorrectly required for other substances.

Regulation of exposure to organophosphates by control of exposure of workers in agriculture, and of the public (via ADIs for food, etc), provide a classical example of how to make a risk-benefit assessment and how to manage a public risk of great importance because of the wide use of OPs.

Biological monitoring of exposed population has been attempted by measuring nerve conduction velocity, but that has proved too variable (and too late in the disease) for field studies. The inherently simpler and more sensitive method of measuring pseudocholinesterase level in plasma (or whole blood 'cholinesterase') has proved easier and far more effective as a method for general surveillance of potentially exposed workers.

- B. Acrylamide monomer is a commodity chemical polymerised on a large scale, to manufacture polyacrylamide, which is widely used in plastics coatings and adhesives.

It, too, can cause a classical, slowly progressive neuropathy in man and animals, with typical slow recovery from the ending of exposure.

The monomer is a powder, so exposure may occur by the respiratory route, as well as by ingestion. There is not normally sufficient residual monomer in the polymerised product to represent a hazard.

- C. n-Hexane and Methyl Butyl Ketone are volatile solvents, at one time widely used in the manufacture of glues. They are important as a cause of a neuropathy, and because they first require metabolism to 2:5 hexanedione, which seems able to cross-link neurotubules in peripheral nerve, thereby preventing intra-axonal transport.

- D. Metals. Several metals and their inorganic salts have been shown to be capable of causing peripheral neuropathy, usually on more prolonged administration of lower doses than those that affect the CNS, eg. arsenic, lead and thallium.

The commonest source of exposure has been work in factories smelting ores and refining the metals and their compounds, but other routes have occurred depending on the uses of the substances, eg arsenic and thallium-containing rodenticides contaminating food supplies, and deliberate poisoning.

Inorganic lead compounds are also an important cause of CNS damage, ranging from mild intellectual impairment to severe fits, as seen in children who have eaten lead-based paints. This is the principal source of concern about the almost universal use of tetra ethyl lead as an anti-knock agent in petrol.

- E. Alcoholism. Chronic abuse of alcohol, probably in combination with thiamine (and perhaps pyridoxine) deficiency is a serious cause of peripheral neuropathy.
- F. Mechanical Trauma. Although not a chemical cause, prolonged use of undamped vibrating tools causes peripheral nerve damage, especially in the hands, eg mechanical rivetting and scaling hammers, road drills, etc.

3. Recent Development and New Concerns

Three areas have become highly controversial or have become the site of major advances in the recent past.

- A. MPTP and Parkinsonism. As already mentioned, a loose analogy has been drawn between the chemical structure of MPTP and the herbicidal paraquat and other bipyridyls. Attempts have also been made by epidemiological surveys of limited areas to link herbicide usage and the local incidence of Parkinsonism.

I believe so far that ideas are more attractive than realistic.

- B. Aluminium and SDAT. The reasons for proposing this link are:
 - a. Experimentally direct injection (but not oral ingestion) of aluminium compounds into the brain, or in in vitro tissue cultures, causes a neuronal degeneration with a superficial resemblance to that found in patients with senile dementia of the Alzheimer type (SDAT).
 - b. Patients with renal failure being treated by haemodialysis, who received an overload of aluminium salts via the dialysis solutions and via oral medication, have developed clinical dementia related to their body burden of aluminium. Clinically and pathologically it differs from SDAT.
 - c. There is some limited evidence that the local level of aluminium is high in certain affected cortical neurons in true spontaneous SDAT.
 - d. Very recently, there has been an as yet unconfirmed report associating the incidence of SDAT, with the aluminium level in the local drinking water. This is a very difficult type of survey to do, because the SDAT cannot be diagnosed with certainty except by post-

mortem histopathological examination, and people move around and drink many waters from many different sources before and during the onset and progress of this slowly evolving disease. At present the case appears weak and quite uncertain.

- C. **Excitatory Amino Acids, Cycads and Tropical Motor Neurone Disease.** The most intriguing and best founded development has been the recent work showing by dietary surveys in man and experiments in primates that feeding extracts of cycad plants over many months can cause degeneration of motor neurons - the CNS, mimicking several apparently spontaneous human diseases.

The toxic materials appear to be nitrite analogous of certain amino acids.

As cycads, which include the cassava plant and manioc, are very widely used as feeding stuffs for man and animals in the tropics, this represents a serious problem. It has long been known that such cyano-containing compounds occurred in cassava, etc., and that the plant material required holding under certain conditions to be made safe by natural degradation. There must be additional emphasis here on ensuring that appropriate preparative and cooking methods are followed.

CONCLUSIONS

Neurotoxicity may appear more complex than other types of toxicity, but provided that the pattern of functional and structural disorders is analysed, it will be seen to follow the conventional rules of toxicology. Any neurotoxic effect is serious, because of its slow progression and the possibility of late detection, and real harm to the affected individual, and indolent and possibly incomplete recovery. Monitoring workers and other exposed subjects poses problems, because of the need for repeated, difficult clinical and other investigative procedures, so biochemical markers of exposure may be preferable. As with any type of toxicity, prevention remains by far the best goal, which requires safe working practices and careful imitations of the risk of exposure.

READING LIST

1. Dyck, P.J.; Thomas, P.K.; Lambert, E.H. *Diseases of the Peripheral Nervous System*. W.B. Saunders, Philadelphia. 1980.
2. Hayes, A.W. *Pesticides Studied in Man*. Saunders, London. 1974.
3. Matteis, F. de; Lock, E.A. *Selectivity and Molecular Mechanism of Toxicity*. MacMillan, UK. 1987.
4. Schaumburg, H. & Spencer, P. *Neurotoxicology*. Academic Press, NY. 1984.
5. Tilson, H.A.; Sparber, S.B. *Neurotoxicants & Neurobiological Function*. Wiley, NY. 1986.

EXPOSICION LABORAL A PLAGUICIDAS

M. Burger, A. Laborde

Hospital de Clínicas, Depto. de Toxicología
Montevideo, Uruguay

INTRODUCCION

Este trabajo expone la experiencia del Centro de Información y Asesoramiento en Toxicología de la Facultad de Medicina de Montevideo, Uruguay, sobre exposición laboral por plaguicidas.

En Uruguay prácticamente no hay fabricación de estos productos químicos, salvo excepciones: se fabrica arsenito de sodio y sales cúpricas, es decir aquellos que no requieren de una tecnología muy sofisticada. Por consiguiente no hay un número importante de trabajadores expuestos a este nivel.

Por el contrario hay un buen número de plantas formuladoras, todas ellas ubicadas en el departamento de Montevideo. Se formulan: organoclorados (2,4-D; M.C.P.A.; Aldrin, Dieldrin, Lindano, entre otros), organofosforados, warfarínicos, aceites emulsionables y metaldehidos. Cada planta emplea un número reducido de operarios que muchas veces realizan otras tareas, ya que la demanda de los productos no es constante.

El nivel de exposición más importante lo encontramos en la aplicación por el número de personas expuestas y por el volumen y variedad de productos utilizados. Hablamos de la aplicación a nivel agrícola, veterinaria y domi-sanitaria.

Una de las fuentes de recursos más importantes que tiene Uruguay es la agricultura, alrededor de un 10% de la superficie territorial está dedicada a diferentes cultivos - cerealeros y hortifrutícola. Para este tipo de cultivo se utilizan diversos productos predominando como insecticidas los organofosforados, carbamatos, piretroides y fumigantes; luego fungicidas y herbicidas.

Para este tipo de actividad agrícola se importa la gran mayoría de los productos, procedentes de: Argentina, Brasil, Colombia, Costa Rica, EE.UU, Israel y países de la C.E.E. (Francia, Alemania e Italia). Para el año 1987 la importación fue de 1.773.781 kg y 10.976.643 US\$ dólares. Hay un uso en aumento progresivo de herbicidas y fungicidas con leve tendencia a aumentar a nivel de los insecticidas. Los números totales por principios activos registrados a la fecha indican 91 fungicidas, 81 herbicidas y 73 insecticidas, siendo de categoría I y II (altamente tóxicos al hombre) el 12% de los agroquímicos registrados.

A nivel de la aplicación de plaguicidas de uso veterinario no hay consulta frecuente al Centro, aparentemente ocurren pocos accidentes laborales en este grupo de plaguicidas, sin embargo merece señalarse el uso frecuente de banos para ganado con arsenicales siendo justamente los accidentes durante el baño los que han sido motivo de consulta al Centro.

En cuanto a los plaguicidas de uso doméstico y sanitario predominan los organofosforados (malathión), carbamatos, piretroides y rodenticidas (warfarínicos y actualmente los llamados

super-warfarínicos-Brodifacoum). A nivel sanitario se mantiene el uso de lindano como ectoparasiticida humano.

A nivel doméstico y sanitario el personal afectado a nivel laboral son los formuladores y aplicadores. Hemos controlado poblaciones de aplicadores domiciliarios durante 3 años.

Las características generales de la población de formuladores y aplicadores es muy similar:

- en la gran mayoría no saben qué producto están utilizando, porque no se les informa o porque ellos mismos no exigen información. Rara vez es leída la etiqueta de un producto, no por analfabetismo sino por considerar que no es necesario.
- la asistencia técnica a nivel agronómica es escasa, por falta de recursos económicos y de conocimiento.
- en general es una población de escasos recursos económicos con bajos salarios lo que lleva a no acceder a una buena cobertura médica asistencial, a no tener una correcta alimentación y a no utilizar la ropa adecuada para protección personal, sobre todo a nivel de la población rural.

No se trata de aplicadores profesionales, es decir que hayan recibido la formación correcta; únicamente los aplicadores que dependen exclusivamente del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (M.G.A.P.) reciben cursos de formación, pero ellos representan escaso porcentaje en relación a la población en general.

ANALISIS DE LOS DATOS

La segunda causa de intoxicación para el Centro de Toxicología son los plaguicidas. El número de consultas por año ha ido en aumento progresivo: en los primeros años oscilaban entre 300 y 400; actualmente, para el año 1987, tuvimos 739; sin embargo si vemos los porcentajes hubo una disminución. Comparamos al azar el año 1983 en donde el 20% de consultas fue por plaguicidas, en cuanto que para el año 1987 fue de 17.8%.

Si analizamos el tipo de intoxicación vemos que las intoxicaciones laborales por plaguicidas constituyen el 50% de las consultas dentro de todas las causales laborales para el año 1987; y si analizamos las muertes por tóxicos para el mismo año, tenemos que para un total de 14 casos, 6 fueron por plaguicidas.

CONSULTAS DE INDOLE LABORAL

El número de casos por año se mantiene sin grandes variaciones: un total de 422 casos en 9 años.

En cuanto a la procedencia de los pacientes la gran mayoría provienen de zonas suburbanas y rurales del departamento de Montevideo, Canelones, Colonia y San José. Se corresponde con la zona de cultivos hortifrutícolas del país, donde trabajan pequeños productores, cultivos de 5 a 50 hectáreas en su mayoría haciendo aplicación terrestre con maquinaria muy diversa, con poco asesoramiento técnico, empleando muchas veces a los miembros de la familia.

En cuanto al sexo, 90% son hombres, ya que la mayoría de nuestras consultas procede del sector agrícola, y allí en general no trabajan mujeres. De acuerdo al tipo de tóxico, tenemos un franco predominio de los organofosforados, son sin duda los más usados en nuestro país y dentro de ellos predomina parathión etílico.

ANALISIS DE LOS CASOS DE LOS AÑOS 1986 Y 1987

Se hizo el análisis en base al estudio de la historia clínica de cada paciente, logrando reunir 110 historias clínicas. Por ser un trabajo retrospectivo muchas veces faltaron datos.

De los 110 casos, 79 (71%) consultaron al Centro ya con síntomas de intoxicación, el cual es un alto porcentaje de consulta ya tardía. Fueron pacientes enviados por médicos en su gran mayoría. Sólo 13 casos estaban asintomáticos y 18 casos correspondían a pacientes que concurren periódicamente para control.

La distribución por edades señala el alto porcentaje de jóvenes - entre 15 y 25 años - así como un número elevado de consultas entre los 46 y 68 años. Como ya lo señaláramos es muy frecuente que el pequeño productor ponga a trabajar a sus hijos alrededor de los 15-16 años. En este grupo etario es donde hemos visto los cuadros más severos.

Del análisis de síntomas de estos 79 pacientes surge que: hubo un predominio de los síntomas muscarínicos y nicotínicos que traducen una intoxicación aguda por organofosforados, en virtud de que son los productos que predominan en este grupo. Si dejamos de lado este grupo predominan los síntomas de irritación cutánea y mucosa - vía de entrada de estos productos - lesiones cutáneas crónicas tipo dermatitis reactivadas, irritación de las mucosas digestivas pero sobre todo respiratoria. Estos síntomas cutáneos los vemos con dithiocarbamatos, captafol, propiconazol, malatión, coumaphos, piretroides y paraquat. En segundo lugar señalamos los síntomas digestivos inespecíficos, náuseas, vómitos, epigastralgias frecuentes en los fosforados y carbamatos. No hubo casos sintomáticos por organoclorados.

En un grupo de estos trabajadores expuestos crónicamente detectamos polineuropatías.

Las internaciones fueron en total 33 pacientes; la duración fue entre 1 y 8 días. Es decir que el 30% de los pacientes debieron ser internados por síntomas dependientes de la exposición laboral a plaguicidas; registramos 7 intoxicaciones graves, en su mayoría por parathión, habiendo además arsenito de sodio, y carbofurán, y 2 muertes, una por dicotophos y otra por diazinón. Es evidente que en Uruguay el problema a nivel laboral es con los plaguicidas organofosforados en primer lugar.

