ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ – ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ-ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΦΡΟΝΤΙΔΑ ΥΓΕΙΑΣ-ΥΠΗΡΕΣΙΕΣ ΥΓΕΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΛΛΟΙΩΣΕΩΝ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΟΥΣΙΩΝ ΜΕ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΕ ΚΟΥΝΕΛΙΑ ΕΠΕΙΤΑ ΑΠΟ ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗ ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΑ ΕΚΘΕΣΗ.

ΣΕΓΡΕΔΑΚΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ
ΚΤΗΝΙΑΤΡΟΣ

Επιβλέποντες:

1. **Τσατσάκης Αριστείδης, Καθηγητής Τοξικολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης**
2. **Τσιλιγιάννη Ιωάννα, Επίκουρη Καθηγήτρια Κοινωνικής Ιατρικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης**

Ηράκλειο, [Φεβρουάριος 2021]

© 2021
ΣΕΓΡΕΔΑΚΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ
ALL RIGHTS RESERVED

Ευχαριστίες

Ευχαριστώ θερμά όλους τους επιβλέποντες της μεταπτυχιακής εργασίας μου, τον Καθηγητή κο Αριστείδη Τσατσάκη, την Επίκουρη Καθηγήτρια κα Ιωάννα Τσιλιγιάννη και τον Αναπληρωτή Καθηγητή κο Εμμανουήλ Τζατζαράκη, για τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσαν στην επίβλεψη της.

Θερμές ευχαριστίες στην Καθηγήτρια Κλινικής Φαρμακολογίας κα Daniela Calina, συντονίστρια του πειράματος, στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τοξικολογίας κα Anca Oana Docea και την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιοχημείας κα Ana Maria Buga της Ιατρικής και Φαρμακευτικής Σχολής του Πανεπιστημίου της Κραϊόβα για την επίβλεψη του πειράματος.

Ευχαριστώ επίσης και τους Πανεπιστημιακούς μου δασκάλους, Αναπληρωτή Καθηγητή κο Γρηγόριο Χλουβεράκη, την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα Άννα Ψαρουλάκη, τον Επίκουρο Καθηγητή κο Εμμανουήλ Συμβουλάκη και ιδιαίτερα τον Καθηγητή κο Χρήστο Λιονή, για τις γνώσεις και τα εφόδια που μου έδωσαν κατά την διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

Αφιερωμένη στην μνήμη του πατέρα μου…

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες I

Περίληψη Μεταπτυχιακής Εργασίας 1

Abstract 3

ΕΙΣΑΓΩΓΗ 4

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ 29

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 29

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ 31

ΕΥΡΗΜΑΤΑ (RESULTS) 33

ΣΥΖΗΤΗΣΗ 38

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ (CONCLUSION) 44

ΔΙΑΣΥΝΔΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ 45

ΠΕΡΙΛΗΠΤΙΚΑ (In summary). 46

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α 47

Ι. ΕΙΚΟΝΕΣ 47

ΙΙ. ΑΔΕΙΑ ΑΠΟ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΒΙΟΗΘΙΚΗΣ & ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΑΣ 58

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β (ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ) 59

Περίληψη Μεταπτυχιακής Εργασίας

Τίτλος εργασίας: Μελέτη των κυτταρολογικών αλλοιώσεων της επίδρασης ουσιών με ενδοκρινική δράση σε κουνέλια, έπειτα από συνδυαστική και χρόνια έκθεση.

Του: Σεγρεδάκη Ιωάννη

Υπό τη επίβλεψη των: 1.Τσατσάκη Αριστείδη, Καθηγητή Τοξικολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης

2. Τσιλιγιάννη Ιωάννας, Επίκουρης Καθηγήτριας Κοινωνικής Ιατρικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Ημερομηνία: Φεβρουάριος 2021

Σκοπός: Η διερεύνηση σε κυτταρικό επίπεδο των πιθανών αλλοιώσεων σε κουνέλια, έπειτα από συνδυαστική δωδεκάμηνη έκθεση τους στις παρακάτω ουσίες: γλυφοσάτη –ROUNDUP, δισφαινόλη Α, παραβένες (μεθυλ, προπύλ και βουτυλ-παραβένιο) και τρικλοζάνη.

Υλικό-Μέθοδοι: Ελήφθησαν κυτταρολογικά επιχρίσματα με την μέθοδο (touch prep) από καρδιά, ήπαρ, νεφρούς, θυρεοειδή αδένα και γονάδες, μονιμοποιήθηκαν σε αιθυλική αλκοόλη 60% και εχρώσθησαν με την χρώση Παπανικολάου (Pap Stain).

Οι ανωτέρω διαδικασίες καθώς και η εκτίμηση των ευρημάτων έγιναν στο Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής και Κυτταρολογίας του ΠαΓΝΗ. Το οπτικό μικροσκόπιο που χρησιμοποιήθηκε είναι το NIKON Eclypse E400.

Αποτελέσματα: Από την μελέτη προέκυψε ότι τα όργανα που επηρεάζονται περισσότερο είναι κυρίως ο θυρεοειδής αδένας στον οποίο παρατηρήθηκαν μορφολογικές αλλοιώσεις συμβατές με νεοεξεργασία θηλώδους τύπου και οι γονάδες, όπου για μεν τους όρχεις παρατηρήθηκαν, έντονου βαθμού εκφυλιστικές αλλοιώσεις, στις δε ωοθήκες υπερπλασία των επιθηλιακών κυττάρων των ωοθυλακίων.

Οι ανωτέρω αλλοιώσεις δικαιολογούν τον χαρακτηρισμό αυτών των ουσιών ως «ενδοκρινικοί διαταράκτες».

Στα υπόλοιπα όργανα παρατηρήθηκαν, στο ήπαρ γλυκογονόλυση των ηπατικών κυττάρων, στους νεφρούς παρουσία εκμαγείων ουροφόρων σωληναρίων, υπερπλασία επιθηλιακών κυττάρων με στοιχεία φλεγμονής και στην καρδιά, στοιχεία περικαρδίτιδας και μυοκαρδίτιδας.

Λέξεις κλειδιά: γλυφοσάτη, παραβένες, δισφαινόλη Α, τρικλοζάνη, ενδοκρινικοί διαταράκτες, κυτταρολογικές αλλοιώσεις.

Abstract

Title: Study of cytological lesions in rabbits after combined and long term exposure to substances with endocrine activity

By: Segredakis Ioannis

Supervisors: 1. Tsatsakis Aristidis, Professor of Toxicology, Medical School, University of Crete

2. Tsiligianni Ioanna, Assistant Professor of Social Medicine, University of Crete

Date: February 2021

Aim: The investigation of possible cellular lesions in rabbits after a year combined exposure to the following substances: glyphosate-ROUNDUP, parabens (methyl, propyl and butyl paraben), bisphenol A (BPA) and triclosan (TCS).

Material-Methods: Obtained cytological smears using touch prep method from heart, liver, kidneys, thyroid gland and gonads, fixed with 60% ethanol and stained with Pap stain.

All these procedures and the estimation of the results were performed in the department of Pathology and Cytology of University General Hospital of Heraklion (PaGNI), using optical microscope NIKON Eclypse E400.

Results: From the study it emerged that the organs most affected is mainly the thyroid gland in which morphological lesions compatible with papillary neoplasm were detected and the gonads, where for the testicules severe degenerative lesions were observed and in the ovaries, ovarian hyperplasia of the follicular cells.

The above alterations justify the role of these substances as “endocrine disruptors”.

In the liver was observed glycogenolysis of the hepatic cells, in kidneys presence of cast in the renal tubules, hyperplasia of epithelian cells and evidence of inflammation.

Evidence of pericarditis and myocarditis was observed in the heart.

Key words: glyphosate, parabens, bisphenol A, triclosan, endocrine disruptors, cytological lesions.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σε όλους τους οργανισμούς, οι ορμόνες συνδέουν το νευρικό σύστημα με τις σωματικές λειτουργίες όπως αύξηση και ανάπτυξη, ανοσία, μεταβολισμός, αναπαραγωγή και συμπεριφορά.

Οι χημικές ουσίες που ονομάζονται ενδοκρινικοί διαταράκτες μπορούν να επηρεάσουν το ορμονικό σύστημα προκαλώντας επιβλαβείς επιπτώσεις στον άνθρωπο και στα ζώα. Οι ουσίες που αλληλεπιδρούν με το ορμονικό σύστημα αλλά δεν προκαλούν επιβλαβείς επιπτώσεις ονομάζονται ουσίες με ορμονική δράση ή ουσίες με ενδοκρινική δράση. Ωστόσο, ο διαχωρισμός μεταξύ της ενδοκρινικής δράσης και της ενδοκρινικής διαταραχής δεν είναι πάντα σαφής διότι, σε ορισμένες περιπτώσεις, η επίπτωση μπορεί να γίνει εμφανής μόνο εκ των υστέρων.

Υπάρχουν πολλές ουσίες φυσικές και τεχνητές, που θεωρείται ότι προκαλούν ενδοκρινική διαταραχή. Μερικές φορές, οι επιπτώσεις μιας ουσίας που προκαλεί ενδοκρινική διαταραχή εμφανίζονται μόνο αφού περάσει μεγάλο χρονικό διάστημα από την έκθεση.

Το glyphosate (γλυφοσάτη) αποτελεί την δραστική ουσία για το παρασιτοκτόνο ROUNDUP, η δισφαινόλη A(BPA) χρησιμοποιείται ως πλαστικοποιητής, ενώ η τρικλοζάνη (TCS) και τα parabens (methyl, butyl, propyl-PB) χρησιμοποιούνται ως αντιμικροβιακοί και συντηρητικοί παράγοντες, κυρίως, σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας και υγιεινής.

Μελέτες έχουν δείξει ότι οι ενδοκρινικοί διαταράκτες όπως οι ανωτέρω αναφερόμενοι, μπορεί να ευθύνονται για μεταβολές στην υγεία του ανθρώπου και των ζώων κατά τις τελευταίες δεκαετίες.

Αν και έχουν μελετηθεί αρκετά οι παραπάνω ουσίες, δεν υπάρχουν πολλές αναφορές σε in vivo μελέτες που αφορούν την συνδυαστική και χρόνια έκθεση στους συγκεκριμένους ενδοκρινικούς διαταράκτες.

Στην παρούσα εργασία, στόχος μας ήταν η εκτίμηση της τοξικότητας σε κυτταρικό επίπεδο των προαναφερθέντων ενδοκρινικών διαταρακτών σε κουνέλια, έπειτα από χρόνια συνδυαστική έκθεση τους σε μίγμα αυτών (σε χαμηλές και υψηλές δόσεις), αλλά και μόνο σε γλυφοσάτη (glyphosate), στην καθαρή και εμπορική της μορφή (ROUNDUP).

3.1.ΓΛΥΦΟΣΑΤΗ

Η γλυφοσάτη [χημική ονομασία IUPAC: N-(φωσφονομεθυλ) γλυκίνη] είναι ένα ευρέως φάσματος συστηματικό ζιζανιοκτόνο και ξηραντικό καλλιεργειών. Είναι οργανοφωσφορική ένωση, συγκεκριμένα ένα φωσφονικό, που δρα αναστέλλοντας το φυτικό ένζυμο 5-ενολοπυροσταφυλοσικιμική-3-φωσφορική συνθάση. Συντέθηκε το 1950 από τον Ελβετό χημικό Χένρυ Μάρτιν. Η ζιζανιοκτόνα δράση της ανακαλύφθηκε από τον χημικό της Monsanto Τζον Ε.Φρανζ το 1970, ο οποίος έλαβε το 1987 το εθνικό μετάλλιο τεχνολογίας των ΗΠΑ και το 1990 το μετάλλιο Πέρκιν για την εφαρμοσμένη Χημεία (1). Το 1974 η γλυφοσάτη διατέθηκε στην αγορά για γεωργική χρήση με την εμπορική ονομασία Roundup.

ΧΗΜΕΙΑ

Ο μοριακός τύπος της γλυφοσάτης είναι $C_3H_8NO_5P$ με μοριακό βάρος 169, 07gr/mol. Έχει την μορφή άοσμης λευκής κρυσταλλικής σκόνης και η υδατοδιαλυτότητα της είναι μεγάλη (10, 5mg /ltσε pH 1, 9) σε θερμοκρασία δωματίου, είναι όμως αδιάλυτη σε πολλούς οργανικούς διαλύτες, όπως ακετόνη και αιθανόλη.

Η γλυφοσάτη και τα άλατα της παρουσιάζουν πτητικότητα και φωτοευαισθησία, αλλά εμφανίζουν σταθερότητα στον αέρα (PubChem). Κατά την αποσύνθεση της δια θερμάνσεως εκλύονται άκρως τοξικά οξείδια του αζώτου και του φωσφόρου (PubChem). Είναι ένα αμινοφωσφορικό οξύ ανάλογο του φυσικού αμινοξέος γλυκίνης που προκύπτει από την αντίδραση τριχλωριούχου φωσφόρου με φορμαλδεΰδη, η οποία με διαδικασία υδρόλυσης, οδηγεί στην παραγωγή ενός φωσφονικού το οποίο αντιδρώντας με γλυκίνη δίνει ως τελικό προϊόν την γλυφοσάτη (PubChem).

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ

Η γλυφοσάτη απορροφάται από το φύλλωμα των φυτών, ελάχιστα από τις ρίζες τους και μεταφέρεται στα αναπτυσσόμενα σημεία αυτών. Προκαλεί αναστολή της συνθετάσης των τριών αρωματικών αμινοξέων (τυροσίνη, τρυπτοφάνη, φαινυλαλανίνη) και λόγω της δράσης αυτής, είναι αποτελεσματική μόνο σε αναπτυσσόμενα φυτά (2).

ΧΡΗΣΕΙΣ

Η κύρια χρήση της γλυφοσάτης είναι ως ζιζανιοκτόνο. Το 2007 ως κύρια ουσία του Roundup υπήρξε το ευρύτερα διαδεμένο ζιζανιοκτόνο στην Αμερικάνικη γεωργία. Υπό αυτήν την ιδιότητα της χρησιμοποιείται στην γεωργία, στην κηπουρική, στην αμπελουργία και στην δασοκομία. Είναι αποτελεσματική στην εξόντωση χωροκατακτητικών ειδών παρασίτων και στην αποκατάσταση οικοτόπων.

Σε αστικό περιβάλλον χρησιμοποιείται για τον ψεκασμό ρωγμών δρόμων και πεζοδρομίων, για την αντιμετώπιση των ζιζανίων, όπως επίσης και για τον καθαρισμό σιδηροδρομικών γραμμών. Χρησιμοποιείται ακόμη για την καταπολέμηση της υδρόβιας βλάστησης και ως ξηραντικό, για την αύξηση της απόδοσης της συγκομιδής με ευρεία εφαρμογή στην καλλιέργεια των σιτηρών (3).

Τέλος, η ανάπτυξη των γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών (σόγια, αραβόσιτος, βαμβάκι, σακχαρότευτλα), στηρίχθηκε το 1996 στην ανακάλυψη μιας εκδοχής του ενζύμου 5-ενολοπυροσταφυλοσικιμική-3-φωσφορική συνθετάση, που είναι ανθεκτικό στην ανασταλτική δράση της γλυφοσάτης (4).

ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Παρά το γεγονός ότι η χρήση της γλυφοσάτης και των εμπορικών της σκευασμάτων έχουν εγκριθεί παγκοσμίως από τους αρμόδιους φορείς, υπάρχουν πολλές αμφιλεγόμενες απόψεις για τις επιπτώσεις της στα ζώα, στον άνθρωπο, και στο περιβάλλον (5).

Από το 2015 η γλυφοσάτη αποτελεί αντικείμενο διαμάχης μεταξύ οργανισμών όπως η IARC, ο WHO, η EFSA και η ECHA. Η IARC, ταξινομεί την γλυφοσάτη ως πιθανή καρκινογόνο ουσία σε αντίθεση με την EFSA (1, 5).Ο WHO συμφωνεί με την IARC και ταξινομεί από το 2015 την ουσία ως πιθανή καρκινογόνο για τον άνθρωπο. Το 2016 ο WHO και η FAO εκδίδουν από κοινού έκθεση που αναφέρει ότι η γλυφοσάτη δεν είναι απαραίτητα επιβλαβής για την υγεία και καθόρισαν μέγιστα όρια αποδεκτής ημερήσιας πρόσληψης (0,5 mg/kg/Σ.Β). Η ECHA θεωρεί ότι η γλυφοσάτη μπορεί να προκαλέσει σοβαρή οφθαλμική βλάβη και ότι είναι τοξική για τους υδρόβιους οργανισμούς, αλλά δεν βρήκε στοιχεία για καρκινογόνο και μεταλλαξιογόνο δράση, ούτε στοιχεία τοξικότητας σε συγκεκριμένα όργανα ή στην αναπαραγωγή (6).

Στην Ελλάδα το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων έχει εγκρίνει την χρήση της γλυφοσάτης και έχει χορηγήσει πενταετή άδεια διάθεσης της στην αγορά από 01/03/2018 έως και 15/12/2023.

ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΓΛΥΦΟΣΑΤΗΣ ΣΤΑ ΘΗΛΑΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

Θεωρείται ότι η γλυφοσάτη στα θηλαστικά έχει χαμηλή έως πολύ χαμηλή τοξικότητα. Η LD50 για την πρόκληση οξείας δηλητηρίασης per os σε αρουραίους είναι πάνω από 5000 mg/Kgr/Σ.Β, για ποντίκια πάνω από 10.000mg/Kgr/Σ.Β και για κατσίκες μεγαλύτερη από 3530 mg/Kgr/Σ.Β.

Η τοξικότητα της γλυφοσάτης δια δερματικής επαφής είναι επίσης χαμηλή. Στα κουνέλια η LD_{50} δια επαφής της ουσίας με το δέρμα είναι 2gr/Kgr/Σ.Β ενώ τους προκαλεί μέτριας έντασης οφθαλμικό ερεθισμό. Η δια εισπνοής τοξικότητα της γλυφοσάτης θεωρείται πολύ χαμηλή στους αρουραίους με LD_{50} μεγαλύτερη του 4, 43 mg/lt (7).

Τα συμπτώματα οξείας τοξικότητας της γλυφοσάτης στα θηλαστικά είναι: ανορεξία, λήθαργος, σιελόρροια, έμετος και διάρροια, τα οποία εμμένουν από 2-24 ώρες μετά από την έκθεση στην ουσία. Τα κλινικά συμπτώματα, συνήθως εμφανίζονται 30 min-2hrs μετά την κατάποση της ουσίας. Τα ζώα αρχικά παρουσιάζουν διέγερση και ταχυκαρδία που ακολουθούνται από αταξία, κατάπτωση και βραδυκαρδία, σε σοβαρές δε περιπτώσεις οδηγούν σε σπασμούς και καταπληξία.

Σε μια οκταετή μελέτη που αφορούσε 150 σκύλους με καθημερινή βρώση γρασιδιού με γλυφοσάτη, βρέθηκε ότι το 40% των σκύλων δεν παρουσίασε κανένα κλινικό σύμπτωμα, το 45% παρουσίασε ασθενή-μέτρια συμπτώματα, ενώ μόλις το 15% παρουσίασε σοβαρά κλινικά συμπτώματα (8).

Σε άλλη τριετή έρευνα του Εθνικού Κέντρου Κτηνιατρικών Τοξικολογικών Ερευνών της Γαλλίας, κατεγράφησαν 31 περιστατικά δηλητηρίασης κατοικίδιων ζώων από γλυφοσάτη. Τα περισσότερα από αυτά είχαν λάβει per os την ουσία ή παράγωγα αυτής και τα υπόλοιπα είχαν έρθει σε τυχαία επαφή με αυτή. Από τα ανωτέρω περιστατικά, 25 αφορούσαν σκύλους και 4 γάτες. Στο 61% των περιστατικών παρατηρήθηκε έμετος 2 ώρες μετά την κατάποση. Σιελόρροια παρατηρήθηκε στο 26% των περιστατικών, ενώ μέτριας έντασης διάρροια στο 16% αυτών. Δεν κατεγράφησαν μακράς διάρκειας επιπτώσεις στην υγεία των ζώων ούτε θνησιμότητα. Η πιθανότητα οξείας δηλητηρίασης μετά από κατάποση της ουσίας για τον άνθρωπο επίσης είναι μικρή (9).

Σε μια μελέτη 80 περιστατικών κατάποσης γλυφοσάτης εκ των οποίων τα 79 ήταν απόπειρες αυτοκτονίας οι ερευνητές ταυτοποίησαν διαβρώσεις του γαστρεντερικού,

δυσφαγία και γαστρεντερική αιμορραγία. Επτά περιστατικά κατέληξαν (10). Τυχαία κατάποση της ουσίας και των παραγώγων της συνοδεύεται με μέτρια γαστρεντερικά συμπτώματα. Οφθαλμικός και δερματικός ερεθισμός σε ανθρώπους έχει αναφερθεί σε λίγες περιπτώσεις επαφής με προϊόντα γλυφοσάτης.

Το 2017 σε μια εκτίμηση επικινδυνότητας ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Χημικών Προϊόντων (ECHA), ανέφερε ότι υπάρχουν πολύ περιορισμένες πληροφορίες για δερματικό ερεθισμό σε ανθρώπους. Όπου αναφέρθηκε τέτοιος ερεθισμός, δεν είναι σαφές ότι σχετίζεται με την καθαρή ουσία ή με τα πρόσθετα του ζιζανιοκτόνου σκευάσματος.

Βάσει αυτών, ο ECHA συμπέρανε ότι τα διαθέσιμα δεδομένα για τον άνθρωπο είναι ανεπαρκή για την ταξινόμηση της ουσίας ως διαβρωτικό ή ερεθιστικό του δέρματος.

Παρ' όλα αυτά φαίνεται ότι οι ανεπιθύμητες ενέργειες είναι τυπικά συνδεδεμένες με έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις της ουσίας. Μόνιμη οφθαλμική ή δερματική βλάβη είναι πολύ σπάνια. Η οφθαλμική επαφή μπορεί να προκαλέσει ήπια επιπεφυκίτιδα, ενώ υπάρχει κίνδυνος για επιφανειακή βλάβη του κερατοειδούς, αν η έκπλυση είναι καθυστερημένη ή ανεπαρκής (11).

Η εισπνοή του εκνεφώματος της γλυφοσάτης και των σκευασμάτων της, μπορεί να προκαλέσει δυσάρεστη γεύση στο στόμα και ρινική δυσφορία. Η κατάποση διαλύματος ROUNDUP 85-200ml με περιεκτικότητα 41 % σε γλυφοσάτη, έχει οδηγήσει σε θάνατο μέσα σε λίγες ώρες, μολονότι έχει αναφερθεί κατάποση μεγάλης ποσότητας (έως και 500ml), που προκάλεσε μόνο ήπια έως μέτρια συμπτώματα δηλητηρίασης. Σε ενήλικες η πρόσληψη περισσοτέρων από 85ml πυκνού διαλύματος γλυφοσάτης, μπορεί να οδηγήσει σε διαβρωτικά εγκαύματα του οισοφάγου και νεφρική ή ηπατική βλάβη.

Σε πιο σοβαρά περιστατικά παρουσιάζεται : δύσπνοια, αρρυθμίες, διαταραχές συνείδησης, καταπληξία, νεφρική ανεπάρκεια, μεταβολική οξέωση, υπερκαλιαιμία, και πνευμονικό οίδημα με κατάληξη τον θάνατο.

ΧΡΟΝΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Ερευνητές χορήγησαν για ένα χρόνο σε σκυλιά ράτσας Beagle κάψουλες γλυφοσάτης σε συγκεντρώσεις 0, 20, 100, 500 mg/Kgr/Σ.Β ημερησίως, χωρίς να εκδηλωθεί κανένα σύμπτωμα τοξίκωσης.

Σε μια άλλη μελέτη διάρκειας 2 ετών σε αρσενικούς αρουραίους χορηγήθηκε στην τροφή τους γλυφοσάτη σε συγκεντρώσεις 89, 362, 940 mgr/Kgr/Σ.Β/day (ημερησίως) με τα ακόλουθα αποτελέσματα:

- Στο group των αρσενικών υψηλής δόσης γλυφοσάτης παρατηρήθηκε αύξηση στο pH των ούρων, αύξηση στην εμφάνιση καταρράκτη και ανωμαλιών στους οφθαλμικούς φακούς, όπως και αυξημένο βάρος του ήπατος.
- Στα group αρσενικών χαμηλής και μέτριας συγκέντρωσης γλυφοσάτης δεν παρατηρήθηκε κάτι αξιόλογο.
- Στο group των θηλυκών υψηλής συγκέντρωσης γλυφοσάτης, το μόνο που παρατηρήθηκε είναι η αύξηση του σωματικού τους βάρους. (12)

Σε αντίστοιχη μελέτη σε αρουραίους εργαστηρίου που τρεφόντουσαν με δίαιτα που περιείχε glyphosate σε συγκεντρώσεις 0, 100, 300, 1000 mg/Kgr/day για 2 χρόνια, παρατηρήθηκε σε μερικούς αρουραίους των ομάδων υψηλής συγκέντρωσης της ουσίας, διόγκωση των σιαλογόνων αδένων με αρκετές κυτταρικές αλλοιώσεις, μετά από 52 εβδομάδες (13).

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η γλυφοσάτη δεν είναι ανοσοτοξική ούτε και νευροτοξική.

Για την χρόνια τοξικότητα της γλυφοσάτης στον ανθρώπινο οργανισμό έχουν γίνει διάφορες μελέτες. Σε μια από αυτές οι ερευνητές προέβησαν σε συλλογή ούρων 8 μηνών από εργαζόμενους σε δασοκομικά φυτώρια όπου η γλυφοσάτη χρησιμοποιούταν ως ζιζανιοκτόνο, σε κανένα από τα 355 δείγματα δεν ανευρέθηκε γλυσοφάτη, γεγονός που απεδόθη στην μικρή απορροφητικότητα της από το δέρμα (14).

Σε μια άλλη μελέτη, υπάλληλοι φυτωρίων που ψέκαζαν ROUNDUP για 6 ώρες καθημερινά για πάνω από μια εβδομάδα και υπεβλήθησαν τόσο σε κλινική όσο και σε εργαστηριακή εξέταση, δεν παρουσίασαν καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στα αποτελέσματα τους, σε σχέση με άλλους που δεν έκαναν χρήση γλυφοσάτης (15).

Αντίθετα σε ανάλυση ούρων οικογενειών που ζουν σε φάρμες στην Μινεσότα των ΗΠΑ, την πρώτη ημέρα της εφαρμογής της γλυφοσάτης για ψεκασμό, το 60% αυτών παρουσίασε επίπεδα γλυφοσάτης στα ούρα τουλάχιστον 1ppb. Ο γεωμετρικός μέσος όρος της συγκέντρωσης της γλυφοσάτης των ούρων ήταν 3ppb με μέγιστη τιμή τα 233ppb. Οι μέσες συγκεντρώσεις της ουσίας στα ούρα ήταν υψηλότερες στους αγρότες που δεν χρησιμοποιούσαν γάντια κατά τον ψεκασμό (16).

Η αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη (ADI) συνδυασμού γλυφοσάτης και των μεταβολιτών της (AMPA) για τους ανθρώπους είναι 1,0mg/Kg/Σ.Β.

ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ

- Το 2007 διερευνήθηκε η υποψία ενδοκρινικής δραστηριότητας της γλυφοσάτης. Σε έρευνα σε ποντικούς και αρουραίους με χορήγηση καθαρής γλυφοσάτης (99%) για 13 εβδομάδες στο σιτηρέσιο τους σε συγκεντρώσεις 0, 3.125, 6.250, 12.500, 25.000 και 50.000 ppm παρατηρήθηκαν τα εξής:
- Στις 2 ομάδες αρσενικών υψηλής δόσης, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της συγκέντρωσης του σπέρματος, παρ' όλα αυτά αυτή ήταν εντός των αποδεκτών ορίων της ράτσας.
- Στην ομάδα θηλυκών υψηλής δόσης, απλά παρατηρήθηκε μια μικρή επιμήκυνση του οιστρικού κύκλου σε σχέση με την ομάδα των μαρτύρων.

Ερευνητές μελέτησαν την βιβλιογραφία για την γλυφοσάτη, τον κύριο μεταβολίτη της (AMPA) και τα προϊόντα με βάση την γλυφοσάτη (ROUNDUP) και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι προκαλεί ενδοκρινικές διαταραχές στον άνθρωπο και σε άλλα θηλαστικά (17).

Έτσι το 2015 η EPA (Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος των ΗΠΑ) βασιζόμενη σε αποτελέσματα ενός προγράμματος μελέτης της ουσίας (EDSP), δήλωσε ότι η γλυφοσάτη δεν θεωρείται ενδοκρινικός διαταράκτης ελλείψει πειστικών στοιχείων για αλληλεπίδραση με τις οδούς των οιστρογόνων, των ανδρογόνων και του θυρεοειδούς (18, 19).

ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ

ΖΩΑ

Σε μια διετή μελέτη σε αρουραίους στο σιτηρέσιο των οποίων προστέθηκε γλυφοσάτη σε συγκεντρώσεις 0, 89, 362, 940 mg/Kgr/Σ.Β/day στα αρσενικά και 0, 113, 457, 1183mg/Kgr/Σ.Β/day στα θηλυκά, η υψηλότερη δόση της ουσίας προσέγγισε ή ξεπέρασε την οριακή δόση που εφαρμόζεται για μελέτες στον καρκίνο. Τα αποτελέσματα της έρευνας δεν ήταν στατιστικά σημαντικά.

Παρατηρήθηκε μια μικρή αύξηση των παγκρεατικών αδενωμάτων, των ηπατοκυτταρικών αδενωμάτων καθώς και των αδενωμάτων του θυρεοειδούς, η περίπτωση τους όμως ήταν εντός των αποδεκτών ορίων.

Βασιζόμενη σε αυτή τη μελέτη αλλά και σε άλλες επταετούς διάρκειας η EPA ανακοίνωσε ότι οι αναπτυσσόμενοι όγκοι στα πειραματόζωα δεν οφείλονται

(αποδίδονται) στην χρήση της γλυφοσάτης, ταξινομώντας έτσι την ουσία στην ομάδα Ε των ουσιών που περιλαμβάνει ουσίες μη καρκινογενετικές για τον άνθρωπο (20).

Σε άλλη διετή έρευνα σε ποντίκια όπου χορηγούνταν γλυφοσάτη στην τροφή με συγκεντρώσεις 0, 161, 195 , 835, 968, 4.945, 6.069 mg/Kgr/Σ.Β/day σε αρσενικά και θηλυκά αντίστοιχα, παρατηρήθηκε στις ομάδες υψηλής δόσης ουσίας, μείωση του σωματικού βάρους και στα δύο φύλα και αύξηση της συχνότητας των αδενωμάτων των νεφρικών σωληναρίων μόνο στα αρσενικά άτομα της ομάδας υψηλής συγκέντρωσης στην ουσία.

Μια ανεξάρτητη ομάδα παθολογοανατόμων και βιομετρητών κατέληξε στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχει συσχέτιση των αδενωμάτων με την έκθεση στη γλυφοσάτη. Οι ιστοπαθολογικές εξετάσεις έδειξαν χρόνια διάμεση νεφρίτιδα, επιθηλιακή βασυφιλία και υπερτροφία στα νεφρικά σωληνάρια των αρσενικών ποντικών (21).

Σε μια τρίτη μελέτη σε θηλυκούς αρουραίους παρατηρήθηκε μια αύξηση της συχνότητας του καρκίνου του μαστού που όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική (22).

Σε μελέτες πάνω στο χρυσόψαρο (goldfish) (*carassius auratus*), οπού προστέθηκε στην τροφή του ROUNDUP για 6 ημέρες σε συγκεντρώσεις 5, 10, 15 ppm, οι ερευνητές παρατήρησαν αυξημένη καταστροφή του DNA των μικροπυρήνων των περιφερικών ερυθροκυττάρων του ψαριού, οπότε συμπέραναν ότι το ROUNDUP προκάλεσε γενοτοξικοτητα στο συγκεκριμένο είδος (23).

Γενικότερα για τα υπόλοιπα ζωικά είδη αλλά και για τον άνθρωπο τα αποτελέσματα των μελετών δείχνουν ότι η γλυφοσάτη δεν είναι γενοτοξική. Στον άνθρωπο υπάρχουν περιορισμένες ενδείξεις ότι ο κίνδυνος καρκινογένεσης αυξάνεται από επαγγελματική έκθεση σε μεγάλες ποσότητες γλυφοσάτης.

Μετά την σχετική ανακοίνωση της EPA για την συγκεκριμένη ουσία, ακολούθησαν και άλλοι διεθνείς οργανισμοί όπως ο WHO, ο FAO και η Ευρωπαϊκή Ένωση όπου κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχουν αποδείξεις ότι η γλυφοσάτη είναι καρκινογόνος ή γενοτοξική για τον άνθρωπο (24). Μόνο ένας οργανισμός (IARC) το Διεθνές Κέντρο Έρευνας για τον καρκίνο, κατατάσσει την γλυφοσάτη στην ομάδα 2Α των ουσιών, δηλαδή ως πιθανόν καρκινογόνα για τον άνθρωπο. Αντίθετα ο EFSA (Ευρωπαϊκός Οργανισμός για την Ασφάλεια των τροφίμων), δεν ταξινομεί την ουσία αλλά ούτε τα παράγωγα της, στην κατηγορία των καρκινογόνων ή γενοτοξικών ουσιών, στηριζόμενος σε πέντε μελέτες σε ζώα.

Ερευνητές που μελέτησαν όλη την βιβλιογραφία που αφορά την γλυφοσάτη, τον κύριο μεταβολίτη της (AMPA), το ROUNDUP καθώς και το επιφανειο-δραστικό

(ΡΟΕΑ) της ουσίας κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι, κανένα από αυτά δεν προκαλεί μεταλλάξεις ή καρκινογένεση.

