



Società Svedese per la conservazione della Natura

REPORT

SALVIAMO L'UOMO

Gli inquinanti ambientali stanno danneggiando la fertilità e lo sviluppo

Testo tradotto da Carmelina Cotugno, Francesco Pristerà, Nadia Simonini

# SALVIAMO L' UOMO

## Contenuti

Introduzione.....	3
1. La specie umana è esposta ad un cocktail chimico.....	5
Ci sono problemi di sostanze chimiche nel Sud del mondo.....	6
Le sostanze chimiche sono diffuse in tutto il mondo.....	7
2. Valutazioni delle proprietà delle sostanze chimiche.....	9
Modi diversi per stimare gli effetti delle miscele.....	10
Effetti delle miscele sull'ambiente.....	11
3. Effetti cocktail – una minaccia per la salute.....	13
Interferenze sullo sviluppo del sistema nervoso.....	13
Interferenze sullo sviluppo del sistema immunitario.....	14
Interferenze sullo sviluppo fetale.....	15
4. Interferenti endocrini e tossicità per la riproduzione.....	16
Effetti combinatori su sviluppo e riproduzione.....	17
5. Le politiche e le leggi nel campo delle sostanze chimiche.....	21
6. Percorsi futuri .....	22
7. Informazioni circa alcuni agenti chimici.....	24
8. Glossario.....	30
9. Bibliografia.....	32

## INTRODUZIONE

Gli ormoni regolano di tutto dall'umore alla mascolinità/femminilità. Sono fondamentali per il metabolismo, il sistema nervoso e la riproduzione. Sebbene non sia pienamente conosciuto nei dettagli il significato degli ormoni, le ricerche dimostrano che esistono degli equilibri delicati tra sostanze diverse che portano all'attivazione o alla soppressione di funzioni corporee. Questa attività chimiche di importanza vitale adesso sono minacciate da altre sostanze chimiche.

Le sostanze chimiche che interferiscono con gli ormoni - conosciute appunto come interferenti endocrini - possono rafforzare, indebolire o causare corto-circuiti nei segnali chimici prodotti dal corpo stesso. Da tempo è noto che singole sostanze – tra cui il DDT, i policlorobifenili (PCB), il plasticizzante di – (2 – etil – esil) ftalato (DEHP) ed il tributilstagno – possono influenzare gli ormoni e portare a conseguenze gravi, ma le proprietà della maggior parte delle sostanze sono ignote. Gli studi mostrano che le sostanze tossiche presenti nell'ambiente sono di varia provenienza: da cibi, da vestiti, da giocattoli, da cosmetici, da prodotti per l'igiene e da prodotti elettronici e provengono anche dalle emissioni industriali. Nessuno sa quali conseguenze subiamo in conseguenza del fatto che viviamo esposti a questo cocktail di migliaia di sostanze chimiche. Molte sostanze chimiche sono state identificate come interferenti endocrini o sono sospettate di esserlo, ma c'è grande incertezza sui loro effetti a lungo termine come pure sugli effetti di esposizioni simultanee a più di una sostanza.

Nonostante le lacune nelle nostre conoscenze, gli avvertimenti dei ricercatori sono diventati più forti. In questi ultimi anni gli scienziati hanno trovato dei legami tra interferenti endocrini e obesità, diabete e ADHD (sindrome da deficit di attenzione ed iperattività). Il concetto che gli interferenti endocrini possano danneggiare la capacità di riproduzione della nostra specie trova ampi sostegni. Tra gli effetti che si manifestano ci sono dei cambiamenti nello sviluppo puberale, deterioramento nella produzione di sperma e deformità degli organi genitali che, sfortunatamente, stanno diventando più comuni.

È seriamente minacciata la capacità di riproduzione della specie umana, in particolare è in pericolo la fertilità maschile. Dopo decenni di lavoro dedicati a campagne per salvare il falco pellegrino, l'aquila di mare a coda bianca ed altre specie dagli inquinanti ambientali, la Società Svedese per la Conservazione della Natura sta quindi lanciando una nuova campagna – Salvare gli Uomini!

Ovviamente non tutte le sostanze chimiche sono pericolose, ma vanno eliminate persino quelle anche soltanto sospettate di essere interferenti endocrini. È meglio non dare il beneficio del dubbio alle sostanze chimiche che possono danneggiare la riproduzione umana. Sono quindi necessarie politiche nuove in relazione alle sostanze chimiche. Per salvare la fertilità maschile è necessario in via prioritaria proteggere i feti, i neonati ed i bambini; ovviamente ciò richiede anche la protezione delle donne.

Le basi delle politiche dovranno essere fondate sulla protezione dei feti e dei bambini in quanto sono loro i più esposti e sensibili. Le valutazioni dei rischi dovranno essere fatte dal punto di vista dei bambini. Le sostanze chimiche identificate come interferenti endocrini - o sospettate di esserlo - dovrebbero essere per principio messe al bando o sostituite nel rispetto del principio di precauzione. Oggigiorno prevale un'asimmetria che andrebbe rovesciata – ovvero il fatto che le sostanze chimiche possono essere immesse sui mercati senza essere state prima sottoposte ad adeguate valutazioni del

rischio, mentre per arrivare a regolamentare ciascuna sostanza chimica viene richiesta una severa e costosa valutazione del rischio. L'esperienza nel campo della regolamentazione dimostra che l'industria chimica è in grado di far fronte a tali sfide che comportano innovazione. Grandi progressi sono possibili.

Crediamo che la Svezia, su queste basi debba perseguire una politica ambiziosa nell'UE ed a livello internazionale. Un modo importante per fare questo è di creare un precedente a livello nazionale. In tal modo aumenterebbe la pressione su altre nazioni, arrivando più rapidamente a protezione in Svezia. È necessario regolamentare in tempi brevi gli interferenti endocrini appartenenti a già noti gruppi di sostanze chimiche quali i ritardanti di fiamma bromurati, gli ftalati ed i composti organici del fluoro.

A lungo termine è difficile immaginare qualcosa di peggio per l'umanità del continuo aggravamento di questi problemi di fertilità. Se non salviamo gli uomini, a lungo termine nient'altro avrà importanza. Questo non deve accadere – e non occorre che accada.

Mikael Karlsson

Presidente della Società Svedese per la Conservazione della Natura

## 1. La specie umana è esposta ad un cocktail chimico

Molte sostanze chimiche naturali sono presenti nell'ambiente, ma negli ultimi cento anni è aumentata moltissimo la produzione di sostanze chimiche prodotte dall'uomo. Nel 1930 furono prodotte un milione di tonnellate di sostanze chimiche a livello mondiale. Nel 2001, in base ad un rapporto della Commissione europea il volume delle sostanze chimiche prodotte dall'uomo era aumentato a 400 milioni di tonnellate.<sup>1</sup> A livello mondiale il numero di sostanze chimiche è aumentato anche perché in parte possono essere prodotte "su misura" con precisione sempre crescente per soddisfare un numero crescente di scopi. L'immagine che molte persone hanno di una sostanza chimica è di un liquido in una provetta, un'immagine che forse deriva dalle lezioni di chimica a scuola. Nelle società moderne ci sono sostanze chimiche sotto forma di combustibili (quali il petrolio), vari prodotti domestici (quali i detersivi per piatti, i detersivi per il bucato, o fluidi più leggeri), cosmetici, medicine, pesticidi o additivi alimentari. Questi sono i prodotti che la maggior parte delle persone si immagina vengano fabbricati nelle industrie chimiche. D'altra parte è meno chiaro che la stragrande maggioranza delle cose che ci circondano sono state anch'esse prodotte usando varie sostanze chimiche. Ad esempio per produrre un Kg di T-shirt<sup>2</sup> servono in media circa tre chili di sostanze chimiche. Gli oli per filatura, gli sbiancanti ed i coloranti sono soltanto alcune delle sostanze chimiche necessarie per dare alla maglietta il suo aspetto. Un computer contiene grosse quantità di materiali vari che possono essere stati trattati con ritardanti di fiamma, mentre per le sue componenti elettroniche vengono sfruttate le proprietà di vari composti chimici. Un altro esempio di prodotti che spesso contengono sostanze chimiche varie che hanno lo scopo di fornire caratteristiche desiderabili sono i materiali usati nelle costruzioni. I materiali usati per costruire hanno vita lunga ed è quindi importante non usare sostanze chimiche che possano causare problemi in futuro, come è accaduto in edilizia per i PCB che sono sostanze tossiche per l'ambiente.

L'estrazione di minerali, l'uso disattento di sostanze chimiche nella fabbricazione di prodotti, l'uso dei prodotti stessi, la gestione dei rifiuti o l'uso di pesticidi possono portare ad emissioni chimiche nell'ambiente. Gli effetti possono essere acuti, come ad esempio un avvelenamento, oppure a lungo termine come accade quando si hanno emissioni di sostanze tossiche persistenti e bioaccumulabili nell'ambiente. I ritardanti di fiamma bromurati, gli ftalati, gli agenti antibatterici, le medicine ed i composti perfluorurati sono alcuni dei gruppi di sostanze chimiche che sono nel mirino. Molti dei ritardanti di fiamma attualmente in uso hanno una struttura chimica simile a quella dei PCB e DDT, classiche sostanze tossiche per l'ambiente; è stato dimostrato che parecchi di loro sono persistenti e bioaccumulabili e spesso producono effetti avversi negli organismi viventi.<sup>3</sup>

Nel nostro ambiente c'è una miscela di sostanze chimiche di composizione ignota in quanto proveniente da un gran numero di fonti diverse. Il numero di sostanze chimiche che ritroviamo nel nostro ambiente è molto elevato in quanto è molto elevato il numero di sostanze chimiche utilizzate. Sono più di 145.000 le sostanze chimiche registrate in Europa soltanto. C'è quindi un numero quasi infinito di miscele concepibili, di conseguenza noi viviamo in un cocktail di sostanze chimiche diverse. Nel migliore dei casi l'impatto delle sostanze sulla salute e sull'ambiente viene studiato per la singola sostanza chimica, solo molto raramente si studiano le miscele. Il danno prodotto da una miscela è quasi sempre maggiore del danno che da sola produrrebbe la sostanza chimica più dannosa presente in quella miscela, alla concentrazione a cui è presente. Di questo non si tiene conto nelle attuali valutazioni della pericolosità delle sostanze chimiche. Di conseguenza siamo tutti cavie in un enorme esperimento chimico fuori controllo. Tenendo presente questo

non sorprende particolarmente che le Autorità ritengano impossibile realizzare entro il 2020 l'obiettivo di qualità ambientale del Parlamento svedese di Ambiente Non Tossico .

Anche nel Sud del mondo ci sono problemi per la presenza di sostanze chimiche

Oggi giorno i problemi dovuti a sostanze chimiche prodotte dall'uomo sono presenti in tutto il mondo e sono in aumento. In molti casi le produzioni industriali sono state trasferite dai Paesi nordici come la Svezia verso Sud, verso i paesi in via di sviluppo dove sono più bassi i costi delle produzioni. Un esempio classico è l'industria tessile che è stata trasferita dalla Svezia all'Europa orientale e meridionale e attualmente è presente principalmente in Asia. Come risultato del trasferimento la produzione avviene applicando le leggi di quei paesi. In molti paesi del Sud i requisiti per tutelare salute e ambiente sono meno stringenti. Sebbene il trasferimento di una produzione soltanto raramente avviene per il motivo appena citato, la conseguenza potrà essere che gli effetti ambientali aumentano e vengono resi invisibili ai consumatori dei paesi nordici. In questi ultimi decenni anche una gran parte delle industrie chimiche è stata trasferita dai paesi OECD (Organizzazione per la cooperazione e lo sviluppo economico) a paesi non appartenenti all'OECD <sup>4</sup>. Questo ha portato all'aumento dei consumi di sostanze chimiche anche nei paesi del Sud e abbastanza spesso risulta che un dato prodotto venduto al Sud abbia contenuti peggiori dal punto di vista della salute e dell'ambiente rispetto allo stesso prodotto venduto al Nord, nonostante che la commercializzazione in entrambi i casi avvenga utilizzando lo stesso nome per il prodotto.

In molti paesi del Sud si usano ancora sostanze riconosciute come tossiche per l'ambiente spesso classificate come CMR (cancerogene, mutagene e/o tossiche per la riproduzione) e PBT (persistenti, bioaccumulabili e tossiche). Questo significa, tra l'altro, che solo con difficoltà possono essere degradate e che verranno immagazzinate nei tessuti e potranno interferire con lo sviluppo e la riproduzione nell'uomo e negli animali e causare tumori. Le conseguenze di questo potranno essere che a seguito di esposizioni dovute a lavorazioni disattenti utilizzando tali sostanze chimiche delle persone potranno essere danneggiate o morire.

Certe medicine per esempio sono risultate essere molto dannose per la Natura ed i problemi vengono esacerbati quando le industrie vengono trasferite verso paesi con requisiti ambientali di livello basso. Ad esempio in Pakistan sono morti quasi tutti gli avvoltoi del Bengala (scomparve il 95% della popolazione) quando al bestiame venne somministrato l'antidolorifico diclofenac che viene venduto in Svezia con il nome Voltaren. Alla morte dei bovini gli avvoltoi mangiavano le carcasse e subivano danni gravi in quanto i loro reni non erano in grado di trattare i residui del farmaco <sup>5</sup>. Si è anche visto che le industrie farmaceutiche possono rilasciare quantità enormi delle sostanze attive direttamente nell'ambiente. Nella produzione dell'antibiotico ciprofloxacina in India, la concentrazione dell'effluente intorno alla fabbrica è risultata essere più elevata del livello presente nel sangue delle persone che prendono la medicina <sup>6</sup>. L'uso di farmaci porta anche ad emissioni, in alcuni casi, con effetti ignoti per l'ambiente in cui vengono usati. Nel Sud, più di un quinto di tutte le morti e danni connessi ad esposizioni professionali sono causati dal maneggiare in maniera non corretta le sostanze chimiche sul posto di lavoro. Ogni anno le esposizioni a sostanze chimiche possono causare fino a 439.000 morti e 35 milioni di feriti <sup>7</sup>. Condizioni di lavoro inadeguate portano all'esposizione diretta delle persone a sostanze chimiche mentre maneggiare dette sostanze in maniera imprudente porta a emissioni chimiche nell'ambiente. Nelle industrie che producono tessuti, giocattoli, prodotti elettronici, pelle, detersivi e prodotti per l'igiene, le plastiche, i prodotti petroliferi e altri prodotti di uso quotidiano – prodotti che spesso vengono inviati a consumatori che abitano nel Nord del mondo – spesso sui posti di lavoro le persone vengono esposte a quantità dannose di sostanze chimiche. Di rado vengono date istruzioni su come maneggiare le sostanze chimiche e quando vengono date spesso sono difficili da capire specie quando molte persone sono poco istruite. In aggiunta

spesso diventa necessario l'utilizzo di attrezzature che possono essere troppo costose e difficili da usare in un clima caldo.

In linea generale i politici, le autorità, le industrie e le persone comuni nei paesi poveri trovano difficoltà a controllare l'uso delle sostanze chimiche e spesso viene data priorità ad altri problemi sociali piuttosto che ai problemi connessi all'uso di sostanze chimiche. Spesso le leggi sulle sostanze chimiche, la loro applicazione ed il loro rispetto sono deboli. Chi è povero spesso subisce forti effetti negativi da parte delle sostanze tossiche ambientali, specie se il suo stato di salute è già indebolito a seguito di malnutrizione o a causa di malattie quali la malaria e HIV/AIDS che aumentano la suscettibilità alle sostanze chimiche.

In aggiunta i poveri abitano nelle zone dove sono presenti attività industriali pericolose per l'ambiente, inceneritori o discariche. Per il loro sostentamento sono inoltre particolarmente dipendenti dai servizi forniti dagli ecosistemi locali, spesso tali benefici vengono fortemente inficiati dagli inquinanti. Gli scarichi industriali inquinati fanno diventare l'acqua che la gente usa quotidianamente tossica ed inutilizzabile ed anche i pesci ed altre specie acquatiche sono danneggiate dalle sostanze chimiche. Le persone più povere che spesso si nutrono di prodotti che coltivano o di pesca nei fiumi vicini possono di conseguenza soffrirne. I bambini sono particolarmente sensibili alle esposizioni chimiche. Esempi di fonti di esposizione sono il sangue del cordone ombelicale, il latte materno e altri cibi, aria, giocattoli e abiti contaminati. Potranno anche essere esposti a sostanze chimiche presenti nei loro ambienti di lavoro i 250 milioni di bambini (tra i cinque ed i quattordici anni) che si stima siano impegnati in attività lavorative nel Sud del mondo<sup>8</sup>. Molti bambini che vivono nei paesi poveri sono malnutriti, si trovano in condizioni generali di salute scadenti e sono quindi particolarmente sensibili alle sostanze tossiche presenti nell'ambiente.

