

VALUTAZIONE DELLA TOSSICITA' SISTEMICA

Corso teorico-pratico di valutazione
della sicurezza dei cosmetico

Milano 15-19 aprile 2013



Articolo 3 - Sicurezza

I prodotti cosmetici messi a disposizione sul mercato devono essere **sicuri per la salute umana se utilizzati in condizioni d'uso normali o ragionevolmente prevedibili**, tenuto conto in particolare di quanto segue:

- a) presentazione, compresa la conformità alla direttiva 87/357/CEE ,
- b) etichettatura,
- c) istruzioni per l'uso e l'eliminazione,
- d) qualsiasi altra indicazione o informazione da parte della persona responsabile definita dall'articolo 4



IL NUOVO REGOLAMENTO

ALLEGATO I-PARTE A

- Informazioni sulla sicurezza dei prodotti cosmetici
- 5. Uso normale e ragionevolmente prevedibile
- 6. **Esposizione al prodotto cosmetico**
- 7. **Esposizione alle sostanze**
- 8. **Profilo tossicologico** delle sostanze



Profilo tossicologico delle sostanze

8.Va dedicata particolare attenzione alla valutazione della tossicità locale (irritazione cutanea ed oculare), alla sensitizzazione cutanea e, nel caso dell'assorbimento di radiazioni UV, va esaminata anche la tossicità fotoindotta.
- ..Tutte le vie di assorbimento tossicologiche significative vanno considerate, così come gli effetti **sistemici**, e va valutato il **margin**e di **sicurezza** in base al **NOAEL** (no-observed-adverse-effect level). L'assenza di tali informazioni va debitamente motivata.
 - ...eventuali effetti sul profilo tossicologico dovuti a granulometria, compresi i nanomateriali ; impurità delle sostanze e delle materie prime utilizzate; e interazione tra sostanze.
 - L'eventuale applicazione del metodo "read-across" va debitamente documentata e motivata.
 - Le fonti d'informazione vanno identificate chiaramente.
 - 9. Effetti indesiderabili ed effetti indesiderabili gravi



MARGINE DI SICUREZZA

..Tutte le vie di assorbimento tossicologiche significative vanno considerate, così come gli effetti *sistemici*, e va valutato il *margin*e di *sicurezza* in base al *NOAEL* (no-observed-adverse-effect level).

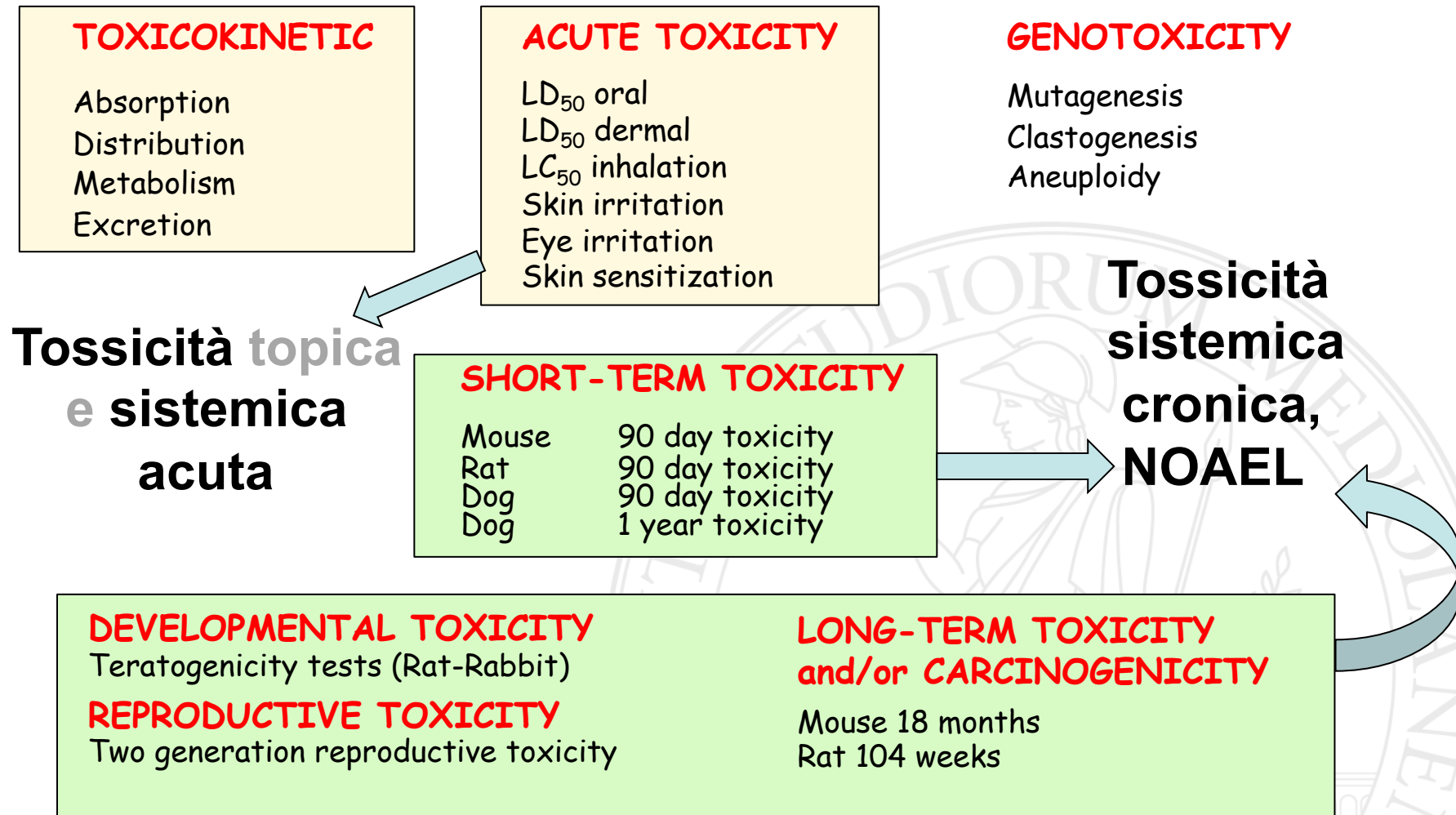
$$\text{MoS} = \frac{\text{NO(A)EL}}{\text{SED}}$$

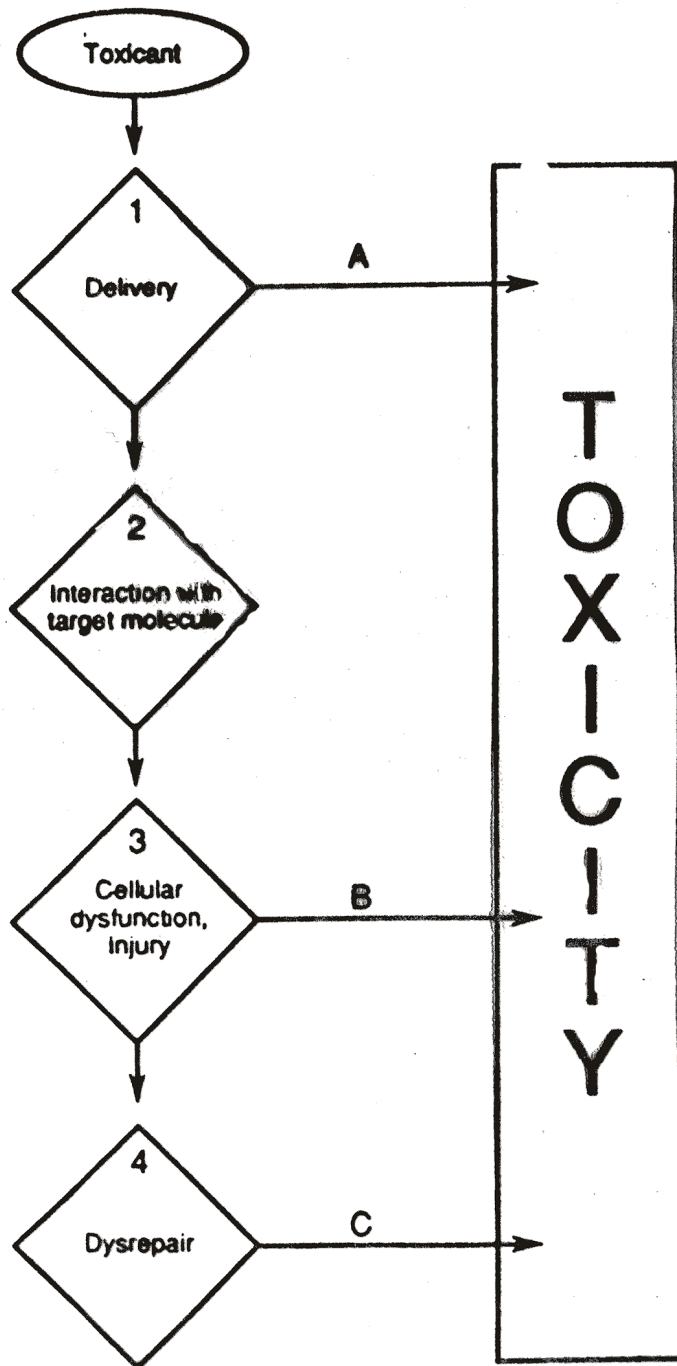
The Systemic Exposure Dosage of a cosmetic ingredient
The amount expected to enter the blood stream per kg b.w. per day.

MOS ≥ 100 is considered acceptable (WHO, 1987)



IDENTIFICAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DEL PERICOLO





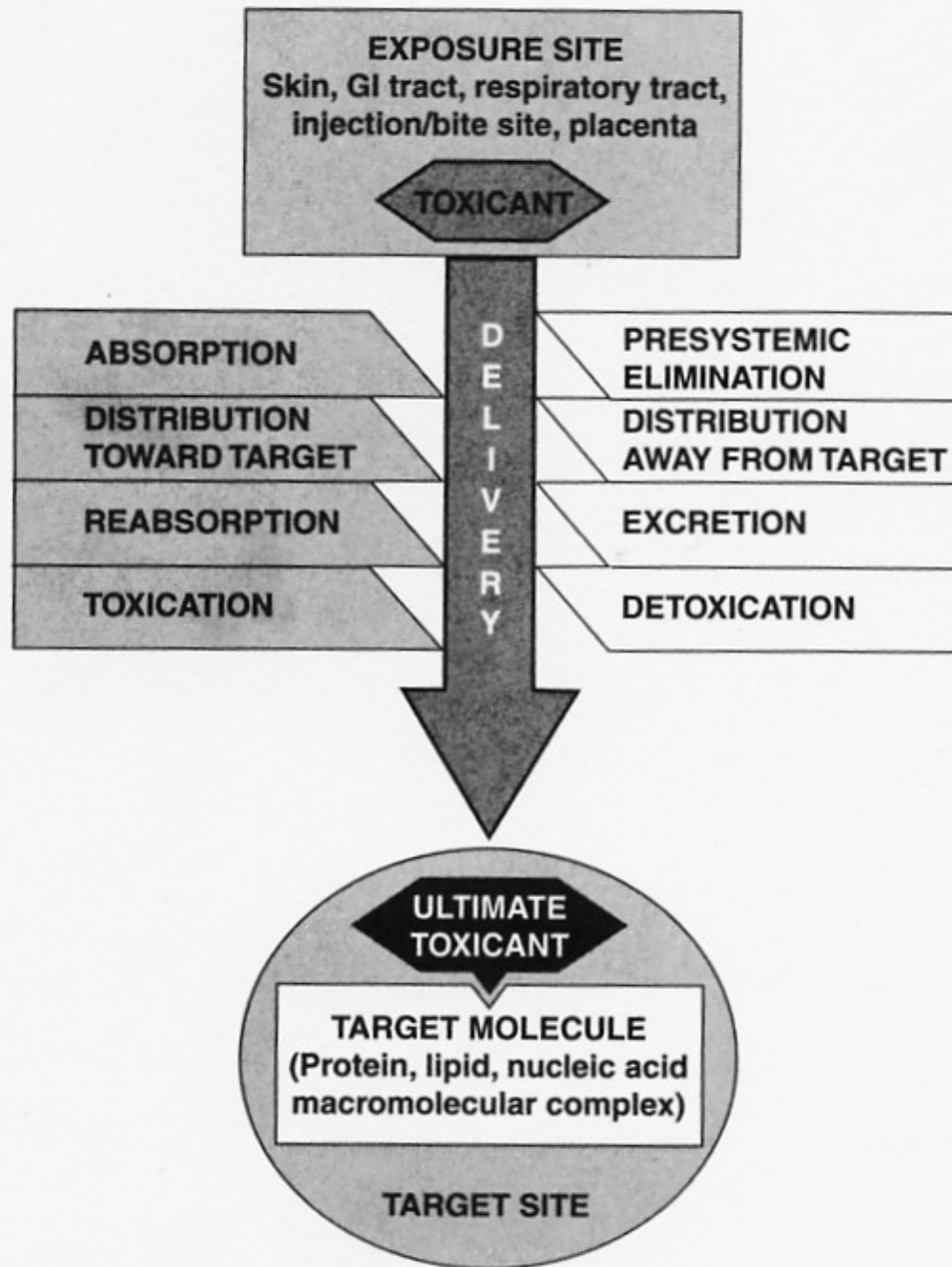
← agenti che precipitano
nei tubuli renali

← tetrodotossina
regisce con canali
 Na^{+} dei motoneuroni

← inibiz. dell'attività
dei motoneuroni

← coinvolge anche
mecc. di riparo
necrosi/tumore/fibrosi



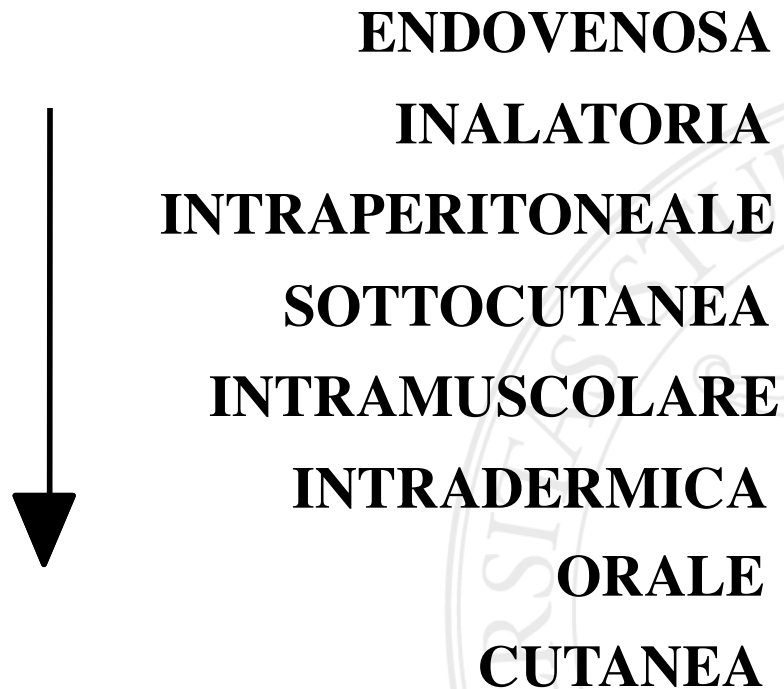


La **tossicità sistemica** richiede l'assorbimento e la distribuzione del tossico. La maggior parte degli agenti tossici sistemici provoca danni di grave entità a uno o a pochi organi soltanto.

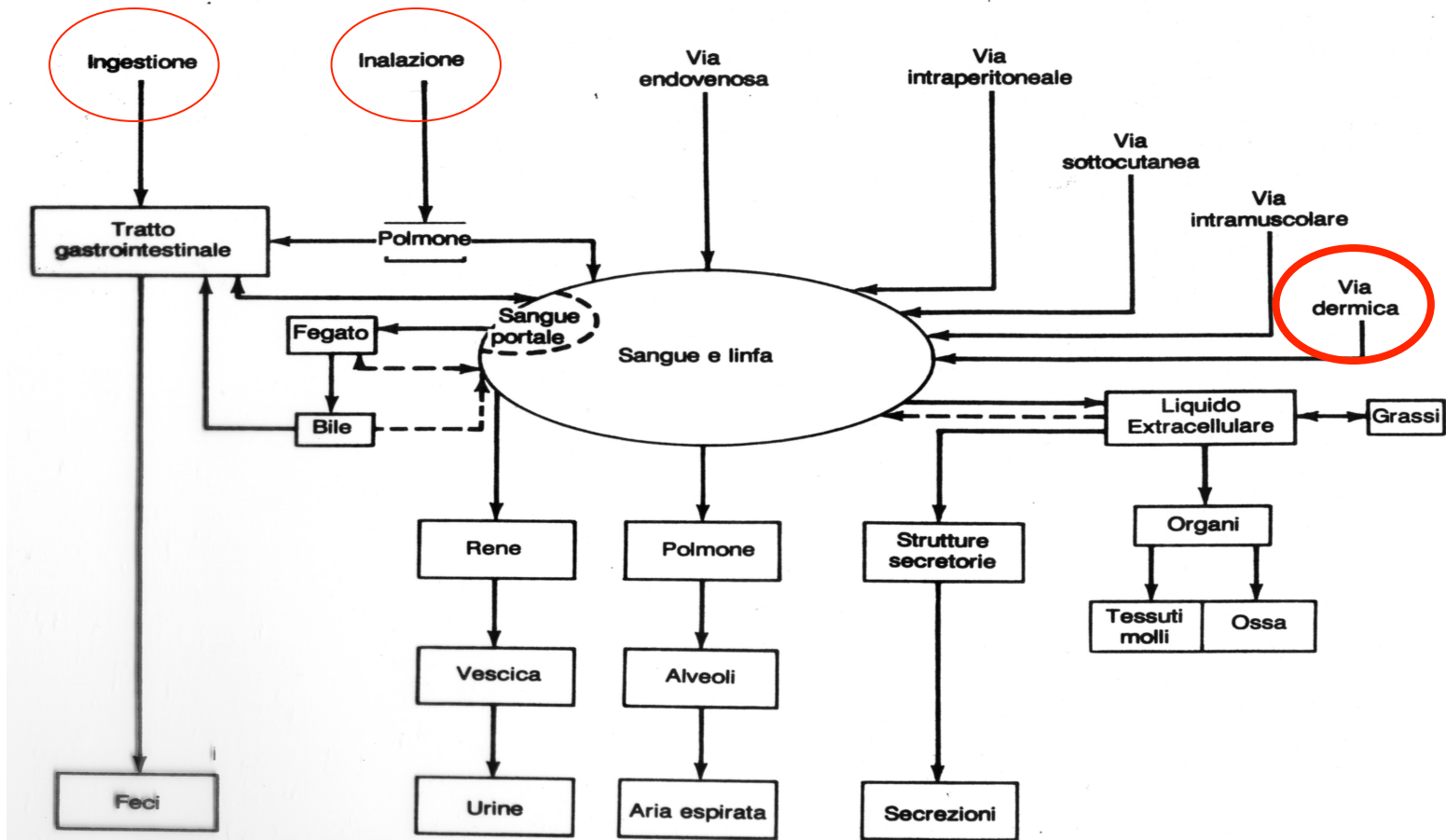


VIA DI ESPOSIZIONE

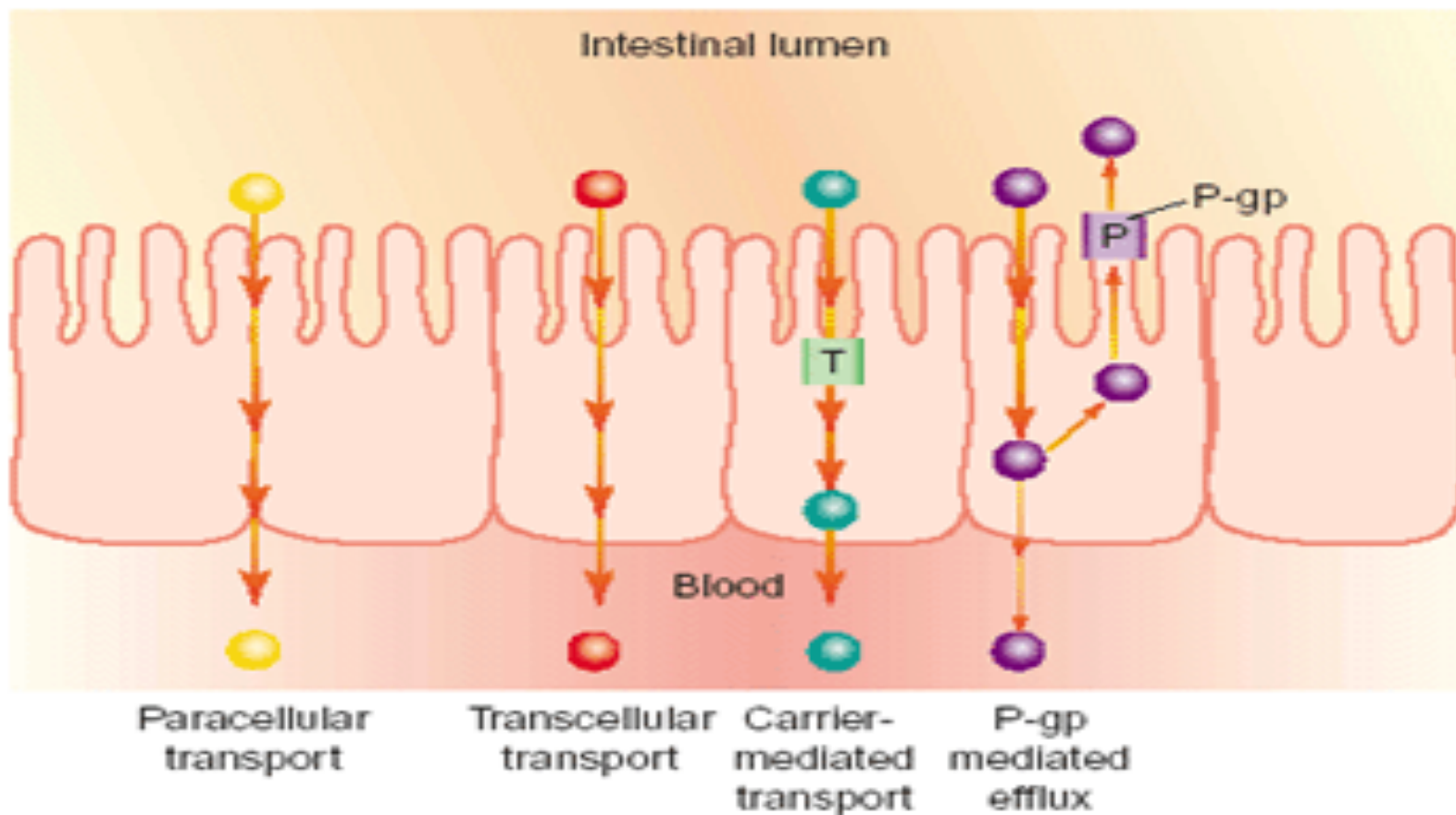
ENDOVENOSA
INALATORIA
INTRAPERITONEALE
SOTTOCUTANEA
INTRAMUSCOLARE
INTRADERMICA
ORALE
CUTANEA



ASSORBIMENTO



ASSORBIMENTO



Drug Discovery Today



TOSSICITA'

Xenobiotico

↓
**assorbimento
(bioattivazione)**

↙
CITOTOSSICITA'

↓
IMMUNOTOSSICITA'

↘
GENOTOSSICITA'



ORAL-TO-INHALATION ABSORPTION

In caso di estrapolazione **da orale a inalatoria** può essere appropriato, in mancanza di dati specifici utilizzare **un fattore di correzione 2**.