EXAMENES PARACLINICOS

A todos los pacientes se le realizaron estudios paraclínicos.

A los aplicadores de plaguicidas que hacen las campañas de desintelectización a través de la Intendencia Municipal, que utilizan fosforados (malathion) y piretroides se les controla solo con análisis de colinesterasas. Hace 3 años que vienen siendo controlados no encontrándose valores de colinesterasas descendidas en ninguno de ellos en este período. Tampoco se encontraron otras alteraciones de laboratorio.

Los expuestos laborales a organofosforados a nivel agrícola sí han mostrado alteraciones de estas enzimas que han coincidido con el cuadro clínico. En general a nivel laboral hemos

obtenido una correlación bastante estrecha entre el descenso de los valores de las colinesterasas y las manifestaciones clínicas de intoxicación aguda.

De entre de los expuestos a organofosforados a nivel agrícola encontramos además en el año 1987, 11 pacientes con alteraciones de la velocidad de conducción nerviosa y electro-miograma, hechos que sugieren la existencia de una neuropatía periférica.

Los expuestos laborales a organoclorados han sido poco numerosos, se trata de formuladores de Aldrín y Dieldrín; se les dosificó dieldrín en sangre encontrándose valores que van de 135 a 270 ppb. A nivel agrícola prácticamente no tenemos casos registrados.

No disponemos de otros métodos de laboratorio para los expuestos a otros plaguicidas (fungicidas y/o herbicidas por ejemplo).

CONCLUSIONES

La problemática laboral con los plaguicidas, en Uruguay, es una realidad que no ha sido suficientemente estudiada. Solo se dispone de nuestras estadísticas y las del Banco de Seguros, en la cual solo se menciona el tipo de producto y no se analizan los efectos. Del análisis realizado de nuestros casos surge:

1. La problemática laboral más frecuente y más grave es a nivel del aplicador agrícola.
2. Hay un desconocimiento total del manejo de los agroquímicos por parte de estos trabajadores.
3. Los plaguicidas que más intoxicaciones agudas así como efectos crónicos han causado son los más usados, son los de toxicidad mayor y los de menor costo económico.
4. Nos preocupa las edades de estos pacientes, muy jóvenes, expuestos a productos químicos sin recibir una información y formación adecuada a los mismos.
5. Se trata de adultos jóvenes que dado su cuadro clínico requieren internaciones en un alto porcentaje, por períodos largos y en unidades especializadas de alto costo.
6. Hemos detectado la existencia de neurotoxicidad periférica por organofosforados.

Todos estos hechos nos llevan a plantear que debemos insistir en la tarea de educación continua para evitar estas intoxicaciones y como Centro de Toxicología estamos convencidos que esa es una de las funciones primordiales que tenemos para con la comunidad.

NEUROPATIA PERIFERICA POR PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS

M. Burger, C. Alonzo, L. C. Heuhs, A. Laborde

Departamento de Toxicología, Hospital de Clínicas
Montevideo, Uruguay

J. Lacuague, L. Alfonso

Departamento de Fisiatría, Hospital de Clínicas
Montevideo, Uruguay

INTRODUCCION

Según nuestras estadísticas de Uruguay, los plaguicidas son la segunda causa de intoxicación. Dentro de ellas, organofosforados y organoclorados se alternan año con año para ocupar el primer lugar.

La industria agropecuaria tiene importancia en el país y es así que el uso de plaguicidas a nivel agrícola y veterinario está muy difundido. Dentro de los insecticidas, los organofosforados son los productos que más se importan al país. Hay además el extenso uso doméstico y ahora sanitario de estos compuestos.

Debido, por consiguiente, a la alta frecuencia de las intoxicaciones agudas por organofosforados así como al aumento progresivo de las consultas de índole laboral fue propuesto el estudio de sus efectos a nivel del sistema nervioso periférico. Son conocidas las neuropatías periféricas por organofosforados que ocurren luego de una intoxicación aguda generalmente grave(2) o en el curso de una exposición laboral prolongada (4,6).

Está aceptado el hecho de que los fosforotioatos producen el bloqueo de la NTE - estearasa neurotóxica - por fosforilación formando luego un complejo fosforilo envejecido muy estable. Aparentemente se necesitaría una inhibición del 70% de la NTE para producir finalmente la lesión. Dicha lesión se traduce en una axonopatía -degeneración axonal primitiva- que va alterando las fibras más gruesas y más largas para luego llegar a las más finas y más cortas (6). Clínicamente se traduce por una alteración motora, debilidad e hipotonía muscular sobre todo en miembros inferiores, hiporreflexia, pudiendo haber signo de Babinski, calambres y sensaciones parestésicas traducen el toque sensitivo.

MATERIAL Y METODO

Las consultas por exposición ocupacional a plaguicidas organofosforados en el período diciembre 1986 a diciembre 1987 fueron 23, de las cuales se estudiaron en forma completa 14 pacientes.

Las consultas se realizaron espontáneamente en el Departamento de Toxicología o fueron pacientes enviados por médico, presentando o no sintomatología de neuropatía periférica.

Fueron específicamente excluidos de este estudio los enfermos que en el curso de su exposición crónica sufrieron una intoxicación aguda. Se elaboró un protocolo de estudio que consiste en:

- historia clínica-laboral y clínica patológica
- exámenes paraclínicos: exámenes de valoración general; colinesterasas, velocidad de conducción nerviosa, electromiograma.

En 13 pacientes se practicaron estudios electrofisiológicos que incluyeron: neuroconducción sensitiva y motora, respuestas tardías (H y F) y electromiograma, en los 4 miembros.

Se estimularon los nervios tibial anterior, tibial posterior e sural de los miembros inferiores y los nervios mediano y cubital en los superiores.

Se mantuvo la temperatura ambiental por encima de 20 C.

Se utilizó electromiografo DISA modelo 1.500.

Se analizó edad, sexo, profesión, tipo de organofosforado, tiempo de exposición, síntomas y signos de neuropatía periférica resultados del estudio de velocidad de conducción nerviosa y los antecedentes patológicos.

RESULTADOS

Todos los pacientes fueron del sexo masculino, con edades comprendidas entre 15 y 68 años, 9 de los cuales eran menores de 30 años. Trece de ellos eran agricultores realizando tarea de aplicador agrícola no profesional. Uno era obrero de una fábrica de envasado.

En cuanto al tipo de organofosforado predomina Parathión etílico con 7 casos; Malathion 2 casos, en algunos casos asociados entre ellos; luego triclorfón y metamidophos con 2 casos, luego dimetoato y dicrotophos con un caso cada uno. En este punto hubo dificultades para precisar el nombre correcto del producto; también fue dificultoso definir el uso de uno solo.

En cuanto al tiempo de exposición varió entre 1 y 9 años; siendo la mayoría mayor a 4 años. Hubo 2 pacientes que tenían un tiempo de exposición de 1 año; uno de ellos trabajaba en ambiente cerrado.

En cuanto a la presencia de signología clínica de neuropatía periférica hubo 7 casos, consistiendo en: sensaciones parestésicas, calambres nocturnos, adinamia, debilidad muscular, hiporeflexia, 2 pacientes tenían toque piramidal dado por Babinski. De los 14 pacientes incluidos en el protocolo, 11 mostraron alteraciones significativas en los estudios electrofisiológicos.

Los estudios electrofisiológicos realizados en 13 pacientes mostraron alteraciones en 11, en tanto 2 fueron normales. Las alteraciones observadas fueron las siguientes:

1. Disminución de la velocidad de conducción motora (entre 5 y 20%) en 10 de los pacientes, siendo el nervio tibial posterior el afectado con mayor frecuencia (10 en 10).

2. Disminución de la velocidad de conducción sensitiva en 8 casos, siendo el nervio sural el comprometido más frecuentemente (7 en 8).
3. La tensión mínima de la Respuesta F fue aumentada en 5 casos, observándose valores en el límite del rango normal en otros 5 casos.
4. La tensión mínima del Reflejo H fue aumentada en 2 casos.
5. Presencia de Reflejo Axonal en 2 casos.
6. Fibrilaciones en el Electromiograma (en más de un área muscular y en más de un músculo) en 9 casos.

Los hallazgos electrofisiológicos fueron compatibles en la gran mayoría de los casos con una polineuropatía sensitivo-motora distal simétrica con participación axonal y en grado moderado de la mielina.

Los valores de colinesterasas fueron normales. Todos los pacientes se consideraban en buen estado de salud hasta el momento de la consulta. No hubo ningún paciente diabético, uno solo presentó alcoholismo crónico el cual tenía 29 años de edad. No ingerían ningún tipo de medicamento en forma crónica, solo en forma esporádica frente a episodios agudos. El examen físico y los exámenes de valoración general fueron normales.

CONCLUSIONES

En primer lugar nos llamó la atención la elevada frecuencia con que encontramos alteraciones compatibles con el diagnóstico de neuropatía periférica, de los 14 pacientes, 11 fueron positivos. Otro hecho que consideramos merece destacarse es la edad de estos pacientes, jóvenes, en su mayoría menores de 30 años que han comenzado su exposición muchos de ellos aún siendo niños. Finalmente un relativo corto tiempo de exposición en muchos, recordemos que hay varios pacientes que llevan 4 años de expuestos.

Estos tres hechos señalados: elevada frecuencia, corta edad y tiempo de exposición nos permite asegurar que en Uruguay se sigue haciendo muy mal manejo de estos productos. Los pacientes en su mayoría eran agricultores que hacían aplicaciones en sus propios cultivos o eran empleados para esta tarea; lamentablemente ninguno de ellos tenía la mínima noción del producto que estaba usando y por consiguiente no hubo medidas de protección personal. Las entrevistas se prolongaban tratando de insistir en este punto ya que estamos convencidos que la labor de educación es fundamental.

En los resultados obtenidos según el tipo de organofosforado, tenemos casos por Triclorfón, Metamidophos y Dimetoato que concuerdan con los autores que más han trabajado en el tema, pero el 50% de nuestros casos está vinculado a Parathion etílico. Creemos que este hecho debe señalarse ya que si bien algunos autores lo citan, para otros no es tan frecuente que cause este tipo de lesión. En nuestro país es el organofosforado más usado, es el más barato y en general sus solventes son hidrocarburos tipo Kerosene.

Finalmente le hemos otorgado gran valor al estudio de velocidad de conducción nerviosa, ya que nos permite hacer diagnóstico de alteraciones neurológicas precozmente, antes de que

la sintomatología del enfermo esté presente; no es cruento, es relativamente fácil de realizar y es económico. De ahí que una de nuestras conclusiones es que todo paciente expuesto en forma crónica a plaguicidas organofosforados debe realizarse un estudio de velocidad de conducción nerviosa por lo menos en nuestro medio. No existen por ahora posibilidades de practicar estudios de la NTE - estearasa neurotóxica - y consideramos que el estudio histológico por biopsia neuromuscular no es un método para aplicar en el estudio de comunidades expuestas.

RESUMEN FINAL

Los efectos neurológicos centrales y periféricos, agudos y retardados, causados por plaguicidas organofosforados se conocen desde hace varios años. Este trabajo pone de manifiesto la neuropatía periférica en individuos expuestos en forma crónica a estos productos. Se presentan 11 casos de pacientes con esta patología, previamente seleccionados de acuerdo a un protocolo de estudio, donde la velocidad de conducción nerviosa adquirió gran importancia. Concluimos que todo trabajador expuesto a plaguicidas organofosforados debe ser controlado a nivel neurológico a efectos de un diagnóstico precoz. La prevención en estos casos es fundamental con el fin de evitar la progresión lesional en virtud de la ausencia de un tratamiento específico.

REFERENCIAS

- Farías, E.; Pronczuk, J.; Burger, M. - Polineuropatías Tóxicas. XVII Congreso Nal.Med.Int. 343-51, 1986.
- Farías, E.; Rivero, O.; Cambón, E. - Neuropatías Periféricas Tóxicas. Rev. S.S.F.F.A.A. 31-34, 1983
- Fournier, L.; Fournier, E.; Lecorsier, A. - Determination de la neurotoxic-estérase en pathologie neurologique d'origine toxique. Ann.Med.Int. 138, 3, 169-172, 1987.
- Hierous R.; Johnson, M.K. - Clinical and Toxicological Investigations of a Case of Delayed Neuropathy in Man after Acute Poisoning by an Organophosphorus Pesticide. Arch. Toxicology 40, 279-84, 1978.
- Lotti, M.; Becker, C.E. - Occupational exposure to the cotton defoliants DEF and merphos. A rational approach to monitoring organophosphorus -induced delayed neurotoxicity. J. Occup. Med. Chicago 25 (7) 517. 22 Jul. 1983.
- Lotti, M.; Becker, C.E.; Aminoff, M.J. - Organophosphate polyneuropathy: pathogenesis and prevention. Neurology, 1984, 34, 658-662.
- Senanayake, N.; Johnson, M. - Acute Polyneuropathy after poisoning by a new organophosphate insecticide. N. Engl. J. Medicine. Vol. 306, 3, Jan. 21, 155-57, 1982.
- Senanayake, N. - Neurotoxic effects of organophosphorus Insecticides. New Eng. J. Med. 316, 13, March 26, 761-63, 1987.
- Solé Violán, J.; Martínez Chuecos, J. - Manifestaciones neurológicas en la intoxicación aguda por insecticidas organofosforados. Med.Clin. Vol. 85, 6, 217-220, 1985.
- Solé Violán, J.; Molineras Somolinos, F. - Intoxicación aguda por insecticidas anticolonesterásicos (I) Organofosforados. Med. Intesnvia 9; 3; 114-17; 1985.