Un approfondimento: il DDT è ancora oggi in uso contro la malaria

Per controllare la malaria in molti paesi poveri si continua ad usare il DDT soprattutto a seguito dei bassi costi sostenuti per usarlo<sup>9</sup>. Ogni anno sono circa 270 milioni le persone che vengono colpite dalla malaria e circa 2 milioni le persone che per essa muoiono. I paesi africani a sud del Sahara sono i più colpiti con il 90% di tutti i casi di malaria<sup>10</sup>. Si continua ad usare il DDT per controllare la malaria in quanto gli altri metodi di controllo, quali le reti impregnate con insetticida ed il controllo biologico sono ancora molto costosi oppure richiedono conoscenze maggiori. Parecchie sostanze tossiche per l'ambiente si diffondono a grandi distanze, come si è visto in Sud Africa, Uganda e Kenia dove sono stati trovati livelli elevati di DDT nel latte materno, questo è accaduto anche in aree dove il DDT non viene usato per il controllo della malaria<sup>11,12</sup>.

Le sostanze chimiche si diffondono in tutto il mondo

Non conosciamo i quantitativi complessivi di sostanze chimiche rilasciate a livello mondiale, ma da misurazioni effettuate risulta che possono essere trasportate da venti e acque oltre i confini nazionali. Si tratta di un numero enorme di tonnellate di sostanze chimiche in grado di interferire con lo sviluppo e la riproduzione o causare malattie gravi nella nostra specie. Le sostanze tossiche persistenti vengono rilasciate nel Sud del mondo, a decine di migliaia di chilometri di distanza da noi ed evaporano nel clima caldo. A questo punto vengono trasportate dai venti finché vengono a trovarsi al freddo allora si condensano e cadono al suolo, è possibile che poi evaporino di nuovo e si spostino ulteriormente per il mondo. Questo fenomeno è noto come effetto cavalletta e gli spostamenti nell'atmosfera possono avvenire sia a salti brevi che lunghi e ci vorranno tempi diversi per sostanze diverse a seconda delle loro proprietà intrinseche. Le sostanze volatili evaporano più facilmente di quelle non volatili.

Nello Svalbard hanno trovato livelli alti di PCB negli orsi polari. Questi policlorobifenili alterano i livelli del testosterone, l'ormone sessuale maschile negli orsi polari maschi, il che può danneggiare in

maniera grave la loro capacità di riprodursi <sup>13</sup> e può perfino portare a maschi ermafroditi. Negli ultimi anni negli orsi polari si sono anche trovate sostanze chimiche appartenenti a nuovi gruppi quali i composti perfluorurati ed i ritardanti di fiamma bromurati <sup>14</sup>. I sistemi endocrini degli orsi polari non sono molto diversi da quelli umani e molte delle sostanze chimiche trasportate intorno al mondo finiscono nei paesi intorno ai poli quali la Svezia.

Il mercurio è un altro esempio di sostanza chimica pericolosa che viene trasportata a grandi distanze. Proviene principalmente dalle centrali elettriche a carbone, quantità significative di mercurio rilasciate nel Sud vengono trasportate in aria verso i paesi del Nord. Negli ambienti acquatici poveri di ossigeno il mercurio si trasforma in metilmercurio che viene facilmente assimilato dai pesci. Molto del mercurio contenuto nei pesci quindi proviene da luoghi lontani da dove il pesce viene pescato. In Svezia ad esempio si consiglia alle donne in gravidanza di mangiare certi tipi di pesce soltanto al massimo due o tre volte l'anno a causa delle quantità elevate di mercurio che contengono <sup>15</sup>. Sebbene siano state vietate in Svezia <sup>16</sup> alcune sostanze quali il DDT, i PCB ed il pesticida esaclorocicloesano in vendita con il nome Lindane vengono ancora usate in altri paesi ed è dimostrabile che vengano trasportate dal Sud al Nord.



## 2. Capitolo secondo

### Valutazione delle proprietà degli agenti chimici

Per valutare le diverse proprietà ed effetti degli agenti chimici, essi vengono esaminati in molti modi. Si presuppone per molte proprietà che l'effetto sia proporzionale alla concentrazione o dose alla quale l'organismo in analisi viene esposto. Questo significa che le sostanze sono considerate sicure a basse concentrazioni. E' importante enfatizzare il fatto che questa correlazione non si applica a tutte le proprietà e che non è chiaro quando si applica e quando non si applica. Nel caso dei distruttori endocrini gli effetti più forti possono verificarsi più a concentrazioni basse che alte e per alcune sostanze cancerogene non è possibile stabilire livelli di sicurezza. Un altro esempio è il caso dell'asbesto nel quale anche soltanto l'esposizione a singole fibre può essere pericoloso. Gli studi fatti su grandi gruppi di persone che sono state colpite da patologie o hanno manifestato altri effetti sono noti come studi epidemiologici. Questi studi cercano di spiegare cosa può colpire gli umani, per esempio l'esposizione a varie sostanze chimiche. Un esempio di studio epidemiologico è ricercare in che modo, lavoratori che si sono ammalati di cancro siano stati in contatto con particolari sostanze e paragonare questo gruppo con un altro che non sia stato a contatto con la stessa sostanza. E' molto difficile mostrare chiare relazioni di causa negli studi epidemiologici poichè le concentrazioni nell'ambiente sono spesso basse e sono spesso coinvolti molti altri fattori. D'altro canto è possibile trovare fattori che co- variano con l'effetto che si sta studiando..

Spesso, al posto di condurre studi epidemiologici, vengono fatti test sugli animali per indurre gli effetti in modo più rapido. Le concentrazioni in questi test sono spesso molto più alte di quelle che normalmente si trovano nell'ambiente. La difficoltà sorge nel trarre conclusioni da studi su animali esposti a varie sostanze chimiche per un breve periodo di tempo, ma ad alte concentrazioni, rispetto agli effetti che tali sostanze possono avere sugli esseri umani esposti alle medesime sostanze a basse concentrazioni per un lungo periodo di tempo e spesso esposti contemporaneamente a più sostanze.

Per lungo tempo si è studiato come una sostanza per volta colpisca diversi organismi. Questo fatto ha anche condotto alla formulazione dei dati di quel tipo di sostanza, formando la base per la legislazione e la valutazione del rischio delle diverse sostanze. I vari limiti nei valori delle sostanze chimiche che esistono per esempio nell'ambiente di lavoro o come gli additivi nei cibi o gli ftalati nei giocattoli, sono spesso stabiliti sulla base delle concentrazioni identificate in base all'insorgenza del danno: si stabilisce quindi un fattore di sicurezza, per esempio 100, che viene considerato sufficiente per la protezione degli esseri umani. Le valutazioni di rischio quindi assumono questo livello di sicurezza come base e lo paragonano con l'esposizione a varie fonti di sostanze in questione, senza considerare come esso possibilmente interagire con altre sostanze.

Generalmente si conoscono più gli effetti delle sostanze chimiche sulla salute che quelli sull'ambiente. Ciò è dovuto al fatto che gli effetti sull'ambiente si evidenziano con tempi più lunghi. I dati esistenti sono spesso relativi alla grave tossicità di sostanze individuali, cioè al livello massimo di tossicità necessario per distruggere o danneggiare seriamente una specie. Nella realtà, l'equivalente potrebbe essere una grande emissione di sostanze chimiche tossiche che uccidono pesci più o meno immediatamente, ma più comunemente troviamo situazioni in cui le sostanze chimiche si riscontrano a concentrazioni relativamente basse. Se le sostanze chimiche individuali non sono state adeguatamente studiate, lo studio dell'effetto di miscele di sostanze chimiche sull'ambiente viene negativamente condizionato.

Approfondimento: Diverse misurazioni dell' alta tossicità.

Un comune test di tossicità che è stato usato per molto tempo è quello sui ratti (fissazione della dose letale quando il 50% degli animali muore). Questa misura è conosciuta come LD50. LD sta per DOSE LETALE e 50 sta per 50%. Altri tipi di tests di tossicità vengono usati: per esempio quello sulla tossicità cronica e quello sul danno genetico e sulla riproduzione. Gli effetti ambientali possono essere misurati sui pesci, sui crostacei e sulle alghe. Si studiano queste specie per vedere gli effetti delle sostanze chimiche sull'ambiente acquatico. Si controlla quindi a quale concentrazione in acqua la metà (LD50) oppure il 10%(LD10) di questi esseri viventi muore. Nel caso dei crostacei si considera, invece, l'effetto della concentrazione. L'EC50 per esempio è il grado di concentrazione nel quale metà (50%) dei crostacei non si muove più. Nel caso delle alghe si controlla, invece, il fattore inibitorio di crescita noto come IMMOBILIZZAZIONE, mentre l'effetto viene chiamato IC (concentrazione inibitoria). In alcuni tests viene determinato anche il livello più alto di concentrazione che non causa danni o effetti evidenti cioè il NOAEL (nessun livello di effetto dannoso osservato) o il NOEC (nessun effetto di concentrazione osservato). Comunque questi test non evidenziano di effetti di interferente endocrino che spesso avvengono anche a livelli di concentrazione più bassi del NOEC

Vari modi per valutare gli effetti di miscele di sostanze chimiche

L'effetto cocktail o effetto combinato sta a significare che tutte le sostanze in una miscela contribuiscono a determinarne le proprietà dello stesso e quindi anche la sua tossicità. Ciò può sembrare ovvio, ma in effetti, viene valutata soltanto la tossicità delle singole sostanze e non l'effetto combinato. Valutare le tossicità di tutte le possibili combinazioni, usando le attuali metodologie è praticamente impossibile perchè i test sugli animali sono molto lenti. La ragione per cui sono stati condotti pochi tests è perchè è difficile determinare come interagiscono sostanze diverse e per quanto riguarda le sostanze in relazione all'ambiente è difficile anche stabilire quali sostanze siano presenti nell'ambiente. E' ancora più difficile trovare correlazioni tra i diversi effetti e livelli nell'ambiente se si devono studiare diversi parametri come la concentrazione delle diverse sostanze. Ci sono alcuni modi per valutare la tossicità di sostanze combinate. I due più comuni sono quello sull'addizione della concentrazione ed un altro basato sugli effetti indipendenti. Questi sono metodi semplicemente teorici basati sulla conoscenza delle proprietà delle sostanze individuali contenute nella miscela e sul calcolo di un previsto effetto di aggregazione. Nel primo metodo la tossicità delle sostanze contenute viene sommata in proporzione alla loro concentrazione nella miscela. Ciò si basa sul concetto che l'azione tossica delle sostanze agisce allo stesso modo. Quando il calcolo è basato sull'azione indipendente, si sostiene che le sostanze possano avere modi diversi di raggiungere la stessa azione tossica e gli effetti sono quindi moltiplicati invece di essere aggiunti. Per valutare i metodi, i risultati vengono paragonati con valori misurati, e il metodo dell'addizione della concentrazione si è rivelato più utilizzabile dell'altro sebbene esso ci conduca ad affermazioni più caute. Comunque la differenza non è più grande di 1.5-3 volte per le sostanze chimiche studiate. Questi due metodi servono a pesare, teoricamente, le proprietà note delle sostanze individuali. In verità le sostanze chimiche possono, in alcuni casi, rinforzarsi ulteriormente o anche indebolirsi reciprocamente relativamente a quello che ci si aspettava sulla base dei modelli di calcolo. Si parla di effetti sinergici quando in una miscela si evidenziano sostanze chimiche e l'effetto è più grande di quello calcolabile con i metodi descritti. Si parla invece di effetti antagonisti quando le sostanze chimiche presenti nella miscela riducono il loro effetto reciprocamente.

Effetti delle miscele di sostanze chimiche sull'ambiente.

Ci sono vari tipi di miscele. Un detergente è formato da circa 10-30 diverse sostanze chimiche mischiate insieme. Questo miscuglio ha una composizione nota che è stata fatta per dare al detersivo la sua funzione pulente. Quando il detergente arriva allo scarico, alla fogna, esso si mescola con ulteriori sostanze provenienti da diverse fonti, di conseguenza si forma una nuova miscela la cui composizione è però sconosciuta. Ciò avviene con tutte le diverse sostanze chimiche che dopo l'uso, raggiungono l'ambiente. Per composti noti, come per esempio i detersivi, è possibile valutarne le proprietà come la tossicità sui pesci ed è inoltre possibile condurre un calcolo teorico/interpretativo degli effetti. Relativamente alle miscele presenti nelle acque reflue è possibile valutare gli effetti sui pesci, ma è impossibile fornire una valutazione teorico/interpretativa della tossicità di tali miscele poiché non se ne conosce la composizione. Per fare in modo che i contenuti vengano determinati per mezzo di analisi chimiche è necessario sapere ciò che si cerca, per trovarlo.

Moltissimi studi dimostrano che molte sostanze chimiche prodotte dall'uomo sono presenti nell'ambiente. Anche quando queste vengono usate allo stato puro in processi tecnici si mescolano poi con altre sostanze quando sono rilasciate nell'ambiente circostante. Ci possiamo riferire soltanto a pochi esempi di studi condotti sull'effetto di una miscela di sostanze chimiche note sugli animali e sulle piante e sulla descrizione degli effetti della combinazione delle suddette sostanze.

Uno dei gruppi di sostanze chimiche più studiato è il gruppo dei pesticidi, come quei prodotti per proteggere le piante, e i biocidi. Essi sono stati strutturati per essere tossici nei confronti di microorganismi, animali o erbe e quindi vengono diffusi intenzionalmente nell'ambiente. Per molto tempo si è diretta l'attenzione sul loro impatto sulla salute e sull'ambiente. L'esigenza di valutare l'impatto di queste sostanze, più di altre, sull'ambiente e sulla salute è particolarmente avvertita in Svezia.

Il metodo dell'addizione di concentrazione funziona bene per valutare le proprietà ecotossicologiche dei composti per pesticidi che hanno lo stesso meccanismo di azione. Ci sono comunque dei composti devianti. Se si mischiano l'organofosfato e il carbamato con altri organofosfati o piretroidi la tossicità risulta maggiore che se valutata con il metodo di addizione di concentrazione. Questo è un effetto sinergico, cioè le sostanze del composto rinforzano reciprocamente la loro tossicità. Le miscele dell'insetticida alfa-cipermetrina e vari fungicidi evidenziano un effetto sinergico nella maggior parte dei casi. Una miscela di alfa-cipermetrina e procloraz risultava 12 volte più tossica di quanto il metodo di addizione di concentrazione potesse predire. La tossicità dei triazoli mescolati alla alfa-cipermetrina risultava 6-7 volte superiore ai valori calcolati, mentre il fenpropimorfo mescolato all'alfa-cipermetrina evidenziava un'azione antagonista, cioè una tossicità più bassa di quanto valutato dal metodo di addizione di concentrazione. Le vernici antivegetative contengono biocidi che proprio come per i prodotti per la protezione delle piante sono intenzionalmente tossici, in questo caso per prevenire la crescita di organismi su barche o scafi di navi. Nelle miscele studiate come anche in alcuni prodotti per la protezione delle piante si sono evidenziati effetti sinergici a differenza di quanto si calcolava teoricamente. Bastava soltanto il 5% della sostanza EC50 per le alghe per raggiungere un effetto del 50% in una miscela di Irgarol (che contiene rame) e diuron. Questo significa che la miscela è dieci volte più tossica di quanto si possa calcolare con il metodo di addizione di concentrazione. Si evidenziarono effetti sinergici anche in miscele di diuron e zinco-piritione e di Irgarol e zinco-piritione. Una spiegazione sul perché la miscela di rame e zinco-piritione evidenzia un effetto sinergico può essere dovuta al fatto che questa miscela si converte rapidamente in rame-piritione.

Ci sono state altre miscele che hanno evidenziato effetti meno tossici di quelli calcolati. Nell'analizzare una miscela di tre diversi biocidi, lo zinco-piritione, il diuron e l'Irgarol hanno evidenziato una tossicità sull'embrione sostanzialmente minore di quanto indicato con il metodo dell'addizione di concentrazione. Con il suddetto metodo, appare difficile valutare anche gli effetti di una vernice antivegetativa.