Questo significa, per esempio, che l'assorbimento orale sarà il 50% e quello inalatorio 100%.



Fattori di correzione

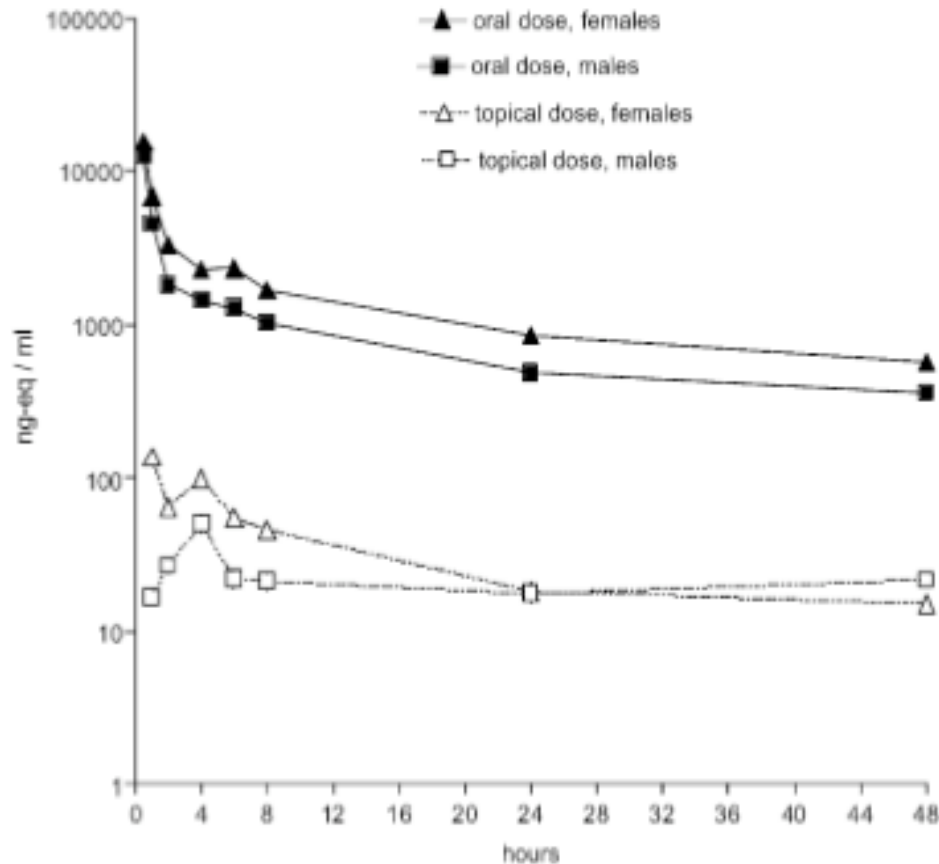
In the case of route-to-route extrapolation, the respective bioavailability via each route should ideally be taken into consideration.

The assumption of 100% oral bioavailability might overestimate the systemic exposure in a toxicity study via the oral route. Therefore, in the absence of data, it should be assumed that

- not more than **50% of an orally administered dose is systemically available.**
- If there is evidence to suggest poor oral bioavailability, for example if the substance is a **poorly soluble particulate**, it may be more appropriate to assume that only 10% of the administered dose is systemically available



Plasma concentrations in rats after single oral (gavage) or dermal (10% of body surface area; 24 hours exposure under occlusion) administrations of 4.9 mg/kg 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (Lawson)



Tipo e numero di effetti avversi causati da cosmetici

Type of adverse cosmetic event	No. of events	Percentage of total events	Percentage of group events
Cutaneous			
Burning	525	34.8	36.3
Itching	475	31.5	32.9
Eczema	344	22.8	23.8
Others	101	6.7	7.0
Total cutaneous	1445	95.9	100.0
Systemic			
Headache	25	1.7	40.3
Nausea	15	1.0	24.2
Dizziness	9	0.6	14.5
Dyspnea	5	0.3	8.1
Others	5	0.3	8.1
Vomiting	3	0.2	4.8
Total systemic	62	4.1	100.0
Total events	1507	100.0	100.0



Cosmetic adverse events stratified for cosmetic class

Class of cosmetic utilized	No. (%) of ACE episodes		Cosmetic total use	Percentage ACE on cosmetic class total use
Creams, emulsions and oils for the skin	245	(23.6)	2186	11.2
Toilet soaps and underarm cosmetics	230	(22.2)	2609	8.8
Make-up and make-up removal products	126	(12.1)	1547	8.1
Foundation creams	95	(9.2)	1187	8.0
Preparations for bath and shower	57	(5.5)	2755	2.1
Perfums and fragrances	42	(4.0)	2045	2.1
Shave products	35	(3.4)	719	4.9
Suntan lotions	33	(3.2)	2099	1.6
Depilation products	32	(3.1)	938	3.4
Intimate hygiene products	32	(3.1)	1995	1.6
Products for hair treatment	31	(3.0)	2293	1.4
Powders	19	(1.8)	661	2.9
Wrinkle-preventing products	16	(1.5)	725	2.2
Lipsticks	11	(1.1)	1859	0.6
Face masks	6	(0.6)	602	1.0
Self-tanning creams	6	(0.6)	192	3.1
Clearing-up skin products	2	(0.2)	90	2.2
Nail-enamels	1	(0.1)	1235	0.1
Total episodes	1037	(100)		

The percentage was calculated on the total number of episodes and on ACE related to cosmetic use.



EFFETTI TOSSICI SISTEMICI

Gli effetti tossici sono generalmente classificati secondo il sito dell'effetto tossico. In alcuni casi, l'effetto può verificarsi in un solo sito, indicato come **organo bersaglio specifico**. In altri casi, gli effetti tossici possono verificarsi in **siti multipli**.

All'interno della tossicità sistemica ricadono:

- Tossicità acuta
- Tossicità subcronica
- Tossicità cronica
- Carcinogenicità
- Tossicità riproduttiva e dello sviluppo
- Genotossicità (*cellule somatiche*)



Hepatotoxicity

- **Hepatotoxicity** is toxicity to the liver, bile duct, and gall bladder. The liver is particularly susceptible to xenobiotics due to a large blood supply and its role in metabolism. Thus it is exposed to high doses of the toxicant or its toxic metabolites. The primary forms of hepatotoxicity are:

Steatosis	lipid accumulation in hepatocytes
Chemical hepatitis	inflammation of the liver
Hepatic necrosis	death of the hepatocytes
Intrahepatic cholestasis	backup of bile salts into the liver cells
Hepatic cancer	cancer of the liver
Cirrhosis	chronic fibrosis, often due to alcohol
Hypersensitivity	immune reaction resulting in hepatic necrosis



Immunotoxicity

It can take several forms: **hypersensitivity** (*allergy and autoimmunity*), **immunodeficiency**, and **uncontrolled proliferation** (*leukemia and lymphoma*). The normal function of the immune system is to recognize and defend against foreign invaders. This is accomplished by production of cells that engulf and destroy the invaders or by antibodies that inactivate foreign material.

Examples are:

- contact dermatitis due to exposure to poison ivy systemic
- lupus erythematosus in workers exposed to hydrazine
- immunosuppression by cocaine
- leukemia induced by benzene



Nephrotoxicity

- **Nephrotoxicity** is toxicity to the kidneys.
- The kidney is highly susceptible to toxicants for two reasons. A high volume of blood flows through it and it filtrates large amounts of toxins which can concentrate in the kidney tubules.
- It can result in systemic toxicity causing:
 - decreased ability to excrete body wastes inability to maintain body fluid and electrolyte balance decreased synthesis of essential hormones (e.g., *erythropoietin*)



Neurotoxicity

Neurotoxicity represents toxicant damage to cells of the central nervous system (brain and spinal cord) and the peripheral nervous system (nerves outside the CNS). The primary types of neurotoxicity are:

- neuronopathies (neuron injury)
- axonopathies (axon injury)
- demyelination (loss of axon insulation)
- interference with neurotransmission



Respiratory Toxicity

It relates to effects on the upper respiratory system (*nose, pharynx, larynx, and trachea*) and the lower respiratory system (*bronchi, bronchioles, and lung alveoli*). The primary types of respiratory toxicity are:

- pulmonary irritation
- asthma/bronchitis
- reactive airway disease
- emphysema
- allergic alveolitis
- fibrotic lung disease
- pneumoconiosis
- lung cancer



EFFETTI SISTEMICI ACUTI

valutazione

- Il **test di tossicità sistemica acuta** è la stima del pericolo potenziale di una sostanza determinandone la tossicità sistemica in un sistema (attualmente animale) a seguito di esposizione acuta.
- Perchè una sostanza abbia effetti tossici sistemici deve essere assorbita dall'organismo e distribuita dalla circolazione in sedi del corpo dove esercita effetti tossici.
- Il fegato può trasformare una sostanza circolante in un'altra forma (biotrasformazione), e questo nuovo metabolita può essere quella che causa la tossicità osservata.
- Acute systemic toxicity data for chemical substances administered to rats by the oral and dermal routes were acquired from the European Chemicals Agency's database (ECHA CHEM; accessed online at <http://www.echemportal.org>,