Άλλοι ερευνητές που μελέτησαν την σχέση έκθεσης αποτελέσματος μεταξύ προϊόντων που περιέχουν γλυφοσάτη και καρκίνου σε 57.000 περίπου ζιζανιοκτόνα σκευάσματα, ανακάλυψαν ότι η έκθεση σε γλυφοσάτη δεν αυξάνει τον κίνδυνο καρκινογένεσης. Σε ένα πολύ μικρό ποσοστό περιπτώσεων υπάρχει μια πιθανή συσχέτιση μεταξύ της γλυφοσάτης και της ανάπτυξης πολλαπλού μυελώματος (25). Επιπλέον επιδημιολογικές έρευνες και ανασκοπήσεις, δεν μαρτυρούν συσχέτιση μεταξύ της γλυφοσάτης και της ανάπτυξης καρκίνου, όπως η λευχαιμία, το πολλαπλό μυέλωμα και το Hodgkin λέμφωμα.

Αντίθετα, μια μετά-ανάλυση του 2014 έδειξε αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης non Hodgkin λεμφώματος σε εργαζόμενους που χρησιμοποιούν γλυφοσάτη, παρ' όλα αυτά δεν υπάρχουν περαιτέρω στοιχεία μελετών για να υποστηρίξουν με σιγουριά αυτή την συσχέτιση (26).

ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ-ΤΕΡΑΤΟΓΕΝΕΣΗ

Σε μια μελέτη εγκύων κουνελιών, όπου τους χορηγήθηκε γλυφοσάτη διαμέσου γαστροοισοφαγικού καθετήρα απευθείας στο στομάχι σε συγκεντρώσεις 0, 100, 175, 300 mg/Kgr/day από την 7^{η} έως την 19^{η} ημέρα της κυήσεως τους, από τα κουνέλια που άνηκαν στις ομάδες που έπαιρναν μέτριες και υψηλές δόσεις της ουσίας, μερικά παρουσίασαν διάρροια, ενώ άλλα δεν μπορούσαν να αφοδεύσουν.

Σε μια παρόμοια μελέτη σε έγκυα κουνέλια όπου τους χορηγήθηκε η ουσία σε συγκεντρώσεις 0, 75, 175, 350 mg/Kgr/day από την 6^{η} έως την 27^{η} ημέρα της κύησης τους, τα κουνέλια που τους χορηγήθηκαν υψηλές δόσεις της ουσίας, παρουσίασαν διάρροια, ρινική καταρροή, και υψηλή θνησιμότητα, αλλά σε καμία από τις δύο μελέτες δεν παρατηρήθηκαν προβλήματα ανάπτυξης (27).

Αντίθετα σε μελέτη σε εγκύους αρουραίους όπου τους χορηγήθηκε γλυφοσάτη σε συγκεντρώσεις 0, 300, 1.000, 3.500 mg/Kgr/day, από την 6^{η} έως την 19^{η} ημέρα της κύησης τους, στα άτομα των ομάδων της υψηλότερης δόσης στην ουσία, παρατηρήθηκε μείωση του σωματικού βάρους τόσο των μητέρων όσο και των εμβρύων, αύξηση των εμβρυϊκών σκελετικών ανωμαλιών και αύξηση της μητρικής θνησιμότητας (28).

Σε μελέτη σε αρουραίους όπου τους χορηγήθηκε ημερησίως πάνω από 203 mg/Kgr (10.000 ppm) γλυφοσάτης για δύο γενιές, δεν παρατηρήθηκε καμία ανωμαλία στην σεξουαλικότητα και στη γονιμότητα των δύο φύλων.

Βάσει αυτών και άλλων μελετών, οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τόσο η γλυφοσάτη, όσο και ο κύριος μεταβολίτης της (AMPA), αλλά και το ROUNDUP και το POEA, δεν μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα αναπαραγωγής ή τερατογενέσεις.

Στον άνθρωπο βάσει μελετών στηριζόμενων κυρίως σε ερωτηματολόγια που αφορούσαν ζευγάρια αγροτών που χρησιμοποιούσαν την γλυφοσάτη ως ζιζανιοκτόνο, προκρίθηκε η άποψη ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης σε προϊόντα της γλυφοσάτης και αυξημένου κινδύνου αποβολών σε προχωρημένο στάδιο κύησης (29).

ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ

Μελέτες σε ζώα έδειξαν ότι το 30-36% της γλυφοσάτης απορροφάται δια της κατάποσης. Η απορρόφηση δια του δέρματος είναι μικρή (30).

Σε ένα πείραμα in vitro σε ανθρώπινο δέρμα, παρατηρήθηκε ότι μόλις 2.2-2.6% μg/cm^2 απορροφήθηκε από το δέρμα, ενώ η μέγιστη τιμή απορρόφησης παρατηρήθηκε 8 ώρες μετά την επαφή (31).

Μελετητές εφήρμοσαν γλυφοσάτη στο δέρμα μαϊμούδων σε δόσεις από 500 μg-270μg/cm^2 δέρματος για 7 ημέρες, με αποτέλεσμα το 73.5-77.1% της ουσίας να παραμείνει πάνω στο δέρμα της κοιλιακής χώρας χωρίς απορρόφηση.

Η γλυφοσάτη δεν είναι πτητική, οπότε η απορρόφηση δια της εισπνοής είναι μικρή.

ΚΑΤΑΝΟΜΗ

Από πειράματα σε αρουραίους που καθημερινά λάμβαναν με την τροφή τους 10mg/Kgr/Σ.Β γλυφοσάτης για 6 συνεχόμενες ώρες, παρατηρήθηκε ότι, το 50% της ουσίας εναποτέθηκε στο γαστρεντερικό σύστημα, εκ του οποίου ένα 18% στο λεπτό έντερο, ενώ περίπου 5% της ουσίας ανιχνεύθηκε στο κοιλιακό λίπος, στο κόλον, στους νεφρούς, στο ήπαρ και στο στομάχι (3).

Σε άλλη έρευνα στο ίδιο ζωικό είδος (αρουραίοι), με μια δόση per os γλυφοσάτης σε συγκεντρώσεις από 10-1.000mg/Kgr/Σ.Β για επτά ημέρες, παρατηρήθηκε εναπόθεση της ουσίας σε όλο το σώμα, αλλά κυρίως στα οστά (32).

Υπολείμματα γλυφοσάτης και του κυριότερου μεταβολίτη της (AMPA), ανιχνεύθηκαν σε παραγωγικά ζώα και πτηνά τόσο στο σώμα τους, όσο και στο γάλα και στα αυγά τους, μετά από την διατροφή αυτών με την ουσία (33).

ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

Η γλυφοσάτη δεν καταβολίζεται πλήρως, αλλά αποβάλλεται σχεδόν ακέραια κυρίως με τα κόπρανα και δευτερευόντως με τα ούρα.

Δείγματα από κατσίκες και όρνιθες που στο σιτηρέσιο τους είχαν γλυφοσάτη, περιείχαν την ουσία και τον κύριο μεταβολίτη της (AMPA) στο σώμα, στα αυγά και στο γάλα τους, αλλά όχι άλλους μεταβολίτες. Αντίθετα υψηλά ποσοστά γλυφοσάτης και AMPA ανιχνεύθηκαν στον ορό του αίματος και στα ούρα ασθενών 8 και 16 ώρες μετά την κατάποση της ουσίας. Αυτό αποδεικνύει ότι ο μεταβολισμός της ουσίας είναι ελάχιστος (34).

ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ

Κύριες οδοί αποβολής της γλυφοσάτης από τον οργανισμό είναι τα κόπρανα και τα ούρα. Η γλυφοσάτη αποβάλλεται πλήρως από το σώμα των αρουραίων 168 ώρες μετά την χορήγηση της (34).

Σε ασθενείς που δηλητηριάστηκαν με γλυφοσάτη, παρατηρήθηκε μέγιστη συγκέντρωση της στο πλάσμα, 4 ώρες μετά την κατάποση της, ενώ 12 ώρες μετά, η ουσία ήταν σχεδόν μη ανιχνεύσιμη (35).

Η παρακολούθηση της έκθεσης στην γλυφοσάτη και των παραγώγων της (AMPA), γίνεται με την μέτρηση της συγκέντρωσης της στο αίμα ή στα ούρα (34).

Οι μέθοδοι ανίχνευσης της, περιλαμβάνουν τόσο αέρια και υγρή χρωματογραφία, καθώς και ανοσοφθορισμό.

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ

- **ΕΔΑΦΟΣ & ΝΕΡΟ**

Ο χρόνος ημίσειας ζωής της γλυφοσάτης στο έδαφος είναι μεταξύ 2 και 197 ημερών, με μέσο όρο περίπου 47 ημέρες, πράγμα το οποίο εξαρτάται από τον τύπο του εδάφους και τις κλιματολογικές συνθήκες.

Σε υδάτινο περιβάλλον η μέση ημίσεια ζωή της ποικίλλει από μερικές έως 91 ημέρες.

- **ΦΥΤΑ**

Η γλυφοσάτη απορροφάται από τα φύλλα των φυτών. Η απορρόφηση της από την επιδερμίδα των φυτών είναι μικρή και η μεταφορά της στην κυτταρική μεμβράνη αυτών είναι βραδύτερη από αυτή άλλων ζιζανιοκτόνων (36).

Η γλυφοσάτη συσσωρεύεται σε βλαστούς, φύλλα και στους υπόγειους ιστούς των φυτών ενώ ένα πολύ μικρό μέρος αυτής μεταβολίζεται στα φυτά προς AMPA (37).
Λάχανα, καρότα και κριθάρι περιέχουν υπολείμματα γλυφοσάτης πάνω από ένα χρόνο σε εδάφη που χρησιμοποιήθηκε η ουσία ως παρασιτοκτόνο.
Η γλυφοσάτη και τα παράγωγα της εκτός του επιφανειο-δραστικού POEA, είναι πρακτικά μη τοξική για τα ψάρια του γλυκού νερού.
Η διαδικασία παραγωγής γνωστής ως MONO88 του επιφανειοδραστικού POEA που χρησιμοποιείται σε μερικά προϊόντα με βάση την γλυφοσάτη, έχει ως αποτέλεσμα το POEA να είναι τοξικό, έως πολύ τοξικό για τα ψάρια του γλυκού νερού (38).
Τέλος, μελέτες δείχνουν ότι η γλυφοσάτη και τα παράγωγα της είναι πρακτικά μη τοξική για τις μέλισσες.

3.2.ΠΑΡΑΒΕΝΕΣ (PARABENS)

Οι παραβένες (parabens) είναι μια μεγάλη κατηγορία αρωματικών οργανικών ενώσεων, στις οποίες ανήκει το 4-υδροξυβενζοϊκό οξύ που ονομάζεται επίσης παραυδροξυβενζοϊκο, ονομασία στην οποία οφείλει το όνομα όλη η τάξη αυτών των ενώσεων (παραβένες) αφού αποτελείται από άλατα και εστέρες αυτού του οξέος.
Τα parabens ανακαλύφθηκαν για πρώτη φορά ως αντιμικροβιακά από τον Sabalitschka το 1924. Ταξινομούνται σε εφτά διαφορετικούς τύπους, ανάλογα με την θέση των διαφορετικών εστερικών ομάδων στο τέταρτο άτομο άνθρακα(4) του 4-υδροξυβενζοϊκου οξέος (μέθυλ-, έθυλ-, προπυλ-, ισοπροπυλ-, βουτυλ-, ισοβουτυλ-, και βένζυλ-paraben).
Όσο πιο μεγάλη είναι η εστερική ομάδα των parabens, τόσο μεγαλύτερη είναι η αντιμικροβιακή τους δράση, αλλά και η τοξικότητα τους.
Λόγω των ιδιοτήτων τους (αντιμικροβιακή δράση σε χαμηλές δόσεις, ασφάλεια, χαμηλή τοξικότητα, οξεία και χρόνια, ικανή υδατοδιαλυτότητα) οι παραβένες χρησιμοποιούνται από την δεκαετία του 20’ ως συντηρητικά στην βιομηχανία καλλυντικών, φαρμάκων και τροφίμων με αντιμικροβιακή και αντιμυκητισιακή δράση (39). Μερικά parabens επίσης χρησιμοποιούνται ως συμπληρώματα διατροφής (40).
Εμπορικά θεωρούνται parabens, μόνο οι εστέρες του 4-υδροξυβενζοϊκου οξέος, αν και στα περισσότερα καλλυντικά σκευάσματα χρησιμοποιούνται τόσο το οξύ από μόνο του όσο και τα άλατα αυτού. Παραβένες (parabens) συναντούμε όμως και στη φύση σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις σε φρούτα όπως η βανίλια, τα φρούτα του

πάθους, τα μύρτιλα, αλλά και σε διάφορα έλαια, όπως το ελαιόλαδο, το φοινικέλαιο και το λάδι καρύδας, επίσης σε μικρές ποσότητες (41, 42, 43).

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ

Τα parabens είναι δραστικά έναντι πολλών μικροοργανισμών, παρόλο που η αντιβακτηριακή τους δράση δεν είναι πλήρως κατανοητή. Εικάζεται ότι δρουν, διακόπτοντας την ενεργή μεταφορά ουσιών διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης ή αναστέλλοντας την σύνθεση του DNA και του RNA, καθώς και της ATPάσης σε κάποια είδη βακτηρίων (44, 45). Τα parabens είναι πιο δραστικά έναντι των gram θετικών βακτηρίων, ενώ υπάρχουν βακτήρια όπως η Pseudomonas aeruginosa, που παράγουν ένζυμα που διασπούν τα parabens. Η αντιμυκητισιακή τους δράση είναι μεγάλη, μάλιστα μεγαλύτερη από την αντιβακτηριακή (46).

ΧΡΗΣΕΙΣ

Το χαμηλό κόστος παραγωγής τους, η χαμηλή τους τοξικότητα, η μακροχρόνια χρήση τους και η ευρεία αντιμικροβιακή και αντιμυκητισιακή δράση τους, είναι παράγοντες που εξηγούν την ευρεία χρήση των parabens σε πολλά εμπορικά σκευάσματα.

Η κύρια χρήση τους αφορά τα καλλυντικά και τα προϊόντα προσωπικής φροντίδας και υγιεινής. Πολλές μελέτες εντόπισαν την παρουσία των parabens στο 90% των καλλυντικών προϊόντων την δεκαετία του 90’ (47). Τα βρίσκουμε έτσι σε σαμπουάν, μαλακτικά, lotion σώματος, αφρόλουτρα, αποσμητικά και σε άλλα καλλυντικά.

Τελευταία, έχει μειωθεί θεαματικά η περιεκτικότητα τους στα καλλυντικά, λόγω του θορύβου που έγινε για την πιθανή τοξικότητα τους, πιθανότητα πρόκλησης καρκίνου και ενδοκρινικών διαταραχών στον άνθρωπο και στα ζώα. Σε μια έρευνα του 2011 η παρουσία των parabens στα καλλυντικά περιορίστηκε στο 44% (48).

Τα parabens δευτερευόντως, χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα στην βιομηχανία τροφίμων, τόσο σε ποτά (αναψυκτικά, μπύρες), όσο και σε ζελέ, πίκλες, σάλτσες, επεξεργασμένα λαχανικά, ψάρια και σε διάφορα βελτιωτικά γεύσης. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση χρησιμοποιούνται και θεωρούνται ασφαλή ως πρόσθετα τροφίμων, το ethylparaben και το νατριούχο άλας του (E214, E215), καθώς και το methylparaben και το άλας αυτού με νάτριο (E218, E219).

Το propylparaben και το νατριούχο άλας αυτού (E216, E217), απαγορεύθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση ως ενδυνάμει ενδοκρινικός διαταράκτης (49).

ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

Τα parabens που περιέχονται στις τροφές, πέπτονται και μεταβολίζονται πλήρως στο σώμα μας με κύρια οδό απέκκρισης τα ούρα (50), ενώ αυτά των προϊόντων προσωπικής φροντίδας και των καλλυντικών, απορροφούνται από το δέρμα, αλλά τα ένζυμα του δέρματος δεν μπορούν να τα αποδομήσουν πλήρως, με αποτέλεσμα μερικά από αυτά να συσσωρεύονται στους ιστούς του σώματος (51).

Η παρουσία ακέραιων parabens στα ούρα μετά την χρήση καλλυντικών που τα περιέχουν επιβεβαιώνει ότι, ο οργανισμός μας δεν μπορεί να μεταβολίσει πλήρως ορισμένα από αυτά τα χημικά.

ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Συμπυκνωμένα υδατικά διαλύματα propylparaben προκαλούν ήπιο οφθαλμικό ερεθισμό, ενώ κατάποση 0.03% διαλύματος αυτού προκαλεί ερεθισμό στον εντερικό βλεννογόνο.

Μελέτες τοξικότητας σε ζώα έδειξαν ότι το propylparaben είναι σχετικά μη τοξικό, τόσο μετά από per os χορήγηση, όσο και μετά από παρεντερική, ενώ προκαλεί μέτριο ερεθισμό στο δέρμα.

Μετά από χρόνια χορήγηση σε αρουραίους δεν παρουσιάστηκε καμία τοξικότητα. Δεν υπάρχουν αποδείξεις ότι το propylparaben είναι καρκινογόνο, μεταλλαξιογόνο και κυτταροτοξικό in vitro. Σε μια μόνο in vitro μελέτη σπέρματος, απεδείχθη ότι είναι σπερματοκτόνο σε συγκεντρώσεις από 0.01-1.0%.