ANÁLISE CRÍTICA DE ALGUNS TESTES DE CURTA DURAÇÃO COMO PREVISORES DO POTENCIAL CARCINOGENICO DE COMPOSTOS QUÍMICOS

M. Nazareth Rabello-Gay
Instituto Butantan
São Paulo, Brasil

A melhor informação sobre a capacidade de um composto de induzir câncer no homem provém de dados epidemiológicos, difíceis de serem obtidos e geralmente restritos a exposições profissionais, onde se pode ter uma idéia do nível e da duração da exposição.

Quando negativos, tais dados não garantem ausência de risco cancerígeno; podem significar somente que a exposição foi curta, a dose muito baixa ou que a população exposta era pequena. Fornecem apenas os limites dentro dos quais um determinado tipo de exposição não afeta a incidência de câncer no homem.

Resultados epidemiológicos, positivos ou negativos, entretanto, são obtidos *a posteriori* e é importante saber, *a priori*, se um determinado agente pode ou não induzir câncer no homem. Daí a importância de ensaios que possam prever o potencial cancerígeno de uma substância: os de longa duração, realizados em roedores, durante toda a vida do animal, cujo resultado é dado pelo número e tipo de tumores induzidos pelo agente em questão, e os testes de curta duração, realizados *in vitro* e *in vivo*, que detectam fenômenos ligados às etapas do processo oncogênico.

A carcinogênese envolve vários passos, que foram esquematizados em três etapas, por sua vez também constituídas de vários passos: a iniciação, a promoção e a progressão.

A iniciação se caracteriza por uma alteração irreversível do material genético, que pode ser uma modificação em um par de bases em um gene (mutação de ponto ou gênica), ou um deslocamento de um segmento do DNA para um novo sítio dentro do genoma (mutação cromossômica) (Klein e Klein, 1984; Barbacid, 1986). No caso da carcinogênese química, essa alteração começa com a ativação metabólica do pré-carcinógeno até chegar a um estado altamente reativo, seja uma forma eletrofilica (Miller, 1970; Miller e Miller, 1976), de radicais livres ou de radicais de oxigênio (Halliwell e Gutteridge, 1984), que reage com o DNA. A interação do metabólito com o DNA pode levar à formação de um aducto covalente composto - DNA (Lutz, 1979, 1982), ou induzir outras lesões, como quebras simples ou duplas na hélice. O resultado pode ou não ser um evento mutagênico ou pré-mutagênico.

Uma vez que a iniciação da carcinogênese se dá por uma alteração genética, parece óbvio que todo agente capaz de danificar o DNA possa ser considerado um carcinógeno potencial. É nesse pressuposto que se baseiam todos os testes de curta duração para previsão de carcinogênese, que têm como objetivo detectar ou inferir diferentes tipos de dano ao DNA, podendo ser realizados *in vitro* ou *in vivo*, em sistemas que utilizam desde bactérias até células humanas.

O ensaio que se tornou mais difundido como previsor do potencial oncogênico de um composto foi o desenvolvido por Bruce Ames e associados e usa como indicador a *Salmonella typhimurium* (Ames et alii, 1973; Ames et alii, 1975). Os primeiros resultados de concordância entre carcinogenicidade em roedores e mutagenicidade no teste de Ames foram muito encorajadores, dando alta sensibilidade (porcentagem de carcinógenos identificados como mutagênicos) e especificidade (porcentagem de não-carcinógenos não-mutagênicos), de 90% ou mais (McCann et alii, 1978). À medida que novos compostos, ou classes de compostos, foram sendo testados, entretanto, esses valores baixaram e tornou-se evidente que a eficiência do teste de Ames como bom indicador do potencial cancerígeno se restringe a determinadas classes de substâncias (Rinkus e Legator, 1979; Zeiger, 1987; Lijinsky, 1988).

Os compostos que dão resultado positivo se caracterizam por necessitar ativação metabólica simples, transformam-se em um composto eletrofílico em poucos passos metabólicos, são absorvidos pelo sistema e não são tóxicos à *Salmonella*. Ao contrário, os que dão resultado negativo incluem pré-mutagênicos metabolizados em eletrófilos altamente reativos que não são detectados por terem meia-vida curta; outros, por necessitarem de vários passos enzimáticos para chegarem a um estado eletrofílico, ou de enzimas que não estão presentes na fração S-9. Outros ainda são compostos que produzem apenas aberrações cromossômicas ou efeitos no fuso mitótico, como o asbestos, certos metais, esteróides, benzeno, pesticidas organoclorados, colchicina (Legator e Harper, 1988).

A partir do momento em que se verificou que o teste de Ames não é suficiente para prever carcinogenicidade de um composto, procurou-se verificar qual ou quais outros testes de curta duração poderiam complementá-lo. Isso tem sido feito através do levantamento bibliográfico para o estabelecimento de bancos de dados contendo informações sobre o desempenho de um composto em vários sistemas, e de programas, onde vários laboratórios testam os mesmos compostos em vários ensaios, procurando chegar a uma conclusão a respeito do poder de previsão desses ensaios. Como exemplo de tais esforços, podemos citar o International Programme on Chemical Safety (IPCS), o Gene-Tox Program da Environmental Protection Agency (EPA, USA) e o National Toxicology Program (NTP) do National Cancer Institute (NCI) dos Estados Unidos.

O estudo do NTP, cujos resultados foram comentados por Tennant et al. (1987), comparou 73 compostos quanto aos resultados em testes de longa duração em roedores (ratos e camundongos, ambos os sexos) e em quatro testes *in vitro* de curta duração: o teste de Ames, o teste de mutação gênica direta em células de linfoma de camundongo (MOLY), o teste de aberrações cromossômicas e de trocas entre cromátides-irmãs em células de ovário de hamster chinês (CHO). Os autores mostraram que, embora haja um bom número de substâncias carcinógenas em roedores que são detectadas pelos ensaios de curta duração (Tabela 1), e de não-carcinógenos que dão resultado negativo nos quatro ensaios (Tabela 2), existem também os carcinógenos não detectados por nenhum dos quatro testes (os falsos negativos) (Tabela 3) e os não carcinógenos que dão positivos em todos eles (os falsos positivos) (Tabela 4). Os autores chegam à conclusão de que não há complementaridade entre os quatro testes e que nenhuma bateria construída com esses ensaios aumentaria consideravelmente o desempenho do teste com *Salmonella*.

TABELA 1 - Exemplos de carcinógenos positivos em pelo menos dois testes de curta duração (extraído de Tennant et al., 1987).

Composto	Carcinogenicidade				DME	SAL	MOLY	AC	TCI
	Rato		Camundongo						
	M	F	M	F					
1,2-Dibromo-3-cloropropano	+	+	+	+	0,3	+	+	+	+
Cytembena	+	+	-	-	3,0	+	+	+	+
1,2-Dibromoetano	+	+	+	+	4,0	+	+	+	+
H,H'-Oxidianilina	+	+	+	+	7,9	+	+	+	+
Zearalenone	-	-	+	+	12,1	-	-	+	+
Sulfato de selênio	+	+	-	+	14,9	+	+	+	+

DME : dose máxima eficiente (mg/kg/dia)

SAL : **Salmonella**

MOLY : linfoma de camundongo

AC : aberrações cromossômicas

TCI : troca entre cromátides-irmãs

M = Macho

F = Fêmea

TABELA 2 - Exemplos de não-carcinógenos negativos em quatro testes de curta duração (extraído de Tennant et al., 1987).

Composto	Carcinogenicidade				DMT	SAL	MOLY	AC	TCI
	Rato		Camundongo						
	M	F	M	F					
Caprolactam	-	-	-	-	1931,3	-	-	-	-
Água de hamamelis	-	-	-	-	5536,0	-	-	-	-
D-Manitol	-	-	-	-	6437,5	-	-	-	-
Dióxido de titânio	-	-	-	-	6440,0	-	-	-	-

DMT : Dose máxima testada (mg/kg/dia)

SAL : **Salmonella**

MOLY: linfoma de camundongo

AC : aberrações cromossômicas

TCI : troca entre cromátides-irmãs

M = Macho

F = Fêmea

Tabela 3: Exemplos de Carcinógenos não detectados pelos quatro testes de curta duração (extraído de Tennant et al., 1987)

Composto	V.A.	DmE	Atividade em Rato/Camundongo	SAL Dose	Ativ.n	MOLY Dose	Ativ.	AC Dose	Ativ.	TCI Dose	Ativ.
Mistura bifenil polibrominada	Gavagem	0,2	* m : F/F * f : F/F	1000	-	20	-	500	-	500	-
Reserpina	Dosado no alimento	0,2	m : A/VS f : -/GM	10000	-	10	-	200	-	200	-
2,3,7,8-Tetracloro-dibenzo-p-dioxina	Gavagem	0,00001	m : T/F f : F/F,T	1000	-	1	-	0,8	-	0,8	-

V.A. : via de administração

DmE : dose mínima eficiente (mg/kg/dia)

Sítios de tumores : F = fígado; A = glândula adrenal; VS = vesícula seminal;
GM = glândula mamária; T = tireóide

Dose em Salmonella: ug/placa

Dose nos outros testes: ug/ml

* m = macho

* f = fêmea

Tabela 4: Exemplos de Não-Carcinógenos positivos em quatro testes de curta duração (extraídos de Tennant et al., 1987)

Composto	V.A.	DmE	Atividade em Rato/Camundongo	SAL Dose	SAL Ativ.n	MOLY Dose	MOLY Ativ.	AC Dose	AC Ativ.	TCI Dose	TCI Ativ.
2-Cloroetanol	Dérmica	70,7	* m : -/- * f : -/-	3,333	A,2	80,0	A	10;100	S,A	1,200	S,A
8-Hidroxiquinoline	Dosado no alimento	386,3	m : -/- f : -/-	1,0	A,2	0,4	S	7,5	A	2,6	S,A
2,6-Toluenodiamina 2HCl	Dosado no alimento	24,8	m : -/- f : -/-	10,0	A,4	200,0	S	250	S	50	S,A

MDNT: máxima dose negativa testada

SAL : Dose em ug/placa

Atividade: A = positiva, com ativação exógena; o n° refere-se ao número de linhagens testadas

Nos outros testes: Dose: menor dose positiva em ug/ml.

Atividade: A = positiva, com ativação exógena; S = positiva, sem ativação exógena

* m = macho

* f = fêmea

Já o estudo do IPCS (Ashby et alii, 1985) optou por escolher 8 carcinógenos considerados difíceis de serem detectados ou inativos no teste de Ames e dois compostos não carcinogênicos e comparar os resultados obtidos em testes utilizando bactérias, fungos, *Drosophila* e células de mamíferos em cultura. As conclusões desse estudo mostraram que os carcinógenos inativos ou de difícil detecção em *Salmonella* pertencem a duas categorias: (a) genotoxinas não mutagênicas em *Salmonella* devido a deficiências metabólicas do sistema - a hexametilfosforamida (HMPA), o Toluidina, Safrol e Acrilonitrila - que foram detectados pela maioria dos ensaios com eucariotos; (b) um grupo compreendendo o Benzeno, o Dietilhexilftalato (DEHP), o Dietilstilbestrol (DES) e Fenobarbital, que mostram uma gama mais seletiva de atividades genotóxicas e nenhum dos testes deu positivo para todos eles. Além disso, o DES, o Fenobarbital e o DEHP, três carcinógenos escolhidos para representar a classe de compostos que parecem induzir tumores em roedores sem primeiro modificar a integridade do DNA, mostraram que têm atividade genotóxica. Assim, o termo "não- genotóxico" só deve ser usado quando um número suficientemente grande de ensaios tenham sido usados. O estudo chegou à conclusão de que o teste que melhor complementa o de Ames na previsão de carcinogenicidade é o que detecta aberrações cromossômicas (WHO, 1985).

Quando os 23 compostos ou combinações classificados pela International Agency for Research on Cancer (IARC) como causadores de câncer no homem (IARC, Suppl. 4, 1982) foram analisados quanto à sua atividade no teste de Ames e sua clastogenicidade *in vivo*, verificou-se que 20 eram ativos em um ou em ambos os ensaios (Shelby, 1988) (Tabela 5).

A estrutura desses compostos também foi analisada quanto à presença de centros eletrofílicos que pudessem estar associados à sua atividade mutagênica e carcinogênica (Figura 1). Tendo isso em mente, espera-se que o Treosulfan - que não foi avaliado nos testes de curta duração - deve dar resultados positivos, pois é semelhante ao Myleran. O 4-amino-bifenil, que é positivo no Ames, deve dar positivo em medula, por analogia à benzidina. O bis(clorometil) eter, pelo resultado no Ames e semelhança à Ciclofosfamida, Clorambucil e Melphalan, também deve dar positivo em medula óssea. O mesmo se pode prever quanto à Clornaphazine e ao Gás mostarda.

Não se pode prever o que vai acontecer na medula com os estrógenos conjugados, pois não têm centro eletrofílico. O DES, entretanto, é positivo em medula óssea.

O asbestos não deve produzir efeito na medula; seu efeito seria órgão-específico. Da mesma forma, o Methoxsalen e luz ultravioleta (UV) só devem afetar os tecidos expostos diretamente a eles.