EFFETTI SISTEMICI ACUTI

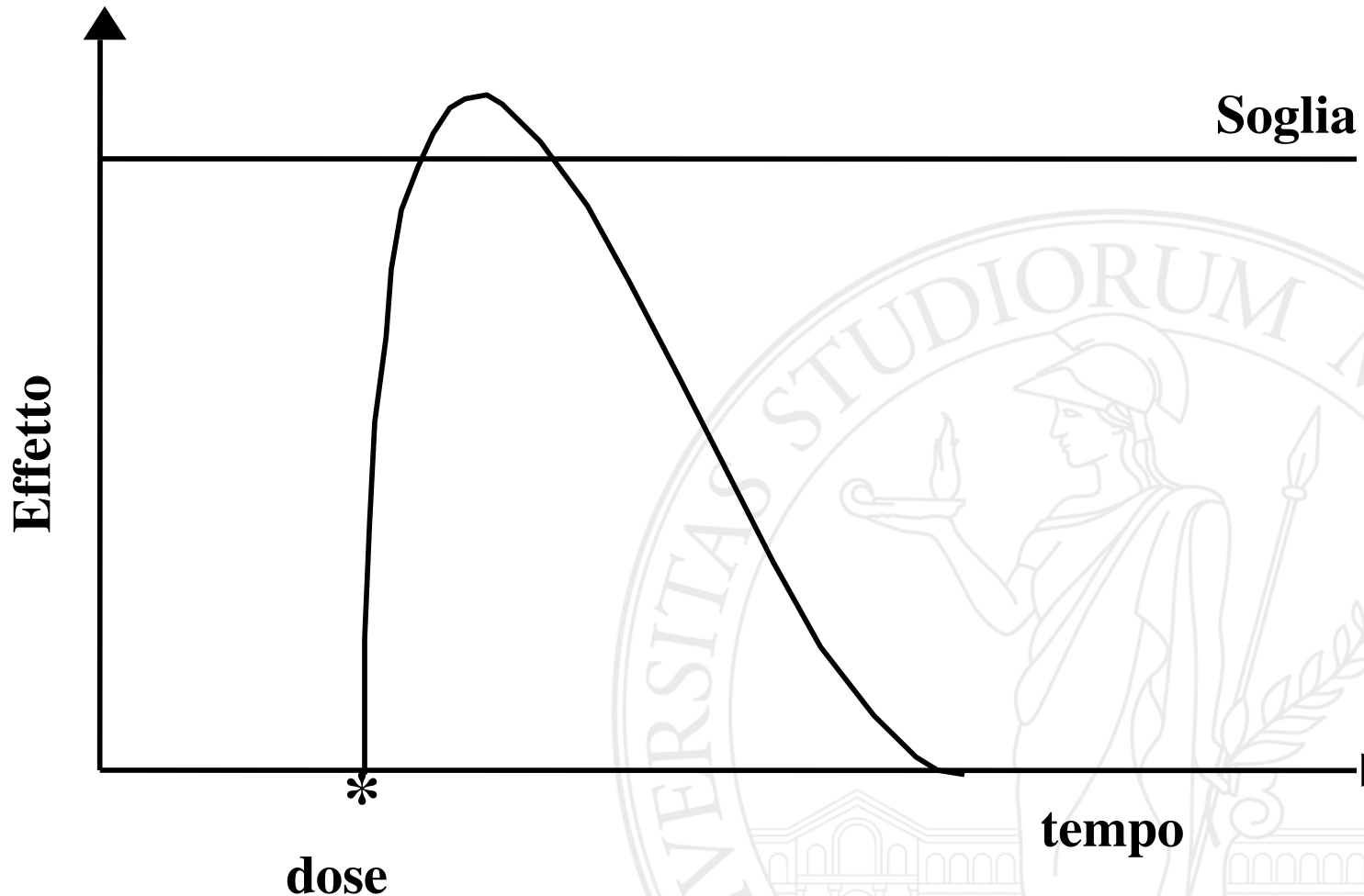
La differenza principale tra la tossicità acuta e cronica è:

- Tossicità acuta compare **subito** dopo l'esposizione, mentre la tossicità cronica si verifica mesi o anni dopo.
- Diversi organi sono coinvolti
- Tossicità acuta si verifica solo dopo una **singola dose**, mentre la tossicità cronica si verifica con dosi multiple.



CURVA DOSE - RISPOSTA

tossicità acuta



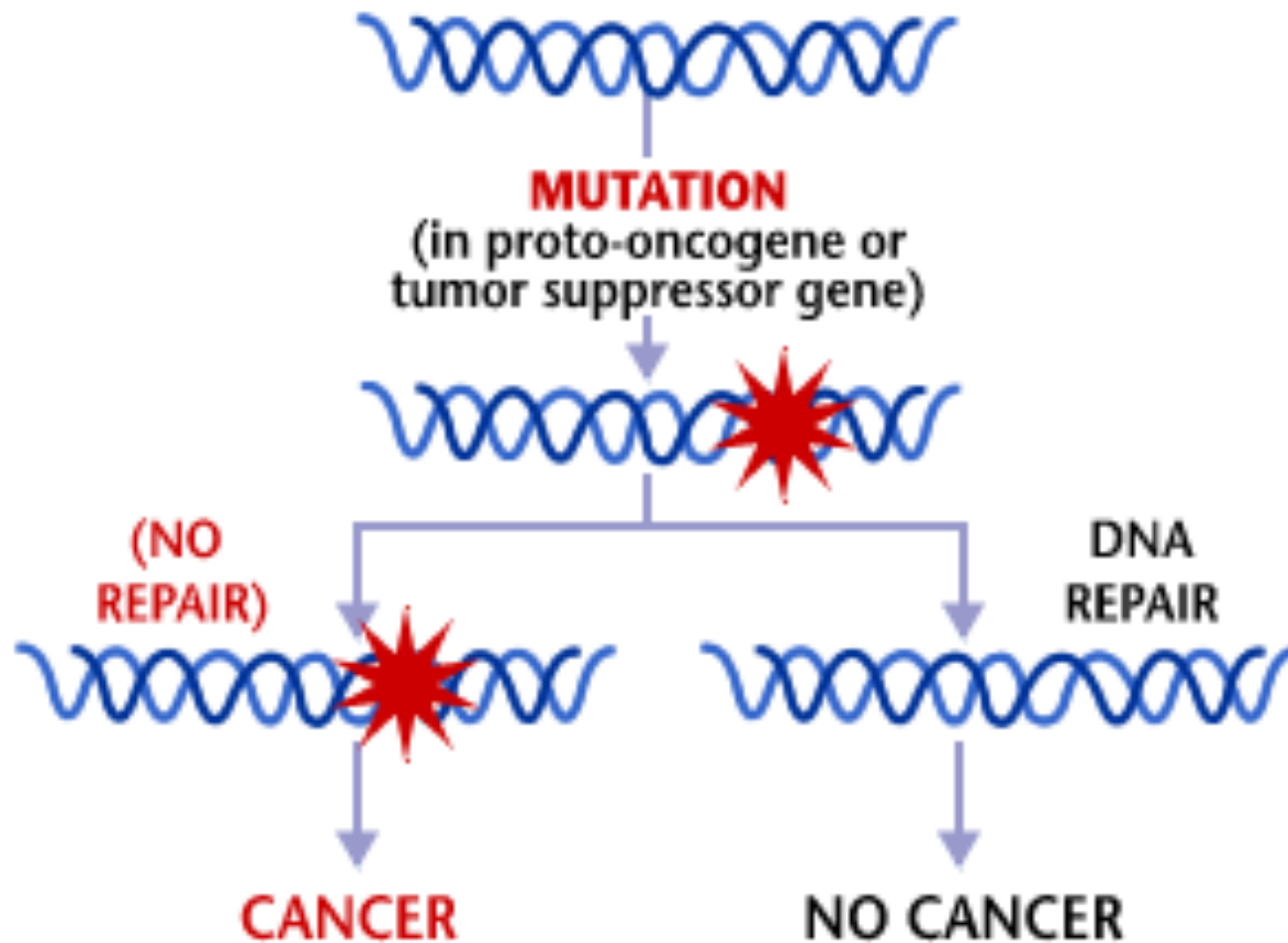
TOSSICITA' SISTEMICA

La *tossicità sistemica* richiede l'assorbimento e la distribuzione del tossico. La maggior parte degli agenti tossici sistemici provoca danni di grave entità a uno o a pochi organi soltanto.

- ✓ LOCALI o SISTEMICI
- ✓ IMMEDIATI o RITARDATI
- ✓ REVERSIBILI o IRREVERSIBILI



TOXIC EFFECT REVERSIBLE / IRREVERSIBLE



TEMPORALITY of the TERATOGENIC EFFECT

Talidomide in 3 weeks: it causes defects in the SNC

Talidomide in 4 weeks: it causes cardiac defects

Talidomide in 3-8 weeks: it causes phocomelia (defects in limbs development)

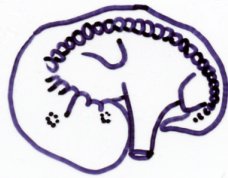
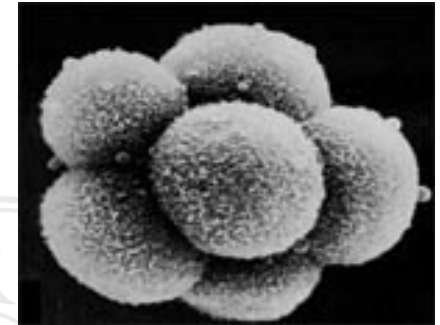


TIME OF EXPOSURE



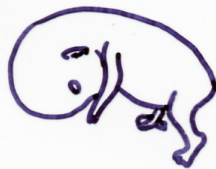
PERIODO PREIMPIANTO

solitamente
non suscettibile
alla teratogenesi



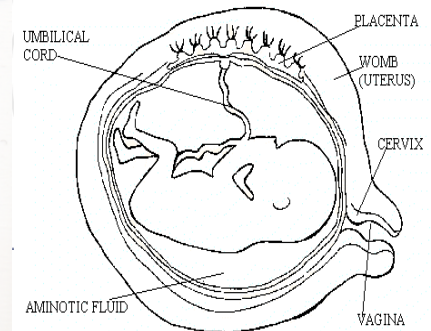
PERIODO ORGANOGENETICO

altamente
suscettibile
alla teratogenesi



PERIODO FETALE

progressivamente
meno sensibile
alla teratogenesi



TOSSICITA' ACUTA

- La tossicità acuta per via sistemica viene valutata dopo l'esposizione orale, cutanea e/o inalazione - a seconda delle vie previste di esposizione umana alla sostanza.
- Il Globally Harmonized System (GHS), definisce la tossicità acuta come **"effetti avversi che si verificano in seguito alla somministrazione per via orale o cutanea di una dose singola di una sostanza, o di più dosi entro 24 ore, o una esposizione per inalazione di 4 ore"** (UNECE, 2004, p. 109).



EFFETTI SISTEMICI ACUTI

valutazione

- La valutazione della tossicità acuta è tradizionalmente basata sulla dose **letale** mediana (LD₅₀) - una stima della dose di una sostanza, somministrata per via orale, cutanea o inalazione, che uccide il 50% degli animali testati.
- LD₅₀ è l'end-point ottenuto dopo somministrazione **orale o cutanea**, mentre LC₅₀ (concentrazione letale) è l'endpoint per il dosaggio per via inalatoria.
- Le specie animali raccomandate per il test orale o per inalazione è il ratto, per via cutanea, **ratto** o coniglio (UNECE, 2004).
- La somministrazione orale è la forma più comune di test di tossicità acuta sistemica.



LD50: alternative

In 2007, ICCVAM endorsed two in vitro basal cytotoxicity assays,

- the Neutral Red Uptake (NRU) test with rodent cells (3T3 NRU assay) and
- the NRU test with normal human keratinocyte (NHK) cells (NHK NRU assay),

as "reduction alternatives to estimate the starting dose in the UDP and Fixed Dose Procedure (FDP) for assessing acute oral toxicity."