Το 1940 ο Bonnevie στην Δανία περιέγραψε το πρώτο περιστατικό αλλεργικής δερματίτιδας επαφής από parabens (52). Ο Fischer στη συνέχεια αποκάλυψε το αποκαλούμενο παράδοξο των parabens, δίνοντας έμφαση στο γεγονός ότι αυτές οι ουσίες προκαλούν υπερευαισθησία σε επαφή με τραυματισμένο και εκζεματικό δέρμα και σε πολύ μικρότερο βαθμό έως σπάνια σε επαφή με υγιές δέρμα (53). Έτσι, συχνά άτομα ευαίσθητα στα parabens μπορούν να ανεχθούν καλλυντικά που περιέχουν parabens αν τα εφαρμόζουν σε υγιές δέρμα.

Το 1972 η αμερικανική εταιρεία δερματολογίας προσπάθησε να καθορίσει την επίπτωση μεταξύ χρήσης parabens σε δερματίτιδες εξ’ επαφής, κάνοντας μια μελέτη σε 1.200 άτομα σε 10 πολιτείες των ΗΠΑ. Μόλις το 3% των ατόμων εξεδήλωσε δερματίτιδα σε επαφή με τα parabens. Επαφή με τρόφιμα που περιέχουν parabens μπορεί να προκαλέσει σπάνια δερματίτιδα άκρας χειρός σε μάγειρες (54).

Παρεντερική χορήγηση φαρμάκων που περιέχουν parabens, προκάλεσε κατά περίπτωση γενικευμένη δερματίτιδα και μια λιγότερο ή περισσότερο γενικευμένη εκζεματική έξαρση σε άτομα που είχαν ήδη έρθει σε επαφή προηγουμένως με τα parabens (55, 56).

Έρευνες απέδειξαν ότι η χρήση μέθυλ-, πρόπυλ-, και βουτυλ- paraben δεν προκαλεί φωτοευαισθησία και φωτοτοξικότητα. Πολλές μελέτες δείχνουν ότι τα parabens εμπλέκονται σε πολυάριθμες περιπτώσεις ευαισθησίας επαφής, που οδηγούν σε γενικευμένες δερματίτιδες και αλλεργίες, αλλά ο μηχανισμός ευαισθητοποίησης των ατόμων από τα parabens δεν είναι γνωστός. Πιθανολογείται ότι ο μηχανισμός κυτταροτοξικότητας τους οφείλεται στην διαταραχή της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης των κυττάρων του δέρματος, που ακολουθείται από απόλωση των μιτοχονδρίων και εξάντληση του κυτταρικού ATP μέσω οξειδωτικής φωσφορυλίωσης (57).

ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ

Η πιο ευρεία απορρυθμιστική δράση των parabens που έχει περιγραφεί, είναι αποτέλεσμα της ιδιότητας τους να συνδέονται με τους ανθρώπινους οιστρογονικούς υποδοχείς και να δρουν μέσω των παραπάνω υποδοχέων ελέγχοντας την γονιδιακή έκφραση και την κυτταρική αύξηση σε οιστρογόνο-εξαρτώμενα κύτταρα.

Επιπλέον έχουν την ικανότητα να ανταγωνίζονται μηχανισμούς που ελέγχονται από ανδρογονικούς υποδοχείς σε ανδρογόνο-εξαρτώμενα κύτταρα και να δρουν ως αναστολείς της σουλφοτρανσφεράσης (SULT).

Άλλες μελέτες δείχνουν ότι τα parabens μπορούν να επηρεάσουν την έκκριση των λυσοσωμικών ενζύμων στα λεμφοκύτταρα, να μειώσουν την μιτοχονδριακή λειτουργία των ηπατοκυττάρων αρουραίων και ότι μπορούν να προκαλέσουν καταστροφή του DNA σε κύτταρα ωοθήκης του κινέζικου Hamster (58, 59)

PARABENS ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Ο Darbre το 2009 πρότεινε την συσχέτιση μεταξύ του καρκίνου του μαστού και της χρησιμοποίησης καλλυντικών που περιέχουν ουσίες με οιστρογονικές και γενοτοξικές ιδιότητες όπως τα parabens, γιατί ως γνωστό τα οιστρογόνα ενοχοποιούνται ως ο κύριος παράγοντας ανάπτυξης των περισσοτέρων τύπων καρκίνου του μαστού (60).

ΔΙΕΘΝΗΣ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΙ ΧΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΒΕΝΩΝ (POLICY)

Η FDA από το 1972 χαρακτήρισε τα κυριότερα parabens ασφαλή ως διατροφικά πρόσθετα σε συγκεντρώσεις μικρότερες του 0.1%. Η χρήση τους ως πρόσθετα στα τρόφιμα πρακτικά επετράπη σε όλο τον κόσμο μετά από την αξιολόγηση τους από την JECFA (FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) (61).

Η EFSA(Ευρωπαϊκό Κέντρο για την Ασφάλεια των τροφίμων) καθόρισε ως αποδεκτή ημερήσια δόση πρόσληψης των parabens βραχείας αλύσου από 0-10 mgr/Kgr σωματικού βάρους. Το propylparaben και το νατριούχο άλας του (E216 και E217) απαγορεύθηκαν από την Ευρωπαϊκή Ένωση για χρήση στα τρόφιμα (1129/2011), ενώ επιτρέπεται η χρήση ως πρόσθετα τροφίμων, τόσο του ethylparaben (E214, E215), όσο και του methylparaben (E218, E219) και των νατριούχων αλάτων αυτών.

Η χρήση των parabens ως συντηρητικά καλλυντικών χρίζει περιορισμών που ποικίλλουν από κράτος σε κράτος. Αρχικά στις ΗΠΑ δεν ετέθη κανένας περιορισμός στη συγκέντρωση των parabens στα καλλυντικά και στα προϊόντα προσωπικής φροντίδας. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση το όριο συγκέντρωσης των parabens στα καλλυντικά είναι κάτω του 0.3%.

Το CIR (Ιδιωτικός Οργανισμός που μελετά την ασφάλεια των συστατικών στα καλλυντικά) στις ΗΠΑ, σε μια ανασκόπηση του 1984 καθόρισε ως όριο συγκέντρωσης των parabens το 25%, στη συνέχεια όμως και μετά την δημόσια κατακραυγή αναθεώρησε (2005, 2008) και εναρμονίστηκε με τα όρια συγκέντρωσης που καθορίζει η Ευρωπαϊκή Ένωση (<0, 3%).

Το 2011 στην Γαλλία ψηφίστηκε ο νόμος Lachand που απαγόρευε την εισαγωγή, παραγωγή και πώληση προϊόντων που περιέχουν φθαλικά, παραβένες και αλκυλικές φαινόλες, αλλά ο νόμος αυτός δεν εφαρμόστηκε ποτέ και οι παραπάνω ουσίες χρησιμοποιούνται κανονικά σύμφωνα με τα όρια της Ευρωπαϊκής Ένωσης (62).

Το 2011 η Δανέζικη Κυβέρνηση έθεσε περιορισμούς στην χρήση ορισμένων parabens (propyl, isopropyl, butyl, isobutyl), απαγορεύοντας την χρήση τους σε προϊόντα για παιδιά κάτω των 3 ετών, πράγμα το οποίο έπραξε και η SCCS (η Επιστημονική Επιτροπή για την ασφάλεια των καταναλωτών (63). Στις ΗΠΑ ακόμα και σήμερα η FDA δεν έχει θέση όρια στην συγκέντρωση των parabens στα καλλυντικά.

3.3. ΤΡΙΚΛΟΖΑΝΗ (TCS)

Η τρικλοζάνη είναι ένας αντιμικροβιακός και αντιμυκητισιακός παράγοντας που από το 1972 και την αρχική του χρήση στα νοσοκομεία, περιέχεται σε πολλά προϊόντα όπως οδοντόκρεμες, σαπούνια, στοματικά διαλύματα, παιχνίδια, αλλά χρησιμοποιείται επίσης σε θεραπείες χειρουργικού καθαρισμού.

Η αποτελεσματική αντιμικροβιακή της δράση, ο κίνδυνος μικροβιοαντοχής και ο πιθανός ρόλος της TCS ως ορμονικός διαταράκτης, παραμένουν υπό αμφισβήτηση.

ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ

Ο χημικός τύπος της TCS είναι $C_{12}H_7Cl_2O_2$ και το όνομα της κατά IUPAC είναι 5-χλωρο-2-(2, 4-διχλωροφαινοξυ)φαινόλη. Είναι οργανική χημική ουσία σε μορφή λευκής συμπαγούς σκόνης με ελαφριά αρωματική φαινολική οσμή. Ανήκει στην κατηγορία των πολυχλωροφαινολών και περιέχει τόσο φαινόλες όσο και αιθέρες στο μόριο της, εκ των οποίων οι πρώτες (φαινόλες) παρουσιάζουν αντιβακτηριδιακές ιδιότητες.

Η τρικλοζάνη είναι διαλυτή στους οργανικούς διαλύτες όπως αιθανόλη, μεθανόλη, διαιθυλαιθέρας και σε ισχυρά αλκαλικά διαλύματα του NaOH, αλλά παρουσιάζει μικρή υδατοδιαλυτότητα (64).

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ

Σε υψηλές συγκεντρώσεις η TCS δρα ως βιοκτόνο, τόσο στο κυτταρόπλασμα, όσο και στην κυτταρική μεμβράνη των μικροοργανισμών, αλλά ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις της στα εμπορικά σκευάσματα έχει βακτηριοστατική δράση, αναστέλλοντας κυρίως την σύνθεση των λιπαρών οξέων των βακτηρίων (65).

Η τρικλοζάνη συνδέεται στο βακτηριακό ένζυμο αναγωγάση πρωτεΐνης φορέας ενουλ-ακυλίου (ENR), αυξάνοντας την συνοχή του ενζύμου για το NAD^+, έχοντας ως αποτέλεσμα την δημιουργία ενός συμπλόκου ENR-NAD^+-TCS, το οποίο δεν μπορεί να συμμετάσχει στην σύνθεση των λιπαρών οξέων των βακτηρίων. Τα λιπαρά οξέα είναι απαραίτητα για την σύνθεση και την ανάπτυξη των κυτταρικών μεμβρανών των βακτηριακών κυττάρων.

Τα ανθρώπινα κύτταρα δεν έχουν το ENR ένζυμο οπότε δεν είναι ευαίσθητα στην τρικλοζάνη.

ΧΡΗΣΕΙΣ

Η τρικλοζάνη ανακαλύφθηκε το 1960 και κατοχυρώθηκε ως ουσία το 1964 (66). Τα πρώτα πειράματα ασφαλείας της ουσίας έγιναν το 1968, ενώ το 1970 χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στα νοσοκομεία ως αντισηπτικό. Από τότε μέχρι σήμερα χρησιμοποιείται ευρέως ως κοινό συστατικό σε σαπούνια, σαμπουάν, αποσμητικά, οδοντόκρεμες, στοματικά διαλύματα και παρασιτοκτόνα σκευάσματα (67).

Η TCS περιέχεται επίσης σε πολλά άλλα καταναλωτικά προϊόντα, όπως σε αναλώσιμα κουζίνας, παιχνίδια, κάλτσες, κλινοσκεπάσματα και σε σακούλες απορριμμάτων (68). Το 1977 η παραγωγή της TCS στις ΗΠΑ ήταν μεταξύ 0.5-1 εκατομμυρίου λιβρών ετησίως, η οποία αυξήθηκε στα 10 εκατομμύρια pounds το 1998 .

Η συνολική παγκόσμια παραγωγή της τρικλοζάνης ήταν το 2011, 14 εκατομμύρια pounds για να μειωθεί στα 10.6 εκατομμύρια το 2015. Μεταξύ του 1999 και του 2000 το 75% των υγρών σαπουνιών περιείχαν TCS, ενώ περιέχονταν δε ποσοστό πάνω από 30%, σε 300 δείγματα σαπουνιών στερεάς μορφής (69), ενώ σύμφωνα με την FDA η τρικλοζάνη ήταν ενεργό συστατικό στο 93% των σαπουνιών σε υγρή, τζέλ και κρεμώδη μορφή την διετία 2008-2010.

Είναι ενδιαφέρον να παρατηρήσουμε ότι σαπούνια που περιέχουν TCS δεν απεδείχθει ότι προσφέρουν περισσότερη προστασία σε θέματα υγιεινής του δέρματος σε σχέση με σκευάσματα που δεν περιέχουν την ουσία (70).

Η ουσία (TCS) χρησιμοποιείται επίσης στην βιομηχανία στην παραγωγή ταινιών μεταφοράς, ως συστατικό των ευκάμπτων σωλήνων, σε βαφές μπάνιου και σε μηχανήματα παγοποιίας ως αντιμικροβιακός παράγοντας.

Στον τομέα της υγείας η TCS χρησιμοποιείται στην χειρουργική αντισηψία και στην υγιεινή των χεριών (1, 10, 71). Η χρήση της TCS στις χειρουργικές μονάδες είναι αποτελεσματική για αντισηψία με ένα ελάχιστο χρόνο επαφής δύο λεπτών (72). Πρόσφατα χρησιμοποιήθηκε τρικλοζάνη 2% για μπάνιο σε ασθενείς που ήταν προσβεβλημένοι δερματικά σε MRSA με επιτυχή αποτελέσματα (73).

Μια άλλη εφαρμογή της TCS στην υγεία είναι η χρησιμοποίηση της στην επένδυση των χειρουργικών ραμμάτων και υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις ότι έτσι αποτρέπεται ο κίνδυνος μόλυνσης στο σημείο της χειρουργικής τομής (74).

Ο WHO, η Αμερικάνικη Εταιρεία Χειρουργικής και η Εταιρεία Χειρουργικών Λοιμώξεων υπογραμμίζουν τα οφέλη στη μείωση του κινδύνου επιμόλυνσης του χειρουργικού τραύματος με την χρήση ραμμάτων επενδυμένων με TCS (75).

ΕΚΘΕΣΗ-ΚΑΤΑΝΟΜΗ-ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

Ο άνθρωπος εκτίθεται στην τρικλοζάνη πλένοντας τα χέρια του, τα δόντια του, πλένοντας πιάτα, κάνοντας μπάνιο και κάνοντας χρήση στοματικών διαλυμάτων που περιέχουν την ουσία. Περιβαλλοντική έκθεση μπορεί επίσης να υπάρξει στην ουσία όταν το νερό και τα ζωικά προϊόντα έρθουν σε επαφή με TCS.

Υπολείμματα TCS σε μετρήσιμα επίπεδα, βρέθηκαν στο γάλα, στο αίμα και στα ούρα θηλαζόντων μητέρων (76).

Η ουσία ανιχνεύθηκε σε συγκεντρώσεις 7.9nM-13.1Mm στα ούρα του 75% του πληθυσμού των ΗΠΑ, μεταξύ των ετών 2003-2004 (77).

Σε μια σχετικά πρόσφατη έρευνα (2016) στην Κίνα το 80% επί 209 συμμετεχόντων παρουσίασαν ανιχνεύσιμα επίπεδα TCS στα ούρα τους (78)

Στην Αυστραλία σε μια έρευνα μεταξύ 2012 και 2013 ανιχνεύθηκε TCS σε συγκεντρώσεις από 0.08-0.71μM, σε όλα τα 2400 δείγματα ούρων (79).

Σε όλες τις παραπάνω μελέτες, οι γυναίκες παρουσιάζουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις TCS από ότι οι άνδρες και ειδικότερα αυτές που βρίσκονται σε ενδιαφέρουσα(80), με την ηλικιακή ομάδα των 20 ετών να παρουσιάζει τα μεγαλύτερα ποσοστά (78).

Σε μια άλλη έρευνα που διεξήχθη μεταξύ 2007-2009 σε έγκυες γυναίκες στην Νέα Υόρκη, ανιχνεύθηκε TCS στο 100% των δειγμάτων ούρων από αυτές αλλά και στο 51% των δειγμάτων αίματος από τον ομφάλιο λώρο των νεογέννητων (81).

Όλα τα παραπάνω δείχνουν ότι οι καταναλωτές παγκοσμίως εκτίθενται στην τρικλοζάνη και αυτή απορροφάται πολύ εύκολα από το σώμα τους. Η απορρόφηση της TCS και η είσοδος της στην αιματική κυκλοφορία μπορεί να γίνει με επαφή της ουσίας από την στοματική κοιλότητα μετά από κατάποση αυτής και εξ ’επαφής της από το δέρμα. Η τρικλοζάνη απορροφάται άμεσα από το δέρμα κυρίως λόγω της λιποφιλίας της (82).

Όταν 1.6mg TCS εφαρμοσθεί σε δέρμα ποντικού, η συγκέντρωση της φθάνει στην μεγίστη τιμή σε 12-18 ώρες μετά την έκθεση (83), ενώ στον άνθρωπο περίπου το 12% της συγκέντρωσης της ουσίας παραμένει στο ανθρώπινο δέρμα in vitro 24 ώρες μετά την επαφή (82), πράγμα το οποίο αποδεικνύει ότι η αντιμικροβιακή δράση της ουσίας στο ανθρώπινο δέρμα διαρκεί περισσότερο από ότι στο ποντίκι.