Em resumo, a maioria dos carcinógenos humanos é genotóxica e pode ser detectada usando o teste de Ames e um ensaio de aberrações cromossômicas ou micronúcleo em medula óssea de roedores.

Esses dados vêm corroborar a opinião de pesquisadores que defendem o uso de testes *in vivo* para a detecção do potencial carcinogênico de um composto.

Além das razões já expostas, existem outras que não só justificam como tornam indispensáveis o uso do animal intacto para tal estudo, tais como, especificidade do órgão-alvo, possibilidade de exploração de várias vias de administração, exposição crônica, fatores sinérgicos, dieta, sexo e idade, só para citar alguns parâmetros que podem interferir na atividade do composto em estudo.

TABELA 5 - Genotoxicidade dos carcinógenos humanos do Grupo 1 (segundo IARC). Resultados em medula óssea de roedores (testes citogenéticos) e em Salmonella (Shelby, 1988).

Carcinógenos	MO	SAL
Compostos orgânicos		
1. 4-aminobifenil	I(+)	+
2. analgésicos com fenacetina	+	+
3. azatiopina	+	+
4. benzeno	+	-
5. benzidina	+	+
6. bis (clorometil) éter	I(+)	+
7. clornafazina	AD(+)	+
8. mileran	+	+
9. terapia combinada: mostarda nitroge- nada, vincristina, procarbazina, prednisona	+	+
10. clorambucil	+	+
11. estrógenos combinados	AD(+)	-
12. ciclofosfamida	+	+
13. DES	+	-
14. melfalan	+	+
15. gás de mostarda	AD(+)	+
16. 2-naftilamina	+	+
17. fuligem, alcatrão, óleos	+	+
18. treosulfan	AD(+)	AD(+)
19. cloreto de vinila	+	+
Outros Agentes		
20. compostos de arsênico	+	-
21. asbestos	AD(-)	-
22. compostos hexavalentes de cromo	+	+
23. metoxalen + UV	AD(-)	+

MO : medula óssea

SAL : **Salmonella**

+ : resultado positivo; - : resultado negativo

AD : ausência de dados

I : dados disponíveis, mas de um protocolo inadequado

() : resultado previsto

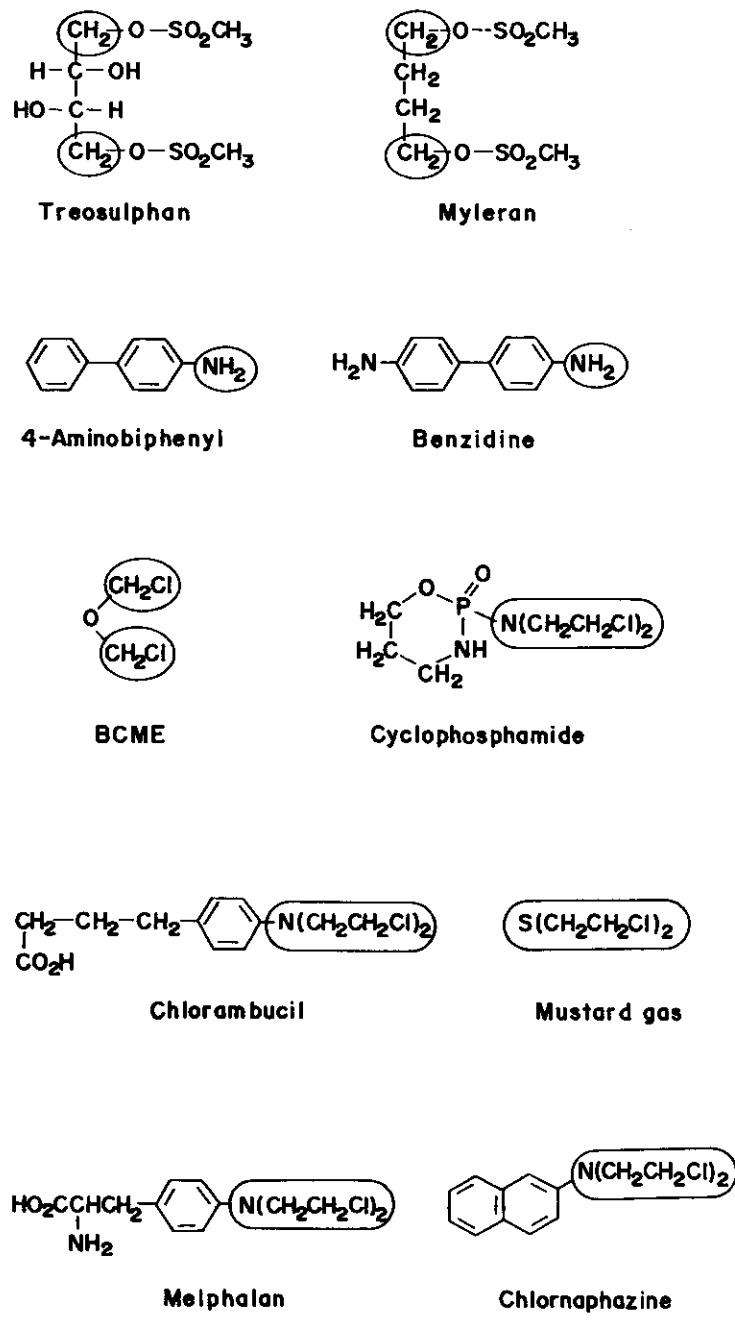


Figura 1 - Estrutura química de alguns compostos associados a câncer no homem, assinalando os centros eletrofílicos relacionados ou suspeitos de estarem relacionados com atividade mutagênica e cancerígena (Shelby, 1988).

REFERENCIAS

1. Ames, B.N., Durston, N.E., Yamasaki, E. e Lee, F.D. 1973. Carcinogens are mutagens: A simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proc. Natl. Acad. Sci (USA)* 70: 2281-2285.
2. Ames, B.N., McCann, J. e Yamasaki, E. 1975. Method for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian microsome test. *Mutation Research* 31: 347-364.
3. Ashby, J., de Serres, F.J., Draper, M., Ishidate Jr., M., Margolin, B.H., Matter, B.E. e Shelby, M.D. (eds) 1985. Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the International Programme on Chemical Safety's Collaborative Study on in vitro Assays. *Progress in Mutation Research*, volume 5, Elsevier Science Publishers Amsterdam-Oxford-New York, 752 pp.
4. Barbacid, M. 1986. Oncogenes and human cancer: cause or consequence. *Carcinogenesis* 7: 1037-1042.
5. Halliwell, B. e Gutteridge, J.M.C. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 219: 1-14.
6. IARC, Suppl. 4, 1982. IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans: Chemicals, industrial processes and industries associated with cancer in humans. Int. Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
7. Klein, G. e Klein, E. 1984. Commentary: Oncogene activation and tumor progression. *Carcinogenesis* 5: 429-435.
8. Legator, M.S. e Harper, B. 1988. Mutation screening - in vitro testing. The end of an era; animal and human studies - the direction for the future. *Ann. N.York Acad. Sci.* 534: 833-844
9. Lijinsky, W. 1988. Importance of animal experiments in carcinogenesis research. *Environ. Molec. Mutagen.* 11: 307-314.
10. Lutz, W.K. 1979. In vivo covalent binding of organic chemicals of DNA as a quantitative indicator in the process of chemical carcinogenesis. *Mutation Research* 65: 289-356.
11. Lutz, W.K. 1982. The covalent binding index - DNA binding in vivo as a quantitative indicator for genotoxicity. In B.A. Bridges, B.E. Bullerworth and I.B. Weinstein (eds.), *Banbury Report 13: Indicators of Genotoxic Exposure*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.

12. McCann, J., Choi, E.; Yamasaki, E. e Ames, B.N. 1975. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/ microsome test: Assay of 300 chemicals. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 72: 5135-5139; 73: 950-954.
13. Miller, J.A. 1970. Carcinogenesis by chemicals - an overview, G.H.A. Clowes Memorial Lecture, Cancer Res. 30: 559-576.
14. Miller, E.C. e Miller, J.A. 1976. The metabolism of chemical carcinogens to reactive electrophiles and their possible mechanisms of action in carcinogenesis. In: C.E. Searle (ed.), Chemical Carcinogens; ACS Monogr. Número 173, ACS, Washington, D.C., Ch 16, pp. 737-762.
15. Rinkus, S. e Legator, M.S. 1979. Chemical characterization of 465 known or suspected carcinogens and their correlation with mutagenic activity in the Salmonella typhimurium system. Cancer Res. 39: 3289-3318.
16. Shelby, M.D. 1988. The genetic toxicity of human carcinogens and its implications. Mutation Research 204: 3-15.
17. Tennant, R.W., Margolin, B.H., Shelby, M.D., Zeiger, E., Haseman, J.K., Spalding, J., Caspary, W., Resnick, M., Stasiewicz, S., Anderson, B. e Minor, R. 1987. Prediction of chemical carcinogenicity in rodents from in vitro genetic toxicity assays. Science 236: 933-941.
18. WHO, 1985. Environmental Health Criteria 47. Summary report on the evaluation of short term tests for carcinogens (Collaborative study on in vitro tests). Geneva, 77 pp.
19. Zeiger, E. 1987. Carcinogenicity of mutagens. Predictive capability of the Salmonella mutagenesis assay for rodent carcinogenicity. Cancer Res. 47: 1287-1296.

CRITICAL ANALYSIS OF LONG-TERM TESTS FOR CARCINOGENICITY

J.R.P. Cabral

International Agency for Research on Cancer
World Health Organization
Lyon, France

SUMMARY

The objective of long-term carcinogenicity studies is to observe test animals for a major portion of their lifespan for the development of neoplastic lesions during or after exposure to various doses of a test substance given by an appropriate route. This type of studies requires careful planning and documentation of the experimental design, a high standard of pathology, good animal care and suitable statistical analysis. These requirements are well known and have not undergone major changes during recent years. Rather than giving details of these requirements, which can now be found in many publications, we will try to indicate some of the problems involved in a long-term carcinogenicity study.

INTRODUCTION

The final goal of long-term carcinogenicity studies is to identify chemical that may be carcinogenic to man. The first experimental studies were carried out in order to reproduce human clinical observations. Thus, Yamagiwa and Itchikawa (1915) first produced tumours experimentally, by painting rabbit's ears and skin with tar, to prove that chemicals that were suspected to produce cancer in man could also produce tumours in animals. Long-term carcinogenicity studies are still carried out with the main aim of verifying whether or not a chemical is capable of producing cancer *in vivo* (Barnes and Denz, 1954; Shubik and Sici, 1956; Shubik, 1983). The predominant end-point of these studies is therefore of a qualitative nature.

In order to achieve an adequate qualitative result, the study must be good. First of all, the test must be justified. Given the number of chemicals currently in use or about to be used, the insufficiency of our knowledge about them and the availability of laboratory facilities to test them, compounds should be selected for testing on the basis of established priorities. Broadly speaking, there are two approaches to long-term carcinogenicity testing: first, to mimic the actual environmental situation and to submit experimental animals, as closely as possible, to the same conditions as in the human situation: this implies use of the same exposure levels and route by which human are exposed; and, second, to maximize the sensitivity of the experimental model in order to have the highest possible probability of proving or disproving the carcinogenicity of the chemical, that is, to provide a basic, qualitative answer. There is some

justification in favouring the second approach, if for nothing else because we are compelled to use small numbers of animals. Since the validity of the result is measured by the statistical significance of the effect obtained in the treated animals as compared to untreated controls, the effect must reach the level of sensitivity of the statistical methods employed. In experimental models, the small size of the population at risk is compensated for by increasing the chance of obtaining a measurable effect. This is done by administering relatively high doses (higher than those to which humans are exposed) and by increasing the sensitivity of the method by using animals at their most sensitive age.

A few years ago, the International Agency for Research on Cancer (1980) undertook a critical review of the methodology for carrying out long-term and short-term screening assays for carcinogens. The criteria for long-term tests are summarized here; but it should be stressed that these are not given as rigid rules, but rather as guidelines for meeting the basic requirements for carcinogenicity testing. The main stages of long-term studies for carcinogenicity are design, conduct, analysis and reporting (Table 1).

DESIGN OF THE EXPERIMENT.

In long-term carcinogenicity studies, more than in other studies, it is important to assign specific responsibilities to each component of the team undertaking the experiment. The roles of the toxicologist, pathologist and statistician in the design of an experiment are generally well recognized. However, the responsibilities of these specialists in the conduct of the study are often poorly understood; in particular, the toxicologist and pathologist should establish a monitoring programme to minimize loss of tissue samples for histological evaluation. The statistician should be involved throughout the study - from the beginning until the last parameter has been evaluated statistically. Depending on the type of bioassay, the study may also involve an analytical chemist, nutritionist, microbiologist and computer programmer.

The design of the experiment is related closely to the availability of relevant information on the test substance, which should include: method of analysis, including chemical and physical properties; impurities; source and batch numbers; methods of storage; probable levels of human exposure; and biochemical information, preferably data on comparative metabolism and pharmacokinetics of the compounds. The problem of impurities is of great importance, particularly in long-term carcinogenicity studies in which administration of minute amounts of impurities over a long period of time may alter the results or may be responsible for some of the effects attributed to the test substance (Table 2).