The European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) partnered with ICCVAM in the international cytotoxicity assay validation study.



LD₅₀ DERMICA

- OECD 402, Tossicità dermica acuta, la sostanza da esaminare deve essere applicata in concentrazione non inferiore al 10% sulla superficie cutanea di ratti, conigli, porcellino d'India, seguita da 14 giorni di osservazione.
- La morte degli animali è utilizzata per determinare un valore di LD₅₀. Inoltre, cambiamenti patologici sono utilizzati per stimare la tossicità relativa di una sostanza.
- Il test può essere utile per valutare l'assorbimento cutaneo e viene utilizzato anche per determinare le dosi da utilizzare in altri studi come test cutaneo subcronico.
- Nel 2004 è stato introdotto un metodo alternativo di raffinamento e riduzione nell'uso di animale con dose cutanea fissa, che si basa sull'utilizzo di dosi moderatamente tossiche e un endpoint non letale. OECD Draft Guideline 434 Fixed Dose Procedure



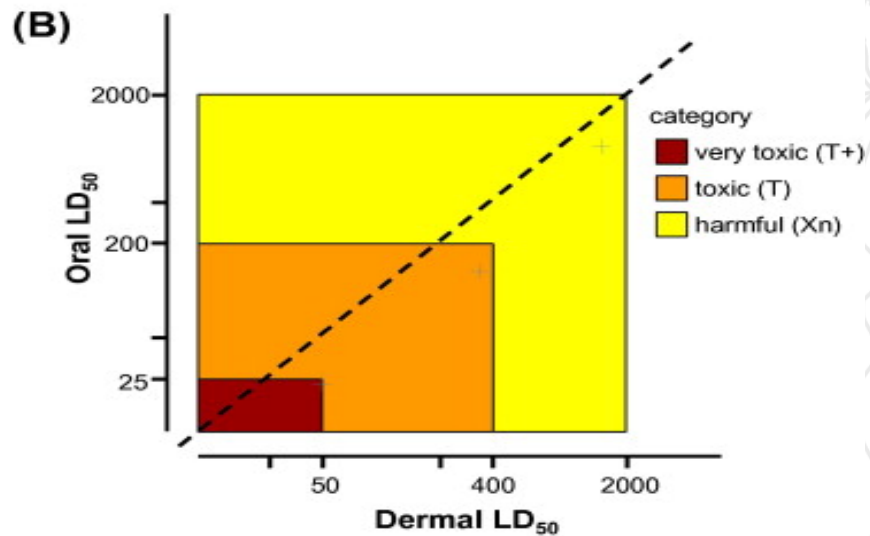
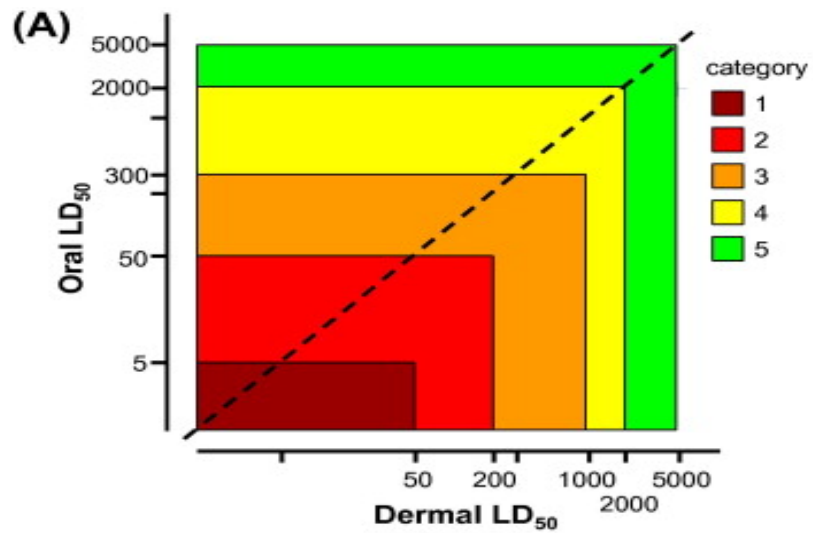
PROTOCOLLI

- <http://www.oecd.org/env/ehs/testing/>
- Click test guidelines
 - Section 1: Physical Chemical Properties
English; French
 - Section 2: Effects on Biotic Systems
English; French (SOFTWARE FOR TG 223)
 - Section 3: Degradation and Accumulation
English; French
 - **Section 4: Health Effects**
English; French (SOFTWARE FOR TG 405, TG 432 AND TG 425)
 - Section 5: Other Test Guidelines
English; French



Date	Title
02 Oct 2012	PDF READ Test No. 405: Acute Eye Irritation/Corrosion
02 Oct 2012	PDF READ Test No. 443: Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study





Tossicità subcronica

È il risultato di **un'esposizione ripetuta** per diverse settimane o mesi. Si tratta di un modello comune di esposizione umana per alcuni farmaci e agenti ambientali.

Esempi sono:

- L'ingestione di compresse coumadin (fluidificanti del sangue) per diverse settimane come trattamento per la trombosi venosa può causare emorragie interne.
- Esposizione a piombo sul posto di lavoro per un periodo di diverse settimane può causare anemia.



TOSSICITA' CRONICA

La tossicità cronica rappresenta il danno cumulativo a organi specifici e richiede molti **mesi o anni** per diventare una malattia clinica riconoscibile.

Il danno dovuto a singole esposizioni subcliniche può passare inosservato.

Con esposizioni ripetute o esposizione continua a lungo termine, il danno lentamente si accumula (**danno cumulativo**) fino a quando il danno supera la soglia della tossicità cronica. Il danno diventa così grave che l'organo non può più funzionare normalmente dando vita a una varietà di effetti tossici.

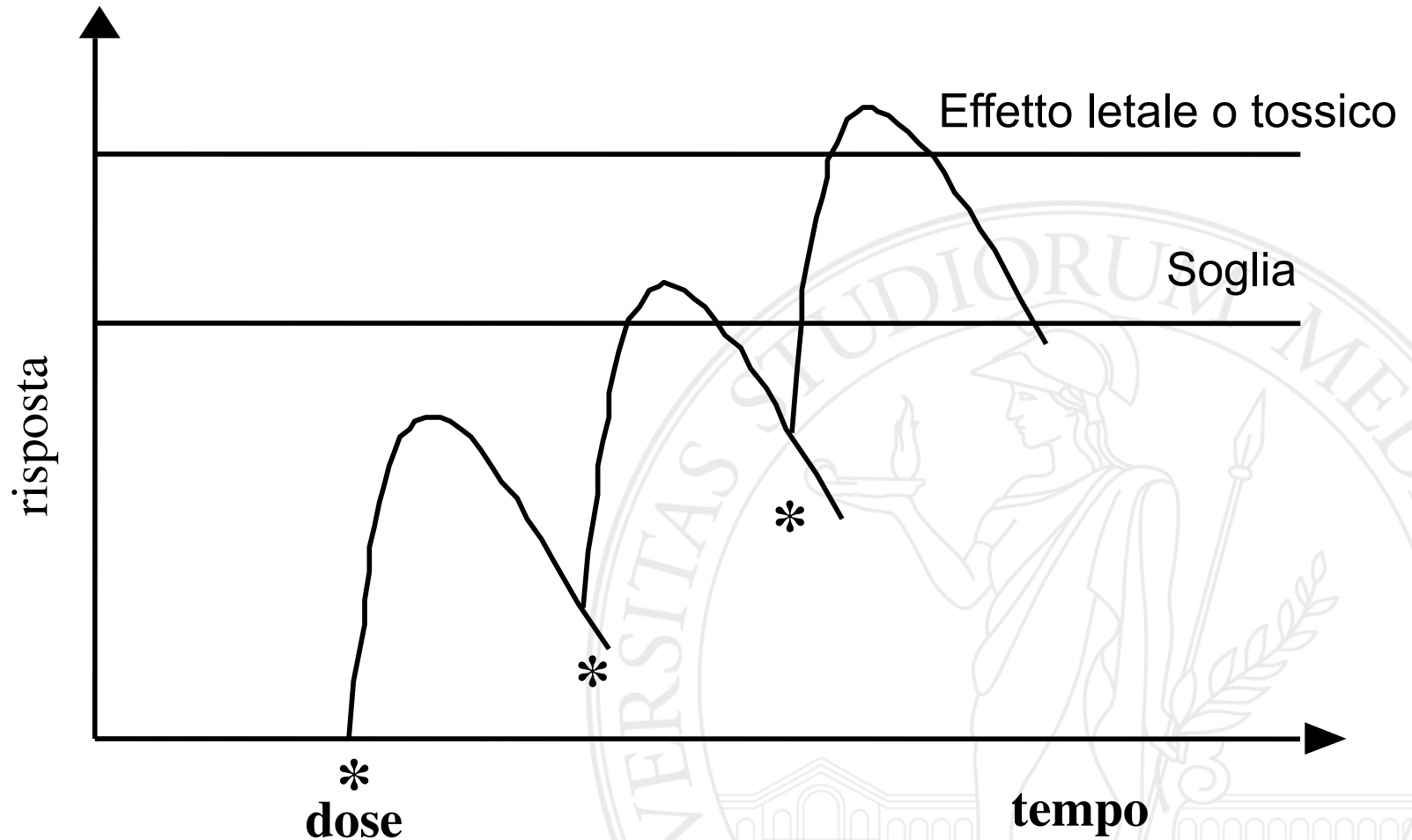
Esempi di effetti tossici cronici sono:

- cirrosi (negli alcolisti che hanno ingerito etanolo da diversi anni)
- malattia renale cronica (in operai con diversi anni di esposizione al piombo)
- bronchite cronica (nei fumatori abituali)
- fibrosi polmonare (in operatori di miniere di carbone)