Η τρικλοζάνη που απορροφάται μετά από κατάποση φτάνει το μέγιστο της συγκέντρωσης της στο πλάσμα μετά από 1-3 ώρες (84). Το κύριο όργανο εναπόθεσης

της ουσίας στο σώμα είναι το ήπαρ, ακολουθούμενο από τον λιπώδη ιστό, ενώ ο εγκέφαλος είναι το όργανο με την χαμηλότερη συγκέντρωση στην ουσία (85).

Όσον αφορά την κατανομή της ουσίας μετά από την εφαρμογή της στο δέρμα αρουραίου, αυτή ανιχνεύθηκε και στους 15 ιστούς που μελετήθηκαν, 12 ώρες μετά την επαφή της με το δέρμα, με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στην χοληδόχο και με μικρότερες συγκεντρώσεις στους όρχεις, στον θύμο αδένα και στον εγκέφαλο των ζώων (86). Σε αρσενικούς αρουραίους υψηλές συγκεντρώσεις TCS εμφανίζει η επιδιδυμίδα.

Μετά την απορρόφηση της η τρικλοζάνη μεταβολίζεται κυρίως στο ήπαρ διαμέσω αντιδράσεων του γλυκουρονικού οξέος και του σουλφονικού άλατος στην υδροξυλική ομάδα της τρικλοζάνης. Τα σύμπλοκα TCS-σουλφονικό που αποτελούν τους κύριους μεταβολίτες της ουσίας αποβάλλονται με τα ούρα και τα κόπρανα, με κύρια οδό απέκκρισης τα ούρα.

Μετά από κατάποση της ουσίας η απέκκριση της από τα ούρα αυξάνεται μέσα σε 24 ώρες, ενώ 4 ημέρες μετά την έκθεση στην ουσία, το 83% αυτής έχει αποβληθεί με τα ούρα (84).

ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Πολλές έρευνες αναφέρουν την τρικλοζάνη ως ενδοκρινικό διαταράκτη σε πολλά ζωικά είδη συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου (87). Ψάρια εκτεθειμένα στην ουσία παρουσίασαν μειωμένη ποσότητα σπέρματος (RautandAngus 2010), ενώ σε αρουραίους που χορηγήθηκε TCS με την τροφή παρουσιάστηκαν μειωμένα επίπεδα προγεστερόνης, οιστραδιόλης και τεστοστερόνης (86).

Η τρικλοζάνη επίσης προκαλεί μείωση στα επίπεδα της θυροξίνης (T4) σε θηλυκούς αρουραίους, σε νέους αρσενικούς αλλά και σε κουτάβια (87), ενώ πτώση των τιμών της T4 αλλά και της T3 μετά από την έκθεση στην ουσία αναφέρθηκε και σε ποντίκια (88).

Επιδημιολογικές μελέτες σε ανθρώπους ανακάλυψαν συσχέτιση ανάμεσα στην μείωση των επιπέδων T4 στην μητέρα που εκτέθηκε στην ουσία και ανωμαλίες στις γνωστικές λειτουργίες του παιδιού (89,90), παρ' όλα αυτά μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία που να αποδεικνύουν αυτή τη συσχέτιση.

Μια πολύ ενδιαφέρουσα μελέτη αναφέρει ότι η αύξηση των συγκεντρώσεων της TCS στα ούρα σχετίζεται με αύξηση των επιπέδων της T3 σε εφήβους μεταξύ 12 και 19 ετών (91).

Η τρικλοζάνη ενοχοποιείται και για καρκινογένεση. Στο ποντίκι η TCS ενισχύει τον πολλαπλασιασμό των ηπατικών κυττάρων και την δημιουργία δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), προάγοντας έτσι τον καρκίνο του ήπατος (92).

Υπάρχουν αρκετές μελέτες που ενισχύουν την συσχέτιση μεταξύ αυξημένων συγκεντρώσεων της ουσίας στα ούρα και αυξημένης παραγωγής ROS που αυξάνουν το οξειδωτικό στρες στον οργανισμό ενισχύοντας την πιθανότητα καρκινογένεσης.

Πολλές μελέτες in vitro προκρίνουν ότι η τρικλοζάνη προκαλεί καρκίνο (93, 94), ενώ αντίθετα σε άλλες, οι ερευνητές παραθέτουν στοιχεία που προτείνουν ότι η ουσία μπορεί να αναστείλει την καρκινογένεση (95, 96).

Ο Sadowski και η ομάδα του έδειξε ότι η τρικλοζάνη είναι περισσότερο κυτταροτοξική στα κακοήθη κύτταρα του προστάτη από ότι στα μη κακοήθη.

Η TCS επίσης αναφέρθηκε ότι μειώνει την καρδιαγγειακή λειτουργία σε ποντίκια σε συγκεντρώσεις 12.5-25mgr/Kgr/Σ.Β, επιδρώντας στον μεταβολισμό του ασβεστίου στα καρδιακά μυϊκά κύτταρα αλλά και στον γραμμωτό μυϊκό ιστό (97).

Σχετικά πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες συσχετίζουν την τρικλοζάνη με αναπαραγωγικές και αναπτυξιακές ανωμαλίες (98). Ο Wang et al ανέφερε μια συσχέτιση μεταξύ υψηλών συγκεντρώσεων TCS στα ούρα και υψηλών ποσοστών αυτόματων αποβολών (88). Αύξηση της συγκέντρωσης της TCS στα ούρα πάνω από 248Nm σχετίζεται με μια αύξηση του χρόνου εγκυμοσύνης που αποτελεί έναν από τους δείκτες της μειωμένης γονιμότητας (99).

Πολλοί ερευνητές έδειξαν μια συσχέτιση μεταξύ συγκεντρώσεων TCS στα ούρα και μειωμένη περίμετρο κεφαλής στα αγόρια (100), ενώ άλλες μελέτες αναφέρουν ότι η αύξηση της ουσίας στα ούρα είναι αντιστρόφως ανάλογη με την περίμετρο της κεφαλής, το βάρος και το ύψος του νεογέννητου, ανεξάρτητα από το φύλο (98).

Παρατηρήθηκε επίσης μειωμένος δείκτης μάζας σώματος (BMI) στα νεογέννητα που έχουν υψηλή συγκέντρωση TCS στα ούρα τους (96).

Αύξηση των επιπέδων της TCS σε ορισμένες ημέρες της κύησης, μειώνει την πιθανότητα εμφύτευσης του εμβρύου (101), ενώ σε εγκύους αρουραίους αύξηση στην έκθεση της ουσίας προκαλεί αύξηση στις αυτόματες αποβολές, ενώ στον πλακούντα ανευρίσκονται ίχνη της ουσίας (102).

Πολλές επιδημιολογικές μελέτες σχετίζουν την τρικλοζάνη με αλλεργίες και άσθμα (103, 104).

Ο Spanier et al 2014 σε μια μελέτη αναφέρει ότι αυξημένα επίπεδα της ουσίας μπορεί να οδηγήσουν σε αύξηση του κινδύνου για άσθμα, αλλεργίες και τροφικές δυσανεξίες (103).

Αρκετές μελέτες δείχνουν ότι η TCS σε επαφή με το δέρμα προκαλεί δερματικό ερεθισμό και αλλεργική αντίδραση (105). Επιπλέον αναφέρθηκε ότι η TCS προκαλεί ανοσοκαταστολή των NK^T κυττάρων αναστέλλοντας τα λυτικά ένζυμα αυτών (106).

Ο μηχανισμός που προκαλεί την αλλεργική αντίδραση σε επαφή με το δέρμα με την ουσία, βασίζεται στο γεγονός ότι η TCS μειώνει την αποκοκκιοποίηση των σιτευτικών κυττάρων με αποτέλεσμα την απελευθέρωση μεγάλης ποσότητας ισταμίνης.

ΔΙΕΘΝΕΙΣ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΙ ΧΡΗΣΗΣ (POLICY)

Παρά την ευρεία χρήση της, η τρικλοζάνη αποδείχθηκε ότι προκαλεί μικροβιοαντοχή, πράγμα που μειώνει την αποτελεσματικότητα της στη χρήση της ως αντισηπτικό. Έρευνες έδειξαν επίσης ότι η έκθεση σε TCS, μπορεί να προκαλέσει μικροβιοαντοχή και έναντι άλλων αντιμικροβιακών παραγόντων (107).

Αυξημένη αντοχή μικροβίων έναντι της TCS συσχετίστηκε με αύξηση στην μικροβιοαντοχή έναντι άλλων αντιβιοτικών σε κλινικό πεδίο (108).

Για τους παραπάνω λόγους, από το Σεπτέμβριο του 2016 απαγορεύτηκε από την FDA των ΗΠΑ η χρήση σαπουνιών (κλασσικών, υγρών, τζέλ, κρεμοσάπουνων), που περιέχουν την ουσία, αλλά επιτρέπεται η χρήση άλλων προϊόντων υγιεινής που περιέχουν τρικλοζάνη (οδοντόκρεμες, στοματικά διαλύματα).

Η Ευρωπαϊκή Ένωση απαγόρεψε από τον Ιανουάριο του 2017 την χρήση όλων των προϊόντων υγιεινής που περιέχουν τρικλοζάνη (Junker 2016. 109). Στις ΗΠΑ οι κατασκευαστές προϊόντων που περιέχουν την ουσία θα πρέπει να αναγράφουν στο προϊόν την ουσία, ενώ το ίδιο ισχύει και στην Ευρώπη για την χρήση της ως συντηρητικό καλλυντικών και όχι ως αντιμικροβιακός παράγοντας. Η τρικλοζάνη παραμένει σε χρήση στα υγρά αντισηπτικά μαντηλάκια.

3.4.ΔΙΣΦΑΙΝΟΛΗ Α(BPA)

Η δισφαινόλη Α (BPA) είναι μια οργανική συνθετική ουσία με χημικό τύπο $(CH3)_2$ C $(C2H2OH)_2$ και μοριακό βάρος 228.29 g/mol, που ανήκει στην ομάδα των παραγώγων της διμεθυλαμίνης με δυο υδροξυφαινολικές ομάδες. Είναι άχρωμη στερεά ουσία διαλυτή στους οργανικούς διαλύτες, αλλά ελάχιστα υδατοδιαλυτή. Παρασκευάστηκε για πρώτη φορά το 1891 από τον Ρώσο χημικό Aleksandr Dianin.

Η BPA είναι πρόδρομη ουσία πολύ σημαντικών πλαστικών, κυρίως πολυκαρβονικών και εποξειδίων των ρητίνων. Τα πλαστικά που βασίζονται στην BPA είναι σκληρά,

διαυγή και χρησιμοποιούνται σε μια ευρεία γκάμα καταναλωτικών προϊόντων, όπως μπουκάλια νερού, μπιμπερόν, τάπερ, CD και DVD.

Οι επόξυ-ρητίνες που παράγονται από την δισφαινόλη Α χρησιμοποιούνται στην κατασκευή σωλήνων ύδατος και ως εσωτερική επένδυση κυτίων τροφών και ποτών στην κονσερβοποιία, καθώς και στην κατασκευή του θερμικού χαρτιού των ταμειακών μηχανών (110). Το 2015 υπολογίζεται ότι παρήχθησαν παγκοσμίως 4 εκατομμύρια τόνοι προϊόντων από BPA.

ΧΗΜΕΙΑ

Η BPA αντιδρώντας με φωσγένιο με τη συμμετοχή του υδροχλωρικού οξέος σχηματίζει τα πολυκαρβονικά. Περίπου 3.6 εκατομμύρια τόνοι BPA καταναλώνονται ετησίως για την παραγωγή αυτών των πολυμερών που είναι εστέρες της BPA (111). Η BPA μέσω αντιδράσεων που αρχίζουν με την αλκαλοποίηση της με επιχλωρυδρίνη οδηγεί στην παραγωγή των ρητινών με κυριότερες τις εποξυ-ρητίνες (112). Η BPA αποτελεί πρόδρομη ουσία και για άλλες ουσίες. Με την προσθήκη αζώτου στην BPA παράγεται η δινιτροδισφαινόλη Α, ενώ η προσθήκη βρωμίου παράγει την τετραβρωμοδισφαινόλη Α(TBBPA), ουσία που χρησιμοποιείται για πυροπροστασία (113).

Φάρμακα που χρησιμοποιούνται στην θεραπεία για τον καρκίνο του προστάτη όπως το EPI-001 ως αναστολείς των υποδοχέων των ανδρογόνων, παράγονται χρησιμοποιώντας την BPA.

ΧΡΗΣΕΙΣ

Το 2003 στις ΗΠΑ η κατανάλωση της BPA ήταν 856.000 τόνοι, εκ των οποίων το 75% χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή πολυκαρβονικών πλαστικών και το 21% για την παραγωγή εποξύ-ρητίνων.

Στις ΗΠΑ λιγότερο από το 5% της παραγόμενης BPA χρησιμοποιείται για παραγωγή προϊόντων που έρχονται σε επαφή με τρόφιμα, αλλά παραμένει σε χρήση στην βιομηχανία κονσερβών και σε αυτή της παραγωγής θερμοταινιών (114, 115).

ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

Ο οργανισμός εκτίθεται στην δισφαινόλη από τα δοχεία τροφών και τα κυτία ποτών, όταν αυτά θερμανθούν, ή όταν σπάσουν. Άλλες πιθανές οδοί έκθεσης στην ουσία

είναι ο αέρας, η σκόνη, το νερό, οι αποδείξεις των ταμειακών μηχανών καθώς και τα μελάνια των εκτυπωτών (116).

Πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι πάνω από το 93% του πληθυσμού περιέχει μια ποσότητα BPA στο σώμα του, με τα μωρά και τα παιδιά να προσλαμβάνουν ημερησίως μεγαλύτερες ποσότητες ουσίας, γιατί απλά τρώνε, πίνουν και αναπνέουν περισσότερο από τους ενήλικες.

Ο μεταβολισμός της ουσίας γίνεται κυρίως στον γαστρεντερικό σωλήνα και στο ήπαρ. Κατά την διάρκεια της πρώτης φάσης του μεταβολισμού σχηματίζεται BPA-γλυκουρονίδη μετά από σύνδεση του γλυκουρονικού οξέος στην BPA διαμέσου του ενζύμου (UGT), ενώ στην δεύτερη φάση του μεταβολισμού της, που καταλύεται από το ένζυμο sulfotransferase σχηματίζεται BPA-Sulfate σε αρουραίους και ανθρώπους (117). Και οι δύο μεταβολίτες της BPA, τόσο ο BPA-Sulfate, όσο και ο BPA-glucoronide, αποβάλλονται με τα ούρα.

ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Η δισφαινόλη Α είναι ένα ξενοοιστρογόνο, δηλαδή είναι μια ουσία που μιμείται τις ιδιότητες των οιστρογόνων, πράγμα το οποίο οφείλεται στην ομοιότητα των φαινολικών ομάδων της BPA και της οιστραδιόλης.

Είναι γνωστό ότι ουσίες που περιέχουν στο μόριο τους φαινολικές ομάδες όπως αυτές της δισφαινόλης Α παρουσιάζουν οιστρογονικές δράσεις. Η BPA έτσι, θεωρείται ένα χημικό ξενοοιστρογόνο και ενδοκρινικός διαταράκτης (ED) (118).

Η BPA δεσμεύει αμφότερους τους πυρηνικούς οιστρογονικούς υποδοχείς (ERs) Era και ERb. Η ουσία μπορεί να μιμηθεί τόσο την δράση των οιστρογόνων, όσο και να ανταγωνιστεί τη δράση αυτών, δείχνοντας με αυτό τον τρόπο ότι η BPA είναι ένας εκλεκτικός τροποποιητής των υποδοχέων των οιστρογόνων (SERM).

Σε υψηλές συγκεντρώσεις η BPA δεσμεύει και δρα επίσης ως ανταγωνιστής του υποδοχέα των ανδρογόνων (AR), με αποτέλεσμα να επιδρά στην διαδικασία παραγωγής των στεροειδών από τα κύτταρα του Leydig στους όρχεις.

Σε μελέτες που έγιναν σε ζώα η BPA συσχετίστηκε με ανωμαλίες της αναπαραγωγής, με ορμονικές μεταβολές, με διόγκωση του προστάτη αδένα, με ανωμαλίες στον αριθμό των χρωμοσωμάτων σε αυγά και με προκαρκινικές αλλοιώσεις στον μαζικό αδένα και στον προστάτη (119).

Η ουσία έχει συσχετιστεί επίσης με παχυσαρκία και ινσουλινοαντοχή, συνθήκες που οδηγούν στην ανάπτυξη διαβήτη.

Σε μια μελέτη του 2014 σε αρσενικά κουνέλια στα οποία χορηγούνταν η ουσία καθημερινά δια του στόματος, παρατηρήθηκε μείωση της τεστοστερόνης και της οιστραδιόλης του ορού, ενώ παρατηρήθηκε μεγάλη αύξηση της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης που μεταφέρει αυτές τις ορμόνες στο αίμα σε ανενεργή μορφή (SHBG), ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις BPA στο σιτηρέσιο των κουνελιών, παρουσιάσθηκε αξιοσημείωτη μείωση, τόσο της FSH, όσο και της LH των κουνελιών. Στην ίδια έρευνα φαίνεται ότι η BPA ανάλογα με την συγκέντρωση της είναι και κυτταροτοξική όσον αφορά τους όρχεις των κουνελιών. Από τα αποτελέσματα της έρευνας αποδεικνύεται, ότι προκαλεί μείωση της συγκέντρωσης και της κινητικότητας του σπέρματος, καθώς και ανωμαλίες στην μορφολογία των κυτταρικών του στοιχείων. Αυξημένες συγκεντρώσεις BPA στην διατροφή των κουνελιών προκαλούν μείωση της συγκέντρωσης της ινσουλίνης και θεαματική αύξηση της συγκέντρωσης της γλυκόζης στον ορό του αίματος (120) .