Table 1 - Design and Conduct of Experiments

Personal Responsibilities
Test Substance
Animal Species and Strain
Route of Administration
Dose Selection
Inception and Duration of Exposure, and Observation
Number of Animals per Group
Method of Randomization
Observations
Data Acquisition, Processing and Storage
Data Analysis Methods
Animal Husbandry
Diet
Safety Measures
Written Working Protocol

Table 2 - Test Substance

Synonyms and Trade Names
Formula
Methods of Analysis
Impurities
Source and Batch Number(s)
Methods of Storage
Probable Daily Exposure Level for Humans
Other

It is generally recommended that at least two species of rodent, usually the mouse and the rat, be used in a study.

There is no indication that primates and dogs are more similar to man with respect to metabolism than are rodents, and their use routinely is not recommended. Not enough attention is given to the selection of strains: ideally, strains should be used that have no incidence of spontaneous tumours and a high general susceptibility to all known human carcinogens. In practice, the choice of strain is dictated simply by the laboratory experience and background knowledge of the researcher and/or the existing colony of animals. Still today there is no general agreement on which type of animal should be preferred: inbred, F1 hybrid or outbred animals. Inbred strains are often chosen because their spontaneous incidence of tumors is more stable. F1 hybrids are also recommended because they are hardy. The practical advantage of using outbred animals are related to the long experience of many laboratories and because they are generally considered to be more resistant to disease and to live longer than inbred animals (Table 3).

The oral, cutaneous and inhalation routes of administration are those used predominantly. The choice depends upon the route by which human exposure occurs and also on the characteristics of the test material. The oral route has many advantages, provided the compound can be incorporated in the diet or drinking-water, since it is technically simple and provides for continuous exposure. Cutaneous exposure may be undertaken to simulate a main route of human exposure (e.g., for cosmetics), or as a model system for induction of skin tumours, particularly in experiments of initiation and promotion. Inhalation exposure is particularly relevant when volatile agents or aerosols are to be tested; however, such studies are extremely expensive and very time-consuming (Table 4).

It is generally accepted that 50 animals of each sex should be available in each treated and concurrent control group. A control group of untreated animals should always be run in parallel to the experimental group. If a test compound is administered in a vehicle, an additional control group treated with the vehicle alone is required. The various aspects related to the inclusion of a positive control group have been widely debated: in certain cases, such inclusion may be desirable (e.g., when the compound under study has a similar structure to the positive test substance); but in routine carcinogenicity studies there is no need for positive controls.

Dose selection is a very important issue which, unfortunately, has not attracted enough research and thought. In most instances, at least two or three levels are used. The high dose, in most cases, is the equivalent of the maximum tolerated dose (MTD), that is, the highest dose that can be used in a long-term study without shortening the lifespan of the animals. The lowest dose tested should not interfere with normal growth, development or lifespan of the animals. An intermediate dose should be added when it is found in a preliminary dose-range finding study that major differences in pharmacokinetics exist at different dosage levels (Table 5).

Table 3 - Animal Species and Strain

Species:	Rat, Mouse and Hamster
Sex:	Male and Female
Strain:	Inbred, F1 Hybrid, Outbred

TABLE 4 - Route of Administration

Oral:	Mixed in the diet, in the drinking water or by gastric intubation
Cutaneous:	Topical skin application, e.g., for cosmetics
Inhalation:	Relevant for testing of volatile anaesthetic agents
Other Routes:	Subcutaneous, intraperitoneal, intramuscular and intravenous injection

Table 5 - Criteria for Dose Selection

High Dose: Should produce some toxicity when administered for the duration of the test period

It should NOT induce:

- a) overt toxicity (i.e., appreciable death of cells or organ dysfunction)
- b) toxic manifestations which may reduce the lifespan of the animals
- c) 10% or greater retardation of body weight gain as compared with controls.

Lower Doses: If two or more doses are used their ranges would be fractions of high dose

Carcinogenicity studies should be begun in animals a few weeks after weaning and be continued for the major part of the animals' lifespan. Currently recommended practice is that lifespan be considered a duration of 24 months for rats and 18 months for mice and hamsters. Some investigators prefer not to terminate a study after a predetermined period of time but advocate continuation of the experiment until a defined proportion of the animals has died. A compromise procedure has also been suggested: survivors in all groups are killed and the experiment terminated if mortality in the control or low-dose group liver reaches 75%. No study is continued beyond week 130 of age in rats, 120 weeks in mice and 100 weeks in hamsters, irrespective of mortality. In a satisfactory long-term carcinogenicity study, mortality in the control or low-dose group should not be greater than 50% before week 104 for rats, week 96 for mice and week 80 for hamsters (Table 6).

CONDUCT OF THE EXPERIMENT

Throughout the experiment, animals should be checked preferably twice daily. Moribund animals should be identified and clinical symptoms and mortality should be recorded for all animals. Particular attention must be paid to tumour development: time of onset, location, dimensions and progression of each visible or palpable tumour should all be noted. Body weights of all animals should be recorded individually once a week during the first few months of the experiment and then every four weeks (Table 7).

Pathological examination is an important part of the conduct of a carcinogenicity study. Autopsies should be performed on all animals by highly trained personnel and should be carried out as soon as possible after death. After careful examination of all organs, a wide range of specimens from representative tissues should be properly fixed and prepared for histological examination. It is desirable that the histological examination be performed by the same pathologist who carried out the autopsy. A certain controversy exists regarding the number of tissues that should be examined histologically, and whether or not all animals of all groups should be investigated in the same way. Practical considerations suggest the need to compromise between the various positions. Detailed histological examinations should be conducted on the control group and on group that received the highest effective dose. If different tumour incidences in a given organ are observed among groups, that target organ should be examined histologically in all animals of all groups (Table 8).

ANALYSIS AND REPORTING OF THE RESULTS

The first step in the analysis of a study is a general review of the adequacy of the experiment, to decide whether it is reportable (Table 9). If no invalidating event has occurred (such as, in particular, poor survival or high loss of animal without proper pathological examination) the results can be examined by statistical methods. Analysis of the effects of the test chemicals on growth and survival is of great importance. Since on the one hand, a slight weight depression indicates that the highest possible dose was used, and, on the other, significant differences in survival due to causes other than tumours reduce the validity of the study.

Table 6 - Inception and Duration of Exposure

Inception:	Start soon after weaning
Exposure:	Experiment is terminated if mortality in the control or low dose ever reaches 75%

Table 7 - Observations

Clinical Signs and Mortality
Body Weight and Food Consumption
Hematology and Clinical Chemistry
Pathology

Table 8 - Pathology

Gross Pathology on all Animals
Histology Examination on Control and High Dose Groups
Histology Examination in all Animals with Gross Lesions
Histology Examination in all Animals and to all Sites in which Treatment Related Lesions are Observed in any Dose Group

Table 9 - Analysis and Reporting

Validation of the Data

Adequacy of the Experiment

Chemically Related Effects on Growth, Morbidity and Survival

Categories of Tumour

Statistical Analysis

Assessment of Evidence for Carcinogenicity

Mechanisms of Action

Reporting of the Results

Analysis of tumour incidence requires proper recording of data for each animal. One method sometimes used to evaluate the carcinogenicity of a compound is comparison of the incidences of total tumour-bearing animals in dosed and control groups; however, this endpoint has little meaning because tumours are often multiple. Each type of tumour in each organ thus be considered separately, although experienced pathologists may attempt to group various tumours according to the current knowledge on their histogenesis. It is also important to report benign and malignant tumours separately. In certain instances, distinction of benign from malignant tumours may pose practical difficulties; however, these difficulties are no longer viewed as seriously as they once were. Chemicals that markedly increase the incidence of benign tumours are now viewed with almost as much suspicion as they would have been if the induced tumours had been malignant. Tumour incidence can be examined by various statistical methods, which have been described at length somewhere else (Peto et al., 1980).

A final interpretation of the results should take into consideration the historical control data in the laboratory. It has become evident recently that large variations in the incidence of spontaneous tumours may occur among control animals for no known reason (Tarone et al., 1981). A comparison of the tumour rates in experimental and matched control groups with that seen in the historical controls may be of some help when gauging the observed differences, particularly in the case of rarely found tumours.

Evaluation of evidence of carcinogenicity of a chemical is a complex process which must take into consideration the results of all carcinogenicity studies as well those of short-term assays and correlative data on chemical structure. An increased incidence of malignant tumours may be sufficient evidence of carcinogenicity if it is observed in multiple species or experiments, or when unusual numbers or various types of tumours are observed. Evidence for

carcinogenicity may be limited because the data refer only to single species or experiments or were obtained in experiments with major qualitative or quantitative limitations. When a spontaneous tumours rate is very high, as in the case of liver-cell tumours in some strains of mice, one might predict that those tumours would be induced more readily by chemical than would rare tumours. Therefore, the induction of rare tumours in treated animals should carry greater weight as an indication of potential human hazard, although the data presently available are insufficient to confirm or refute this conclusion. The best evidence of carcinogenicity, therefore, comes from experiments in which multiple types of tumours, including rare ones, are produced (Table 10 and 11).

Table 10 - Assessment of Evidence for Carcinogenicity from Animal Experimental Studies

Sufficient Evidence
Limited Evidence
Inadequate Evidence
Negative Evidence
No Data

Table 11 - Assessment of Evidence for Carcinogenicity from Animal Experimental Studies

Sufficient Evidence:	Increased incidence of malignant tumours: <ol style="list-style-type: none"> a) in multiple species b) in multiple experiments c) unusual degree of incidence, site or type of tumour or age at onset
Limited Evidence:	Data suggest carcinogenic effect but is limited because: <ol style="list-style-type: none"> a) studies refer to single species or experiments b) major qualitative or quantitative limitations

MECHANISMS OF ACTION

When assessing the carcinogenic potential of a chemical, consideration should be given to the mechanisms by which it induces its carcinogenic effect. The possibility of classifying carcinogens by their mechanism of action might be important in the prevention of human cancer, since appropriate methods could then be devised to control the effects of those compounds. However, in view of the limited knowledge currently available on the mechanisms of action of chemical carcinogens, any attempt to classify them in that way would be neither exhaustive nor definitive (IARC, 1983).

SUGGESTED READING

1. Barnes, J.M. and Denz, F.A. (1954) Experimental methods used in determining chronic toxicity: a critical review. *Pharmacol. Rev.*, 6: 191-242.
2. IARC. International Agency for Research on Cancer (1980) Long-term and Short-term Screening Assays for Carcinogens: a Critical Appraisal. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Supplement 2, IARC, Lyon, France.
3. IARC. International Agency for Research on Cancer (1983) Approaches to classifying chemical carcinogens according to mechanism of action. IARC Internal Technical Report N: 83/001. IARC, Lyon, France.
4. Peto, R. et al. (1980). Annex - Guidelines for simple, sensitive significance tests for carcinogenic effects in long-term animal experiments. In: Long-term and Short-term Screening Assays for Carcinogens: a Critical Appraisal. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Supplement 2, IARC, Lyon, France.
5. Shubik, P. (1983) Objective of carcinogenicity testing. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 3: 137-139
6. Shubik, P. and Sici, J. (1956) Chemical carcinogenesis as a chronic toxicity test: a review. *Cancer Res.*, 16: 728-742.
7. Yamagiwa, K. and Itchikawa, K.V. (1915) Uber die Kunstliche Erzeugung von Papilloma. *Verh. Jpan Pathol. Ges.*, 5: 142-148.

CARCINOGENICITY OF PESTICIDES

J.R.P. Cabral

International Agency for Research on Cancer
World Health Organization
Lyon, France

INTRODUCTION

What is a pesticide? A pesticide is a substance capable of selectively killing a pest.

The pesticides are classified depending on the particular use intended: Herbicides are used for the control of a variety of weeds, Fungicides for the control of many plant fungal diseases, Insecticides if insects are the target species and the Fumigants are used predominantly in the control of nematodes in soil.

The importance of pesticides can be judged with data Tables 1 and 2 recently published by Chapman (1978). Table 1 shows that between 1957 and 1976 the total market value of pesticides was up 330 %. We can also see that in this same period the herbicides made a great leap forward controlling now almost half of the pesticide market. The Table 2, giving a breakdown of the insecticide market, indicates clearly the decline of the organochlorine compounds, progressively substituted by the organophosphates, and the emergence of carbamates.

Now we come to another question and that is: why did I choose to rely on the *in vivo* carcinogenicity effects of pesticides? First of all because the assays involving the induction of bacterial mutations show many limitations. Second - There are few epidemiological studies available. Reasons for this scarcity are: a) it is difficult to identify exposed groups of an adequate size which are not exposed to other chemicals. b) or in the case of highly polluting chemicals it may be difficult to identify non-exposed groups. This difficulty in the identification of non-exposed groups is however relatively marginal. Altogether carcinogenesis also follows the laws of dose-response and an epidemiological study on workers exposed to compounds like DDT can be good, even if the control population has clearly a minimal exposure to that pesticide.

In the absence of good human data, one has no choice but rely on experimental studies in laboratory animals as the only possible source of information.

The next question to be explored is: has the potential carcinogenicity of pesticides been investigated satisfactorily? Here I would like to mention the data reported by the International Agency for Research on Cancer (IARC) between 1972 and 1979. According to IARC the evidence that a chemical produces tumours in experimental animals is of two degrees.

- a) **Sufficient evidence** for carcinogenicity is provided by experimental studies that show an increased incidence of malignant tumours in multiple species and following multiple routes and doses.
- b) **Limited evidence** of carcinogenicity in animals because of inconclusive results.