CURVA DOSE - RISPOSTA

tossicità cumulativa



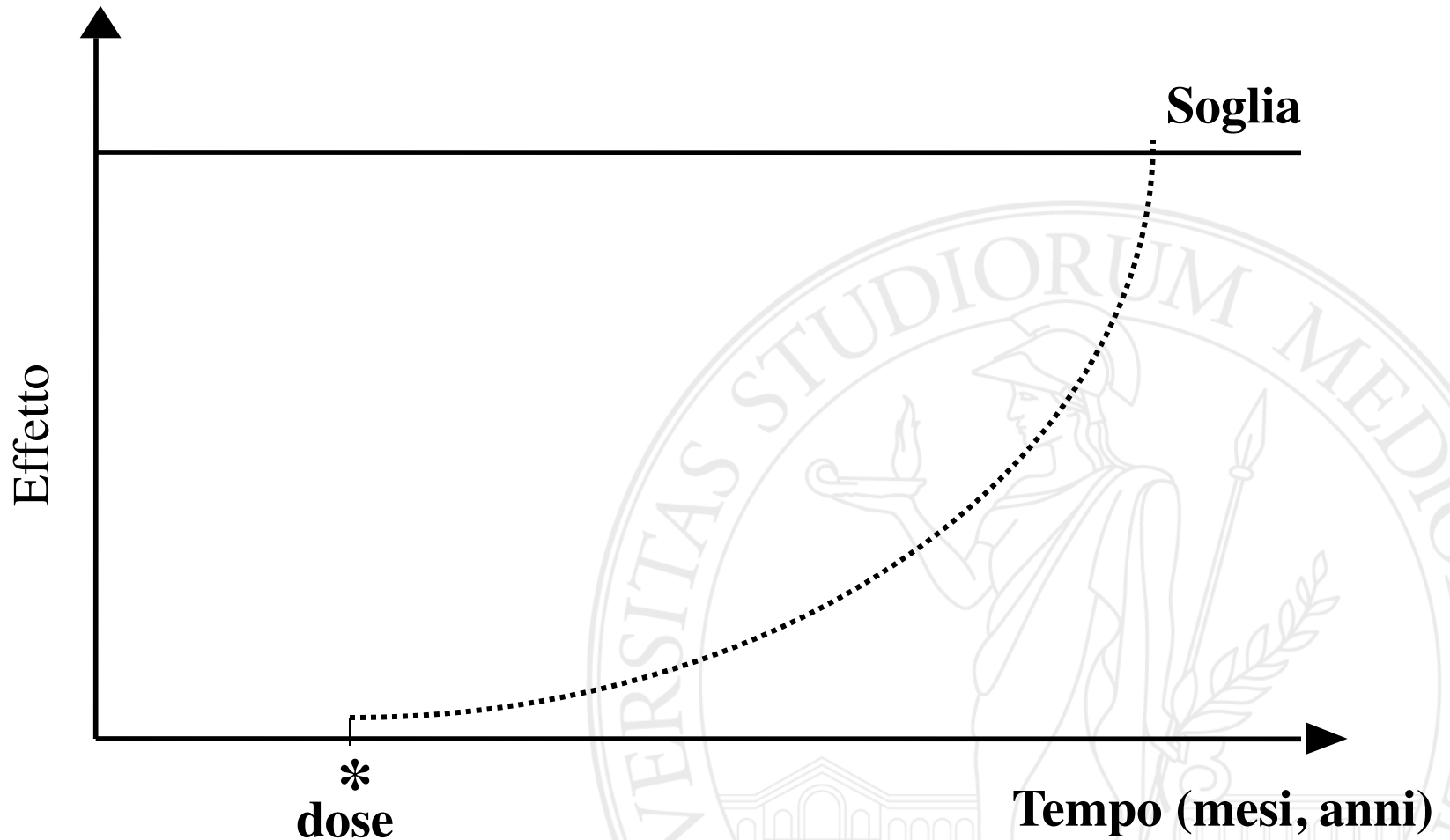
EFFETTI A LUNGO TERMINE

- La maggior parte degli effetti tossici si verifica entro tempi prevedibili generalmente brevi dopo l'esposizione.
- Tuttavia, in alcuni casi i sintomi della tossicità compaiono dopo tempi prolungati.
Per esempio, l'anemia aplastica causata dal cloramfenicolo può manifestarsi dopo settimane dalla sospensione del trattamento.
- Gli effetti cancerogeni hanno di solito un lungo periodo di latenza e possono trascorrere anche 20 o 30 anni prima che si osservi l'insorgenza di tumore.



CURVA DOSE - RISPOSTA

effetti irreversibili con manifestazione ritardata



Tossicità cronica

- L'obiettivo di studi di tossicità cronica è determinare gli effetti di una sostanza in un mammifero dopo **esposizione ripetuta** durante un periodo che copre **l'intera vita** degli animali. In questi test, si manifestano effetti che richiedono un lungo periodo di latenza, o che sono cumulativi.
- **non sono disponibili metodi alternativi** convalidati o anche solo generalmente accettati per sostituire la sperimentazione animale.
- Tentativi nel campo della neurotossicità e nefrotossicità, ma fino ad oggi, nessun metodo o di batteria di screening è stato formalmente (pre)convalidato [SCCS/1294/10].



SUB-CHRONIC AND CHRONIC TOXICITY

Characterization

- The standard animal studies in rats or mice that provide this information are 28 day, 90 day or lifetime studies (up to 2 years) that include haematological, clinico-chemical and detailed macroscopic and microscopic examination to enable the toxic effects on target tissues/organs to be identified.
- Other long-term exposure studies, eg. for carcinogenicity (2 y), neurotoxicity or reproductive toxicity (72 generations), may also provide evidence of specific target organ/systemic toxicity that could be used in the assessment of classification.

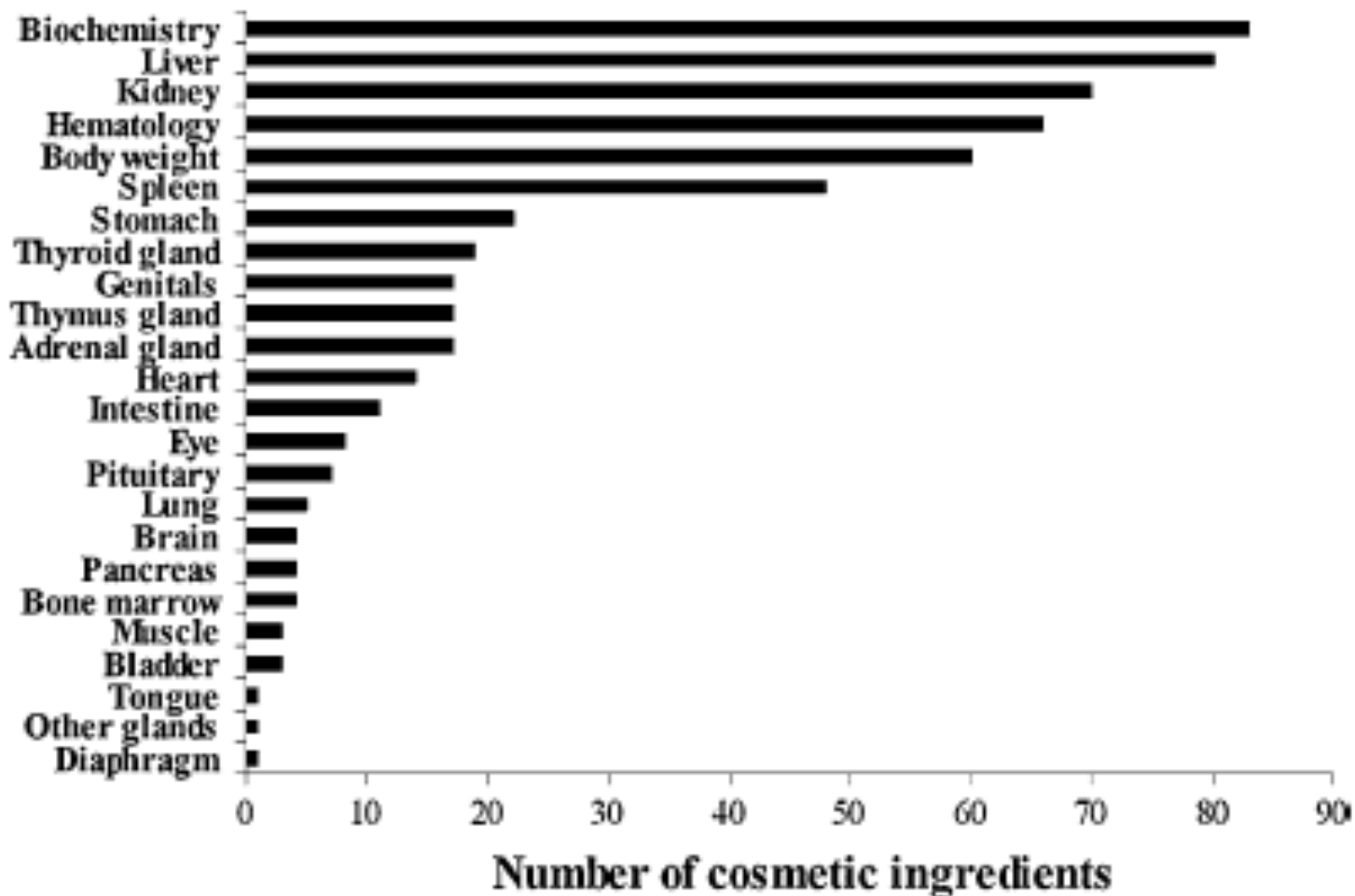


Identification of repeated dose toxicity studies the SCC(NF)P opinions issued between 2000 and 2009

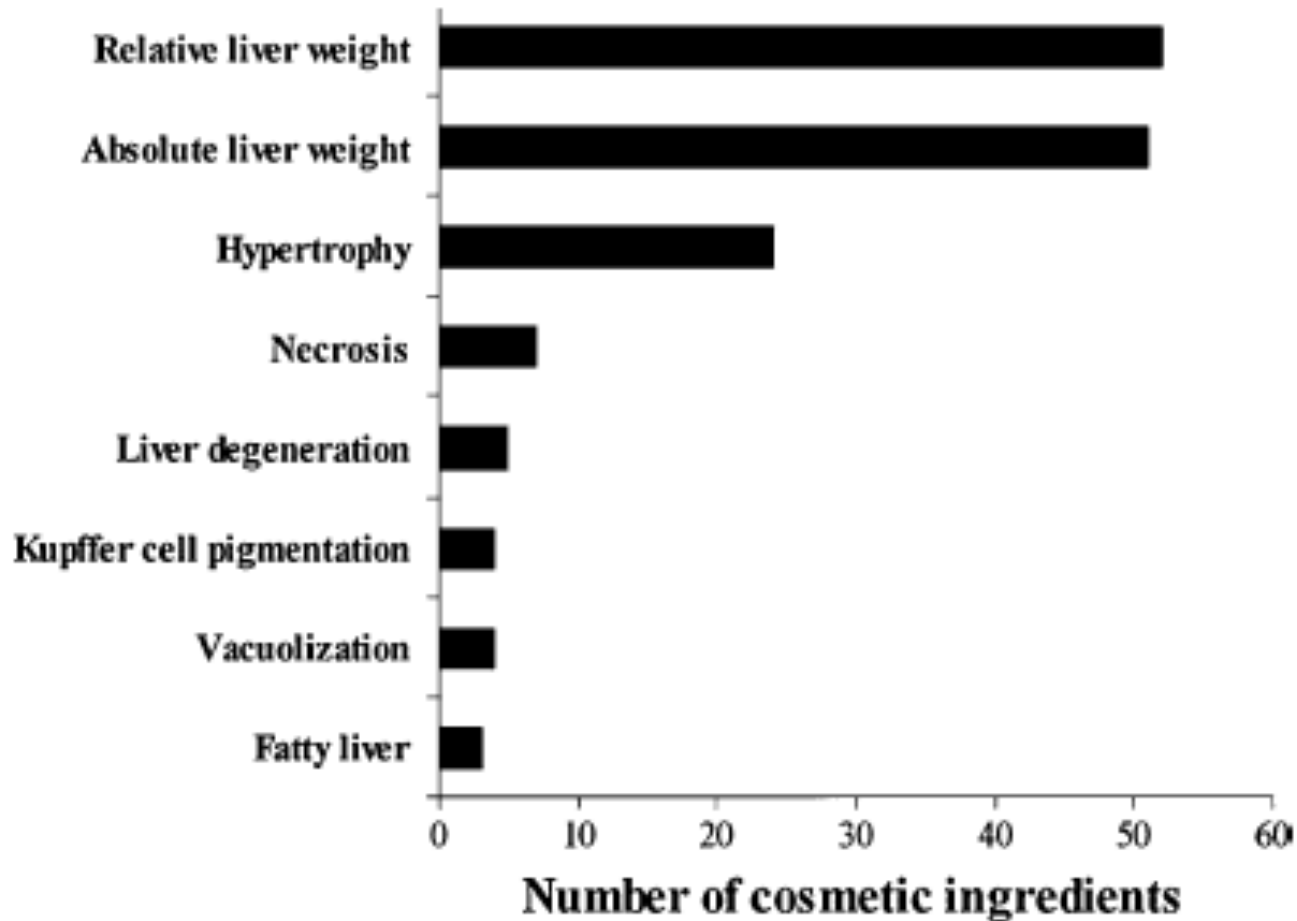
Repeated dose toxicity study	Number of studies	Number of cosmetic ingredients
28 Days toxicity study (oral)	68	54
90 Days toxicity study (oral)	156	118
Teratogenicity study (oral)	170	124
2-generation reproductive toxicity study (oral)	11	10
Chronic toxicity study (oral)	23	17
Carcinogenicity study (oral)	23	15