Τα τρωκτικά εμφανίζουν πολύ χαμηλή τοξικότητα έναντι της ουσίας (LD_{50} 504g/Kgr/Σ.Β). Σε έρευνες της FDA σε τρωκτικά βρέθηκε ότι το ποσοστό της ουσίας που μεταφέρεται από την μητέρα στα παιδιά είναι ελάχιστο.

ΔΙΕΘΝΕΙΣ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΙ ΧΡΗΣΗΣ (POLICY)

Λόγω της δράσης της BPA ως ξενοορμόνης και ως ενδοκρινικού διαταράκτη, οι κυβερνήσεις ερευνούν από το 2008 για την ασφάλεια της χρήσης της ουσίας και των προϊόντων της. Παρήχθησαν πλαστικά χωρίς BPA, χρησιμοποιώντας κυρίως δισφαινόλη F και BPAS, αλλά δεν υπάρχει σιγουριά όσον αφορά την ασφάλεια αυτών.

Το 1997 για πρώτη φορά αναφέρθηκαν οι παρενέργειες της έκθεσης σε BPA χαμηλής συγκέντρωσης σε ζώα εργαστηρίου. Πρόσφατες μελέτες άρχισαν να ερευνούν πιθανή συσχέτιση προβλημάτων υγείας από την έκθεση σε BPA κατά την διάρκεια της κύησης και της ανάπτυξης.

Από το 2014 οι ερευνητές βρίσκονται σε μια συνεχή αντιπαράθεση για την ασφάλεια στην χρήση της BPA και των προϊόντων της.

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας των Τροφίμων (EFSA) η δισφαινόλη Α, δεν αποτελεί κίνδυνο για την υγεία των καταναλωτών ανεξαρτήτου ηλικίας στα χρησιμοποιούμενα επίπεδα της. (121).

Το 2017 όμως ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Χημικών Προϊόντων συμπέρανε ότι η BPA, θα πρέπει να καταχωρηθεί ως ουσία υψηλού κινδύνου για την υγεία, λόγω των ιδιοτήτων της ως ενδοκρινικός διαταράκτης (122).

Το 2012 η FDA απαγόρεψε την ουσία από τα μπιμπερόν. Η ενδοκρινολογική εταιρεία των ΗΠΑ ανακοίνωσε βάσει ερευνών της, πιθανούς κινδύνους για την υγεία του ανθρώπου, των ζώων και του περιβάλλοντος από την χρήση της BPA (123)

Σε μια ανασκόπηση της βιβλιογραφίας του 2016 υπήρξε μια επιστημονική αντιπαράθεση όσον αφορά τη συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης στην ουσία και των προβλημάτων υγείας που αφορούν τόσο την αναπαραγωγή, όσο και την ανάπτυξη, αλλά και την αύξηση της πιθανότητας του μεταβολικού συνδρόμου (124).

Τον Ιούλιο του 2019 η Ευρωπαϊκή Ένωση αποφάσισε να κατατάξει την δισφαινόλη Α, στην λίστα των ουσιών υπό υψηλή επιτήρηση, βασιζόμενη σε έρευνες που αφορούν τα προβλήματα που προκαλεί η ουσία στην ανθρώπινη αναπαραγωγή. (125).

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Σκοπός αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας, είναι η διερεύνηση σε κυτταρικό επίπεδο των πιθανών αλλοιώσεων σε κουνέλια, έπειτα από συνδυαστική δωδεκάμηνη έκθεση τους στις παρακάτω ουσίες:

1. Γλυφοσάτη (glyphosate) –ROUNDUP
2. Δισφαινόλη Α (Bisphenol A, BPA)
3. Παραβένες ή Παραβένια (parabens, PBS (και συγκεκριμένα μέθυλπαραβένιο (metthylparaben, MePB), προπυλπαραβένιο (propylparaben, PrPB) και βουτυλπαραβένιο (butylparaben, BuPB).
4. Τρικλοζάνη (triclosan, TCS).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Είκοσι κουνέλια (10 αρσενικά και 10 θηλυκά), ηλικίας τριών μηνών και βάρους περίπου τριών κιλών το καθένα, χωρίστηκαν σε πέντε ομάδες (τέσσερα ζώα σε κάθε ομάδα 2 αρσενικά και 2 θηλυκά) και φιλοξενήθηκαν σε μεταλλικά κλουβιά.

Μετά το πέρας μιας εβδομάδος εγκλεισμού των ζώων στο νέο τους περιβάλλον, ξεκίνησε η χορήγηση των ουσιών ενδιαφέροντος.

Συγκεκριμένα η πρώτη ομάδα αποτέλεσε την ομάδα των μαρτύρων (control) και έλαβε κανονική δίαιτα (νερό, αραβοσιτέλαιο).

Στην δεύτερη και τρίτη ομάδα χορηγήθηκε χαμηλή και υψηλή δόση αντίστοιχα, μείγματος δισφαινόλης, παραβένων, τρικλοζάνης, και καθαρής γλυφοσάτης, ενώ στην τέταρτη και στην πέμπτη, χορηγήθηκε υψηλή δόση καθαρής και εμπορικής μορφής γλυφοσάτης αντίστοιχα (ROUNDUP).

Οι ουσίες αφού διαλύθηκαν σε 5% αιθανόλη/νερό, χορηγήθηκαν μια φορά την ημέρα, πέντε ημέρες ανά εβδομάδα, για δώδεκα συνεχόμενους μήνες.

Το παρακάτω πείραμα πραγματοποιήθηκε στο τμήμα Τοξικολογίας της Ιατρικής & Φαρμακευτικής σχολής του Πανεπιστημίου της Κραϊόβα (Ρουμανία), και αποτελεί μέρος ενός ευρύτερου πειραματικού πρωτοκόλλου με περισσότερα πειραματόζωα, που εξετάζει πέρα από τις κυτταρολογικές αλλοιώσεις και άλλους βιοδείκτες.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΟΜΑΔΩΝ

ΠΟΥ ΕΞΕΤΑΣΤΗΚΑΝ ΚΥΤΤΑΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ

- ΟΜΑΔΑ 1: Κανονική δίαιτα (νερό, αραβοσιτέλαιο) 2 αρσενικά -2 θηλυκά.
- ΟΜΑΔΑ 1: Κανονική δίαιτα (νερό, αραβοσιτέλαιο αφού προστεθεί 5% αιθανόλη/νερό) 2 αρσενικά -2 θηλυκά.
- ΟΜΑΔΑ 2: Χαμηλή δόση μείγματος ουσιών (BPA/PBS/TCS/glyphosate) 2 αρσενικά -2 θηλυκά.
- ΟΜΑΔΑ 3: Υψηλή δόση μείγματος (BPA/PBS/TCS/ glyphosate) 2 αρσενικά -2 θηλυκά.
- ΟΜΑΔΑ 4: Υψηλή δόση γλυφοσάτης καθαρής μορφής 2 αρσενικά -2 θηλυκά.
- ΟΜΑΔΑ 5: Υψηλή δόση γλυφοσάτης στην εμπορική μορφή (ROUNDUP) 2 αρσενικά -2 θηλυκά.

Οι δοσολογίες είναι βασισμένες στα όρια που έχουν καθορισθεί από την Ευρωπαϊκή Αρχή για την ασφάλεια των τροφίμων (EFSA) και από την αντίστοιχη υπηρεσία του Καναδά.

Σύμφωνα με την EFSA, η επιτρεπόμενη ημερήσια δόση (ADI) για την BPA (δισφαινόλη Α) είναι 0.004mg/Kg/Σ.Β/day, για το BuPB 0.5mg/Kg/Σ.Β/day, για το σύνολο των παραβένων (MePB, PrPB) ως 0-10mg/Kg/Σ.Β (θεωρήθηκε 5mg/Kg/Σ.Β για το μεθυλπαραβένιο και 5mg/Kg/Σ.Β/day για το προπυλπαραβένιο), ενώ για την γλυφοσάτη είναι 0.5mg/Kg/Σ.Β/day.

Η Κυβέρνηση του Καναδά όρισε το ADI για την τρικλοζάνη (TCS), ως 0.08 mg/KgΣ.Β/day.

Η χαμηλή δόση των χορηγούμενων διαλυμάτων περιέχει ποσότητα από κάθε ένωση ίση με το ADI της (επιτρεπόμενη ημερήσια δόση), ενώ η υψηλή δόση ίση με το δεκαπλάσιο του ADI της (10xADI).

Όλα τα ζώα παρακολουθήθηκαν και εξετάστηκαν καθημερινά για πιθανά σημάδια νοσηρότητας ή θνησιμότητας. Η παρακολούθηση περιελάμβανε, εξέταση του τριχώματος, των βλεννογόνων (οφθαλμικός, ρινικός και στοματικός), των εκκρίσεων και των απεκκρίσεων, καθώς και παρατήρηση συμπεριφοράς των ζώων. Η κατανάλωση τροφής και νερού καταγράφηκε επίσης καθημερινά.

Συγκεκριμένα, έγινε σύγκριση της κατανάλωσης των ομάδων χορήγησης των ουσιών (ομάδες 2, 3, 4, 5) σε σχέση με την κατανάλωση ομάδας 1 (των μαρτύρων), για τυχόν διαφορές.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Όλα τα ζώα θανατώθηκαν στο τέλος του πειράματος, με νατριούχο φαινοβαρβιτάλη (εμπορικό σκεύασμα Dolethal σε δόση 5ml/5Kgr/Σ.Β), υπό αναισθησία με υποδόρια ένεση διαλύματος ξυλαζίνης, κεταμίνης σε αναλογία 2/1 (εμπορικά σκευάσματα Xylapan/Narketan) και νεκροτομήθηκαν.

Ολοκληρωμένη μακροσκοπική ιατροδικαστική εξέταση πραγματοποιήθηκε, στην καρδιά, στο ήπαρ, στους νεφρούς, στον θυρεοειδή αδένα και στις γονάδες (ωοθήκες, όρχεις).

Τα ανωτέρω πραγματοποιήθηκαν στο τμήμα Τοξικολογίας της Ιατρικής & Φαρμακευτικής σχολής του Πανεπιστημίου της Κραϊόβα (Ρουμανία), κατόπιν εγκρίσεως από την Επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας του ίδιου Πανεπιστημίου, με αριθμό πρωτοκόλλου 4 (17.01.2020).

Στη συνέχεια τα υπό εξέταση όργανα τοποθετήθηκαν σε ξηρό πάγο και απεστάλησαν στο Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής και Κυτταρολογίας του ΠαΓΝΗ.

Κατόπιν διενέργειας εγκάρσιων τομών όλων των ανωτέρω οργάνων, ελήφθησαν δια της χρήσεως αντικειμενοφόρου πλάκας αποτυπώματα (μέθοδος touch-prep).

Τα ανωτέρω αποτυπώματα μονιμοποιήθηκαν σε διάλυμα αιθυλικής αλκοόλης 60% και στη συνεχεία εχρώσθησαν με χρώση Παπανικολάου (Papstain).

Η χρώση Παπανικολάου περιλαμβάνει τις χρωστικές αιματοξυλίνη, ηωσίνη και πολυχρώμ 50 (Polychrom 50).

Στη συνέχεια ακολούθησε η εκτίμηση των κυτταρολογικών ευρημάτων, κατόπιν παρατήρησης των επιχρισμάτων σε οπτικό μικροσκόπιο Nikon Eclypse E400 σε μεγέθυνση x200 και x400.

ΕΥΡΗΜΑΤΑ (RESULTS)

ΟΜΑΔΑ 1 ΜΑΡΤΥΡΕΣ (2 Θήλεα F& 2 Άρρενα M)
Κανονική δίαιτα, νερό, αραβοσιτέλαιο, αφού προστεθεί 5% αιθανόλη-νερό.

1 F1	
Καρδιά	Αρκετά μεσοθηλιακά κύτταρα περικαρδίου και αρκετά μυοκαρδίου Κ.Φ.
Ήπαρ	Αρκετά ηπατικά κύτταρα Κ.Φ.
Νεφροί	Αραιά επιθηλιακά κύτταρα ουροφόρων σωληναρίων Κ.Φ.
Θυρεοειδής	Αραιά θυλακικά κύτταρα Κ.Φ.
Ωοθήκες	Άφθονα επιθηλιακά κύτταρα Κ.Φ.

1 F2	
Καρδιά	Αρκετά μεσοθηλιακά κύτταρα περικαρδίου και αρκετά μυοκαρδίου Κ.Φ.
Ήπαρ	Αρκετά ηπατικά κύτταρα Κ.Φ.
Νεφροί	Αρκετά επιθηλιακά κύτταρα ουροφόρων σωληναρίων Κ.Φ.
Θυρεοειδής	Αραιά θυλακικά κύτταρα Κ.Φ.
Ωοθήκες	Αρκετά επιθηλιακά κύτταρα Κ.Φ.

1 M1	
Καρδιά	Αραιά μεσοθηλιακά κύτταρα περικαρδίου και μυοκαρδίου Κ.Φ.
Ήπαρ	Αρκετά ηπατικά κύτταρα Κ.Φ.
Νεφροί	Αραιά επιθηλιακά κύτταρα ουροφόρων σωληναρίων Κ.Φ.
Θυρεοειδής	Αραιά θυλακικά κύτταρα Κ.Φ.
Όρχεις	Άφθονα κύτταρα Sertoli, Leydig και σπερμογόνια Κ.Φ.

1 M2	
Καρδιά	Αραιά μεσοθηλιακά κύτταρα περικαρδίου και μυοκαρδίου Κ.Φ.
Ήπαρ	Αραιά ηπατικά κύτταρα Κ.Φ.
Νεφροί	Αρκετά επιθηλιακά κύτταρα ουροφόρων σωληναρίων Κ.Φ.
Θυρεοειδής	Αραιά θυλακικά κύτταρα Κ.Φ.
Όρχεις	Άφθονα κύτταρα Sertoli, Leydig και σπερμογόνια Κ.Φ.

ΟΜΑΔΑ 2 (2 Θήλεα F& 2 Άρρενα M)
Χαμηλή δόση μίγματος (BPA/PBs/TCS/glyphosate)

2 F1	
Καρδιά	Αραιά μεσοθηλιακά κύτταρα, ερυθρά Κ.Φ.
Ήπαρ	Αρκετά ηπατοκύτταρα Κ.Φ.
Νεφροί	Άφθονα επιθηλιακά κύτταρα ουροφόρων σωληναρίων και εκμαγεία.
Θυρεοειδής	Αραιά θυλακικά κύτταρα Κ.Φ.
Ωοθήκες	Άφθονα επιθηλιακά κύτταρα Κ.Φ.

2 F2	
Καρδιά	Άφθονα μεσοθηλιακά κύτταρα, ερυθρά Κ.Φ.
Ήπαρ	Αρκετά ηπατοκύτταρα Κ.Φ.
Νεφροί	Αρκετά επιθηλιακά κύτταρα ουροφόρων σωληναρίων και εκμαγεία.
Θυρεοειδής	Αραιά θυλακικά κύτταρα Κ.Φ.
Ωοθήκες	Αραιά επιθηλιακά κύτταρα και ερυθρά.

2M1	
Καρδιά	Αραιά μεσοθηλιακά κύτταρα και αραιά κύτταρα μυοκαρδίου Κ.Φ.
Ήπαρ	Αραιά ηπατικά κύτταρα με ήπια εκφύλιση.
Νεφροί	Άφθονα επιθηλιακά κύτταρα ουροφόρων σωληναρίων, εκμαγεία, φλεγμονή.
Θυρεοειδής	Αραιά θυλακικά κύτταρα με ήπια εκφύλιση.
Όρχεις	Άφθονα κύτταρα Sertoli, Leydig και σπερμογόνια με ήπια εκφύλιση.

2M2	
Καρδιά	Αραιά μεσοθηλιακά κύτταρα μυοκαρδίου Κ.Φ.
Ήπαρ	Αραιά ηπατοκύτταρα με ήπια εκφύλιση, ιστιοκύτταρα.
Νεφροί	Άφθονα επιθηλιακά κύτταρα ουροφόρων σωληναρίων, εκμαγεία, φλεγμονή.
Θυρεοειδής	Αραιά θυλακικά κύτταρα με ήπια εκφύλιση.
Όρχεις	Άφθονα κύτταρα Sertoli, Leydig και σπερμογόνια με ήπια εκφύλιση.

ΟΜΑΔΑ 3 (2 Θήλεα F& 2 Άρρενα M)
Υψηλή δόση μίγματος (BPA/PBs/TCS/glyphosate)

3 F1	
Καρδιά	Αρκετά μεσοθηλιακά κύτταρα περικαρδίου, ερυθρά.
Ήπαρ	Άφθονα ηπατοκύτταρα υπερπλασία, απώλεια γλυκογόνου, εκφύλιση.
Νεφροί	Άφθονα επιθηλιακά κύτταρα και εκμαγεία ουροφόρων σωληναρίων, φλεγμονή.
Θυρεοειδής	Άφθονα θυλακικά κύτταρα, κολλοειδές, μικροθηλώδεις ομάδες.
Ωοθήκες	Άφθονα επιθηλιακά κύτταρα, υπερπλασία, άφθονα ερυθρά.