Si è inoltre esaminato come l'assimilazione del rame da parte dei crostacei venga influenzata dalla presenza di nanotubi di carbonio. Un nanometro è un milionesimo di un millimetro, o un miliardesimo di un metro. I nanotubi di carbonio hanno uno spessore di alcuni nanometri soltanto, possono variare però in lunghezza da nanometri a decimetri. Si sospetta che i nanotubi di carbonio possano avere sui polmoni lo stesso effetto dell'asbesto. Anche l'effetto di questa miscela può essere predetto con il metodo dell'addizione di concentrazione. Questo studio ha anche suggerito che l'assorbimento di nanomateriali possono aumentare la biodisponibilità del rame con il risultato che il rame attaccandosi ai nanotubi può passare attraverso le membrane.

Anche le miscele di medicinali possono rivelarsi molto più tossiche di quanto si possa immaginare. Una miscela di fluoxetina, ibuprofene e ciprofloxacina ha evidenziato un effetto letale sui pesci. Relativamente alla valutazione degli effetti sulle alghe e sui crostacei il metodo di addizione di concentrazione si è rivelato abbastanza efficace nel predire la tossicità di una miscela di diclofenac, ibuprofen, naproxen e acido acetilsalicilico (tutti anti-infiammatori). Lo stesso vale per il propanololo, atenololo e metoprololo beta-bloccanti.

### 3. Capitolo terzo

#### Effetto cocktail-una minaccia alla salute

Gli embrioni e i bambini sono particolarmente sensibili agli effetti delle sostanze chimiche per il fatto che i loro corpi non sono completamente formati. In particolare bisogna considerare lo sviluppo del cervello, del sistema nervoso, del sistema immunitario e degli organi genitali<sup>(25,26,27)</sup>. I paragrafi seguenti tratteranno degli effetti conosciuti di sostanze chimiche combinate sul cervello, sul sistema nervoso e sullo sviluppo generale dei feti umani e di altre specie.

#### Alterazione dello sviluppo del sistema nervoso

Il metilmercurio<sup>(28)</sup>, i bifenili policlorurati PCB<sup>(29)</sup> e gli eteri polibrominati difenili PBDE<sup>(30)</sup> sono prodotti chimici noti, per deteriorare, il sistema nervoso. Esistono molte varianti dei PCB e dei PBDE a seconda di quanti atomi di cloro o bromo la molecola base contenga. Le diverse varianti, affini, sono note come congeneri. Questi sono comuni inquinanti ambientali che spesso noi assumiamo consumando pesce e crostacei<sup>(31-32)</sup>. La caratteristica di queste sostanze è che esse sono facilmente assimilabili dall'organismo perchè liposolubili e rimangono nell'ambiente per molto tempo. Le sostanze che presentano tali proprietà sono chiamate persistenti e bioaccumulabili. I nostri corpi contengono una grande quantità di grassi, non soltanto tessuto grasso sotto la pelle o intorno agli organi, ma anche intorno alle membrane che circondano le cellule come nel sistema nervoso e nel cervello. Il metilmercurio, i PCB e i PBDE si accumulano in quelle parti del corpo dove ci sono i grassi e li esercitano la loro azione tossica. Nel capitolo 7 queste sostanze sono presentate in modo più dettagliato. Una quantità tra il 90 e il 100% del metilmercurio che entra nel nostro corpo viene assorbito dal tratto gastro-intestinale e trasportato con il sangue nelle altre parti del corpo<sup>(33)</sup>. Il metilmercurio facilmente attraversa la barriera emato-encefalica (la barriera selettiva che regola lo scambio di sostanze chimiche e composti tra il sangue e il cervello) e la placenta dalla madre al feto. I neonati, quindi, possono avere nel loro corpo il metilmercurio le cui proprietà distruttive possono arrecare danni all'udito e alla vista, indebolire la memoria e la capacità di coordinamento muscolare.

La stessa cosa vale per i PCB<sup>(37-38-39)</sup> i quali danneggiano la barriera emato-encefalica inibendo la produzione di determinate proteine strutturali nella barriera stessa. L'alterazione della composizione delle proteine nella barriera emato-encefalica fa aumentare la pervietà a varie sostanze e ciò porta allo sviluppo di tumori<sup>(40-41)</sup>. C'è quindi il rischio che l'esposizione a PCB possa generare effetti combinati inattesi con molte altre sostanze chimiche che normalmente non superano la barriera emato-encefalica. I PCB alterano anche lo sviluppo della parte del cervello conosciuta come corteccia<sup>(42-43)</sup> dove sono rielaborate le informazioni uditive. Alcuni studi epidemiologici suggeriscono che l'esposizione ai PCB nello stato embrionale, o anche in una fase successiva può danneggiare i riflessi, condizionare la reazione motoria muscolare e condurre ad una riduzione delle facoltà sensoriali ed a un deterioramento del QI (quoziente intellettuale)<sup>(44-45-46-47-48-49-50)</sup>.

I livelli di PBDE nell'ambiente sono in continuo aumento e negli esseri umani stanno affiorando livelli di PCB<sup>(51-52)</sup>. I PBDE arrivano nell'organismo attraverso il cibo<sup>(53)</sup>, possono attraversare la placenta e essere trasmessi dalla madre a feto<sup>(54)</sup>. Numerosi e diversi esperimenti condotti su animali hanno mostrato che lo sviluppo del cervello e del sistema nervoso viene sconvolto dai PBDE, inoltre, uno studio epidemiologico ha evidenziato il fatto che i PBDE possano causare un deterioramento nel riflesso motorio muscolare, ridurre la capacità verbale e abbassare il livello del QI nei bambini. Sappiamo che queste sostanze, anche

considerandole individualmente sono dannose, ma cosa sappiamo degli effetti della loro combinazione, cioè dell'effetto cocktail? Un gruppo di ricercatori dell'Università di Uppsala, tra altri gruppi, ha dimostrato che il metilmercurio, i PCB e i PBDE evidenziano effetti combinati sul cervello e sul sistema nervoso che hanno la tendenza a rinforzarsi tra loro, quindi sono esempi di effetti sinergici, cioè effetti combinati con una valenza più grande degli effetti derivanti da addizione della concentrazione:

-In uno studio i ricercatori hanno scoperto che le cavie esposte ad una combinazione di metilmercurio e PCB 153 (combinazione facilmente reperibile nell'ambiente) in concentrazioni individuali, di per sé innocue, evidenziavano effetti neurologici dello stesso ordine di intensità di quelli evidenziati da cavie esposte soltanto ad una dose di metilmercurio dieci volte maggiore. (57).

-In un altro studio è emerso che la combinazione di PCB-52 e PBDE-99 (facilmente reperibile nell'ambiente) in concentrazioni individuali, di per sé innocue, produceva nelle cavie effetti neurologici maggiori di quelli evidenziati da cavie esposte soltanto al PCB-52 ad una concentrazione cinque volte più alta di quella della combinazione (58).

-Da un altro studio è emerso che il PBDE-99 in combinazione con il metilmercurio causava mutamenti strutturali nelle cellule nervose a concentrazioni che non produrrebbero effetti dannosi se questi composti venissero considerati individualmente (59).

#### Alterazione dello sviluppo del sistema immunitario

Un sistema immunitario funzionante è di basilare importanza per permettere all'organismo di sostenere attacchi batterici, virali e parassitari e ad eliminare cellule geneticamente difettose che potrebbero a lungo termine generare un cancro. Ci sono periodi critici nello sviluppo del sistema immunitario sia allo stato fetale che dopo, quando, cioè, l'esposizione a sostanze chimiche può comprometterne lo sviluppo e portare a serie menomazioni. Si sospetta che la leucemia infantile possa svilupparsi in questo modo. La leucemia infantile è in serio aumento in molte parti del mondo (68-69), come anche l'asma e varie allergie che sono determinate da squilibri del sistema immunitario (70-71). La spiegazione a ciò potrebbe essere ricercata nella quantità di cocktails di sostanze chimiche estranee presenti nel nostro ambiente e nel nostro corpo.

Un numero di studi ha evidenziato effetti sul sistema immunitario nel caso in cui interagiscono diverse sostanze chimiche. Gli esempi che seguono illustrano in che modo le sostanze chimiche possono interagire e creare squilibri nel sistema immunitario.

-Una combinazione del semimetallo arsenico e del metallo piombo è più tossica per alcuni tipi di cellule nelle cavie, della somma della tossicità delle sostanze individuali (72). Questo è esempio di sinergismo. Gli uomini hanno diffuso nell'ambiente arsenico e piombo e non possono essere esclusi effetti simili a quelli evidenziati dalle cavie anche sugli esseri umani.

-Uno studio ha dimostrato che una miscela di composti di organoclorinati del gruppo dei PCB e delle diossine, ha prodotto diversi tipi di effetti combinati (sinergismo, antagonismo ed effetto aggiuntivo) sul sistema immunitario di vari organismi, diversamente dai composti considerati individualmente (73). Gli uomini hanno diffuso involontariamente la diossina nell'ambiente principalmente attraverso processi di combustione (il capitolo 7 tratta in particolare delle diossine). Gli idrocarburi poliaromatici (IPA) sono un gruppo di composti organici bio-accumulabili e cancerogeni dispersi nell'ambiente attraverso vari processi di combustione come eruzioni

vulcaniche, incendi boschivi, combustione di carbone, olii e traffico. In uno studio sull'effetto degli IPA.

### Alterazioni dello sviluppo fetale

Un feto in crescita (un embrione) passa attraverso una serie di fasi coordinate di crescita cellulare, di morte cellulare e di formazione di organi. Uno squilibrio che si manifesta in queste fasi porta ad una alterazione dello sviluppo che può risultare in deformazioni o morte. A riguardo abbiamo molti esempi documentati sui risultati di effetti combinati sullo sviluppo fetale.

-In uno studio condotto sugli effetti del bisfenolo A (BPA) -una materia prima molto comune nella produzione di plastica di policarbonato e epossidica e sul genistein - un composto simil-estrogenico che si trova nella soia - sono stati evidenziati effetti sinergici sui feti delle cavie relativamente alla proporzione di diverse parti del corpo e al loro sviluppo, in particolare della colonna vertebrale e delle parti del cervello e del sistema nervoso associate alla vista e all'olfatto(76). Il gruppo di ricerca che ha condotto lo studio teme che simili effetti possano evidenziarsi anche sui feti umani, in considerazione del fatto che il BPA è molto diffuso ed il consumo di soia è molto aumentato come alternativa vegetariana ai latticini. Uno studio condotto negli USA sui livelli di BPA presenti nelle urine ha evidenziato una presenza di BPA nel 93% dei campioni analizzati.(77).

-Il BPA e il pesticida pentaclorofenolo si possono trovare nell'ambiente in combinazione come inquinanti nell'acqua (78) e quindi possono risultare molto dannosi per gli organismi acquatici. Un altro studio ha dimostrato effetti combinati su embrioni di pesci esposti a questi composti, effetti risultanti nella morte dei suddetti embrioni o in edema cardiaco.(52 L'effetto combinato insorgeva già durante l'esposizione dei pesci al pentaclorofenolo a livelli di concentrazione al di sotto di quelli in cui era osservabile un effetto-il valore LOEC. Lo studio ha evidenziato l'insorgenza di effetti combinati sinergici e antagonisti.

I metalli ferro e alluminio vengono sparsi nell'ambiente in grandi quantità attraverso processi industriali, scarichi chimici negli impianti fognari, medicine e quanto altro. Questi metalli sono molto più dannosi in combinazione che non presi separatamente, per lo sviluppo fetale di certi organismi acquatici. Nei mitili e nei ricci di mare sono stati osservati vari gradi di effetti combinati, da quello sinergico a quello aggiuntivo tutti risultanti nel blocco dello sviluppo embrionale, nella deformazione o nella morte dello stesso.

## 4. Capitolo quarto

### INTERFERENTI (o DISTRUTTORI) ENDOCRINI ED EFFETTI TOSSICI SULLA RIPRODUZIONE

Un sistema endocrino funzionante è essenziale per un numero di processi fisiologici dell'organismo come la riproduzione, il metabolismo e lo sviluppo del sistema nervoso. Il sistema endocrino che, in effetti, consiste di una serie di sistemi paralleli che hanno varie funzioni, è organizzato su alcuni livelli che hanno un reciproco interscambio. E' necessario che alcuni ormoni siano prodotti e rilasciati nel modo corretto affinché possa essere mantenuta una determinata funzione fisiologica. Questa struttura fornisce agli interferenti endocrini una serie di possibili bersagli (fig 1) e può favorire l'aumentare del rischio di effetti combinati poichè le diverse sostanze, nonostante agiscano su diversi livelli possono alterare lo stesso processo. Le sostanze chimiche che danneggiano il funzionamento del sistema endocrino causando effetti negativi sulla salute sono generalmente noti come interferenti (o distruttori) endocrini. Queste sostanze sono presenti in una grande quantità di prodotti come ad esempio pesticidi, plastica, fibre tessili e medicine. Si trovano anche in natura in alcune piante e nel terriccio. I distruttori endocrini hanno una grande diffusione geografica e possono generare effetti dannosi sia sugli umani che su altre specie animali inclusi uccelli, rettili e pesci (79-80-81). Studi epidemiologici negli ultimi anni hanno evidenziato correlazioni tra l'esposizione a distruttori endocrini e obesità, diabete, ADHD (Disturbo da deficit di attenzione/iperattività) e malformazioni del tratto urinario e degli organi genitali tali da interessare il settore della salute pubblica. (82-83-84-85).

I primi distruttori endocrini furono identificati grazie alla loro somiglianza agli ormoni sessuali femminili estrogeni e per lungo tempo proprio la loro somiglianza agli estrogeni e la capacità che hanno di imitarli servì a spiegare il loro effetto distruttivo sul sistema endocrino. In seguito sono state identificate altre sostanze e sono emersi più meccanismi; non si conosce ancora se i distruttori endocrini attaccano anche altri livelli del sistema. Questo gruppo di composti differisce per alcune importanti caratteristiche da altre sostanze tossiche. Un concetto fondamentale in tossicologia è quello di poter predire cosa succede a livello di dosi più basse di quelle tenute sotto osservazione. Questo si è dimostrato particolarmente difficile nel caso dei distruttori endocrini, inoltre, in alcuni casi gli effetti derivati sono diametralmente opposti alle dosi di esposizioni. Un esempio è il di-etilstilftalato (DEHP) che a bassi dosaggi (10mg/kg) accelera lo sviluppo puberale negli animali sperimentali, mentre dosi alte (750mg/kg) lo rallenta (86). Gli effetti dei distruttori endocrini sono spesso scoperti a livelli molto al di sotto dei valori NOEC (nessun effetto di concentrazione osservato) e quindi non riscontrabili nei metodi di analisi tradizionali.

Gli effetti che insorgono dopo l'esposizione a distruttori endocrini dipendono molto anche dal tempo di esposizione e dai livelli ormonali personali (87-88-89). I feti di sesso maschile che presentano alterazioni endocrine, cioè che sono privi di testosterone o che presentano inibizioni dello stesso, nasceranno con organi genitali esterni femminili nonostante abbiano i testicoli, mentre in caso di una più lieve alterazione presenteranno un più basso grado di femminilizzazione. Molti ricercatori hanno volontariamente scelto di studiare gli effetti dei distruttori endocrini, sia esse sostanze prese individualmente sia in miscele, sullo sviluppo fetale degli animali di sesso maschile, principalmente ratti. Come risultato è stato possibile identificare una fascia temporale critica (tra i giorni 15.5-19.5 dello sviluppo embrionale) di esposizione per la femminilizzazione dei feti maschi. I feti femmina sono vulnerabili nello stesso intervallo di tempo a sostanze simili al testosterone che causano mascolinizzazione (90). Considerando lo sviluppo dei feti umani



risulta, quindi che lo stadio di massima vulnerabilità sia il periodo di tempo tra l'ottava e la quattordicesima settimana di gestazione.

Effetti combinati sullo sviluppo e sulla riproduzione.