Identification of target organs and changes in general clinical parameters in repeated dose toxicity studies - SCC(NF)P opinions issued between 2000 and 2009



Identification of morphological and histopathological changes plausibly related to hepatotoxicity in repeated dose toxicity studies in the SCC(NF)P opinions issued between 2000 and 2009



Identification of cosmetic ingredients that potentially induce steatosis based upon alterations of clinical parameters as observed in repeated dose toxicity studies SCC(NF)P opinions 2000 -2009

Cosmetic ingredient*	Function	↑AST**	↑Triglycerides	↑Cholesterol	Fatty liver
1,3-bis-(2,4-diaminophenoxy)-propane	Oxidative and semi-permanent hair dye			×	
1,5-Naphtalenediol/CI 76625	Oxidative hair dye	×			
2,2'-Methylenebis-4-aminophenol HCl	Oxidative and semi-permanent hair dye	×			
2-Amino-3-hydroxypyridine	Oxidative and semi-permanent hair dye	×		×	
2-Amino-4-hydroxyethylaminoanisol	Oxidative hair dye		×		
2-Methylresorcinol	Oxidative and semi-permanent hair dye	×			
3-Amino-2,4-dichlorophenol HCl	Oxidative and semi-permanent hair dye			×	
3-Methylamino-4-nitrophenoxyethanol	Semi-permanent hair dye	×	×	×	
4-Hydroxypropylamino-3-nitrophenol	Oxidative and semi-permanent hair dye	×			
4-Methylbenzylidene camphor	UV filter		×	×	
6-Hydroxyindole	Oxidative hair dye	×		×	
6-Nitro-o-toluidine	Semi-permanent hair dye			×	
Acid blue 62/CI 62045	Semi-permanent hair dye			×	
Acid red 92/CI 45410	Oxidative and semi-permanent hair dye		×		
Basic brown 17/CI 12251	Semi-permanent hair dye	×	×	×	×
Basic orange 31	Oxidative and semi-permanent hair dye		×	×	



Cosmetic ingredient*	Function	↑AST**	↑Triglycerides	↑Cholesterol	Fatty liver
1,3-bis-(2,4-diaminophenoxy)-propane	Oxidative and semi-permanent hair dye			×	
1,5-Naphtalenediol/CI 76625	Oxidative hair dye	×			
2,2'-Methylenebis-4-aminophenol HCl	Oxidative and semi-permanent hair dye	×			
2-Amino-3-hydroxypyridine	Oxidative and semi-permanent hair dye	×		×	
2-Amino-4-hydroxyethylaminoanisole	Oxidative hair dye		×		
2-Methylresorcinol	Oxidative and semi-permanent hair dye	×			
3-Amino-2,4-dichlorophenol HCl	Oxidative and semi-permanent hair dye			×	
3-Methylamino-4-nitrophenoxyethanol	Semi-permanent hair dye	×	×	×	
4-Hydroxypropylamino-3-nitrophenol	Oxidative and semi-permanent hair dye	×			
4-Methylbenzylidene camphor	UV filter		×	×	
6-Hydroxyindole	Oxidative hair dye	×		×	
6-Nitro-o-toluidine	Semi-permanent hair dye			×	
Acid blue 62/CI 62045	Semi-permanent hair dye			×	
Acid red 92/CI 45410	Oxidative and semi-permanent hair dye		×		
Basic brown 17/CI 12251	Semi-permanent hair dye	×	×	×	×
Basic orange 31	Oxidative and semi-permanent hair dye		×	×	
Basic red 51	Oxidative and semi-permanent hair dye		×	×	
Basic violet 2/CI 42520	Semi-permanent hair dye	×		×	
Bis-hydroxyethyl biscetyl malonamide	Skin conditioning agent, hair conditioning agent	×			
Butoxydiglycol	Solvent			×	
Butoxyethanol	Solvent			×	
Climbazole	Preservative		×		×
Dichlorobenzyl alcohol	Preservative			×	
Dihydroxyindole	Semi-permanent hair dye		×		
Disperse red 17/CI 11210	Semi-permanent hair dye	×		×	
Ethyl lauroyl arginate HCl	Preservative	×		×	
Glyoxal	Cross-linking agent	×			
HC blue number 14	Semi-permanent hair dye		×		
HC blue number 15	Oxidative hair dye		×	×	
HC blue number 11	Semi-permanent hair dye		×	×	
HC blue number 7	Oxidative hair dye	×	×	×	
HC orange number 1	Semi-permanent hair dye			×	
HC red number 13	Oxidative and semi-permanent hair dye	×			
HC red number 7	Semi-permanent hair dye			×	
HC yellow number 13	Oxidative hair dye			×	



SHORT vs. LONG-TERM STUDIES

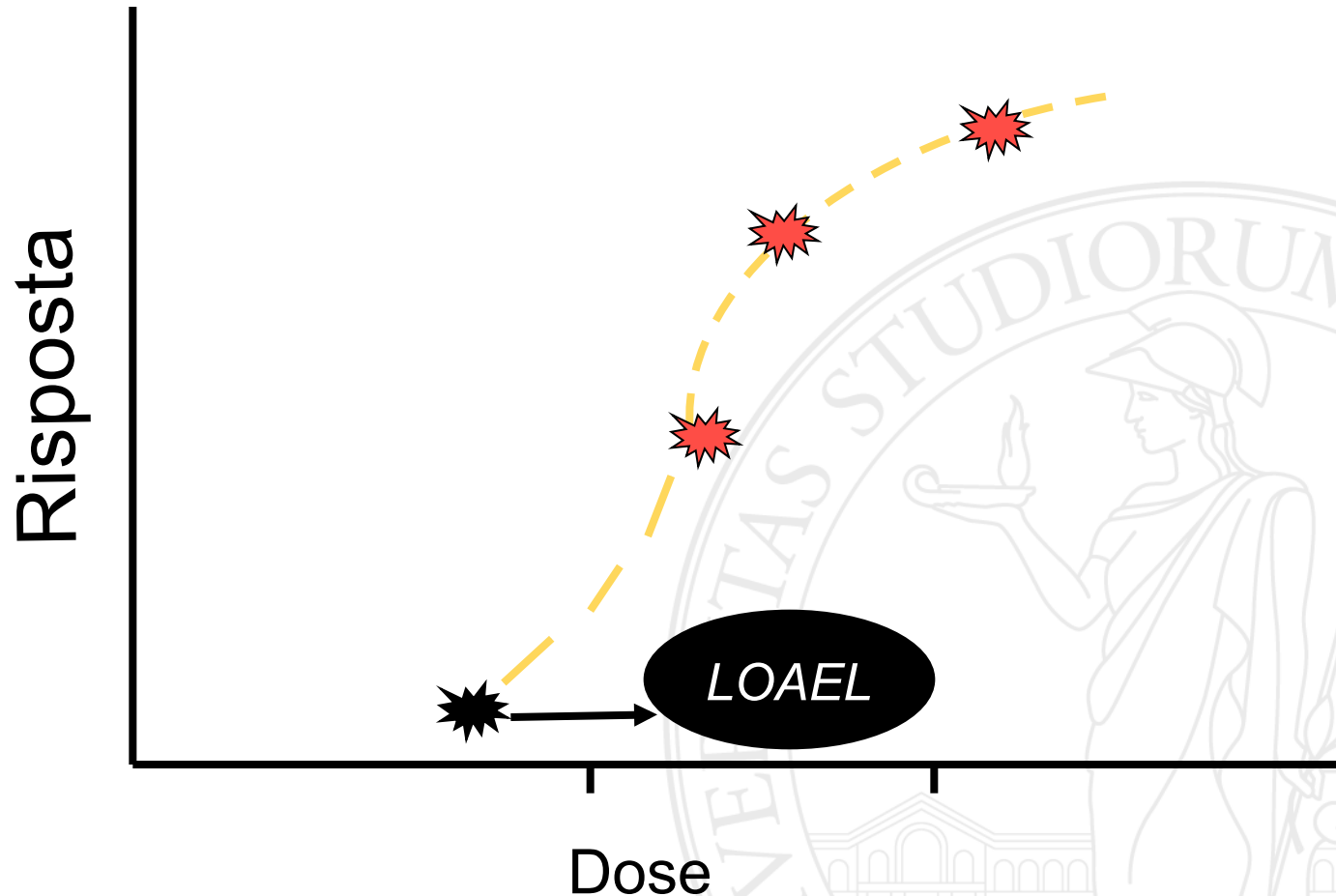
Nella valutazione della tossicità da dose ripetuta i più utilizzati sono gli studi a 28 e 90 giorni nel roditore che spesso forniscono una chiara indicazione degli organi bersaglio e del tipo di tossicità sistemica

Lo studio a 90 giorni è il più affidabile per la determinazione del NOAEL: quando non disponibile si può usare lo studio subacuto (28 giorni) con un fattore **3**.



DOSE - RISPOSTA PER EFFETTI TOSSICI

Lowest Observed (Adverse) Effect Level



NOAEL vs. LOAEL

Nel caso si utilizzi il **Lowest Observed (Adverse) Effect Level (LO(A)EL)** invece del NO(A)EL, SCCS suggerisce di utilizzare un fattore addizionale di **3** nel calcolo del MoS.



L'effetto critico

- È presente alle dosi più basse.
- È il più rilevante dal punto di vista tossicologico
- È dose-dipendente

Presenza di effetti correlati alle dosi più alte indicatori di effetto precoce (i.e. aumento delle transaminasi epatiche vs ipertrofia epatocellulare o necrosi)

Coerenza del quadro generale;

Presenza degli effetti in un numero elevato di animali per gruppo;

Presenza in entrambi i sessi



WHICH ONE?

The evaluation should include an assessment of

- the severity of the effect,
- whether the observed effect(s) are adverse or adaptive,
- whether the effect is irreversible or not
- whether it is a precursor to a more significant effect or secondary to general toxicity.

Correlations between changes in several parameters, e.g. between clinical or biochemical measurements, organ weights and (histo) pathological effects, will be helpful in the evaluation of the nature of effects.