3 F2	
Καρδιά	Αρκετά μεσοθηλιακά κύτταρα περικαρδίου.
Ήπαρ	Άφθονα ηπατοκύτταρα, υπερπλασία.
Νεφροί	Άφθονα εκμαγεία ουροφόρων σωληναρίων, ρυπαρότης, ερυθρά.
Θυρεοειδής	Αρκετά θυλακικά κύτταρα, μικροθηλώδεις ομάδες.
Ωοθήκες	Άφθονα επιθηλιακά κύτταρα, υπερπλασία, ιστιοκύτταρα.

3M1	
Καρδιά	Αραιά μεσοθηλιακά κύτταρα Κ.Φ.
Ήπαρ	Άφθονα ηπατικά κύτταρα, υπερπλασία.
Νεφροί	Άφθονα επιθηλιακά κύτταρα ουροφόρων σωληναρίων, φλεγμονή.
Θυρεοειδής	Θηλώδεις ομάδες θυλακικών κυττάρων, με παρουσία ground glass πυρήνων (υαλοειδής εκφύλιση).
Όρχεις	Άφθονα κύτταρα Sertoli, Leydig, σπερμογόνια με ήπια εκφύλιση.

3M2	
Καρδιά	Αραιά μεσοθηλιακά κύτταρα Κ.Φ.
Ήπαρ	Άφθονα ηπατοκύτταρα, υπερπλασία.
Νεφροί	Άφθονα επιθηλιακά κύτταρα ουροφόρων σωληναρίων, άφθονα εκμαγεία.
Θυρεοειδής	Άφθονα θυλακικά κύτταρα σε μικροθηλώδεις ομάδες.
Όρχεις	Άφθονα κύτταρα Sertoli, Leydig και σπερμογόνια με ήπια εκφύλιση.

ΟΜΑΔΑ 4 (2 Θήλεα F& 2 Άρρενα M)
Υψηλή δόση glyphosate-καθαρή μορφή

4 F1	
Καρδιά	Αραιά μεσοθηλιακά κύτταρα περικαρδίου, ρυπαρότης, φλεγμονή.
Ήπαρ	Αραιά ηπατοκύτταρα, εκφύλιση.
Νεφροί	Αρκετά επιθηλιακά κύτταρα ουροφόρων σωληναρίων, φλεγμονή, εκμαγεία.
Θυρεοειδής	Άφθονα θυλακικά κύτταρα, υπερπλασία.
Ωοθήκες	Άφθονα επιθηλιακά κύτταρα, σωληνώδεις σχηματισμοί, φλεγμονή.

4 F2	
Καρδιά	Αραιά μεσοθηλιακά κύτταρα περικαρδίου, φλεγμονή.
Ήπαρ	Αραιά ηπατοκύτταρα, εκφύλιση.
Νεφροί	Αρκετά επιθηλιακά κύτταρα και εκμαγεία ουροφόρων σωληναρίων, φλεγμονή.
Θυρεοειδής	Αρκετά θυλακικά κύτταρα, υπερπλασία , κολλοειδές, συνδετικός ιστός.
Ωοθήκες	Αρκετά επιθηλιακά κύτταρα, φλεγμονή.

4 M1	
Καρδιά	Αρκετά μεσοθηλιακά κύτταρα περικαρδίου, φλεγμονή.
Ήπαρ	Άφθονα ηπατοκύτταρα, εκφύλιση.
Νεφροί	Αρκετά επιθηλιακά κύτταρα ουροφόρων σωληναρίων, φλεγμονή.
Θυρεοειδής	Αρκετά θυλακικά κύτταρα, υπερπλασία.
Όρχεις	Άφθονα κύτταρα Sertoli, Leydig, σπερμογόνια, φλεγμονή.

4M2	
Καρδιά	Αρκετά μεσοθηλιακά κύτταρα περικαρδίου, ερυθρά, φλεγμονή.
Ήπαρ	Άφθονα ηπατοκύτταρα-εκφύλιση.
Νεφροί	Αρκετά επιθηλιακά κύτταρα ουροφόρων σωληναρίων, φλεγμονή.
Θυρεοειδής	Αρκετά θυλακικά κύτταρα-υπερπλασία.
Όρχεις	Άφθονα κύτταρα Sertoli, Leydig, σπερμογόνια, φλεγμονή.

ΟΜΑΔΑ 5 (2 Θήλεα F& 2 Άρρενα M)
Υψηλή δόση glyphosate-Εμπορική μορφή

5 F1	
Καρδιά	Αραιά μεσοθηλιακά κύτταρα περικαρδίου.
Ήπαρ	Αραιά ηπατοκύτταρα.
Νεφροί	Άφθονα εκμαγεία ουροφόρων σωληναρίων, έντονη ρυπαρότης.
Θυρεοειδής	Αραιά θυλακικά κύτταρα.
Ωοθήκες	Αρκετά επιθηλιακά κύτταρα, φλεγμονή.

5 F2	
Καρδιά	Αραιά μεσοθηλιακά κύτταρα περικαρδίου.
Ήπαρ	Αραιά ηπατοκύτταρα.
Νεφροί	Άφθονα εκμαγεία ουροφόρων σωληναρίων, έντονη ρυπαρότης.
Θυρεοειδής	Αραιά θυλακικά κύτταρα.
Ωοθήκες	Αρκετά επιθηλιακά κύτταρα, φλεγμονή.

5 M1	
Καρδιά	Αρκετά κύτταρα μυοκαρδίου ΚΦ.
Ήπαρ	Αραιά ηπατοκύτταρα, εκφύλιση.
Νεφροί	Άφθονα εκμαγεία ουροφόρων σωληναρίων, έντονη φλεγμονή.
Θυρεοειδής	Άφθονα θυλακικά κύτταρα, κολλοειδές, διαταραχή αρχιτεκτονικής.
Όρχεις	Άφθονα κύτταρα Sertoli, Leydig, σπερμογόνια, φλεγμονή.

5M2	
Καρδιά	Αρκετά κύτταρα μυοκαρδίου ΚΦ.
Ήπαρ	Αραιά ηπατοκύτταρα, εκφύλιση.
Νεφροί	Αρκετά εκμαγεία ουροφόρων σωληναρίων, έντονη φλεγμονή.
Θυρεοειδής	Άφθονα θυλακικά κύτταρα, κολλοειδές, διαταραχή αρχιτεκτονικής.
Όρχεις	Άφθονα κύτταρα Sertoli, Leydig, σπερμογόνια, φλεγμονή.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα τελευταία χρόνια οι Κυβερνητικές Οργανώσεις και οι Επιστημονικές Κοινότητες παγκοσμίως, ευαισθητοποιήθηκαν ιδιαίτερα για την Δημόσια Υγεία. Στο πλαίσιο αυτό έχουν επιβληθεί αυστηροί κανόνες και νομοθεσίες για την χρήση πολλών χημικών ουσιών καθώς και απαγόρευση πολλών εξ' αυτών, παρ'όλα αυτά η Δημόσια Υγεία είναι ακόμη επισφαλής.

Η αναζήτηση των επιδημιολογικών δεδομένων για διάφορες ασθένειες και σύνδρομα (τόσο κακοήθους όσο και μη κακοήθους αιτιολογίας), οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ενώ η επίπτωση της οξείας νόσου έχει μερικώς ελεγχθεί, άλλες χρόνιοι νόσοι έχουν έρθει στο προσκήνιο.

Ενδεικτικά έχει αυξηθεί δραματικά η επίπτωση των νευροεκφυλιστικών διαταραχών, των καρδιαγγειακών νοσημάτων, της παχυσαρκίας, του μεταβολικού συνδρόμου, της υπογονιμότητας (ιδιαίτερα στους άνδρες) και των φλεγμονωδών νοσημάτων οποιασδήποτε αιτιολογίας (126).

Παρόλο που αυτό το φαινόμενο μπορεί να εξηγηθεί από την πρόοδο στις μεθόδους διάγνωσης καταγραφής των νόσων, είναι δύσκολο να δεχθούμε ότι αυτός είναι ο μόνος λόγος.

Στην πραγματικότητα, κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας όλο και περισσότερες ενδείξεις επισημαίνουν την τοξικότητα διαφόρων ουσιών για τη Δημόσια Υγεία, ακόμη και σε επίπεδα που θεωρούνταν μέχρι τώρα ασφαλή για ανθρώπινη χρήση (127).

Αυτό σημαίνει ότι ο γενικός πληθυσμός δεν κινδυνεύει μόνο από τις επιβλαβείς χημικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στο παρελθόν, αλλά και από την χρόνια έκθεση σε χαμηλές δόσεις, λιγότερο επιβλαβών ουσιών αλλά κάθε άλλο παρά αθώων.

Πράγματι, διαφαίνεται ότι αυτή η χρόνια έκθεση σε χαμηλές συγκεντρώσεις διαφορών χημικών ουσιών επιτρέπει στις εν λόγω ουσίες να απενεργοποιούν τους προστατευτικούς μηχανισμούς του οργανισμού και διαταράσσοντας την ομοιόσταση του να οδηγούν σε χρόνιες νόσους.

Βασικό μειονέκτημα των περισσοτέρων ερευνητικών πρωτοκόλλων, που ασχολούνται με το θέμα της έκθεσης σε χαμηλές δόσεις χημικών, είναι η χορήγηση στα πειραματόζωα της μελέτης, μιας ουσίας ή ενός μικρού μείγματος ουσιών για σχετικά μικρό χρονικό διάστημα, με αποτέλεσμα να μην μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα, σχετικά με την πραγματική επίδραση αυτού του τύπου της έκθεσης, στην υγεία του ανθρώπου και των ζώων.

Στην πραγματικότητα, η μακροχρόνια έκθεση σε χαμηλή δόση μείγματος χημικών ουσιών, προτείνεται ως ένας πιο αποτελεσματικός προσομοιωτής πραγματικών συνθηκών ζωής, ικανών να επισημάνουν τους κινδύνους της καθημερινής χρήσης γεωργικών, οικιακών, βιομηχανικών χημικών ουσιών και προϊόντων (128).

Η συνεχής έκθεση του πληθυσμού σε πληθώρα χημικών ουσιών αποτελεί παγκόσμιο πρόβλημα και έχει απασχολήσει ιδιαίτερα την Επιστημονική Κοινότητα.

Ειδικά, η έκθεση σε ουσίες που έχουν κατηγορηθεί ότι έχουν ενδοκρινική δράση (endocrine disruptors), αποτελεί αντικείμενο μελέτης για πολλούς Ερευνητές.

Οι ενδοκρινικοί διαταράκτες (EDCs) είναι χημικές ουσίες που αλληλεπιδρούν με το ενδοκρινικό σύστημα επιφέροντας συνήθως δυσμενείς επιπτώσεις στον οργανισμό, που αφορούν κυρίως προβλήματα στην αναπαραγωγή, στην ανάπτυξη και διαταραχή στην λειτουργία του αναπνευστικού, νευρικού και ανοσοποιητικού συστήματος (129).

Οι ουσίες που μας απασχόλησαν σε αυτή τη μελέτη είναι η γλυφοσάτη στην καθαρή και στην εμπορική της μορφή (ROUNDUP), η δισφαινόλη Α (BPA), οι παραβένες (parabens, PBs) και συγκεκριμένα το μεθυλπαραβένιο (MePB), το προπύλπαραβένιο (PrPB) και το βουτύλπαραβένιο (BuPB), καθώς και η τρικλοζάνη (TCS).

Πρόκειται για χημικές ουσίες με τις οποίες ερχόμαστε σε επαφή καθημερινά καθώς έχουν πληθώρα εφαρμογών.

Τα μέχρι τώρα βιβλιογραφικά δεδομένα αναφέρουν την ανίχνευση των προαναφερθέντων ουσιών σε βιολογικά δείγματα όπως ούρα, αίμα και τρίχα, αποδεικνύοντας διάχυση των ουσιών στο σώμα και πιθανή συσσώρευση τους σε όργανα και λιπώδη ιστό (130-133).

Οι ενώσεις αυτές έχουν συσχετιστεί με νευρολογικά προβλήματα, προβλήματα στον θυρεοειδή, καρκινογένεση (κυρίως σε μαστό, ήπαρ, νεφρό και δέρμα), δυσμενείς επιπτώσεις στο αναπαραγωγικό σύστημα όπως, αλλοιώσεις στην μορφολογία των γονάδων και μείωση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων, αλλά και αύξηση των πιθανοτήτων εμφάνισης παχυσαρκίας και αλλεργιών.

Υπάρχουν επίσης ενδείξεις για πιθανή γενοτοξικότητα αυτών των ουσιών και συγκεκριμένα της γλυφοσάτης, των παραβενιών (PBs) και της δισφαινόλης Α (134-137).

Στην παρούσα μελέτη για πρώτη φορά μελετήθηκε η συνεργική δράση των glyphosate σε καθαρή και εμπορική μορφή (ROUNDUP), των παραβενίων (MePB, PrPB, BuPB), της δισφαινόλης Α (BPA) και της τρικλοζάνης (TCS), σε κουνέλια έπειτα από δωδεκάμηνη συνδυαστική έκθεση και εκτιμήθηκε σε κυτταρολογικό

επίπεδο (touch Prep), η τοξική δράση αυτών, στην καρδιά, στο ήπαρ, στους νεφρούς, στον θυρεοειδή και στις γονάδες.

ΚΑΡΔΙΑ

Στην ομάδα των μαρτύρων παρατηρήθηκαν αρκετά φυσιολογικά μεσοθηλιακά κύτταρα περικαρδίου και αρκετά φυσιολογικά κύτταρα μυοκαρδίου στα θηλυκά, ενώ στα αρσενικά τα αντίστοιχα σε μικρότερο πληθυσμό.

Στην ομάδα 2 χαμηλής δόσης μείγματος ουσιών, παρατηρήθηκε μειωμένος αριθμός κυττάρων περικαρδίου-μυοκαρδίου, φυσιολογικής μορφολογίας, στο 75% των πειραματόζωων.

Στην ομάδα υψηλής δόσης μείγματος ουσιών (γλυφοσάτης, παραβενιών, δισφαινόλης Α και τρικλοζάνης), στα θηλυκά ζώα παρατηρήθηκαν αρκετά φυσιολογικά κύτταρα περικαρδίου-μυοκαρδίου, ενώ στα αρσενικά μειωμένος αριθμός των αντίστοιχων κυττάρων πάντα φυσιολογικής μορφολογίας.

Στην πέμπτη ομάδα που χορηγήθηκε σε υψηλές δόσεις, η εμπορική μορφή της γλυφοσάτης (ROUNDUP), ομοίως δεν παρατηρήθηκαν μορφολογικές αλλοιώσεις σε κυτταρικό επίπεδο στο περικάρδιο και στο μυοκάρδιο, τόσο στα θηλυκά όσο και στα αρσενικά ζώα.

Αντίθετα στην τέταρτη ομάδα χορήγησης υψηλής δόσης γλυφοσάτης καθαρής μορφής, παρατηρήθηκαν στοιχεία φλεγμονής στα κύτταρα περικαρδίου-μυοκαρδίου και στα δύο φύλα, ενδεικτικά οιδήματος και φλεγμονής (περικαρδίτιδα, μυοκαρδίτιδα).

Η μοναδική δημοσίευση που αναφέρονται ανάλογα ευρήματα στην καρδιά, αφορά σε μελέτη της τοξικότητας της γλυφοσάτης κατά την εμβρυογένεση του ψαριού ζέβρα (zebra fish) (138).

ΗΠΑΡ

Στην ομάδα των μαρτύρων (ομάδα 1), παρατηρήθηκαν αρκετά ηπατικά κύτταρα φυσιολογικής μορφολογίας, με παρουσία κοκκίων γλυκογόνου και στα δύο φύλα.

Στην δεύτερη ομάδα χαμηλής δόσης μείγματος, στα μεν θηλυκά παρατηρήθηκαν αρκετά ηπατικά κύτταρα φυσιολογικής μορφολογίας, στα δε αρσενικά μειωμένος αριθμός ηπατικών κυττάρων με αλλοιώσεις ήπιας εκφύλισης (γλυκογονόλυση) και παρουσία ιστιοκυττάρων.

Στην τρίτη ομάδα υψηλής δόσης μείγματος (γλυφοσάτης, παραβένων, δισφαινόλης Α και τρικλοζάνης), παρατηρήθηκαν σε όλα τα μέλη της ομάδας, άφθονα ηπατικά κύτταρα (υπερπλασία) και απώλεια γλυκογόνου.

Στην τέταρτη ομάδα χορήγησης υψηλής δόσης καθαρής μορφής γλυφοσάτης, στα μεν θηλυκά παρατηρήθηκε μειωμένος αριθμός ηπατικών κυττάρων με χαρακτήρες εκφύλισης (γλυκογονόλυση), στα δε αρσενικά υπερπλασία (άφθονα ηπατοκύτταρα) και γλυκογονόλυση.