Per identificare e valutare il danno endocrino su un feto di sesso maschile e per misurare i livelli di testosterone si studiano due tipi di deformità o anomalie del tratto urinario e dell'apparato genitale che si riscontrano in caso di mancanza di testosterone: l'ipospadia ed il criptorchidismo. L'ipospadia è un difetto nel quale il meato urinario si trova in posizione anomala, cioè nella faccia ventrale del pene, mentre parliamo di criptorchidismo quando i testicoli non sono scesi nel sacco scrotale dal canale inguinale o dalla cavità addominale. Un altro segno comune e forse più attendibile dell'anomalo funzionamento del testosterone è la riduzione della distanza tra il retto e gli organi genitali (distanza anogenitale AGD)(91).

Sono stati documentati effetti combinati durante lo sviluppo fetale sia tra composti dello stesso gruppo chimico (per esempio gli ftalati) che tra sostanze attive in categorie diverse di prodotti come per esempio plastiche e pesticidi.(92-93-94). Sostanze chimiche che hanno modi diversi di agire o diversi bersagli possono sviluppare effetti combinati come miscele in cui le sostanze individuali si trovano a livelli non offensivi (Nessun livello di effetto dannoso osservato-NOAL)(95-96). Queste osservazioni sono in contraddizione con la precedente teoria accettata in generale secondo la quale gli effetti combinati possono insorgere soltanto quando ciascuna sostanza è riscontrabile a livelli che superano il limite di soglia degli effetti dannosi NOAL e per sostanze chimiche che agiscono allo stesso modo. In genere è possibile valutare gli effetti in modo relativamente giusto usando il modello di addizione di dosaggio, ma ci sono anche esempi di miscele che sviluppano effetti sinergici molto più difficili da predire(98-99-100).

Si può chiaramente affermare che la riproduzione può essere compromessa a livelli di concentrazione molto più bassi di quelli che producono effetti gravi in bambini e adulti.

Come già detto il modello di addizione di dosaggio spesso funziona bene nel predire effetti combinati. In un esperimento con una miscela di sei ftalati e quattro pesticidi sette su otto parametri (inclusi i difetti) seguivano la curva calcolata di addizione di dosaggio. Un altro esempio di addizione di dosaggio è l'inibizione della produzione di testosterone nei feti dei topi esposti a miscele di ftalati(il DEHP-DBP-BBP-DIBP-DPP)(102)

Gli effetti combinati dei distruttori endocrini non sono limitati allo sviluppo fetale o al processo regolato dal testosterone. Un cocktail di sette sostanze estrogeniche è stato valutato in un test in cui le sostanze con proprietà estrogeniche venivano identificate dal fatto che esse facevano aumentare il volume dell'utero e si è riscontrato un marcato effetto combinato. La miscela composta da nonilfenolo, bisfenoloA(BPA), metossicloro, genisteina, estradiolo, dietilstilbestrolo ed etinilestradiolo, a dosi individualmente inattive, faceva raddoppiare il peso dell'utero dei topi femmina trattati.(103). Una miscela di due estrogeni vegetali (la daidzeina e la genisteina) e sei composti sintetici(il metossicloro, il DDT, l'octilfenolo, il bisfenolo A, il beta-esaclorocicloesano ed il 2,3-bis(4-idrossifenile-propionitrile)produsse gli stessi effetti sull'utero, analizzata con lo stesso tipo di test.(104). L'effetto risultò essere quello dell'addizione di dose e si verificò ad una dose di 1/10 dell' LOAEL (livello minimo di osservazione di effetto nocivo)per i composti considerati individualmente.

Lo sviluppo della pubertà è un altro esempio di processo fisiologico che può essere danneggiato da sostanze con proprietà estrogeniche. Gli animali esposti simultaneamente alla genisteina e al metossicloro manifestarono uno sviluppo puberale precoce nelle femmine e un ritardo puberale nei maschi.(105). Il

potenziale dei distruttori endocrini e degli effetti combinati viene studiato anche nelle colture cellulari in vitro. Isolando le cellule da organi in cui agisce l'ormone in questione, è possibile studiare in modo più diretto se una sostanza chimica si rinforza, se ostacola o se rimpiazza l'ormone endogeno. Il vantaggio in questo tipo di test in vitro è che non si devono usare animali, è conveniente economicamente e rende possibile l'analisi di un gran numero di sostanze combinate. Le colture cellulari possono evidenziare gli effetti ad un solo livello del sistema endocrino e quindi comunque si rendono necessari studi supplementari su animali. Esempi di miscele che hanno generato effetti estrogenici combinati nei tests cellulari sono i filtri UV (sinergici e NOEC nessun effetto di concentrazione osservato), le medicine (sinergici, NOEC), estrogeni vegetali (aggiunta di concentrazione) e i parabeni (aggiunta di concentrazione)(106-107-108-109).

In modo corrispondente sono stati documentati effetti antiandrogeni in diversi tipi di pesticidi(110-111). Il metodo degli esami in-vitro è migliorato moltissimo negli ultimi anni e quindi ci fornirà nuove opportunità e nuove strategie.

Anche se la maggior parte degli studi pubblicati sugli effetti combinati dei distruttori endocrini ha considerato principalmente il loro effetto sulle funzioni degli ormoni che regolano la sessualità, ci sono anche altri interessanti esempi. Un gruppo di ricercatori ha dimostrato nel 2005 che una miscela di 18 idrocarburi aromatici polialogenati (inclusi 12 PCB e 2 diossine) inibivano le funzioni della tiroide (rilasciavano tiroxina) nei topi. L'effetto era di addizione di dosaggio a dosi basse compatibilmente con l'ambiente, mentre era sinergico a dosi più alte.(112). Non è facile determinare il peso dei distruttori endocrini su problemi di salute pubblica. Comunque, gli studi riportati forniscono motivi di preoccupazione considerando anche il fatto che negli ultimi decenni i casi di alterazioni endocrine sono notevolmente aumentati. Per esempio la concentrazione spermatica nel 1990 risultava dimezzata rispetto a cinquant'anni prima e il numero di bambini nati con ipospadia è in aumento sia in Europa che in Nord America (113-114-115). Il mutamento sostanziale avvenuto in un breve lasso di tempo e la considerazione che la seconda generazione di immigrati è inserita nelle statistiche della nuova madre patria suggeriscono con forza che le spiegazioni sono da ricercare in uno o più fattori ambientali (116). La ricerca epidemiologica tradizionalmente ha riguardato singoli composti o gruppi di sostanze strutturalmente simili ma uno studio pubblicato di recente ha analizzato 121 distruttori endocrini nel latte materno di donne Danesi e Finlandesi (117). La Finlandia ha una bassa incidenza di alterazioni nella riproduzione mentre in Danimarca, al contrario l'incidenza è alta; nasce da questa osservazione quindi il desiderio di sapere se le cause siano dovute ad una diversa esposizione a sostanze chimiche. Il risultato di questo studio è molto chiaro: i campioni Danesi contenevano, in sostanza, più distruttori endocrini dei campioni Finlandesi. Gli effetti combinati probabilmente insorgevano tra le sostanze chimiche presenti nel nostro sangue che poi si manifestavano tra le altre cose in cancro ai testicoli e difetti nel tratto urogenitale. Per quanto ne sappiamo non è stata ancora studiata la connessione tra malattie come il diabete o l'ADHD (disturbo da deficit di attenzione/ipertattività) e una alta esposizione a sostanze chimiche, sicuramente è uno studio da considerare.

#### APPROFONDIMENTO-Gli estrogeni danneggiano l'ambiente

E' stata posta molta attenzione anche sui danni che gli estrogeni arrecano all'ambiente. Nelle ricerche condotte nel 1990 i ricercatori hanno riscontrato con chiarezza gli effetti dannosi sui pesci vicini a impianti di scarico di fognie in Inghilterra, più recentemente il fatto è stato documentato anche in Svezia per cui l'interesse sul problema è aumentato(118-119). Il marker utilizzato in questi studi, come anche in molti altri, è la vitellogenina una proteina del fegato la cui produzione è fortemente connessa a sostanze estrogeniche. Sebbene il numero di studi condotti sia molto limitato, è stato possibile dimostrare effetti combinati di composti estrogenici nei pesci. Una miscela di 17 beta-estradiolo (estrogeno endogeno), 17 alfa-etinilestradiolo (pillola contraccettiva), bisfenolo A, nonilfenolo e

octilfenolo inducevano la produzione di vitellogenina come addizione di concentrazione nelle carpe (120). In modo corrispondente, una miscela di estradiolo, etinil-estradiolo e bisfenolo A aumentava le concentrazioni di vitellogenina nelle spigole (121). Anche in questo caso l'effetto era di addizione di concentrazione. Come per altri studi già menzionati, anche in questi ultimi, l'effetto estrogenico insorgeva a livello di dosaggio in cui le sostanze considerate individualmente erano inattive.

#### APPROFONDIMENTO-Effetto combinato sugli ormoni maschili

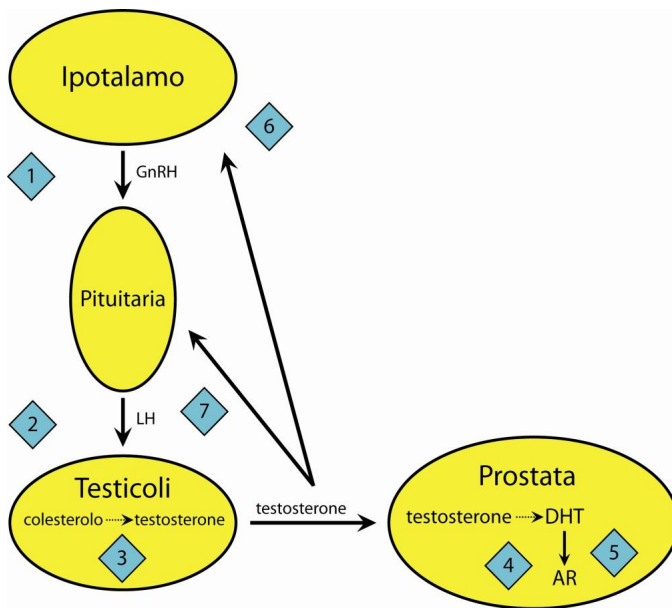
Uno studio pubblicato di recente e condotto da Sofie Christiansen e colleghi all'università tecnica di Danimarca illustra molto bene questi aspetti (122). Questo studio ha esaminato una miscela di quattro sostanze chimiche destinate ad usi diversi, cioè: lo ftalato DEHP i pesticidi vinclozolina e procloraz e la medicina finasteride. Questi quattro composti sono ben documentati distruttori endocrini ma con bersagli diversi. Il DEHP riduce la produzione di testosterone dal colesterolo (target 3, FIG.1), la vinclozolina ostacola l'azione del diidrotestosterone androgeno DHT bloccando il suo legame con il recettore androgeno (target 5), il finasteride (una medicina usata per il trattamento della iperplasia prostatica benigna) blocca la conversione del testosterone in DHT (target 4), mentre il procloraz ha come bersaglio alcuni di questi passaggi (3 e 5) (123-124-125-126-127). Si scoprì che la miscela provocava effetti combinati sia di aggiunta di dose che sinergici sullo sviluppo fetale in base al parametro di analisi. La distanza anogenitale AGD dei topi esposti diminuiva nel metodo di aggiunta di dosaggio, mentre l'effetto era sinergico rispetto all'ipospadia. Il difetto si manifestò a dosi 3 o 4 volte più basse di quanto calcolato con modello teorico per l'addizione di dosaggio. Un ulteriore risultato interessante era il fatto che AGD si riduceva dopo l'esposizione ad una miscela in cui le dosi di ciascuna sostanza individuale corrispondeva al NOAEL (livello in cui nessun effetto nocivo è stato osservato). Altri tipi di miscele possono alterare lo sviluppo fetale a livelli NOAEL o anche più bassi. L'esposizione a un cocktail di 5 fungicidi in cui le dosi erano il 25% del livello NOAEL produssero una alta incidenza di ipospadia (>40%). Negli animali sia maschi che femmine fu anche osservato un significativo mutamento dell'AGD (128).

#### Spiegazione della figura 1

Esempio di regolamento ormonale e possibili bersagli dei distruttori endocrini. L'ormone GnRH (bersaglio/target 1) viene rilasciato dall'ipotalamo e agisce sulla pituitaria, risultando in una emissione di ormone LH (target 2). Nei testicoli, l'LH induce la produzione di testosterone dal colesterolo (target 3). Nella prostata il testosterone si converte in diidrotestosterone (target 4) un androgeno\* più potente che agisce legandosi con il recettore androgeno (target 5). Attraverso un meccanismo di feedback il livello di testosterone controlla anche quanto GnRH e LH viene rilasciato dall'ipotalamo e dalla ghiandola pituitaria (targets 6 e 7). Tutti questi stadi sono potenziali bersagli dei distruttori endocrini.

\*Gli androgeni sono un gruppo di ormoni sessuali che controllano lo sviluppo sessuale maschile. Essi sortiscono il loro effetto legandosi ad un recettore specifico, il recettore androgeno. I due androgeni più importanti sono il testosterone e il diidrotestosterone DHT

FIG 1



## 5. POLITICHE E LEGISLAZIONE DELLE SOSTANZE CHIMICHE

La legislazione sulle sostanze chimiche ha origini lontane nel tempo, nel periodo compreso tra la nascita dell'Unione Europea e gli anni '60. Le norme che regolano le sostanze chimiche industriali nell'Unione Europea, sono state rivedute di recente. Una legge direttamente applicabile chiamata REACH129 (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of CHemicals) è entrata in vigore nel 2007. Le regole di registrazione impongono ulteriori requisiti sui dati per le sostanze che rientrano all'interno di particolari limiti di volume, ma l'attenzione rimane sulle singole sostanze. Questo significa che aumenterà la conoscenza delle sostanze, ma ciò non fornirà automaticamente una conoscenza sulle miscele, sugli effetti combinati o sugli effetti dannosi per il sistema endocrino. Quali proprietà debbano essere testate per la registrazione dipende anche da quanta sostanza è prodotta o importata. Maggiori sono i volumi, e maggiori sono i dati di test richiesti. Per le sostanze prodotte in quantità tra 1 e 10 tonnellate, devono essere forniti dati tossicologici sull'irritazione della pelle, degli occhi, sulla sensibilizzazione della pelle, sulla mutagenicità, e sulla tossicità acuta. Gli effetti ambientali da studiare riguardano la tossicità nell'ambiente acquatico per i crostacei, alghe e la degradabilità.

I requisiti più restrittivi per i dati sono imposti per sostanze prodotte con volumi superiori alle 100 tonnellate, come ad esempio approfonditi studi sulla riproduzione, sulla tossicità per gli organismi terreni, sulla tossicità cronica testata sul pesce e sul rilevamento del percorso di dispersione nell'ambiente. Al contrario non ci sono requisiti per le sostanze prodotte con volumi inferiori a 1 tonnellata, che, in realtà, sono la maggior parte di quelle che si possono trovare sul mercato. La regolamentazione CLP sulla classificazione, etichettatura, e imballaggio è anche applicabile ai prodotti chimici. Questa, da indicazioni su come le miscele debbano essere classificate ed etichettate, ma nella maggior parte dei casi riguarda dati per singole sostanze. L'informazione fornita attraverso REACH non è sufficiente per una classificazione corretta delle sostanze prodotte in quantità inferiori a 10 tonnellate. Le miscele sono etichettate in base alle loro proprietà fisiche (infiammabilità, esplosività, ecc.), agli effetti sulla salute (tossicità, cancerogenicità, effetti negativi sulla riproduzione ecc.) e agli effetti ambientali (principalmente per gli organismi acquatici come pesci, crostacei ed alghe). E' solo per l'acuta tossicità per gli animali e per le piante sulla terra o nell'acqua che sono stati fatti tentativi in certi casi per rendersi conto di quali differenti sostanze interagiscono nella miscela. C'è un'altra legislazione sull'area ambientale dove si guarda invece allo stato dell'ambiente. Esempi sono la Direttiva Quadro sull'acqua, che tra le altre cose, fissa i valori limite per certe sostanze nell'acqua, e l'IED La direttiva sulle emissioni industriali, che fissa i limiti per le emissioni nell'aria e i requisiti per i nuovi livelli di eccellenza nella tecnologia. La Direttiva Quadro sull'acqua stabilisce gli standard di qualità ambientale per 33 sostanze elencate in ordine di priorità. Le miscele saranno indicate nel documento tecnico per gli standard di qualità ambientale che è in fase di stesura. Le miscele di sostanze differenti che si trovano nell'aria e nell'acqua sono tutte involontarie, e perciò la loro composizione è più difficile da decifrare.