Opinion on diethylene glycol momoethyl ether

- absolute and relative liver weight in the 1000 mg/kg bw/day female group is increased by 11.7% (non-significant) and 22.7% ($p = 0.01$), respectively.
- Alkaline phosphatase was significantly increased both among males ($p = 0.01$) and females ($p = 0.05$) in the 1000 mg/kg bw/day groups as well as in the high dose groups ($p = 0.01$).
- Urine sodium and chloride was significantly decreased **among males in all groups ($p = 0.01$)**, but not among females. Urine creatinine was significantly decreased among all groups of males ($p = 0.01$) and in the 1000 mg/kg bw/day and the 2000/1500 mg/kg bw/day groups of females ($p = 0.01$).
- The SCCS considers **400 mg/kg bw/day to be the NOAEL** of this repeated dose study.



Diethylene glycol momoethyl ether

Study	Species	Sex	Critical doses mg/kg/bw
90 day	Mice: CD-1	m+f	NOAEL = 850 – 1000
6-week	Rat: Sprague Dawley	m	NOAEL = 1340
90 day	Rat: Wistar	m+f	NOAEL = 800
90 day	Rat: CFE	m+f	NOAEL = 250
90 day	Rat		NOAEL = 180 (communication from AFSSAPS)
90 day	Pigs: White	m+f	NOAEL = 167
90 day	Dog: Beagle	m+f	NOAEL = 400
2 year	Rat: Albino	m+f	NOAEL = 200



- Clinical observations or small changes in bodyweight gain, food consumption or water intake that may have some toxicological importance but that do not, by themselves, indicate “significant” toxicity.
- Small changes in clinical biochemistry, haematology or urinalysis parameters and /or transient effects, when such changes or effects are of doubtful or minimal toxicological importance.
- Changes in organ weights with no evidence or organ dysfunction.
- Adaptive responses that are not considered toxicologically relevant.
- Substance-induced species-specific mechanisms of toxicity, i.e. demonstrated with reasonable certainty to be not relevant for human health, should not justify classification.



Carcinogenicity

Carcinogenicity is a complex multistage process of abnormal cell growth and differentiation which can lead to cancer. At least two stages are recognized. They are **initiation** in which a normal cell undergoes irreversible changes and **promotion** in which initiated cells are stimulated to progress to cancer. Chemicals can act as **initiators** or **promoters**.

The initial neoplastic transformation results from the mutation of the cellular genes that control normal cell functions. The mutation may lead to abnormal cell growth. It may involve loss of suppresser genes that usually restrict abnormal cell growth. Many other factors are involved (*e.g., growth factors, immune suppression, and hormones*).

A **tumor (neoplasm)** is simply an uncontrolled growth of cells. **Benign tumors** grow at the site of origin; do not invade adjacent tissues or metastasize; and generally are treatable. **Malignant tumors (cancer)** invade adjacent tissues or migrate to distant sites (**metastasis**). They are more difficult to treat and often cause death.



Tossicità dello sviluppo

La tossicità dello sviluppo riguarda effetti avversi tossici per l'embrione o il feto in via di sviluppo.

Può derivare da esposizione tossica di uno dei due genitori prima del concepimento o della madre e dell'embrione-feto durante lo sviluppo.

Meccanismo d'azione:

- direttamente sulle cellule dell'embrione causando morte cellulare o danno cellulare, con sviluppo di organi anormali.
- mutazione nella cellula germinale di un genitore che viene trasmessa all'uovo fecondato. Alcuni ovuli fecondati mutati si sviluppano in embrioni anomali.



Tossicità dello sviluppo

Gli effetti tossici possono causare:

- diminuzione della libido e impotenza
- Infertilità
- gravidanza interrotta (aborto, morte fetale o parto prematuro)
- morte infantile o morbidità infantile
- rapporto tra i sessi alterato e nascite multiple
- anomalie cromosomiche e difetti di nascita
- cancro infantile



Tossicità dello sviluppo

Caratterizzazione

The most commonly performed in vivo reproduction toxicity studies are:

- **Two-generation reproduction toxicity test** [EC B.35, OECD 416]
- **Teratogenicity test - rodent and non-rodent** [EC B.31, OECD 414]

At the OECD level, there also exists a combined "Reproduction/ Developmental Toxicity Screening Test" [OECD 421], which has to date not been taken up in Regulation (EC) No 440/2008 [2008/440/EC].



ALTERNATIVE

It is expected that the various stages cannot be mimicked using one alternative method. Three alternative methods, restricted to the **embryotoxicity** area, have been developed:

- The Whole Embryo Culture test (WEC)
- **The MicroMass test (MM)**
- **The Embryonic Stem cell Test (EST)**

The last two tests were considered scientifically valid by ESAC for placing the substance under consideration into one of the following categories:

non-embryotoxic,
weak/moderate-embryotoxic or
strong-embryotoxic.

The WEC test is considered scientifically valid only for identifying strong embryotoxic substances [ESAC 2001].



Potential endocrine disruptors as cosmetic ingredients

- In 2001, ingredients of cosmetic products were first mentioned as potential ED, i.e. a number of UV filters present in sun protection products which displayed estrogenic effects in vitro and in vivo in mice [Schlumpf et al. 2001].
- Moreover, the in vitro potency of the UV filters studied was not only considerably lower than the one observed for the positive control (17 β -estradiol), but also very low in comparison with exposure to known estrogenic substances in food (flavonoids), and steroids used in hormonal therapy (birth control pill, morning after pill, post-menopausal therapy).



Exposure of the human breast to environmental oestrogens

Compounds	Source
Physiological oestrogens	Physiological: levels higher between puberty and menopause; levels cycle during monthly menstrual cycle
Pharmaceutical oestrogens	Contraceptive pill, hormone replacement therapy
Phyto-oestrogens (e.g. genistein, daidzein)	Diet: edible plant material (e.g. soy beans)
Organochlorines (e.g. DDT, dieldrin, lindane)	Diet: pesticides and herbicides in environment accumulated in animal fat
Polychlorinated biphenyls (PCBs)	Diet: by-products of electrical industry in environment accumulated in animal fat
Polychlorinated dioxins	By-products of incineration: can be inhaled or taken in the diet in animal fat
Bisphenol A	Epoxy resins and polycarbonate plastics
Phthalates	Plasticizers
Alkyl phenols (e.g. nonylphenol)	Detergents
Metallo-oestrogens	Cadmium in cigarette smoke, metal ions in water or diet, aluminium in cosmetics
Parabens	Preservatives in cosmetics, food and pharmaceuticals
Chemical constituents of cosmetics	See Table 2



Chemical constituents of cosmetics applied to the underarm and breast area and which possess endocrine disrupting properties.

Chemical constituent	Function in cosmetic	Endocrine disrupter action	Evidence indicating entry to human breast
Parabens	Preservative	Oestrogen agonist activity ⁷⁵⁻⁸⁶	Measured in human breast ⁷⁴
Aluminium salts	Antiperspirant	Interfere with binding of oestrogen to oestrogen receptor and oestrogen-regulated gene expression ⁷⁰	Measured in blood following application to human underarm ^{115, 117}
Cyclosiloxanes	Conditioning, spreading	Oestrogen agonist activity ¹²⁷⁻¹²⁹	Penetration of human skin ¹³⁰
Triclosan	Deodorant/preservative	Endocrine disruption in wildlife ¹³⁴	Measured in human milk ¹³⁷
Suncreeneens	Absorb ultraviolet light	Oestrogen agonist activity ^{138, 144, 145}	Penetration of human skin ^{140, 141} and measured in human milk ¹⁴³
Phthalates	Plasticizer	Oestrogen agonist activity ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹	Measured in human milk ¹⁵⁰
Nonylphenol	Metabolite of alkylphenol ethoxylate, nonionic surfactant	Steroid metabolism ³⁹	
Anthraquinones (Aloe Vera)	Wound healing	Oestrogen agonist activity ¹⁵²	
8-Prenylnaringenin ('push-up')	Enhance and increase size of breast	Oestrogen agonist activity ²⁴	Required function achieved in consumers from dermal application
Miroestrol/deoxymiroestrol ('Pueraria')	Enhance and increase size of breast	Oestrogen agonist activity ²⁴	Required function achieved in consumers from dermal application



Potential endocrine disruptors

- The SCCS, in accordance with the European Commission¹, endorses the following WHO/IPCS definitions [Damstra et al. 2002]:
- “A potential endocrine disruptor is an exogenous substance or mixture that possesses properties that might lead to endocrine disruption in an intact organism or its progeny, or (sub)populations.”, and
- “An endocrine disruptor (ED) is an exogenous substance or mixture that alters function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, or (sub) populations”.

http://ec.europa.eu/environment/endocrine/strategy/substances_en.htm



ENDOCRINE DISRUPTERS

Other potential endocrine disruptors reviewed by SCCP and SCCS:

parabens [SCCP/1017/06, SCCP/1183/08],

homosalate [SCCP/1086/07],

triclosan [SCCP/1192/08], and

cyclomethicone [SCCS/1241/10].

The opinions

- conclude that **endocrine/hormonal activities were not** the critical endpoint for assessing the safety of these substances.
- listed the types of in vitro studies suitable to detect different hormonal activities (potential ED) and in vivo studies relevant for detection of related developmental and reproductive toxicity.
- provide some guidance on the types of data needed in a scientific evaluation of substances with respect to endocrine disrupting properties.



MEETING OF THE STANDING COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS
5 NOVEMBER 2012

DRAFT DECISION ON GUIDELINES ANNEX I
COMMISSION IMPLEMENTING DECISION
of XXX

on Guidelines on Annex I to Regulation (EC) No. 1223/2009 on cosmetic products

4.3. Reasoning

Il ragionamento è il nucleo della valutazione della sicurezza, e il suo scopo è chiaramente spiegare come il valutatore ha raggiunto le sue conclusioni sulla sicurezza del prodotto cosmetico sulla base dei dati raccolti ai sensi della parte A dell'allegato I.

La valutazione della sicurezza deve essere eseguita sulla base **caso per caso**, per ogni singolo prodotto cosmetico e deve essere il risultato di una **valutazione esperta** dei dati disponibili. Il valutatore della sicurezza deve garantire che tutte le **informazioni** di cui ha bisogno per effettuare la valutazione della sicurezza **siano disponibili**; deve controllare la pertinenza dei dati forniti in relazione al prodotto da valutare, e dovrebbe **giustificarne l'assenza** se li ritiene di scarsa rilevanza o non necessari.

Al fine di trarre conclusioni sulla sicurezza di un prodotto cosmetico, il valutatore della sicurezza deve valutare la sicurezza delle singole sostanze o miscele presenti nella formulazione e la sicurezza del prodotto finito. Le sue conclusioni devono basarsi su un corpo di elementi comprovanti che, per tutti i pericoli identificati, il prodotto può essere considerato sicuro in termini di salute umana.

Il valutatore della sicurezza può accettare, rifiutare o accettare in condizioni specifiche la formulazione in esame. Un prodotto non conforme al regolamento 1223/2009 deve essere respinto e non deve essere commercializzato



SCCS OPINIONS

- Opinions open for comments
 - Fragrances
 - Hair Dyes
 - Consumers Products
 - Preservatives
 - UV Filters
 - Other Substances
 - Others
 - Statements



Altre fonti

- [Jecfa http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/en/](http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/en/)
- National Toxicology program
<http://ntp-server.niehs.nih.gov>
- Toxicology data network
<http://toxnet.nlm.nih.gov>