Table 1 - The pesticide market at end user level for the world excluding Comecon countries (sm.1976 money)

	Market Value 1957	%	Market Value 1976	%
Insecticides	882	54	2395	34
Herbicides	255	16	3198	46
Fungicides	370	23	1086	15
Others	125	7	358	5
Total	1632	100	7037	100

Table 2 - Breakdown of the insecticide market by class of product (%)

	1957	1976
Organochlorine	65	25
Organophosphate	25	53
Carbamate		16
Others	10	6

It is important to stress that the concepts sufficient evidence and limited evidence indicate varying degrees of experimental evidence. They have to be always related to the knowledge available at a certain moment and they presuppose a continuous change with the acquisition of new data on the chemicals. Otherwise one risks to have a rigid list containing the carcinogenic chemicals and all the rest, classified as "safe".

A total of 45 pesticides (a real small portion of all pesticides in commerce) have been so far evaluated by IARC with following observations: one is carcinogenic in man; in 15 there is sufficient evidence of carcinogenicity in laboratory animals; in 11 the evidence is limited; one is non-carcinogenic and in the remaining 17 pesticides the available studies are not adequate to make an evaluation of carcinogenic potential in animals or humans.

In Table 3 we have some examples of high volume pesticides (annual production greater than 2500 tons). These are the pesticides considered in this review.

ORGANOCHLORINE PESTICIDES

DDT

DDT is present everywhere in the human environment and is stored by plants and animal tissues. As a consequence most food items are contaminated with it. In the U.S. an extensive survey on ready-to eat food commodities carried out during 1964-1970 indicated that the daily intake of total DDT ranged between 0.0004 and 0.001 mg/kg/day, the higher values being antecedent to 1968 (Duggan and Corneliussen, 1972). In 1969, the maximum acceptable daily intake (ADI) established by FAO/WHO was 0.005 mg/kg/day. Several studies in different countries carried out during 1951-1969 demonstrated that the concentration of DDT in human milk ranges between 0.05 and 0.2 ppm (Laug et al. 1951, Egan et al. 1965, Heyndrickx and Maes 1969). Assuming an average concentration of 0.1 ppm total DDT in milk, a newborn baby ingesting 700 g milk/day would have an intake in the order of 0.01-0.02 mg/kg/day. These intakes exceed, by 2-4 times, the ADI of DDT. The concentration of DDT in cow's milk is definitely lower. The average daily intake in workers engaged in the manufacture of DDT has been estimated to be 0.2 mg/kg/day. There are already some indications available that following the restrictive legislation approved in many countries DDT contamination of food is showing a steady decrease (Duggan and Corneliussen, 1972).

The evidence of carcinogenicity of DDT can be discussed in the light of three types of data:

**Table 3 - Pesticides produced in quantities greater than 2500 tons per year
(From IARC 1972-1979)**

Organochlorine	Organophosphate	Carbamate
BHC (technical)	Dichlorvos	Carbaryl
Carbon tetrachloride		Diallate
Chlordane		Maneb
2,4-D		Thiram
DBCP		Zineb
DDT		Ziram
Dieldrin		
Heptachlor		
Hexachlorobenzene		
Methoxychlor		
PCP		
2,4,5-T		
Toxaphen		

Table 4: Tumour Incidence in Hamsters Given DDT

Group	Effect. N°	TBA N°	%	ANIMAL WITH												
				N: of tumours				Liver tumours								
				N°	per ham- ster	More than one tumour	Adrenal	Liver- Cell		Heman- gio.		Other				
								N°	%	N°	%	N°	%			
Control	39 F	5	12.8	5	0.130	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	12.8
	40 M	3	7.5	3	0.08	0	0	3	7.5	0	0	0	0	0	0	0
DDT 125	28 F	3	10.7	3	0.11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	10.7
	30 M	5	16.6	7	0.23	1	3.3	4	13.3	0	0	0	0	0	3	10.0
DDT 250	28 F	2	7.1	2	0.07	0	0	1	3.5	0	0	0	0	0	1	3.6
	31 M	8	25.8	11	0.35	3	9.6	6	19.3	1	3.2	2	6.4	2	6.5	
DDT 500	40 F	8	20.0	13	0.33	3	7.5	3	7.5	0	0	0	0	10	25.0	
	39 M	11	28.2	11	0.28	0	0	8	20.5	0	0	0	0	3	7.7	

Effect. = Effective

Table 5: Summary of Long-term Feeding Experiments with DDT

Species	Number Experiments	Hepatocarcinogenicity	
		Positive	Negative
Mouse	8	6	2
Rat	7	3	4
Hamster	3	0	3

First. The concentration of DDT in tissues of terminal cancer patients. One study showed an almost identical average concentration of residues in human fat among 292 patients dying with cancer and 336 patients dying with other diseases (Hoffman et al, 1967). One other study (Radomski et al, 1968) showed that patients with non neoplastic liver disease had fat and liver concentrations of DDT residues higher than in controls.

Second. Studies on groups professionally exposed to DDT. No cases of tumour or blood dyscrasia were found in two separate investigations concerning respectively 40 men followed for 0.4-8 years (Ortelee, 1958) and 63 men followed for at least 5 years (Laws et al, 1967). The daily intakes were calculated to average respectively 200 and 50 times those of the general population. The small number of workers studied, the short period of exposure and follow up render this study as of little relevance for assessing long term risks of occupational exposure to DDT. There are no additional studies reported in the literature, designed to test the potential carcinogenicity of DDT in man.

Third. Long term studies in experimental animals. The first reference to the carcinogenicity of DDT was made by Fitzhugh and Nelson in 1947. Technical DDT was fed to Osborne-Mendel rats during 24 months at dietary levels ranging from 100-800 ppm. Among the 75 rats alive after 18 months, 4 had "low-grade" hepatic cell-carcinomas and 11 had hyperplastic nodules. This rat study has been recently re-evaluated by Reuber (1978). The review of the histology has shown a significant incidence of liver tumours, ranging from 36 % to 54 % in treated females and males. The incidence of liver tumours in controls was 0 %.

Later studies by various authors with DDT in rats gave no evidence of carcinogenicity (Radomski et al. 1965 and others). Some of these studies were considered inadequate either because of low survival rate, insufficient data report or because the doses given were too low. More recently Rossi et al. 1977 observed a high incidence of liver-cell tumours in Wistar rats fed 500 ppm DDT for their lifespan.

In our own work with DDT in rats we have shown that concentrations of 125, 250 and 500 ppm DDT in the diet induced an increase in liver-cell tumours predominantly in the females (Cabral et al. 1978).

A study by Cabral et al. (1977) used Syrian Golden hamsters (Table 4). The animals were fed for life a diet containing 125, 250 and 500 ppm DDT. The results of this experiment confirm that the hamster is resistant to the carcinogenic effects of doses of DDT which are carcinogenic for other species. In the previous hamster experiment (Agthe et al. 1970) also did not given any signs of carcinogenicity.

In Table 5 we present a summary of long term-feeding studies with DDT: of a total of 18 experiments (9 were positive and 9 negative). The experimental evidence for carcinogenicity of DDT is actually based on the induction of liver-cell tumours in mice (Tomatis et al. 1972; Terracini et al. 1973) multigeneration studies. The studies in rats have provided contradictory results. This discrepancy, as well as the negative results with hamsters, suggest different metabolic pathways that we do not know yet the nature of. These could be important at the moment of extrapolation of the results to man.

Present knowledge on the carcinogenicity of DDT in animals does not allow us to predict with certainty that DDT will not have a carcinogenic effect in man. There are still many gaps to fill before an overall evaluation can be made, but on the whole it seems that DDT presents a low risk. As a matter of fact a risk vs benefit evaluation of DDT was made by WHO (1973). Because of the DDT uses in world malaria control programmes, saving the lives of millions of people, it was concluded that the benefits obtained from the usage of DDT have surpassed its possible risk.

Methoxychlor

This insecticide is an important DDT analogue. It is effective against a wide range of insects affecting fruit, vegetables, forage crops and livestock. The average daily intake in the U.S. during 1964-1970 was 0.005 mg/kg bw (Duggan and Corneliusen 1972). The maximum ADI established by FAO/WHO was 0.1 mg/kg bw (WHO 1975). In a recent evaluation of the carcinogenic risk of Methoxychlor a total of 5 long-term experiments was considered. In the only mouse study available there was no evidence of carcinogenicity (NCI 1978a). In the 4 rat studies, where animals were fed very high doses, up to 1600 ppm Methoxychlor in diet, the results obtained do not give evidence that methoxychlor is carcinogenic in experimental animals.

BHC (Technical) and Lindane

Table 6 shows the results of long-term feeding studies with BHC in mice and rats.

There are two reports by Nagasaki et al. (1971 and 1972) on the induction of liver-cell tumours in mice. Sixty mice were fed for 6 months diets containing 6.6 and 660 ppm technical BHC. The group fed the highest dose had 100 % liver-cell tumour incidence. No such tumours were seen at lower levels of dosage and in controls.

Later, Hanada et al. (1973), fed diets containing BHC to small groups of mice and reported a high incidence of liver-cell tumours in the groups fed 100 and 300 ppm.

In the old feeding study in rats, (Fitzhugh et al. 1950), no increase in tumour incidence was reported. Lindane (-BHC) is also a widely used pesticide. In mice, the carcinogenic effect of this compound has been demonstrated (Thorpe and Walker 1973; NCI 1977a). There are

reports of about 30 cases of aplastic anaemia in man associated with exposure to BHC or lindane (Loge 1965; Woodliff et al. 1966; West 1967 and Hans 1976).

Heptachlor, Heptachlor epoxide and Chlordane - A comprehensive and up-to-date review on these pesticide has been recently published (IARC, 1979).

Heptachlor and heptachlor epoxide and chlordane were tested in mice and rats by administration in diet. Liver-cell carcinomas were reported in mice of both sexes following exposure to each of the three compounds. No conclusions can yet be reached on the carcinogenicity of these chemicals in rats. A number of case reports have suggested a relationship between home use exposure to heptachlor or chlordane (either alone or in combination with other compounds) and blood dyscrasias (Infante et al. 1978). An association between both pre- and post-natal exposure to technical chlordane containing heptachlor and the development of neuroblastomas in children has been suggested, but this was based on a small absolute number of cases (Infante et al. 1978).

Table 6: Carcinogenicity Experiments with Technical BHC

Species and Strain	Number of Animals		Dose range (ppm)	Treatment length (months)	Carcinogenicity	Refer.
	Treated	Controls				
Mice, dd	60	14	6.6-600	6	100% liver-cell tumours at 660 ppm. No such tumours at lower doses and controls.	1
dd	60	40	100-600	8	7/9 at 300 ppm and 9/9 at 600 ppm with liver cell tumours. No such tumours at 100 ppm and controls.	2
Rats, ?	80	40	10-800	24	None	3

1 Nagasaki et al. 1971, 1972

2 Hanada et al. 1973

3 Fitzhugh et al. 1950

Dieldrin

Intake by the general population of dieldrin from food was reported to be between 0.00007 and 0.0001 mg/kg bw/day during the period 1964-1970 (Duggan and Corneliusen, 1972).

The epidemiological study in workers occupationally exposed to Dieldrin did not give evidence of a carcinogenic risk of Dieldrin to man, but this was based on a small number of workers followed up (Jager 1970; Versteeg and Jager 1973).

There have been at least 11 studies of carcinogenicity in experimental animals (Table 7). The ability of Dieldrin to produce liver-cell tumours in mice is evident. The data on rats have not provided conclusive evidence of carcinogenicity. Our own data in studies conducted in hamsters indicate that this species is resistant to the carcinogenic effects of doses of Dieldrin higher than those producing a very marked incidence of liver-cell tumours in mice.

Toxaphene

A dose-related increase in the incidence of malignant liver cell tumours in mice was reported (NCI 1978d).

In rats, Toxaphene, produced an increase of thyroid tumour in both sexes (NCI 1978d).

Hexachlorobenzene (HCB)

Hexachlorobenzene has been used as a fungicide in various parts of the world, and is also an important impurity of several widely used pesticides, including Dacthal and PCNB. The ADI was withdrawn by WHO/FAO in December 1978 (D.Clegg - Personal communication). It is recognized that HCB residues also arise from sources other than its use as a fungicide. In fact the major source of HCB in the environment originates from the manufacture of many chlorinated hydrocarbons (Quinlivan et al. 1977).

Table 7: Summary of Carcinogenicity Experiments with Dieldrin

Species and Strain	Range of intake (mg/kg bw/day)	Evidence of Carcinogenicity	Reference
Mice: C3HeB/Fe	1.5	+	Davis & Fitzhugh (1962)
CF1	0.15-1.5	+	Walker et al. (1973)
CF1	1.5	+	Thorpe & Walker (1973)
B6C3F1	0.3-0.6	+ (in male mice)	NCI (1978b)
Rats: Carworth	0.12-1.2	-	Treon & Cleveland (1955)
Osborne-Mendel	0.02-7.5	±	Fitzhugh et al. (1964)
Carworth	0.005-0.5	-	Walker et al. (1969)
Osborne-Mendel	1-2.5	-	Deichmann et al. (1970)
Osborne-Mendel	1.5 - 3.2	-	NCI (1978b)
Fischer 344	0.1 - 2.5	-	NCI (1978c)
Hamsters: Syrian golden	1.7 - 15	-	Cabral et al. (1979)

One episode of epidemic poisoning in humans occurred in Turkey between 1955 and 1959 (Table 8). The consumption of HCB- treated wheat seeds for at least one month caused an outbreak of toxic porphyria, which involved more than 3000 people, predominantly children. The mortality rate during these years ranged from 3-11% annually. In 1959 treatment of wheat with HCB was prohibited in Turkey. No new cases of the porphyric syndrome were thereafter reported. However many undesirable symptoms (skin hyperpigmentation, hirsutism, thyroid and liver enlargement etc.) due to this toxic porphyria persist still to-day (Peters et al. 1978).