La legislazione sui pesticidi, la Direttiva sui prodotti di protezione della pianta (91/414/EC) e la direttiva sui Biocidi (98/8/EC), regolano l'uso dei prodotti di protezione della pianta (prodotti usati principalmente in agricoltura, nei parchi, nei corsi di golf e nei giardini domestici) e Biocidi (che includono altri pesticidi, per esempio vernice protettiva per legno, vernice anticrostazione (*vernici sottomarine antivegetative*), rodenticivi, disinfettanti).

La legislazione sui prodotti di protezione della pianta, è stata recentemente riveduta, e la direttiva è stata sostituita dal regolamento n. 1107/2009/EC sui prodotti di protezione della pianta, che è entrato in vigore il 14 giugno 2011. Questo fissa requisiti più restrittivi per livelli residui di differenti pesticidi nel cibo per evitare effetti dannosi sulla salute.

La legislazione e un regolamento sui Biocidi sono in fase di revisione.

## 6. PERCORSI FUTURI

La società svedese per la conservazione della natura lavora sulle sostanze chimiche da molti anni, con analisi e rilevamenti su sostanze ambientali tossiche nel falco pellegrino, nell'aquila di mare a coda bianca, su prodotti di consumo, sull'ecomarchio GOOD ENVIRONMENTAL CHOICE e relativa guida al consumatore, e su proposte per una più ampia legislazione a livello svedese ed internazionale che include proposte per la proibizione di singole sostanze come DDT o tecniche come l'uso di candeggina per sbiancare la carta. La politica della società sulle sostanze tossiche ambientali descrive obiettivi, posizioni e misure per permettere che l'obiettivo del parlamento svedese di avere un ambiente non tossico sia raggiunto entro una generazione. I due capisaldi di questa politica sono:

1. Il principio precauzionale (cioè, in caso d'incertezza, sulle minacce all'ambiente o alla salute, devono comunque essere prese delle misure cautelative) e la responsabilità dell'inquinatore (cioè i costi di questi provvedimenti sono a carico dell'inquinatore). Una misura chiave consiste nel richiedere ad ognuno che fa uso di sostanze chimiche di sostituire e cercare ogni volta alternative a sostanze dannose. La società semplifica al consumatore l'applicazione del principio di sostituzione attraverso l'ecomarchio GOOD ENVIRONMENTAL CHOICE. Il marchio fissa dei limiti sulle proprietà accettabili in un prodotto chimico sulla base del principio che meno tossiche sono le singole sostanze chimiche e più bassa sarà la loro tossicità combinata. e dati per esempio sugli effetti della combinazione, requisiti avanzati possono essere sviluppati nel marchio. Tramite rafforzati requisiti cogenti per una migliore conoscenza e dati per esempio sugli effetti di combinazione, requisiti più avanzati possono essere sviluppati nell'ambito dell'ecomarchio. E' importante essere consapevoli che lo scopo dell'ecomarchio è guidare il consumatore verso un prodotto relativamente migliore, e che l'etichettatura non può sostituire la legislazione per limitare le sostanze o le tecnologie più dannose. Questo rapporto ha descritto cosa si sa oggi sulla tossicità delle miscele e quali vuoti esistono nell'attuale legislazione. Sfortunatamente c'è grande preoccupazione. Gli effetti della combinazione di sostanze osservati negli esperimenti sugli animali, per esempio il cambiamento dello sviluppo della pubertà e la deformazione degli organi genitali, sono gli stessi tipi di effetti negativi che sono aumentati enormemente nella popolazioni negli ultimi anni. Inoltre, gli effetti già accadono a livelli misurati in natura o sono considerati come sicuri in accordo alle moderne metodologie di valutazione del rischio.

E' particolarmente allarmante che i ricercatori stiano ulteriormente dimostrando che i distruttori endocrini possono rinforzare gli effetti degli uni e gli altri, particolarmente quando accadono in grandi numeri ed in un'ampia diffusione geografica. E' dunque richiesta un'azione urgente per SALVARE GLI UOMINI, che vuole dire ovviamente proteggere, bambini, feti e di conseguenza anche donne.

Una prima misura da adottare è quella di rivedere il sistema di valutazione del rischio. Nonostante il grande bisogno di dati e conoscenza ci sono grandi carenze, per esempio il fatto che gli effetti combinati non siano ancora ufficialmente valutati malgrado la ricerca mostri chiaramente che tali effetti esistono. Il sangue umano contiene un cocktail di centinaia di sostanze chimiche e non è giustificabile valutarle separatamente senza prendere in considerazione gli effetti combinati. Un'argomentazione contraria ad includere lo studio di questi effetti di combinazione nella valutazione del rischio è stata che esiste un infinito numero di potenziali interazioni impossibili da studiare senza degli affidabili modelli matematici. La nostra analisi mostra, tuttavia, che ora sono disponibili modelli che funzionano bene e che possono essere applicati ai distruttori endocrini. Il modello "Dose Addition" è stato in grado di predire gli effetti combinati con alta precisione nella maggior parte dei casi, ed ha inoltre provato di essere usabile per sostanze con differenti meccanismi di azione. Il modello "Independent Action", d'altra parte, ha abbondantemente sottostimato gli effetti.

Il modello "Dose Addition" dovrebbe quindi essere introdotto il prima possibile nei contesti di valutazione del rischio, ed allo stesso tempo la ricerca su nuove metodologie di test dovrebbe essere potenziata.

Un altro importante aspetto nella valutazione del rischio di distruttori endocrini è l'identificazione di gruppi particolarmente sensibili in modo che possano essere protetti. La sensibilità varia al variare dell'età ed in

funzione dei livelli di ormoni nel corpo. Un incremento della vulnerabilità può nascere anche dal risultato di variazioni genetiche tra diversi individui o gruppo di popolazione. Le proprietà delle sostanze hanno anch'esse un'importanza significativa. Per esempio, feti maschili sono molto sensibili alle sostanze che inibiscono il testosterone, mentre ragazze in prepubertà sono particolarmente vulnerabili a sostanze ad azione estrogena. Una maggiore conoscenza delle singole sostanze chimiche è altresì essenziale per rendere possibile la predizione di possibili effetti combinati e sviluppare modelli di valutazione del rischio. Ulteriori ricerche su distruttori endocrini, sia per singole sostanze che per le miscele, dovrebbero quindi essere prioritarie al fine di potenziare velocemente la protezione per i soggetti più a rischio. Il rapporto 2009 che ha stabilito che i bambini Danesi di 2 anni esposti a tali livelli di distruttori endocrini hanno la loro salute a rischio, indica che un'azione rapida deve essere intrapresa.

Con riferimento alla classificazione e all'etichettatura delle miscele, i semplici modelli teorici dovrebbero essere applicati velocemente così che almeno una parte degli effetti combinati venga considerata. È più difficile nell'attuale situazione vedere come dovrebbero essere trattate le miscele involontarie che sono presenti nell'acqua e nell'aria. In alcuni casi la tossicità può essere testata, ma questo non è sempre realistico, e in alcuni casi le sostanze devono essere valutate in base alle loro proprietà intrinseche, in linea con il principio precauzionale.

Una volta che le sostanze sono state più o meno analizzate minuziosamente, bisogna prendere delle decisioni in merito alla forma di regolamentazione. Anche il lontano sospetto di proprietà dannose, come la tossicità, di proprietà distruttive del sistema endocrino o la persistenza combinata con bioaccumulabilità dovrebbe bloccare l'introduzione di nuove sostanze e portare ad eliminare gradualmente le stesse.

Questo richiede una riforma della legislazione sui prodotti chimici.

La legge REACH, per esempio, in generale deve includere sostanze con basso volume ed essere modificata così che diventi più facile apportare considerazioni o restrizioni. È importante concentrarsi sulle 4 aree della legge REACH e sull'altra legislazione sui chimici con riferimento ai distruttori endocrini. Ci sono requisiti che sono sostenuti dalle organizzazioni ambientali in tutta Europa, vedi l'annesso.

Prima di tutto, è importante impegnare più risorse per il lavoro rivolto ad identificare i distruttori endocrini conosciuti o sospetti e portarli all'interno del Quadro della legge REACH, particolarmente in casi dove bambini e donne in età fertile possano essere potenzialmente esposti.

In secondo luogo, c'è il bisogno di rafforzare i requisiti della legge REACH per la sostituzione delle sostanze. In particolare sulla base delle nostre conoscenze sugli effetti cocktail, distruttori endocrini dovrebbero in futuro, automaticamente, essere inclusi tra le sostanze classificate nella REACH come essere altamente a rischio e i permessi non dovrebbero essere garantiti per tali sostanze se ci sono alternative meno pericolose. In terzo luogo, l'informazione su tale classificazione dovrebbe essere sempre trasparente e pienamente accessibile ai consumatori e alle compagnie che usano prodotti chimici nelle loro operazioni. In quarto luogo, c'è un bisogno nel futuro di una riforma radicale di tutte le leggi sui prodotti chimici nell'EU, così che le sostanze che sono distruttori endocrini, secondo i criteri in linea con il principio precauzionale, saranno sempre oggetto di misure regolamentari. La società Svedese per la conservazione della natura ha presentato un numero di proposte in vari contesti per una politica di un ambiente non tossico, che tra le altre cose significa che la fertilità maschile può essere protetta.



## 7. INFORMAZIONI CIRCA ALCUNI AGENTI CHIMICI

### Bisfenolo A

Funzioni: Il BPA è usato principalmente per la produzione delle plastiche al polycarbonato e per adesivi epossidici. Le plastiche al polycarbonato sono molto diffuse e sono usate comunemente per esempio nelle bottiglie dell'acqua, per gli attrezzi sportivi, CD e DVD e per lenti oculari.

Problemi conosciuti per l'ambiente e per la salute. BPA ha le proprietà di un ormone, che può danneggiare il feto, ha effetti avversi sulla riproduzione ed agisce sul sistema immunitario e si sospetta che sia anche cancerogeno. Basandoci sugli esperimenti di laboratorio su vari organismi diffusi nell'ambiente, BPA è considerato capace di condurre la femminilizzazione dei maschi. BPA è classificato come pericolo per gli organismi acquatici e può causare un danno a lungo termine all'ambiente.

Restrizioni: Una valutazione del rischio del BPA è correntemente sottovalutata in Europa. La Danimarca e il Canada hanno bandito il BPA nella preparazione delle bottiglie. La Eu ha preso la decisione che non deve esserci bisfenolo nella preparazione delle bottiglie dall'estate del 2011.

### DDT

Funzioni: il DDT è un insetticida sviluppato durante il 1940. Esso era usato comunemente contro le malattie originate dagli insetti come la malaria ed il tifo durante la seconda guerra mondiale. Commercialmente il DDT è una miscela di diversi prodotti chimici, la gran parte consiste di p,p-DDT e o,p-DDT.

Problemi conosciuti per l'ambiente e per la salute. Il DDT è un distruttore endocrino, e durante il 1950 e 1960 fu scoperto che interferiva nello sviluppo sessuale e causò l'assottigliamento del guscio delle uova negli uccelli. E' anche persistente, si accumula nei sistemi biologici (bioaccumulabile) e classificato da WHO (IARC) come "possibile cancerogeno per gli uomini".

Restrizione: E' stato bandito completamente in Svezia dal 1969. In 1986, è stato proibito nella EU, e nel 2001 il DDT è stata una delle dodici sostanze originali poste nella lista della convenzione di Stoccolma delle sostanze organiche persistenti che richiedono misure globali di vasta portata. Comunque il DDT è usato anche contro la malaria da molte nazioni del sud.

### DIOSSINE

Diossine è un nome collettivo per un gruppo di prodotti clorurati della combustione che si formano durante la combustione del materiale organico contenente cloro, per esempio PVC. La diossina non è stata prodotta volontariamente ma è un inquinante ambientale indesiderato.

Problemi conosciuti per l'ambiente e per la salute. Le diossine sono solubili nei grassi e persistenti e sono velocemente assorbite dagli organismi e diffuse nella rete alimentare del ecosistema. Così essi sono solubili nei grassi, essi si trovano principalmente nel cibo di origine animale con alto contenuto di grassi. Molte di queste diossine possono essere dannose per lo sviluppo del feto, possono distruggere il sistema immunitario e il metabolismo generale e portano al danneggiamento del DNA (mutazione) risultando cancerogene. Il più tossico di queste è il 2,3,7,8, tetraclorodibenzodiossina (TCDD). Il TCDD è uno delle più potenti veleni conosciuti. E' classificato da WHO (IARC) (World Health Organization: Organizzazione della Salute Mondiale) come cancerogeno per gli uomini, e solo livelli estremamente bassi possono essere considerati sicuri. Lo sviluppo del feto è particolarmente vulnerabile all'esposizione alle diossine e la National Food Administration Svedese, consiglia alle donne in stato interessante di non mangiare il pesce



baltico più di due o tre volte in un anno. La Svezia ha una esenzione dalle regole EU, che consentono la commercializzazione di pesci con livelli di diossina in eccesso rispetto i valori limiti comuni. IARC è una abbreviazione per l'Agencia Internazionale per la Ricerca sul cancro che è il centro ricerca sul cancro dell'WHO.

## FINASTERIDE

Funzione: La finasteride è una medicina usata per il trattamento benigno della dilatazione della prostata (iperplasia della prostata). Esso agisce bloccando la conversione del testosterone nel diidrotestosterone (DHT). Il DHT è un ormone che stimola la crescita della prostata, che può essere fatta con un trattamento con finasteride.

Problemi conosciuti per l'ambiente e per la salute. La finasteride è persistente e si bioaccumula. E' anche dannoso agli organismi acquatici. Comunque, nel corpo umano è metabolizzata nelle sostanze attive prima di essere espulso.

## FTALATI

Funzioni Gli Ftalati sono un gruppo di prodotti chimici, che sono prodotti in grandi quantità e sono presenti in un grande numero di articoli quotidiani. Molti ftalati di basso peso molecolare sono presenti nei cosmetici, mentre quelli a più alto peso molecolare sono usati come plastificanti nelle plastiche. Sono principalmente gli ftalati a più alto peso molecolare associati con effetti negativi sulla salute. Questi includono i dibutilftalato (DBP), Dietilftalato (DEHP), benzilbutilftalato (BBP), diisobutilftalato (DIBP), diisodecilftalato (DIDP), diisonilftalato (DINP), ftalato di diottile (DNOP).

Problemi conosciuti per l'ambiente e per la salute DBP, DEHP, BBP, DIBP, DIDP, DINP and DNOP sono distruttori a vari gradi del sistema endocrino (a vari gradi). Certi ftalati possono avere effetto avverso sullo sviluppo del feto e le capacità riproduttive. Alcuni sono pericolosi per l'ambiente, DBP e BBP, per esempio si accumulano nei sistemi biologici e sono molto tossici per gli organismi acquatici.

Restrizioni Quattro ftalati (DEHP, DBP, BBP and DIBP) sono inclusi nella lista per il Reach, ciò significa che essi sono stati identificati come sostanze che destano alta preoccupazione. Uno speciale permesso potrà essere richiesto in futuro per l'uso di queste sostanze. Il fatto che essi sono inclusi nella lista dei candidati significa che il venditore è obbligato ad informare i clienti della presenza di ftalati nei prodotti se essi contengono più dello 0,1% di questa sostanza. Limiti speciali sono posti su come debbano essere usati gli ftalati nei giocattoli. DEHP, DBP e BBP non devono essere presenti a livelli superiori allo 0,1% nei giocattoli o negli articoli per la cura dei ragazzi, mentre DIDP, DINP e DNOP sono proibiti a livelli superiori allo 0,1% nei giocattoli o nei prodotti per i ragazzi che possono essere messi in bocca. DEHP è una delle prime sostanze nella Direttiva Quadro sulle Acque. Nell'estate del 2011, la Danimarca propose una regolazione degli ftalati DEHP, DBP, BBP E DIBP basati sugli effetti della loro combinazioni.

## COMPOSTI METALLICI

Funzioni I metalli hanno una pletera di applicazioni nella società, ma è presente anche come impurità per esempio nel combustibile dei motori e nei fertilizzanti commerciale.

L'alluminio è usato principalmente nelle leghe metalliche, ma è usato anche in cosmetica e medicina.

L'arsenico era precedentemente usato in grandi quantità come impregnante nell'industria del legno. Esso è anche presente nelle leghe metalliche ed è usato nella manifattura del vetro.

Il piombo è usato per esempio nelle batterie e nei dispositivi elettronici, cavi, pitture, contrappesi, nelle munizioni, per il cristallo (taglia vetri) e per la protezione contro le radiazioni.

Il ferro è principalmente usato nell'acciaio.

Il cadmio è stato precedentemente usato su larga scala nelle batterie, ma il suo uso è stabilmente in diminuzione, nei pannelli solari, come stabilizzante nella plastica e nei pigmenti. Il cadmio è un contaminante nei fertilizzanti.

Problemi noti sull'ambiente e sulla salute

L'alluminio può attraversare la barriera ematocerebrale e è sospetto di essere correlato allo sviluppo della demenza e dell'Alzheimer, sebbene la correlazione non è pienamente chiarita. L'alluminio è tossico per i pesci in quanto danneggia i girini.

L'arsenico causa disturbi al metabolismo ed è classificato molto tossico per gli organismi acquatici e può causare danni a lungo termine all'ambiente. L'arsenico è prontamente assorbito dagli organismi, si accumula e può essere diffuso nella catena alimentare dell'ecosistema, diversi composti dell'arsenico sono sospettati di essere cancerogeni.

Il piombo può attraversare la barriera ematocerebrale e attraversare la placenta dalla madre al feto. Danni al sistema nervoso ed a quello cardiovascolare sono gli effetti più seri sulla salute del piombo. Moltissimi composti sono sospettati di essere cancerogeni. Il piombo è molto tossico per gli organismi acquatici e può essere causa di effetti dannosi a lungo termine sull'ambiente.

Il ferro è normalmente liberamente presente nella cellula, ma è limitato alle proteine ed agli enzimi. Il ferro è spesso vitale per la funzione dell'enzima. L'esposizione agli altri metalli può rilasciare ferro nelle cellule e causare la formazione di radicali liberi che portano tra l'altro il danneggiamento del DNA, che può contribuire ad aumentare il rischio di cancro.

Il cadmio e molti dei suoi composti sono classificati come cancerogeni, come molto tossico per gli organismi acquatici e possono essere causa di danni a lungo termine nell'ambiente. Come il cadmio è assorbito dall'organismo e accumulato in loro. Il metallo è disperso nella catena alimentare dell'ecosistema. Il cadmio attraversa la placenta dalla madre al feto e danneggia i reni e lo scheletro.

Le restrizioni: L'uso di taluni composti dell'alluminio è limitato nella cosmesi dalle Direttive Cosmologiche (Direttiva 1976/768/EC) e nei giocattoli dalle Direttive (Direttiva 2009/48/EC).

L'uso dell'arsenico nell'Unione Europea è limitata dall'Annex XVII del REACH, nelle vernici antivegetative come conservante. È limitato nei giocattoli sotto la Direttiva sui Giochi (Direttiva 2009/48/EC).

I carbonati ed i solfati di piombo sono proibiti per l'uso nelle vernici nell'Unione Europea sotto l'Annex XVII del REACH. Il piombo è in aggiunta regolato nei prodotti elettrici ed elettronici attraverso le RoHS Direttive (Direttiva 2002/95/EC) nelle batterie dalle Direttive sulle Batterie (2006/66/EC), in cosmesi dalle Direttive sulla cosmesi, nei giocattoli dalle Direttive sui Giochi (Direttiva 1998/70/EC), nei combustibili dei motori dalle Direttive sui Veicoli (Direttiva 2000/53/EC), ed alla Direttiva relativa allo smaltimento dei rifiuti derivanti dalla rottamazione dei veicoli (Direttiva 2000/53/EC) ed alcune direttive concernenti con la produzione e l'imballaggio degli alimenti. Sotto l'Annex XVII del REACH, il cadmio non deve essere usato nell'Unione Europea per le vernici e la plastica definita nell'Annex XVII. È anche limitata nei giochi sotto la Direttiva Giochi (Direttiva 2009/48/EC) e nei prodotti dell'elettronica attraverso la Direttiva RoHS (Direttiva 2002/95/EC). La Direttiva sulla cosmesi (Direttiva 1976/768/EC) proibisce il cadmio nei prodotti cosmetici.

Metilmercurio

Il Metilmercurio è un composto del mercurio altamente tossico formato nell'ambiente dai metalli di mercurio. Il metilmercurio è un composto solubile nei grassi e si accumula nella catena alimentare. La principale sorgente di esposizione umana è il consumo di pesce.

Proprietà conosciute nell'ambiente e della salute: Il metilmercurio è trasferito tra la madre al feto. Esso attraversa anche la barriera ematocerebrale, che consentono alle sostanze pericolose di raggiungere i

tessuti cerebrali. Il metilmercurio anche a bassi livelli distrugge lo sviluppo del sistema nervoso del feto. Nel caso di esposizione ad alte dosi il danno è estensivo e si manifesta nella forma del sostanziale declino nelle capacità intellettuali e motoria, mentre ai più basse esposizioni si presenta con effetti subdoli come una compressa capacità di sviluppo del linguaggio e della memoria.

Restrizioni: In generale è stato bandito il mercurio in Svezia, che include molti composti contenente il mercurio dal 2009. Questo bando è più esteso di quello previsto nel 1993, ma non include certi usi che la legislazione armonizzata della UE prevede. Per questa regione il mercurio, può per esempio essere presente nelle illuminazioni. Nonostante i decenni di uso decrescente del mercurio, in Svezia i livelli in natura sono in aumento, ciò rende chiaro la necessita di regole ed impegni internazionali comuni. Le emissioni di mercurio ed i suoi composti devono essere abolite completamente nel 2020 come fissato dalla Direttiva Quadro sull'acqua.

### Nonil e Octil Fenolo

Nonil e octil fenolo appartengono al gruppo degli alchilfenoli e sono formati come sotto prodotti del nonil ed octilfenolo etossilato (detergenti usati nei prodotti per pulizia)

Proprietà conosciute sull'ambiente e sulla salute:

Nonil e Octilfenoli si accumulano nei sistemi biologici e sono tossici per gli organismi acquatici (nonilfenolo è classificato molto tossico)

Restrizioni: C'è una legislazione nella UE molto restrittive sull'uso del nonilfenolo e nonilfenolo etossilato nei processi industriali. Comunque, non c'è una legislazione equivalente per i prodotti finiti, e l'importazione degli articoli (per esempio tessile) che contengono sostanze comunque permesse. Entrambi nonil e octilfenolo sono incluse tra le prime sostanze nella lista della Direttiva Quadro sull'Acqua. Questo significa che queste sostanze sono state identificate come altamente problematiche e devono essere eliminate. Nonilfenolo è considerato così problematico che le emissioni nell'ambiente acquatico devono cessare completamente entro il 2020.

## PARABENI

I parabeni sono un gruppo di sostanze chimiche usate come conservanti per esempio in cosmetica e medicina. Alcuni parabeni comunemente utilizzati sono il metilparabene, l'etilparabene, il benzilparabene e il butilparabene.

Proprietà conosciuta sull'ambiente e sulla salute. Il butilparabene può causare allergie attraverso il contatto con la pelle si accumulane nei sistemi biologici, molti di essi è stato riscontrato delle proprietà estrogeniche. I più potenti effetti sugli estrogeni sono mostrati dai butil e propilparabeni che hanno anche effetti sull'abbassamento della produzione di sperma e testosterone nei animali maschi.

Restrizione Nessun parabene è permesso come conservante nei prodotti come detergenti per lavatrici e lavastoviglie dal 1 Gennaio 2011. Comunque, i parabeni non sono molto limitati nell'uso in prodotti da cosmetica.

## PENTACLOROFENOLO (PCP)

Funzioni PCP sono usati come erbicidi e fungicidi, come impregnanti per legno, così come disinfettanti generali e come componenti nelle pitture anti-vegetative.

Proprietà note sull'ambiente e sulla salute PCP è molto tossico per gli organismi acquatici e può causare un danno a lungo termine nell'ambiente. E' persistente in certe condizioni ambientali e può comunque

essere trovato negli organismi e nei sedimenti. Effetti tossici acuti dell'esposizione del PCP includenti danni ai polmoni, occhi, pelle, sangue e cuore, reni, fegato e sistema immunitario.

Restrizioni Come previsto dall'Annex XVII del REACH, il pentaclorofenolo, e suoi sali e suoi esteri, come concentrazione pura al 100% sono banditi dal mercato UE, ma piccole quantità possono essere inclusi nei prodotti chimici come miscela di differenti composti.

## COMPOSTI PERFLUORATI

I composti perfluorati sono usati dal 1950, per le loro proprietà di repellenza dell'acqua e dei grassi, essi sono usati per trattare le superfici degli abiti, negli estintori e per la pulizia dei pavimenti. I composti perfluorati si deteriorano molto lentamente in ambiente. Essi sono estremamente resistenti in natura, ed è importante restringere l'uso e la diffusione in ambiente anche se non è ancora dimostrato la loro pericolosità per l'ambiente e per la sicurezza.

Proprietà conosciute ambientali e salute: Per la loro persistenza, alcuni dei composti perfluorati hanno pericolose proprietà per l'ambiente e per la salute. Il perfluoro-ottani solfonato (PFOS) che è probabilmente il più conosciuto tra i composti perfluorati, può danneggiare lo sviluppo del feto e l'alimentazione al seno degli infanti. PFOS si accumula nel fegato e nel sangue. E'anche tossico per gli organismi acquatici. La conoscenza della pericolosità delle altre sostanze perfluorate è ancora molto limitata.

Restrizioni:

c'è stata una messa la bando sui PFOS nei prodotti chimici e gli articoli nel Mercato Europeo dal 2006. Il bando include sostanze che si deteriorano in PFOS, ma molti usi sono esentati. Nel 2009, PFOS furono posti nella lista della Convenzione di Stoccolma, tra gli inquinanti che richiedono un azione globale, i PFOS è una delle undici sostanze incluse nelle Direttive Quadro sull'Acqua tra le "sostanze prioritarie".

## IDROCARBURI POLIAROMATICI (PAH)

Gli idrocarburi poliaromatici sono un largo gruppo di prodotti derivante dalla combustione incompleta della materia organica o possono essere costituenti dei prodotti petroliferi. I PAH non hanno usi e sono inquinanti indesiderati.

Problemi conosciuti per l'ambiente e la salute:

I PAH sono a vari gradi solubili nei grassi e persistenti e possono essere assorbiti dagli organismi e dispersi nelle reti del cibo dell'ecosistema, in particolare tra gli organismi invertebrati che hanno una grande difficoltà a metabolizzare i PAH. Essi possono causare effetti dannosi di lungo termine, molti dei prodotti derivanti dalla degradazione dei PHA causano danni al DNA (mutazioni) che danno luogo al cancro. PAH sono un gruppo di composti organici con il più grande numero di cancerogeni conosciuti.

Restrizioni:

Nell'Unione Europea il livello di certi PAH sono regolati negli extender oil (oli estensori aggiunti alle plastiche) per i pneumatici automobilistici (vedi Annex XVII della regolamentazione dei prodotti chimici europei REACH).

## DIFENILETERI POLIBROMINATI (PBDE)

Sono ritardanti di fiamma nei prodotti elettronici, nei mobili, veicoli, articoli di plastica e tessuti.

I difenilpolibrominati sono un gruppo di 70 differenti composti che appartengono al gruppo dei ritardanti di fiamma brominati. Essi sono a vari gradi, solubili nei grassi, e alcuni di essi sono prontamente assorbibili dagli organismi e della rete alimentare dell'ecosistema, dove essi rimangono per lungo tempo. Ci sono vari gap nella loro conoscenza e sull'effetto di questi sulla salute per molti dei loro composti. I cinque PBDE (pentabromodifenilettere, octabromodifenilettere, decabromodifenilettere, tetrabromobisfenolo, e esabromociclododecano) sono storicamente usati in grandi quantità, e sono stati studiati. Molti PBDE sono tossici dannosi per gli organismi acquatici, per il sistema nervoso centrale e l'octabromodifenilettere tossico per la riproduzione.

Restrizioni: Penta e ottildifeniletere sopra un certo livello sono banditi nei prodotti chimici e negli articoli nell'Unione europea (Annex XVII del Reach). In aggiunta PBDE è proibito per usi elettrici ed elettronici dal RoHS (Direttiva sulla Limitazione delle sostanze pericolose) e dalla (Direttiva 2002/95/EC).

## BIFENIL POLICLORURATI

Funzioni: I PCB sono usati come fluido isolante elettrico nei trasformatori e nei condensatori, negli oli idraulici e negli oli da taglio, essi possono essere usati nei sigillanti, nelle pitture nella carta senza carbonio e sono anche usati come elasticizzanti e stabilizzanti nella plastica e nel cemento.

Problemi conosciuti per l'ambiente e per la salute:

I PCB sono solubili nei grassi e persistenti e sono comunque prontamente assorbiti dagli organismi e diffusi nella rete alimentare dell'ecosistema, dove essi permangono per lungo tempo. I PCB sono dannosi per il cervello e per il suo sviluppo dove essi rimangono per lungo termine, essi hanno le medesime proprietà degli ormoni e possono distruggere il metabolismo generale e della riproduzione ed aumentare i rischi di cancro. L'esposizione della pelle a queste sostanze può portare ad infiammazioni, come acne clorica e ulcere.

Restrizioni: Tutti gli usi dei PCB sono proibiti in Svezia e essi sono stati gradualmente esclusi, molto recentemente attraverso l'ordinanza SFS 2007:19. Globalmente i PCB sono un problema ambientale. Nell'Unione Europea la produzione e l'uso dei PCB è regolato dal Regolamento (EC) No 850/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio Europeo e le esportazioni dal Regolamento 8EC No 689/2008.

## VINCLOZOLIN e PROCLORAZ

Funzioni

Il vinclozilin e il procloraz sono fungicidi.

Proprietà conosciute per l'ambiente e la salute:

Il Vinclozol può danneggiare lo sviluppo del feto e compromette la capacità riproduttiva, Esso si accumula nei sistemi biologici ed è tossico per i sistemi acquatici, può causare allergie. In aggiunta, i vinclozolin è sospetto per essere cancerogeno. Procloraz persistente si accumula nei sistemi biologici e altamente tossico per i sistemi acquatici. I Vinclozoli e procloraz sono menzionati nei report principalmente perché distruttivi del sistema endocrino. Così essi sono distruttivi del normale funzionamento degli androgeni del corpo (gli ormoni del sesso maschili) e danneggiare lo sviluppo del feto.

Restrizioni

I vinclozol è non permesso nell'Unione Europea. I Procloraz è al momento sotto valutazione e una decisione sul loro utilizzo deve pervenire entro Dicembre 2011.

## 8. GLOSSARIO

### Androgeni:

Ormoni sessuali che controllano lo sviluppo sessuale nel maschio dell'uomo e degli animali. Il testosterone e diidrotestosterone (DHT) sono molto importati per gli uomini.

### Effetti antiandrogeni:

Questo termine è usato per gli effetti dove si riscontra che le funzioni controllate dagli androgeni sono distrutti per esempio da composti chimici. Tale distruzione può aver luogo come il risultato della riduzione della produzione dell'ormone o del blocco della sua azione da parte di composti chimici.

### Sostanze Bioaccumulabili

Sostanze le cui proprietà sono tali che possono essere accumulati nei tessuti e la cui concentrazione aumenta all'aumentare dell'assorbimento più velocemente di quanto venga metabolizzato o escreto.

### Metodi in vitro.

I tes condotti nelle colture cellulari invece di usare animali negli esperimenti.

### LOAEL/LOEC (Lowest Observed Adverse Effect Level/ Lowest Observed Effect Concentration)

Livello più basso a cui si osserva un effetto (LOEL)

Il più basso livello /concentrazione più bassa a cui si osserva un effetto ( LOEC)

### NOAEL/NOEC (No Observed Adverse Effect Level/No Observed Effect Concentration)

Il Livello/concentrazione alla quale nessun effetto avverso è osservati

### Nord e Sud

Nord e Sd oggi sono generalmente concetti accettati per identificare una demarcazione socio-economica che esiste tra i paesi sviluppati (collettivamente conosciuti come Nord o "Nord Globale") e i paesi in via di sviluppo nelle economie di transizione (collettivamente conosciuti con Sud o "Sud Globale") . Questi termini sono più comunemente usati che per esempio, Terzo Mondo.

### OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development)

L'OECD è un organizzazione cooperativa, che si pone come obiettivo principale l'industrializzazione dei paesi e lo sviluppo del tessuto economico.

I membri includono tutti gli stati membri della UE, gli Stati uniti, il Giappone, ed il Canada. Nazioni come Messico, Turchia e Cile sono diventati membri di recente.

### Sostanze persistenti

Sostanze che sono hanno una lunga vita e difficili da abbattere.

### Pesticidi

Questo è un nome collettivo per indicare i prodotti a fitosanitari ed i biocidi. I fitosanitari, sono usati per proteggere le piante in agricoltura e in silvicoltura mentre i biocidi è il nome che si da ai pesticidi quando essi sono usati in contesti diversi come nelle pitture antivegetative e rodenticidi

### Valutazione del Rischio

Al fine di valutare il rischio associato alle sostanze chimiche, viene predisposta una valutazione del rischio nella quale l'esposizione alle sostanze sono comparati ai livelli per i quali si possono avere effetti dannosi.

La valutazione è effettuata attraverso le proprietà intrinseche delle sostanze (pericolosità), per esempio

quelle che causano effetti sulla riproduzione o allergie, quali sono valori limite di esposizione ed il rischio valutato.

Tossicologia

La scienza che si occupa delle proprietà e delle azioni dei veleni.



## BIBLIOGRAFIA

1. European Commission (2001) "Towards Sustainability", A European Community Programme of Policy and Action in Relation to the Environment and Sustainable Development, Commission of the European Communities, COM(92) 23/II final, Brussels; White Paper - Strategy for a future Chemicals Policy. Commission of the European Communities, COM(2001) 88 final, Brussels.
2. Olsson E, Posner S, Roos S, Wilson K, 2009. Kartläggning av kemikalieanvändning i kläder. Swerea IVF Uppdragsrapport 09/52
3. Betts K. 2008. Does a key PBDE break down in the environment? *Environment Science Technology*, 10.1021/es9018463.
4. OECD, 2001. Environmental Outlook for the Chemicals Industry. Organisation for Economic Co-operation and Development (<http://www.oecd.org/dataoecd/7/45/2375538.pdf>).
5. Oakes et al., 2004. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature*. 427, 630-633.
6. Larsson et al., 2007. Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. *Journal of Hazardous Materials*. 148, 751-755.
7. International Labour Organization, 2005 ([http://www.ilo.org/global/About\\_the\\_ILO/Media\\_and\\_public\\_information/Press\\_releases/lang--en/WCMS\\_075502/index.htm](http://www.ilo.org/global/About_the_ILO/Media_and_public_information/Press_releases/lang--en/WCMS_075502/index.htm))
8. World Bank, 2002. Toxics and poverty. The impact of toxic substances on the poor in developing countries.
9. The National Vision, August 13th, 2008, Uganda.
10. World Bank, 2002. Toxics and poverty. The impact of toxic substances on the poor in developing countries.
11. Bouwman et al., 2006. Simultaneous presence of DDT and pyrethroid residues in human breast milk from a malaria endemic area in South Africa. *Environ. Pollut.* 144, 902-917.
12. Kinyamu et al., 1998. Levels of organochlorine pesticides residues in milk of urban mothers in Kenya. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60, 732-738.
13. Magnusson U., Brunström B., Norrgren L. 2005. Fortplantningsstörningar och kemikalier. Centrum för Reproduktionsbiologi. ISBN 91-576-6816-7.
14. Verreault J., Gabrielsen G. 2006. Contaminants in Polar Bears: Temporal and Geographical Trends ([http://mosj.npolr.no/filearchive/IsbjornTolkning\(2006\).pdf](http://mosj.npolr.no/filearchive/IsbjornTolkning(2006).pdf))
15. Livsmedelsverket. <http://www.slv.se/sv/grupp1/Risker-med-mat/Metaller/Kvicksilver/>
16. Olsson M., Bignert A. 1997. Miljöövervakningsdata ger perspektiv. (<http://www.smf.su.se/nyfiken/postersjo/arsrapportersjo97/T6s16-19.pdf>)
17. Kortenkamp et al. 2009 State of the Art Report on Mixture Toxicity European Commission Study Contract Number 070307/2007/485103/ETU/D.1
18. Nargaard K. B. and Cedergreen, N. 2010. Pesticide cocktails can interact synergistically on aquatic crustaceans. *Environ Sci Pollut Res* (2010) 17:957-967
19. Dahlhoff, I., Grunnet, K., Haller, R., Hjorth, M., Maraldo, K., & Petersen, D. G. Analysis, fate and toxicity of zinc- and copper pyrrithione in the marine environment. 2005. Nordic Council of Ministers.
20. Koutsafitis, A. & Aoyama, I. 2006, "The interactive effects of binary mixtures of three antifouling biocides and three heavy metals against the marine algae *Chaetoceros gracilis*", *Environmental Toxicology*, vol. 21, no. 4, pp. 432-439.
21. Kim, K.T, Klaine, S.J, Lin, S., Ke, P.C. and Kim, S.D. 2010, "Acute Toxicity of a Mixture of Copper and Ingle-Walled Carbon Nanotubes to *Daphnia Magna*", *Environ. Toxicol. Chem.* 2010;29:122-126.
22. Richards, S. M. et al. 2004, "Effects of pharmaceutical mixtures in aquatic microcosms", *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 23, no. 4, pp. 1035-1042.
23. Cleuvers, M. 2004, "Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 59, no. 3, pp. 309-315.
24. Cleuvers, M. 2005, "Initial risk assessment for three beta-blockers found in the aquatic environment", *Chemosphere*, vol. 59, no. 2, pp. 199-205.
25. Counter, S.A., Buchanan, L.H., 2004. Mercury exposure in children: review. *Technology and Applied Pharmacology* 198, 209-230.
26. Dietert, R.R., 2009. Developmental immunotoxicity (DIT), postnatal dysfunction and childhood leukemia. *Blood, Cells and Diseases* 42, 108-112.
27. Chen, M.-L, Lee, H.-Y., Chuang, Gou, B.-R., Mao, L.-F., 2009. Association between nonylphenol exposure and development of secondary sexual characteristics, *Chemosphere* 76, 927-931.
28. Zahir, F., Shamim, J.R., Soghra, K.H., Khan, R.H., 2005. Low dose mercury toxicity and human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 20, 351-360.
29. Royland, J.E., Wu, J., Zaiwa, N.H., Kodavanti, P.R.S., 2008. Gene expression profiles in the cerebellum and hippocampus following exposure to a neurotoxicant, Arcolor 1254: Developmental effects. *Toxicology and Applied Pharmacology* 231, 165-178.
30. Coburn, C.G., Cúrras-Collazo, M., Kodavanti, P.R.S., 2008. In vitro effects of environmentally relevant polybrominated diphenyl ether (PBDE) congeners on calcium buffering mechanisms in rat brain. *Neurochemical Research* 33, 355-364.
31. Diez, S., Montuori, P., Pagano, A., Sarnacchiaro, P., Bayona, J. M., Triassi, M., 2008. Hair mercury levels in an urban population from Southern Italy: fish consumption as a determinant of exposure. *Environment International* 34, 162-167.
32. Fischer, C., Fredriksson, A., Eriksson, P., 2008. Neonatal co-exposure to low doses of an ortho-PCB (PCB 153) and methyl mercury exacerbate defective developmental neurobehavior in mice. *Toxicology* 244, 157-165.
33. Counter, S.A., Buchanan, L.H., 2004. Mercury exposure in children: review. *Technology and Applied Pharmacology* 198, 209-230.
34. Kerper, L.E., Ballatori, N., Clarksson, T.W., 1992. Methylmercury transport across the blood-brain barrier by an amino acid carrier. *American Journal of Physiology* 262, R761-R765.
35. Goyer, R.A., 1995. Factors influencing metal toxicity. San Diego: Academic Press, p. 31-45.
36. Grandjean, P., Weihe, P., 1998. Cognitive performance of children prenatally exposed to safe levels of methylmercury. *Environmental Research* 77, 165-172.
37. Kimbrough, R.D., 1995. Polychlorinated biphenyls and human health: an update. *Critical Reviews in Toxicology* 25, 113-163.
38. Bjerregaard, P., Dewailly, E., Ayotte, P., Pars, T., Ferron, L., Mulvad, G., 2001. Exposure of Inuit in Greenland to organochlorines through the marine diet. *Journal of Toxicological Environmental Health Part A* 62, 69-81.
39. Kawashiro, Y., Fukata, H., Omori-Inoue, M., Kubonoya, K., Jotaki, T., Takigami, H., Sakai, S.-I., Mori, C., 2008. Perinatal exposure to brominated flame retardants and polychlorinated biphenyls in Japan. *Endocrine Journal* 55, 1071-1084.
40. Eum, S.-Y., Andrés, I. E., Couraud, P.-O., Hennig, B., Toborek, M., 2008. PCBs and tight junction expression. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 25, 234-240.
41. Seelbach, M., Chen, L., Powell, A., Choi, Y.-J., Zhang, B., Hennig, B., Toborek, M., 2010. Polychlorinated biphenyls disrupt blood-brain barrier integrity and promote brain metastasis formation. *Environmental Health Perspectives* 118, 479-484.
42. Kenet, T., Froemke, R.C., Schreiner, C.E., Pessah, I.N., Merzenich, M.M., 2007. Perinatal exposure to a noncoplanar polychlorinated biphenyl alters tonotopy, receptive fields, and plasticity in rat primary auditory cortex. *PNAS, The National Academy of Sciences of the USA* 104, 7646-7651.
43. Kimura-Kuroda, J., Nagato, I., Kuroda, Y., 2007. Disrupting effects of hydroxy-polychlorinated biphenyl (PCB) congeners on neuronal development of cerebellar Purkinje cells: A possible causal factor for developmental brain disorders? *Chemosphere* 67, S412-S420.
44. Stewart, P.W., Reihman, J., Lonky, E.J., Darvill, T.J., Pagano, J., 2003. Cognitive development of preschool children prenatally exposed to PCBs and MeHg. *Neurotoxicological Teratology* 25, 11-22.
45. Fein, G.G., Jacobson, J.L., Jacobson, S.W., Schwartz, P.M., Dowler, J.K., 1984. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls: effects on birth size and gestational age. *Journal of Pediatrics* 105, 315-320.
46. Jacobson, J.L., Jacobson, S.W., 1996. Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls in utero. *New England Journal of Medicine* 335, 783-789.
47. Jacobson, J.L., Jacobson, S.W., Humprey, H.E., 1990. Effects of exposure to PCB and related compounds on growth and activity in children. *Neurotoxicological Teratology* 12, 319-326.
48. Patandin, S., Lanting, C.I., Mulder, P.G., Boersma, E.R., Sauer, P.J., Weisglas-Kuperus, N., 1999. Effects of environmental exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on cognitive abilities in Dutch children at 42 months of age. *Journal of Pediatrics* 134, 33-41.
49. Stewart, P., Reihman, J., Lonky, E., Darvill, T., Pagano, J., 2000. Prenatal PCB exposure and neonatal behavioral assessment scale (NBAS) performance. *Neurotoxicology and Teratology* 22, 21-29.
50. Walkowiak, J., Wiener, J.A., Fastabend, A., Heinzow, B., Kramer, U., Schmidt, E., Steingrub, H.J., Wudram, S., Winnke, G., 2001. Environmental exposure to polychlorinated biphenyls and quality of the home environment: effects on psychodevelopment in early childhood. *Lancet* 358, 1602-1607.
51. Johnson-Restrepo, B., Kannan, K., Rapaport, D.P., Rodan, B.D., 2005. Polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in human adipose