Experimental evidence on the carcinogenicity of HCB was first reported by Cabral et al. 1977. Table 9 shows the tumour incidence in hamsters fed for life a diet containing 50, 100 and 200 ppm HCB.

The percentage of tumour bearing animals (TBA) varied, with controls showing a 10 % incidence and hamsters treated with 200 ppm HCB a 92 % incidence. There was, therefore, an obvious difference relative to treatment. All 15 thyroid tumours were present only in treated animals. There was a significant increase ($P < 0.05$) in the occurrence of these tumours in males treated with 200 ppm HCB. Also for liver-cell tumours you can notice a dose-response effect. Liver haemangioendotheliomas - These vascular tumours were observed only in HCB - treated groups. There is a dose-response effect. Three of these tumours appearing in males treated with HCB 200 metastasized. Vascular tumours were also observed in the spleen.

Table 10 give information on some biological aspects of the liver-cell tumours induced by HCB.

In the HCB groups the liver-cell tumour (LCT) incidence increased from 46 % in HCB 50 to 85 % in HCB 200. We can further see that there is a dose-response effects for size on the

LCT, multiplicity and latency at death - note that the first LCT appeared after 18 weeks of treatment. So, this seems to be a rapidly progressive situation, although no metastases have been seen.

Table 11 summarizes the long-term feeding experiments with HCB. I have just illustrated to you the results of our hamster study. In mice, our results show that concentrations of 100 ppm or more of HCB in the diet induced liver-cell tumours in mice of both sexes (Cabral et al. 1979).

Our findings that HCB is carcinogenic in two species, and preliminary data showing same effect in rats, provide sufficient evidence of carcinogenicity to recommend greatest caution on the use of this material. In addition investigations on long-term effects in humans known to have been exposed to hexachlorobenzene seem feasible and it is remarkable that they have not been reported or even carried out.

If we now compare the carcinogenicity of DDT with that of HCB (Table 12) we can see that the latter poses many more problems. In the case of HCB there is a wide spectrum of carcinogenic activity for different tissues and different animal species. Further, we have also observed an increase in the number of TBA, a marked shortening of the lifespan and a reduced latency period for onset of liver-cell tumours. With DDT we have clear cut hepatocarcinogenic results only in mice and this without shortening of lifespan. In hamsters we have noted the marked resistance of that species.

Table 8 - Epidemic of Poisoning by Hexachlorobenzene in Turkey (1955-1959)

Kind of Accident	Eating formulation
Material Contaminated	Seed grain
No. of Cases	over 3000 (mostly 4-15 years old children)
Mortality	3-11% Annually (1955-1959) 95% among breastfed infants
Symptoms of HCB-induced porphyria	Cutaneous, hepatic and neurological
References	Cam and Nigogosyan(1963), Dogramaci (1964), Elder (1978), Peters et al. (1966) and Peters (1976).

Table 9: Tumour Incidence in Hamsters Given HCB

		ANIMALS WITH															
				N: of		More		Thyroid		Liver-		Hemangio.					
				tumours		than one				Cell		Liver		Spleen		Other	
Group	Effect.	TBA		per		ham-				tumour		Liver		Spleen		Other	
	N°	N°	%	N°	ster	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Control	39 F	5	12.8	5	0.13	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2.5	4	10.2
	40 M	3	7.5	3	0.08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	7.5
HCB 50	30 F	16	53.3	21	0.70	4	13.3	2	6.6	14	46.6	0	0	0	0	5	16.6
	30 M	18	60.0	27	0.90	8	26.6	0	0	14	46.6	1	3.3	1	3.3	11	36.6
HCB 100	30 F	18	60.0	32	1.06	11	36.6	1	3.3	17	56.6	2	6.6	3	10.0	9	30.0
	30 M	27	90.0	45	1.50	14	46.6	1	3.3	26	86.6	6	20.0	3	10.0	9	30.0
HCB 200	60 F	52	86.6	73	1.21	15	25.0	3	5.0	51	85.0	7	11.6	4	6.6	8	13.3
	57 M	56	98.2	87	1.52	27	47.3	8	14.0	49	85.9	20	35.0	4	7.0	6	10.5

Effect. = Effective

Table 10: Incidence, Size, Multiplicity and Latency of Liver-Cell Tumours (LCT) in Hamsters Exposed to HCB

Group		Hamster With LCT %	Size of nodes (mm)			Multiplicity		N: nodes per hamster	Latency (wks)	
			4-5 %	6-10 %	>10 %	Single %	Multiple %		Range	Average
Control	F	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HCB 50	F	46.6	42.9	35.7	21.4	35.7	64.3	2.4	(46-107)	71.9
	M	46.6	0	57.1	42.9	14.3	85.7	4.4	(58-114)	82.7
HCB100	F	56.6	17.6	41.2	41.2	17.6	82.4	3.3	(46-92)	73.3
	M	86.6	11.6	34.6	53.8	15.4	84.6	4.0	(44-101)	78.3
HCB200	F	85.0	8.0	46.0	46.0	10.0	90.0	4.7	(18-80)	58.5
	M	85.9	6.1	38.8	55.1	8.2	91.8	4.2	(31-89)	66.5

Table 11: Summary of Long-Term Feeding Experiments With HCB

Species	N. of Animals		Intake mg/kg bw/day	Effect on Survival	Evidence of Carcinogenicity
	Control	Treated			
Mice	100	220	6-24	Yes	Carcinogenicity for the liver
Hamsters	80	239	4-16	Yes	Significant induction of liver - cell tumour, liver haemangioendothelioma and thyroid adenoma. Dose - response relationship.

Table 12: Comparative Carcinogenicity of HCB and DDT

	Rat	Hamster	Mouse
HCB	+	+	+
DDT	±	+	+

2,4-D and 2,4,5-T

These are two widely used systemic herbicides that we will here consider together.

A summary of long-term studies with these compounds is shown in Table 13.

2,4-D - Innes et al. (1969) fed 2,4-D to groups of two hybrid strains of mice. Consumption of diets containing 149-323 ppm of 2,4-D for about 20 months showed no increased incidence of tumours. This study had however some limitations (problem of Maximum Tolerated Dose (MTD) that was established only for the infant mouse and not for adult mice).

Subsequently, Hansen et al. (1971) fed diets containing 2,4-D to Osborne-Mendel rats and reported that the incidence of malignant tumours in male rats treated with the highest dose (1250 ppm) was significantly increased ($P < 0.05$) when compared with the respective controls. No effect was seen at the other dose levels in both sexes.

2,4,5-T - This compound was studied only in mice. In the Innes et al. study (1969) the authors used two hybrid strains that were fed in the diet with 60 ppm of 2,4,5-T. No significant increase of any tumour type was reported in the treated mice.

In a second group of experiments Kovacs et al. (1976), using two inbred strains of mice fed continuously 80 ppm in the diet, produced an increase in the total number of tumours in males and females of one strain. This increase in both sexes was significantly different from female controls 9/44 ($P < 0.01$) but not from that in males. For 2,4-D and 2,4,5-T the experimental evidence available is not sufficient to evaluate the carcinogenicity. In recent years it has been shown that pesticides like 2,4,5-T present another type of problem. I want, very shortly, to mention the occurrence of highly toxic impurities, dioxins, present in 2,4,5-T. One dioxin, TCDD, is formed as a by-product during the manufacture of 2,4,5-T. TCDD has been shown to have teratogenic and embryotoxic effects in rats and mice.

OTHER ORGANOCHLORINE PESTICIDES

Pentachlorophenol (PCP)

PCP was tested by the oral route in mice and rats. Both studies failed to produce conclusive results relative to the carcinogenic potential of PCP.

Dibromochloropropane (DBCP)

This compound is mainly used as a soil fumigant for control of nematodes. There have been two recent reports (NCI 1978 e) on the carcinogenic activity of DBCP in mice and rats. DBCP is carcinogenic in both species, producing a high incidence of squamous cell carcinomas of the forestomach in both species. In the rat study, the incidence of mammary adenocarcinomas in females was significantly higher than in the respective controls.

Carbon tetrachloride This compound is used as grain fumigant in agriculture. Several cases of liver tumours in man after exposure to carbon tetrachloride have been reported. However the evidence of carcinogenicity for this compound relies on the production of liver-cell tumours in mice, rats and hamsters.

Table 13: Long-Term Studies With Herbicides 2,4-D and 2,4,5-T

Compound	Species	Intake (ppm)	Effect Survival	Carcinogenicity	Reference
2,4-D	Mice	149-323	No	None	1
	Rats	5-1250	No	Increased tumour incidences	2
2,4,5-T	Mice	60	No	None	1
	Mice(XVII/G)	80	No	None	3
	Mice(C3Hf)	80	No	Increased tumour incidences	3

1 Innes et al. 1969

2 Hansen et al. 1971

3 Kovacs et al. 1976

ORGANOPHOSPHATES (OP)

Studies on the carcinogenicity of this family of pesticides are very scarce. This scarcity of data is astonishing especially if one considers the growing importance of these compounds as alternatives to the organochlorine pesticides. Some of the most used OP compounds are malathion, parathion, dichlorvos, diazinon, disulfoton, etc. As an example we will consider here a well-known member of this group: dichlorvos. This compound has a very wide range of uses in agriculture, in public health programmes of pest control and in household products. An acceptable daily intake (ADI) of 0.004 mg/kg bw was granted by WHO/FAO in December 1974. Studies have detected residues of dichlorvos in cooked foods at levels of 0.01-0.03 mg/kg (Elgar et al. 1972). There are no epidemiological studies available. However there are reports in the literature of groups of people, babies and newborns, intentionally exposed to dichlorvos (Cavagna et al. 1969; Vigliani, 1971) that would be suitable for epidemiological follow up.

Dichlorvos has been shown to be an alkylating agent *in vitro* and also to have mutagenic effects in bacterial systems. Despite this evidence, dichlorvos has not found to be carcinogenic in experimental studies, as is shown in the Table 14.

Table 14: Results of Long-Term Feeding Studies With Dichlorvos

Species	Range Intakes (ppm)	Effect Survival	Length Exposure (months)	Carcinogenicity	Reference
Mice	318-635	Yes	20	None	NCI 1977b
Rats	150-326	No	20	None	NCI 1977b

Dichlorvos was given to mice and rats at MTD levels for a period of 20 months (NCI 1977b). No statistically significant excess of tumours was observed in treated mice and rats compared with respective controls. However, in treated mice few esophageal tumours were reported (NCI 1977b). This is another example of experimental results that one is not in the condition of evaluating their significance.

It is true that dichlorvos is rapidly metabolised *in vivo*. However, also nitrosamines which are powerful alkylating agents and rapidly metabolised, can cause and they produce cancer when administered (single shot) to newborn and young animals (Terracini and Magee, 1964).

CARBAMATES

Carbamates, relative newcomers to pesticidal use, act as the organophosphates principally by inhibition of acetylcholinesterases. One important difference between OP compounds and the carbamates is that the inhibition of cholinesterase by the latter is reversible. The carbamates also do not cause the delayed neurotoxicity that has been demonstrated with some organophosphates (Johnson and Lauwerys, 1969.)

As in the case of OP compounds there is little information available on the potential carcinogenicity of carbamate pesticides. Innes et al. (1969), table 15, surveyed the carcinogenicity of these compounds. In mice, Diallylate, increased the incidence of liver-cell tumours. The other important carbamate pesticides considered here did not show any significant effects. Andrianova and Alekseev (1970) used rats to study the long-term effects of Carbaryl, Maneb, Zineb and Ziram in rats. Only Ziram appeared to give some very marginal indication of carcinogenicity in the rat.

However, some interesting challenges from this family of compounds have become evident.

First - The problem of impurities and of the metabolic and degradation products of thiocarbamates. Some of these compounds (Maneb, Zineb, Thiram, etc.) create some concern because of their goitrogenic (thyroid hyperplasia inducers) effects in laboratory animals (Blackwell-Smith et al. 1953). It is possible that these effects are due to ethylene thiourea (ETU). ETU has been shown to be a process impurity (Bontoyan et al. 1972), a breakdown product in storage (Petrosini et al. 1963) and probably also a breakdown product *in vivo*. ETU is known to produce tumours in the thyroid and other sites in mice (Innes et al. 1969) and rats (Ulland et al. 1972).

Table 15. Results of Long-Term Feeding Studies in Mice With Carbama Pesticides

Compounds	Intake (ppm)	Effects Survival	Carcinogenicity
Carbaryl	14	No	None
Diallate	560	No	Increased incidence of liver-cell tumours
Maneb	158	No	None
Thiram	26	No	None
Zineb	1298	No	None
Ziram	15	No	None

Innes et al. 1969

Second - There are recent reports that many alkylcarbamates and thiocarbamates by reaction with nitrite are capable of producing N-nitroso compounds in vitro and in vivo systems.

N-nitrosocarbaryl a derivative of carbaryl, a widely used pesticide, is a potent carcinogen in rats (Eisenbrand et al. 1975, 1976; Lijinsky and Taylor, 1976). Since nitrite is present in many foods and carbamate residues have also been reported in a wide range of foods, it seems that the conditions for the formation of N-nitroso derivatives in man could take place in real life. The extrapolation of the results of carbamate nitrosation to man is a very complicated one. However, this kind of data suggests the need of appropriate investigations to study any possibilities of large scale formation of N-nitroso compounds.

CONCLUSION

In conclusion one can say that more studies are needed. But this is not satisfactorily (Everybody says so!)

The problems are to know more about uses and consumption of pesticides.

For new chemicals, we need to have good solid data on their biological effect before allowing them to be used in a massive scale in the field.

For old chemicals, we need to have information on their actual uses and conditions of uses.

Is it possible to reduce the exposure of occupationally exposed people?

Risk - benefit analysis. It is most difficult to assess risk versus benefit but in some cases this has been attempted. As mentioned before a risk vs. benefit evaluation of DDT was made by WHO in 1973. In that occasion it was concluded that the benefits obtained from the use of DDT have probably surpassed its possible risk.

REFERENCES

1. Agthe, C. et al. (1970) Study of the potential carcinogenicity of DDT in Syrian Golden hamsters. *Proc.Soc.Exp.Med.(N.Y.)* 134, 113.
2. Andrianova, M.M. and Alekseev, I.V. (1970) On the carcinogenic properties of the pesticides Sevin, Maneb, Ziram and Zineb. *Vop.Pitan.*, 29,71.
3. Blackwell-Smith, R. et al. (1953) Toxicologic studies on zinc and disodium ethylene bisdithiocarbamates. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 109, 159.
4. Bontoyan, W.R. et al. (1972) Survey of ethylenethiourea in commercial ethylene bisdithiocarbamate formulations. *J.Ass.Off.Analyt.Chem.*, 55, 923.
5. Cabral, J.R.P. and Shubik, P. (1977) Lack of carcinogenicity of DDT in hamsters. *Federation Proc.* 36, 1086.
6. Cabral, J.R.P. et al. (1977) Carcinogenic activity of hexachlorobenzene in hamsters. *Nature*, 269, 510.
7. Cabral, J.R.P. et al. (1978) Effects of long-term DDT intake in rats. European Society of Toxicology, 20th Annual Meeting, West Berlin.
8. Cabral, J.R.P. et al. (1979) Carcinogenesis of hexachlorobenzene in mice. *Int.J.Cancer.*, 23, 47.
9. Cabral, J.R.P. et al. (1979) A carcinogenicity study of the pesticide dieldrin in hamsters. *Cancer Letters*, 6, 241.
10. Cam, C. and Nigogosyan, G. (1963) Acquired toxic porphyria cutanea tarda due to hexachlorobenzene. *J.Amer.Med.Ass.*, 183, 88.
11. Cavagna, G. et al. (1969) Clinical effects of exposure to DDVP (Vapona) insecticide in hospital wards. *Arch.Environ.Hlth.* 19, 112.
12. Chapman, T. (1978) Pesticides - A period of progress. *Span* 21, 62.
13. Davis, K.J. and Fiszthugh, O.G. (1962) Tumorigenic potential of aldrin and dieldrin for mice. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 4, 187.
14. Deichmann, W.G. et al. (1970) Tumorigenicity of aldrin, dieldrin and endrin in the albino rat. *Industr. Med.Surg.*, 39, 426.

15. Dogramaci, I. (1964) Porphyrins and porphyrin metabolism with special reference to porphyria in childhood. *Advanc.Pediat.* 13, 11.
16. Duggan, R.E. and Corneliussen, P.E. (1972) Dietary intake of pesticide chemicals in the United States (III), June 1968- April 1970. *Pest.Monit.J.*, 5, 331.
17. Egan, H. et al. (1965) Organochlorine pesticide residues in human fat and human milk. *Brit.Med.J.*, iii, 66.
18. Eisenbrand, G. et al. (1975) The reaction of nitrite with pesticides. II. Formation, chemical properties and carcinogenic activity of the N-nitroso derivative of N- methyl-1-naphthyl carbamate (Carbaryl). *Fd.Cosmet.Toxicol.*, 13, 365.
19. Eisenbrand, G. et al. (1976) Carcinogenicity in rats of high oral doses of N-nitrosocarbaryl, a nitrosated pesticide. *Cancer Letters*, 1, 281.
20. Elder, G.H.(1978) Porphyria caused by hexachlorobenzene and other polyhalogenated aromatic hydrocarbons. In *Heme and Hemoproteins Handbook of Experimental Pharmacology*, vol. 44 (Edited by De Matteis, F. and Aldridge, W.N.) Springer- Verlag, Berlin, p.157.
21. Elgar, K.E. et al (1972) Dichlorvos (2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate) residue in food arising from the domestic use of dichlorvos PVC (Polyvinyl chloride) strips. *Pestic.Sci.*, 3, 601.
22. Fitzhugh, O.G. and Nelson, A.A. (1947) The chronic oral toxicity of DDT (2,2-bis[p-chlorophenyl]-1,1, 1-trichloroethane). *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 89, 18.
23. Fitzhugh, O.G. et al. (1950) The chronic toxicities of technical Benzene Hexachloride and its alpha, beta and gama isomers. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 100, 59.
24. Fitzhugh, O.G. et al. (1964) Chronic oral toxicity of Aldrin and Dieldrin in rats and dogs. *Fd.Cosmet.Toxicol*, 2, 551.
25. Hanada, M. et al. (1973) The induction of hepatoma in mice by Benzene Hexachloride. *Gann*, 64, 511.
26. Hans, R.J. (1976) Aplastic Anemia associated with gama- Benzene Hexachloride. *J.Amer.Med.Ass.*, 236, 1009.
27. Hansen, W.H. et al. (1971) Chronic toxicity of 2,4- Dichlorophenoxy-acetic acid in rats and dogs. *Toxicol.Appl. Pharmacol.*, 20, 122.
28. Heyndrickx, A. and Maes, R. (1969) The excretion of chlorinated hydrocarbon insecticides in human mother milk. *J.Pharm.Belg.*, 24, 459.

29. Hoffman, W.S. et al. (1967) Relation of pesticide concentrations in fat to pathological changes in tissues. *Arch. Environ. Hlth.*, 15, 758.
30. I.A.R.C. (1972-1979) Monographs of the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man, vol. 1-20. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
31. Infante, P.F. et al. (1978) Blood dyscrasias and childhood tumours and exposure to chlordane and heptachlor. *Scand. J. Work Environ. and Health*, 4, 137.
32. Innes, J.R.M. et al. (1969) Bioassay of pesticides and industrial chemicals for tumorigenicity in mice. A Preliminary Note. *J. Nat. Cancer Inst.*, 42, 1101.
33. Jager, K.W. (1970) Aldrin, Dieldrin, Endrin and Telodrin. An epidemiological and toxicological study of long-term occupational exposure. (London-Elsevier).
34. Johnson, M.K. and Lauwerys, R. (1969) Protection by some carbamates against the delayed neurotoxic effects of di-isopropyl phosphorofluoridate. *Nature*, 222, 1066.
35. Kovacs, I.M. et al. (1976) Bioassay of 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic Acid for carcinogenicity in mice. *Brit. J. Cancer*, 33, 626.
36. Lang, E.P. et al. (1951) Occurrence of DDT in human fat and milk. *Arch. Industr. Hyg.*, 3, 245.
37. Laws, E.R. et al. (1967) Men with intensive occupational exposure to DDT. A clinical and chemical study. *Arch. Environ. Hlth.*, 15, 766.
38. Lijinsky, W. and Taylor, H.W. (1976) Carcinogenesis in Sprague-Dawley rats by N-nitroso-n-alkylcarbamate esters. *Cancer Letters*, 1, 275.
39. Loge, J.P. (1965) Aplastic anemia following exposure to Benzene Hexachloride (lindane). *J. Amer. Med. Ass.*, 193, 110.
40. Nagasaki, H. et al. (1971) Development of hepatomas in mice treated with Benzene Hexachloride. *Gann*, 62, 431.
41. Nagasaki, H. et al. (1972) Carcinogenicity of Benzene Hexachloride (BHC). In: *Topics in Chemical Carcinogenesis*. (Edited by Nakahara, W. et al.) Univ. of Tokyo Press, pp. 343.
42. N.C.I. (National Cancer Institute) (1977a) Bioassay of lindane for possible carcinogenicity, Technical Report Series No. 14, DHEW Publication No. (NIH) 77-814.
43. N.C.I. (National Cancer Institute) (1977b) Bioassay of dichlorvos for possible carcinogenicity, Technical Report Series No. 10, DHEW Publication No. (NIH) 77-810.

44. N.C.I. (National Cancer Institute) (1978) Bioassay of methoxychlor for possible carcinogenicity, Technical Report Series No. 35, DHEW Publication No. (NIH) 78-835.
45. N.C.I. (National Cancer Institute) (1978b) Bioassays of Aldrin and Dieldrin for possible carcinogenicity, Technical Report Series No. 21, DHEW Publication No. (NIH) 78-821
46. N.C.I. (National Cancer Institute) (1978c) Bioassay of Dieldrin for possible carcinogenicity, Technical Report Series No. 22, DHEW Publication No (NIH) 78-822.
47. N.C.I. (National Cancer Institute) (1978d) Bioassay of toxaphene for possible carcinogenicity, Technical Report Series.
48. N.C.I. (National Cancer Institute) (1978e) Bioassay of dibromochloropropane for possible carcinogenicity, Technical Report Series No. 28, DHEW Publication No. (NIH) 78-828.
49. Ortelce, M.F. (1958) Study of men with prolonged intensive occupational exposure to DDT. *Arch.Industr.Hlth.*, 18, 433.
50. Peters, H.A. et al. (1966) Hexachlorobenzene-induced porphyria: effect of chelation on the disease, porphyrin and metal metabolism. *Amer.J.Med.Sci.*, 251, 104.
51. Peters, H.A. et al. (1976) Hexachlorobenzene poisoning in Turkey. *Fed.Proc.*, 35, 2400.
52. Peters, H.A. et al. (1978) Porphyria 20 years after hexachlorobenzene exposure. *Neurology*, 28, 333.
53. Petrosini, G. et al. (1963) Modifications of dithiocarbamate fungicides during storage. *Notiz.Mal.Piante*, 65, 9.
54. Quinlivan, S.C. et al. (1977) Sources, characteristics and treatment and disposal of industrial wastes containing hexachlorobenzene. *J.Haz.Mat.*, 1, 343.
55. Radomski, J.L. et al. (1965) Synergism among oral carcinogens. I. Results of simultaneous feeding of four tumorigens to rats. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 7, 652.
56. Radomski, J.L. et al. (1968) Pesticide concentrations in the liver, brain and adipose tissue of terminal hospital patients. *Fd.Cosmet.Toxicol.*, 6, 209.
57. Reuber, M.D. (1978) Carcinomas of the liver in Osborne-Mendel rats ingesting DDT. *Tumori*, 64, 571.
58. Rossi, L. et al. (1977) Long-term administration of DDT or phenobarbital-Na in Wistar rats. *Int.J.Cancer*, 19, 179.

59. Terracini, B. and Magee, P.N.(1964) Renal Tumours in rats following injection of dimethylnitrosamine at birth. *Nature*, 202, 502.
60. Terracini, B. et al. (1973) The effects of long-term feeding of DDT to BALB/c mice. *Int.J.Cancer*, 11, 747.
61. Thorpe, E. and Walker, A.I.T. (1973) The Toxicology of Dieldrin (HEOD). II. Comparative long-term oral toxicity studies in mice with Dieldrin, DDT, Phenobarbitone, Beta-BHC and Alfa-BHC. *Fd.Cosmet.Toxicol.*, 11, 433.
62. Tomatis, L. et al. (1972) The effect of long-term exposure to DDT on CF-1 mice. *Int.J.Cancer*, 10, 489.
63. Treon, J.F. and Cleveland, F.P. (1955) Toxicity of certain chlorinated hydrocarbon insecticides for laboratory animals with special reference to Aldrin and Dieldrin. *J.Agric.Fd.Chem.*, 3, 402.
64. Ulland, B.M. et al. (1972) Thyroid cancer in rats from ethylene thiourea intake. *J.Nat.Cancer.Inst.*, 49, 583.
65. Versteeg, J.P.J. and Jager, K.W. (1973) Long-term occupational exposure to the insecticides Aldrin, Dieldrin, Endrin and Telodrin. *Brit.J.Industr.Med.*, 30, 201.
66. Vigliani, E.C. (1971) Exposure of newborn babies to Vapona insecticide. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 19, 379.
67. Walker, A.I.T. et al. (1969) The toxicology and pharmacodynamics of Dieldrin (HEOD): two-year oral exposure of rats and dogs. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 15, 345.
68. Walker, A.I.T. et al. (1973) The toxicology of Dieldrin (HEOD). I. Long-term oral toxicity studies in mice. *Fd.Cosmet.Toxicol.*, 11, 415.
69. West, I. (1967) Lindane and hematologic reactions. *Arch. Environ.Hlth.*, 15, 97.
70. WHO (1973) Safe use of pesticides. WHO Techn.Rep.Ser., No. 513.
71. WHO (1975) Pesticide Residues in Food. WHO Techn.Rep.Ser., No. 574.
72. WHO (1975) 1974 Evaluations of some pesticide residues in food. WHO Pest.Res.Ser., No.4.
73. Woodliff, H.J. et al. (1966) Aplastic anemia associated with insecticides. *Med.J.Austral.*, 1, 628.