- tissue from New York. *Environmental Science and Technology* 39, 5177-5182.
52. Morland, K.B., Landrigan, P.J., Sjödin, A., Gobeille, A.K., Jones, R.S., McGahee, E.E., Needham, L.L., Patterson, D.G.Jr., 2005. Body burdens of polybrominated diphenyl ethers among urban anglers. *Environmental Health Perspectives* 113, 1689-1692.
  53. Darnerud, P.O., Eriksen, G.S., Johannesson, T., Larsen, P.B., Viluksela, M., 2001. Polybrominated diphenyl ethers: occurrence, dietary exposure, and toxicology 109k 49-68.
  54. Tan, J., Loganath, A., Ching, Y.S., Obbard, J.P., 2009. Exposure to persistent organic pollutants in utero and related maternal characteristics on birth outcomes: A multivariate data analysis approach. *Chemosphere* 74, 428-433.
  55. Viberg, H., 2009. Exposure to polybrominated diphenyl ethers 203 and 206 during the neonatal brain growth spurt affects proteins important for normal neurodevelopment in mice. *Toxicological Sciences* 109, 306-311.
  56. Herbstman, J.B., Sjödin, A., Kurzon, M., Lederman, S.A., Jones, R.S., Rauh, V., Needham, L.L., Tang, D., Niedzwiecki, M., Wang, R.Y., Perera, F., 2010. Prenatal Exposure to PBDEs and Neurodevelopment. *Environmental Health Perspective* 118, 712-719.
  57. Fischer, C., Fredriksson, A., Eriksson, P., 2008. Neonatal co-exposure to low doses of an ortho-PCB (PCB153) and methyl mercury exacerbate defective developmental neurobehavior in mice. *Toxicology* 244, 157-165.
  58. Eriksson, P., Fischer, C., Fredriksson, A., 2006. Polybrominated diphenyl ethers, a group of brominated flame retardants, can interact with polychlorinated biphenyls in enhancing developmental neurobehavioral defects. *Toxicological Sciences* 94, 302-309.
  59. Fischer, C., Fredriksson, A., Eriksson, P., 2008. Coexposure of neonatal mice to a flame retardant (PBDE99 [2, 2', 4, 4', 5-pentabromodiphenyl ether]) and methyl mercury enhances developmental neurotoxic defects. *Toxicological Sciences* 101, 275-285.
  60. Grandjean, P., Weihe, P., White, R.F., Debes, F., Araki, S., Yokoyama, K., Murata, K., Sørensen, N., Dahl, R., Jørgensen, P.J., 1997. Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicological Teratology* 19, 417-428.
  61. Davidson, P.W., Myers, G.J., Cox, C., Shamlaye, C., Marsh, D.O., Tanner, M.A., Berlin, M., Sloanne-Reeves, J., Cerichiarì, E., Choisy, O., Choi, A., Clarkson, T.W., 1995. Longitudinal neurodevelopmental study of Seychellois children following in utero exposure to methylmercury from maternal fish ingestion: outcomes at 19 and 29 months. *Neurotoxicology* 16, 677-688.
  62. Myers, G.J., Davison, P.W., Cox, C., Shamlaye, C., Tanner, M.A., Choisy, O., Sloanne-Reeves, J., Marsh, D.O., Chernichiarì, E., Choi, Berlin, M., Clarkson, T.W., 1995. Pilote neurodevelopment study of Seychellois children following in utero exposure to methylmercury from a maternal fish diet. *Neurotoxicology* 16, 629-638.
  63. Myers, G.J., Marsh, D.O., Davison, P.W., Cox, C., Shamlaye, C., Chernichiarì, E., Choisy, O., Clarkson, T.W., 1995. Main neurodevelopment study of Seychellois children following in utero exposure to methylmercury from a maternal fish diet: outcome at six months.
  64. Davidson, P.W., Myers, G.J., Cox, C., Axtell, C., Shamlaye, C., Sloanne-Reeves, J., Cerichiarì, E., Needham, L., Choi, A., Wang, Y., Berlin, M., Clarkson, T.W., 1998. Effects of prenatal and postnatal methylmercury exposure from fish on neurodevelopment. *Journal of the American Medical Association* 281, 897.
  65. Stewart, P.W., Reihman, J., Lonky, E.I., Darvill, T.J., Pagano, J., 2003. Cognitive development of preschool children prenatally exposed to PCBd and MeHg. *Neurotoxicological Teratology* 25, 11-22.
  66. Counter, S.A., Buchanan, L.H., 2004. Mercury exposure in children: review. *Technology and Applied Pharmacology* 198, 209-230.
  67. Stewart, P.W., Reihman, J., Lonky, E.I., Darvill, T.J., Pagano, J., 2003. Cognitive development of preschool children prenatally exposed to PCBd and MeHg. *Neurotoxicological Teratology* 25, 11-22.
  68. Kaatsch, P., Mergenthaler, A., 2008. Incidence, time trends and regional variation of childhood leukemia in Germany and Europe. *Radiation Protection Dosimetry* 132, 107-113.
  69. Baade, P.D., Youlten, D.R., Valery, P.C., Hassall, T., Ward, L., Green, A.C., Aitken, J.F., 2010. Trends in incidence of childhood cancer in Australia, 1983-2006. *British Journal of Cancer* 102, 620-626.
  70. Branum, A.M., Lukacs, S., 2009. Food allergy among children in the United States. *Pediatrics* 124, 1549-1555.
  71. Anthracopoulos, M.B., Antonogeorgos, G., Liolios, E., Triga, M., Panagiopoulou, E., Priftis, K.N., 2009. Increase in chronic or recurrent rhinitis, rhinoconjunctivitis and eczema among schoolchildren in Greece: Three surveys during 1991-2003. *Pediatric Allergy and Immunology* 20, 180-186.
  72. Bishayi, B., Sengupta, M., 2006. Synergism in immunotoxicological effect due to repeated combined administration of arsenic and lead in mice. *International Immunopharmacology* 6, 454-464.
  73. Mori, C., Morsey, B., Levin, M., Gorton, T.S., deGuise, S., 2008. Effects of organochlorines, individually and in mixtures on B-cell proliferation in marine mammals and mice. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 71, Part A, issue 4, 266-275.
  74. Harper, N., Steinberg, S., 1996. Immunotoxicity of a reconstituted polynuclear aromatic hydrocarbon mixture in BW3F1 mice. *Toxicology* 109, 31-38.
  75. Lemaire-Gony, S., Lemaire, P., Pulsford, A.L., 1995. Effects of cadmium and benzo(a)pyrene on the immune system, gill ATPase and EROD activity of European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquatic Toxicology* 31, 297-313.
  76. Xing, L., Xu, Y., Xiao, Y., Shang, L., Liu, R., Wei, X., Jiang, J., Hao, W., 2010. Embryotoxic and teratogenic effects of the combination of bisphenol A and genistein on in vitro cultured postimplantation rat embryos. *Toxicological Sciences* 115, 577-588.
  77. Vandenberg, L.N., Hauser, R., Marcus, M., Olea, N., Welshons, W.V., 2007. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology* 24, 139-177.
  78. Huang, Y.R., Shi, J.H., Zhou, L., Di, Y., Qian, H., 2001. Environmental monitoring and governance in the East Asian coastal hydrosphere. *Endocrine Disrupter Compounds (EDCs) in water 2001. Report, China*.
  79. Newbold RR. Lessons learned from perinatal exposure to diethylstilbestrol. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2004 Sep 1;199(2):142-50.
  80. Waring RH, Harris RM. Endocrine disruptors: a human risk? *Mol Cell Endocrinol*. 2005 Dec 1;244(1-2):2-9.
  81. Sonne C. Health effects from long-range transported contaminants in Arctic top predators: An integrated review based on studies of polar bears and relevant model species. *Environ Int*. 2010 Jul;36(5):461-91.
  82. Hatch EE, Nelson JW, Stahlhut RW, Webster TF. Association of endocrine disruptors and obesity: perspectives from epidemiological studies. *Int J Androl*. 2010 Apr;33(2):324-32.
  83. Lee DH, Lee IK, Song K, Steffes M, Toscano W, Baker BA, Jacobs DR Jr. A strong dose-response relation between serum concentrations of persistent organic pollutants and diabetes: results from the National Health and Examination Survey 1999-2002. *Diabetes Care*. 2006 Jul;29(7):1638-44.
  84. Fernandez MF, Olmos B, Granada A, López-Espinosa MJ, Molina-Molina JM, Fernandez JM, Cruz M, Olea-Serrano F, Olea N. Human exposure to endocrine-disrupting chemicals and prenatal risk factors for cryptorchidism and hypospadias: a nested case-control study. *Environ Health Perspect*. 2007 Dec;115 Suppl 1:8-14.
  85. Kim BN, Cho SC, Kim Y, Shin MS, Yoo HJ, Kim JW, Yang YH, Kim HW, Bhang SY, Hong YC. Phthalates exposure and attention-deficit/hyperactivity disorder in school-age children. *Biol Psychiatry*. 2009 Nov 15;66(10):958-63.
  86. Ge RS, Chen GR, Dong Q, Akingbemi B, Sottas CM, Santos M, Sealfon SC, Bernard DJ, Hardy MP. Biphasic effects of postnatal exposure to diethylhexylphthalate on the timing of puberty in male rats. *J Androl*. 2007 Jul-Aug;28(4):513-20.
  87. Gunnarsson D, Leffler P, Ekwurtzel E, Martinsson G, Liu K, Selstam G. Mono-(2-ethylhexyl) phthalate stimulates basal steroidogenesis by a cAMP-independent mechanism in mouse gonadal cells of both sexes. *Reproduction*. 2008 May;135(5):693-703.
  88. Ullerås E, Ohlsson A, Oskarsson A. Secretion of cortisol and aldosterone as a vulnerable target for adrenal endocrine disruption - screening of 30 selected chemicals in the human H295R cell model. *J Appl Toxicol*. 2008 Nov;28(8):1045-53.
  89. Welsh M, Saunders PT, Finken M, Scott HM, Hutchison GR, Smith LB, Sharpe RM. Identification in rats of a programming window for reproductive tract masculinization, disruption of which leads to hypospadias and cryptorchidism. *J Clin Invest*. 2008 Apr;118(4):1479-90.
  90. Welsh M, Saunders PT, Finken M, Scott HM, Hutchison GR, Smith LB, Sharpe RM. Identification in rats of a programming window for reproductive tract masculinization, disruption of which leads to hypospadias and cryptorchidism. *J Clin Invest*. 2008 Apr;118(4):1479-90.
  91. Swan SH, Main KM, Liu F, Stewart SL, Kruse RL, Calafat AM, Mao CS, Redmon JB, Ternand CL, Sullivan S, Teague JL; Study for Future Families Research Team. Decrease in arogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environ Health Perspect*. 2005 Aug;113(8):1056-61.
  92. Howdeshell KL, Wilson VS, Furr J, Lambricht CR, Rider CV, Blystone CR, Hotchkiss AK, Gray LE Jr. A mixture of five phthalate esters inhibits fetal testicular testosterone



- production in the sprague-dawley rat in a cumulative, dose-additive manner. *Toxicol Sci.* 2008 Sep;105(1):153-65.
93. Jacobsen PR, Christiansen S, Boberg J, Nellemann C, Hass U. Combined exposure to endocrine disrupting pesticides impairs parturition, causes pup mortality and affects sexual differentiation in rats. *Int J Androl.* 2010 Apr;33(2):434-42
94. Rider CV, Furr JR, Wilson VS, Gray LE Jr. Cumulative effects of in utero administration of mixtures of reproductive toxicants that disrupt common target tissues via diverse mechanisms of toxicity. *Int J Androl.* 2010 Apr;33(2):443-62.
95. Rider CV, Furr JR, Wilson VS, Gray LE Jr. Cumulative effects of in utero administration of mixtures of reproductive toxicants that disrupt common target tissues via diverse mechanisms of toxicity. *Int J Androl.* 2010 Apr;33(2):443-62.
96. Christiansen S, Scholze M, Dalgaard M, Vinggaard AM, Axelstad M, Kortenkamp A, Hass U. Synergistic disruption of external male sex organ development by a mixture of four antiandrogens. *Environ Health Perspect.* 2009 Dec;117(12):1839-46.
97. Rider CV, Furr JR, Wilson VS, Gray LE Jr. Cumulative effects of in utero administration of mixtures of reproductive toxicants that disrupt common target tissues via diverse mechanisms of toxicity. *Int J Androl.* 2010 Apr;33(2):443-62.
98. Christiansen S, Scholze M, Dalgaard M, Vinggaard AM, Axelstad M, Kortenkamp A, Hass U. Synergistic disruption of external male sex organ development by a mixture of four antiandrogens. *Environ Health Perspect.* 2009 Dec;117(12):1839-46
99. Rider CV, Furr JR, Wilson VS, Gray LE Jr. Cumulative effects of in utero administration of mixtures of reproductive toxicants that disrupt common target tissues via diverse mechanisms of toxicity. *Int J Androl.* 2010 Apr;33(2):443-62.
100. Hass U, Scholze M, Christiansen S, Dalgaard M, Vinggaard AM, Axelstad M, Metzdorff SB, Kortenkamp A. Combined exposure to anti-androgens exacerbates disruption of sexual differentiation in the rat. *Environ Health Perspect.* 2007 Dec;115 Suppl 1:122-8
101. Rider CV, Furr JR, Wilson VS, Gray LE Jr. Cumulative effects of in utero administration of mixtures of reproductive toxicants that disrupt common target tissues via diverse mechanisms of toxicity. *Int J Androl.* 2010 Apr;33(2):443-62.
102. Howdeshell KL, Wilson VS, Furr J, Lambright CR, Rider CV, Blystone CR, Hotchkiss AK, Gray LE Jr. A mixture of five phthalate esters inhibits fetal testicular testosterone production in the sprague-dawley rat in a cumulative, dose-additive manner. *Toxicol Sci.* 2008 Sep;105(1):153-65.
103. Tinwell H, Ashby J. Sensitivity of the immature rat uterotrophic assay to mixtures of estrogens. *Environ Health Perspect.* 2004 Apr;112(5):575-82.
104. Charles GD, Gennings C, Tornesi B, Kan HL, Zacharewski TR, Bhaskar Gollapudi B, Carney EW. Analysis of the interaction of phytoestrogens and synthetic chemicals: an in vitro/in vivo comparison. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2007 Feb 1;218(3):280-8.
105. You L, Casanova M, Bartolucci EJ, Fryczynski MW, Dorman DC, Everitt JJ, Galdo KW, Ross SM, Heck Hd H. Combined effects of dietary phytoestrogen and synthetic endocrine-active compound on reproductive development in Sprague-Dawley rats: genistein and methoxychlor. *Toxicol Sci.* 2002 Mar;66(1):91-104.
106. van Meeuwen JA, van Son O, Piersma AH, de Jong PC, van den Berg M. Aromatase inhibiting and combined estrogenic effects of parabens and estrogenic effects of other additives in cosmetics. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008 Aug 1;230(3):372-82.
107. Fent K, Escher C, Caminada D. Estrogenic activity of pharmaceuticals and pharmaceutical mixtures in a yeast reporter gene system. *Reprod Toxicol.* 2006 Aug;22(2):175-85.
108. Kunz PY, Fent K. Estrogenic activity of UV filter mixtures. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006 Nov 15;217(1):86-93.
109. van Meeuwen JA, Ter Burg W, Piersma AH, van den Berg M, Sanderson JT. Mixture effects of estrogenic compounds on proliferation and p52 expression of MCF-7 human breast cancer cells. *Food Chem Toxicol.* 2007 Nov;45(11):2319-30.
110. Nellemann C, Dalgaard M, Lam HR, Vinggaard AM. The combined effects of vinclozolin and procymidone do not deviate from expected additivity in vitro and in vivo. *Toxicol Sci.* 2003 Feb;71(2):251-62.
111. Birkhøj M, Nellemann C, Jarfelt K, Jacobsen H, Andersen HR, Dalgaard M, Vinggaard AM. The combined antiandrogenic effects of five commonly used pesticides. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2004 Nov 15;201(1):10-20.
112. Crofton KM, Craft ES, Hedge JM, Gennings C, Simmons JE, Carchman RA, Carter WH Jr, DeVito MJ. Thyroid-hormone-disrupting chemicals: evidence for dose-dependent additivity or synergism. *Environ Health Perspect.* 2005 Nov;113(11):1549-54.
113. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ.* 1992 Sep 12;305(6854):609-13.
114. Leung AK, Robson WL. Hypospadias: an update. *Asian J Androl.* 2007 Jan;9(1):16-22.
115. Paulozzi LJ, Erickson JD, Jackson RJ. Hypospadias trends in two US surveillance systems. *Pediatrics.* 1997 Nov;100(5):831-4.
116. Myrup C, Westergaard T, Schnack T, Oudin A, Ritz C, Wohlfahrt J, Melbye M. Testicular cancer risk in first- and second-generation immigrants to Denmark. *J Natl Cancer Inst.* 2008 Jan 2;100(1):41-7
117. Krysiak-Balryn K, Toppari J, Skakkebaek NE, Jensen TS, Virtanen HE, Schramm KW, Shen H, Vartiainen T, Kiviranta H, Taboureau O, Brunak S, Main KM. Country-specific chemical signatures of persistent environmental compounds in breast milk. *Int J Androl.* 2010 Apr;33(2):270-8.
118. Purdom CE, Hardiman PA, Bye VJ, Eno NC, Tyler C, Sumpter J. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chem Ecol.* 1994;8:275-85.
119. Larsson DGJ, Adolfsson-Erici M, Parkkonen J, Petteferson M, Berg H, Olsson P-E, Forlin L. Ethinylloestradol - an undesired fish contraceptive? *Aquatic Toxicol.* 1999;45:91-7.
120. Brian JV, Harris CA, Scholze M, Backhaus T, Booy P, Lamoree M, Pojana G, Jonkers N, Runnalls T, Bonfa A, Marcomini A, Sumpter JP. Accurate prediction of the response of freshwater fish to a mixture of estrogenic chemicals. *Environ Health Perspect.* 2005 Jun;113(6):721-8.
121. Correia AD, Freitas S, Scholze M, Goncalves JF, Booiq P, Lamoree MH, Mahands E, Reis-Henriques MA. Mixtures of estrogenic chemicals enhance vitellogenin response in sea bass. *Environ Health Perspect.* 2009 Dec;115 Suppl 1:115-21.
122. Christiansen S, Scholze M, Dalgaard M, Vinggaard AM, Axelstad M, Kortenkamp A, Hass U. Synergistic disruption of external male sex organ development by a mixture of four antiandrogens. *Environ Health Perspect.* 2009 Dec;117(12):1839-46.
123. Vinggaard AM, Hass U, Dalgaard M, Andersen HR, Bonefeld-Jørgensen E, Christiansen S, Laier P, Poulsen ME. Prochloraz: an imidazole fungicide with multiple mechanisms of action. *Int J Androl.* 2006 Feb;29(1):186-92.
124. Borch J, Metzдорff SB, Vinggaard AM, Brokken L, Dalgaard M. Mechanisms underlying the anti-androgenic effects of diethylhexyl phthalate in fetal rat testis. *Toxicology.* 2006 Jun 1;223(1-2):144-55.
125. Lin H, Lian QQ, Hu GX, Jin Y, Zhang Y, Hardy DO, Chen GR, Lu ZQ, Sottas CM, Hardy MP, Ge RS. In utero and lactational exposures to diethylhexyl-phthalate affect two populations of Leydig cells in male Long-Evans rats. *Biol Reprod.* 2009 May;80(5):882-8.
126. Anway MD, Memon MA, Uzumcu M, Skinner MK. Transgenerational effect of the endocrine disruptor vinclozolin on male spermatogenesis. *J Androl.* 2006 Nov-Dec;27(6):868-79.
127. Aggarwal S, Thareja S, Verma A, Bhardwaj TR, Kumar M. An overview on Salphareductase inhibitors. *Steroids.* 2010 Feb;75(2):109-53.
128. Jacobsen PR, Christiansen S, Boberg J, Nellemann C, Hass U. Combined exposure to endocrine disrupting pesticides impairs parturition, causes pup mortality and affects sexual differentiation in rats. *Int J Androl.* 2010 Apr;33(2):434-42.
129. Regulation (EC) No 1907/2006 on Registration, Evaluation, Authorisation of Chemicals
130. Regulation (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures
131. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for the Community action in the field of water policy
132. Directive 2010/75/EC of the European Parliament and of the Council of 15 January 2008 concerning industrial emissions
133. Kortenkamp et al. 2009 State of the Art Report on Mixture Toxicity European Commission Study Contract Number 070307/2007/485103/ETU/D.1
134. Rider CV, Furr JR, Wilson VS, Gray LE Jr. Cumulative effects of in utero administration of mixtures of reproductive toxicants that disrupt common target tissues via diverse mechanisms of toxicity. *Int J Androl.* 2010 Apr;33(2):443-62.
135. DEPA 2009. Survey and Health Assessment of the exposure of 2 year-olds to chemical substances in Consumer Products. Survey of Chemical Substances in Consumer Products, 102, 2009.