Στην πέμπτη ομάδα χορήγησης υψηλής δόσης γλυφοσάτης στην εμπορική της μορφή (ROUNDUP), παρατηρήθηκε και στα δύο φύλα αισθητή μείωση του αριθμού των ηπατικών κυττάρων και εκφύλιση.

Τα ευρήματα της μείωσης του κυτταρικού πληθυσμού και της εκφύλισης (γλυκογονόλυση) των ηπατοκυττάρων, συμφωνούν με τα ευρήματα ανάλογης μελέτης σε αρουραίους που χορηγήθηκε μείγμα 13 ουσιών μεταξύ των οποίων και γλυφοσάτη, παραβένια και δισφαινόλη Α (139).

Η παρατηρούμενη υπερπλασία των ηπατοκυττάρων στις ομάδες 3 και 4, θέτει την υπόνοια προνεοπλασματικής εξεργασίας, που συμφωνεί με την οδηγία από τον Διεθνή Οργανισμό Ερευνών για τον καρκίνο (IARC), της ταξινόμησης της γλυφοσάτης ως πιθανή καρκινογόνο ουσία (140).

Σε μελέτη με χορήγηση καθαρής τρικλοζάνης σε ποντίκια (141), παρατηρήθηκε ηπατομεγαλία, υπερτροφία ηπατοκυττάρων, εναπόθεση λιποφουσκίνης στο κυτταρόπλασμα αυτών, νέκρωση και μικρές αθροίσεις ηπατικών κυττάρων.

Σε αντίστοιχη μελέτη χορήγησης τρικλοζάνης σε αρουραίους, παρατηρήθηκαν κεντρολοβιακά ηπατοκύτταρα με κυτταροπλασματικά έγκλειστα υαλίνης και κεντρολοβιακή υπερτροφία στα αρσενικά ζώα (142).

ΝΕΦΡΟΙ (KINDEYS)

Στην ομάδα των μαρτύρων παρατηρήθηκαν και στα δύο φύλα αρκετά επιθηλιακά κύτταρα των ουροφόρων σωληναρίων με φυσιολογική μορφολογία.

Στην δεύτερη ομάδα χαμηλής δόσης μείγματος (glyphosate, PBs, TCS, BPA), παρατηρήθηκαν άφθονα επιθηλιακά κύτταρα και εκμαγεία ουροφόρων σωληναρίων, καθώς και στοιχεία φλεγμονής.

Παρόμοια ευρήματα παρατηρήθηκαν και στις υπόλοιπες ομάδες (3, 4, 5), με μεγαλύτερο βαθμό υπερπλασίας και εντονότερη φλεγμονή.

Σε αντίστοιχη μελέτη σε αρουραίους με χορήγηση της εμπορικής μορφής της γλυφοσάτης (ROUNDUP), παρατηρήθηκαν εστιακή σωληναριακή υπερπλασία, δηλαδή υπερπλασία των επιθηλιακών κυττάρων των ουροφόρων σωληναρίων και στοιχεία φλεγμονής, ευρήματα σε απόλυτη συμφωνία με τα δικά μας, όσον αφορά την πέμπτη ομάδα (143, 144)

Σε αντίστοιχη μελέτη σε hamsters με χορήγηση καθαρής μορφής τρικλοζάνης, παρατηρήθηκαν εκμαγεία ουροφόρων σωληναρίων και νεφρίτιδα, ευρήματα που βρίσκονται σε συμφωνία με τα δικά μας (145).

Αντίθετα σε μελέτη σε αρουραίους όπου χορηγήθηκε μείγμα 13 ουσιών μεταξύ των οποίων γλυφοσάτη, δισφαινόλη Α, αιθύλπαραβένιο και βουτυλπαραβένιο, παρατηρήθηκε μείωση όλων των κυτταρικών τύπων του νεφρικού παρεγχύματος, διάχυτη αιμορραγική διήθηση και συναθροίσεις επιθηλιακών κυττάρων των ουροφόρων σωληναρίων (139).

ΘΥΡΕΟΕΙΔΗΣ ΑΔΕΝΑΣ (THYROID)

Στην πρώτη ομάδα παρατηρήθηκαν αραιά θυλακικά κύτταρα με φυσιολογική μορφολογία και στα δύο φύλα.

Στην δεύτερη ομάδα χαμηλής δόσης μείγματος ουσιών, στα μεν θηλυκά παρατηρήθηκαν παρόμοια ευρήματα με την ομάδα των μαρτύρων, στα δε αρσενικά παρατηρήθηκαν αραιά θυλακικά κύτταρα με ήπιες εκφυλιστικές αλλοιώσεις.

Στην τρίτη ομάδα υψηλής δόσης μείγματος ουσιών, παρατηρήθηκαν στα μεν θηλυκά άφθονα θυλακικά κύτταρα (υπερπλασία), αρκετές μικροθηλώδεις ομάδες θυλακικών κυττάρων και παρουσία κολλοειδούς, στα δε αρσενικά στο 50% των ζώων παρατηρήθηκαν αρκετές θηλώδεις ομάδες θυλακικών κυττάρων με παρουσία ground glass πυρήνων (υαλοειδής εκφύλιση), στοιχεία συμβατά με νεοεξεργασία θηλώδους τύπου.

Στην διεθνή βιβλιογραφία δεν ανευρέθηκαν ανάλογες μελέτες σε κυτταρολογικό-ιστολογικό επίπεδο όσον αφορά τον θυρεοειδή αδένα, αλλά υπάρχουν τοξικολογικές μελέτες που θέτουν την υπόνοια ότι η χρόνια έκθεση στις παραπάνω ουσίες μπορεί να οδηγήσει σε νεοπλασματική εξεργασία κυρίως θηλώδους τύπου (146, 147).

Στην τέταρτη ομάδα χορήγησης καθαρής μορφής γλυφοσάτης σε υψηλή δόση, παρατηρήθηκαν αρκετά θυλακικά κύτταρα (υπερπλασία), κολλοειδές και ανάπτυξη συνδετικού ιστού.

Στην πέμπτη ομάδα χορήγησης ROUNDUP παρατηρήθηκε αισθητά μειωμένος αριθμός θυλακικών κυττάρων και στα δύο φύλα.

ΩΟΘΗΚΕΣ (OVARIES)

Στην ομάδα των μαρτύρων παρατηρήθηκαν άφθονα επιθηλιακά κύτταρα φυσιολογικής μορφολογίας.

Στην δεύτερη ομάδα χορήγησης χαμηλής δόσης μείγματος ουσιών, παρατηρήθηκαν άφθονα επιθηλιακά κύτταρα με φυσιολογική μορφολογία, όπως στην ομάδα των μαρτύρων.

Στην τρίτη ομάδα υψηλής δόσης μείγματος ουσιών, παρατηρήθηκαν άφθονα επιθηλιακά κύτταρα με χαρακτήρες υπερπλασίας και παρουσία ιστιοκυττάρων.

Στην τέταρτη και πέμπτη ομάδα χορήγησης υψηλής δόσης γλυφοσάτης σε καθαρή και σε εμπορική μορφή αντίστοιχα, παρατηρήθηκαν άφθονα επιθηλιακά κύτταρα με χαρακτήρα υπερπλασίας, στοιχεία έντονης φλεγμονής και σωληνώδεις σχηματισμοί, στο 50% των ζώων της τέταρτης ομάδας. Ανάλογες ερευνητικές μελέτες σε κουνέλια δεν ανευρέθησαν στην διεθνή βιβλιογραφία.

Σε μελέτη έκθεσης νεογέννητων αρνιών στην εμπορική μορφή της γλυφοσάτης, παρατηρήθηκε μείωση του ποσοστού των ατρητικών ωοθυλακίων και αύξηση του ποσοστού των αρχέγονων. Επίσης παρατηρήθηκε υπερπλασία των κοκκιωδών κυττάρων και των κυττάρων της θήκης των ωοθυλακίων, εύρημα που συμφωνεί με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης (148).

Σε άλλη μελέτη έκθεσης νεογέννητων αμνών σε δισφαινόλη Α (BPA), παρατηρήθηκε αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης πολλαπλών ωοθυλακίων, εύρημα που συμφωνεί με την υπερπλασία των επιθηλιακών κυττάρων των ωοθυλακίων που παρατηρήθηκε στην δική μας μελέτη (149).

ΟΡΧΕΙΣ (TESTIS)

Στην πρώτη ομάδα (control) παρατηρήθηκαν άφθονα κύτταρα Leydig, Sertoli και σπερματογόνια φυσιολογικής μορφολογίας.

Στις ομάδες 2 και 3 παρατηρήθηκαν τα ανωτέρω περιγραφόμενα κύτταρα με χαρακτήρες εκφύλισης.

Στην τέταρτη και πέμπτη ομάδα χορήγησης καθαρής και εμπορικής μορφής γλυφοσάτης, παρατηρήθηκαν άφθονα κύτταρα Sertoli, Leydig και σπερμογόνια, αλλά και στοιχεία φλεγμονής.

Σε πρόσφατη μελέτη έκθεσης αρουραίων σε δείγμα 13 ουσιών μεταξύ των οποίων η γλυφοσάτη, οι παραβένες (αίθυλ-μέθυλ-βούτυλ-παραβένιο) και η δισφαινόλη Α (BPA), παρατηρήθηκαν εξεσημασμένες κυτταρικές εκφυλιστικές αλλοιώσεις, εύρημα που συμφωνεί με τα ευρήματα της μελέτης μας (139).

Σε μελέτη του 2012 σε αρουραίους που εκτέθησαν στην εμπορική μορφή της γλυφοσάτης (ROUNDUP), παρατηρήθηκαν φλεγμονώδεις και νεκρωτικές αλλοιώσεις στους όρχεις, εύρημα που βρίσκεται σε συμφωνία με τα δικά μας ευρήματα στις ομάδες 4 και 5 (150).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ (CONCLUSION)

Η χρόνια έκθεση (12 μήνες) κουνελιών σε μείγμα γλυφοσάτης, τρικλοζάνης, παραβένων και δισφαινόλης Α, αλλά και αυτή σε γλυφοσάτη καθαρής και εμπορικής μορφής (ROUNDUP), επιφέρει τοξικότητα σε κυτταρικό επίπεδο σε όλα τα μελετηθέντα όργανα.

Τα όργανα που προκύπτει ότι επηρεάζονται περισσότερο είναι ο θυρεοειδής αδένας, για τον οποίον παρατηρήθηκαν στοιχεία συμβατά με την ανάπτυξη θηλώδους νεοπλάσματος και οι γονάδες στις οποίες παρατηρήθηκαν στους μεν όρχεις, εντόνου βαθμού εκφυλιστικές αλλοιώσεις, στις δε ωοθήκες υπερπλασία των επιθηλιακών κυττάρων των ωοθηλακίων.

Οι ανωτέρω παρατηρούμενες μορφολογικές αλλοιώσεις δικαιολογούν τον χαρακτηρισμό αυτών των ουσιών ως «ενδοκρινικοί διαταράκτες» (endocrinic disruptors).

Μορφολογικές αλλοιώσεις υπό την επίδραση των παραπάνω ουσιών παρατηρήθηκαν επίσης στο ήπαρ, με κύρια ευρήματα την υπερπλασία και την γλυκογονόλυση των

ηπατικών κυττάρων, στους νεφρούς με παρουσία εκμαγείων ουροφόρων σωληναρίων με υπερπλασία και φλεγμονή, αλλά και στην καρδιά με στοιχεία φλεγμονής τόσο στο περικάρδιο όσο και στο μυοκάρδιο.

ΔΙΑΣΥΝΔΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι το περιβάλλον μολύνεται όλο και περισσότερο από διάφορες χημικές ουσίες.

Τα θηλαστικά και ο άνθρωπος είναι ευάλωτοι σε αυτές τις ουσίες μέσω διαφορετικών πηγών με δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία τους. Πάνω από 40 χρόνια, μελέτες τις άγριας ζωής, υποδεικνύουν την αλληλεπίδραση μεταξύ περιβαλλοντικών χημικών ουσιών και του ενδοκρινικού συστήματος, πρόταση η οποία έκτοτε έχει εδραιωθεί και συζητείται τόσο στον τύπο όσο και στην διεθνή βιβλιογραφία.

Οι ανησυχίες σχετικά με την ενδοκρινική τοξικότητα που προκαλείται από χημικές ουσίες του περιβάλλοντος, έχουν τραβήξει την προσοχή πολλών εθνικών και διεθνών οργανισμών υγείας.

Στα πλαίσια αυτά η Ευρωπαϊκή Ένωση ταξινόμησε τις ουσίες που προκαλούν ενδοκρινική διαταραχή και έθεσε περιορισμούς στην χρήση τους, ως σοβαρή απειλή για την δημόσια υγεία.

Παρά το γεγονός ότι υπάρχει πληθώρα εργαστηριακών μελετών που καταδεικνύουν και οριοθετούν το φάσμα των τοξικών επιδράσεων που μπορούν να προκληθούν μετά από έκθεση στους ενδοκρινικούς διαταράκτες, η προέκταση αυτών των παρατηρήσεων στο φυσικό περιβάλλον και στον ανθρώπινο πληθυσμό είναι δύσκολη.

Μέχρι σήμερα, οι σαφέστερες ενδείξεις ότι χημικές ουσίες μπορούν να λειτουργήσουν ως παράγοντες ενδοκρινικής διαταραχής, προήλθαν από παρατηρήσεις που έγιναν στο περιβάλλον της άγριας πανίδας, όπου κυριαρχούσαν αναφορές επιβλαβών επιπτώσεων στο αναπαραγωγικό σύστημα.

Ωστόσο, επί του παρόντος, υπάρχουν ανεπαρκή επιδημιολογικά και εργαστηριακά δεδομένα για την ακριβή εκτίμηση των κινδύνων για την δημόσια υγεία που ενέχουν οι ενδοκρινικοί διαταράκτες, στις σχετικά χαμηλές δόσεις που απαντώνται συνήθως στο περιβάλλον.

Λαμβάνοντας υπόψη τα ανωτέρω εκπονήθηκε η παρούσα πειραματική μελέτη, με στόχο την προσομοίωση σε πραγματικές συνθήκες, της τοξικότητας των

ενδοκρινικών διαταρακτών, αναδεικνύοντας το μέγεθος του κινδύνου για την δημόσια υγεία.

Για την διασφάλιση της δημόσιας υγείας από την δράση αυτών των ουσιών, θα πρέπει να αναληφθούν περισσότερες δράσεις όπως :

Α) Περαιτέρω μελέτες των ενδοκρινικών διαταρακτών από ερευνητές, λαμβάνοντας υπόψη τους τα χαρακτηριστικά των ουσιών και τον μηχανισμό δράσης τους, σε συνδυαστική αλλά και χρόνια έκθεση ακόμη και σε χαμηλές δόσεις.

Β) Αύξηση της ευαισθητοποίησης των κυβερνήσεων, του κοινού και των ΜΚΟ σχετικά με τις επιπτώσεις της έκθεσης στους ενδοκρινικούς διαταράκτες, που θα έχει ως επακόλουθο την μείωση της χρήσης τους.

Γ) Περισσότερη συνεργασία μεταξύ των επιστημόνων, ώστε να γίνουν περισσότερες μελέτες σχετικά με τις τοξικές επιπτώσεις των ενδοκρινικών διαταρακτών, πράγμα το οποίο θα βοηθήσει μέσω τις ανταλλαγής γνώσεων στην κατανόηση του μηχανισμού δράσης αυτών των ουσιών.

Δ) Η κοινότητα θα πρέπει να ενθαρρυνθεί από τους ειδικούς για να μάθει για αυτές τις ουσίες και την τοξικότητα τους, προκειμένου να γνωρίζει τις επιβλαβείς επιπτώσεις για την υγεία περιορίζοντας τη χρήση τους, πράγμα το οποίο θα βοηθήσει και τις κυβερνήσεις να πάρουν επιπλέον μέτρα που ελαχιστοποιούν την έκθεση σε αυτές τις ουσίες.

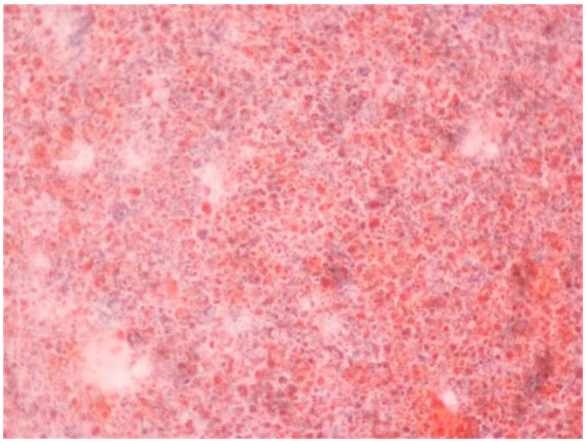
ΠΕΡΙΛΗΠΤΙΚΑ (In summary).

Συμπερασματικά αυτή η μελέτη υποστηρίζει την υπόθεση ότι η συνδυασμένη έκθεση στην καθημερινή ζωή, ακόμη και σε πολύ χαμηλές δόσεις ουσιών που θεωρούνται ασφαλείς, μπορεί να οδηγήσει σε δυσμενείς επιπτώσεις μετά από μακροχρόνια έκθεση.

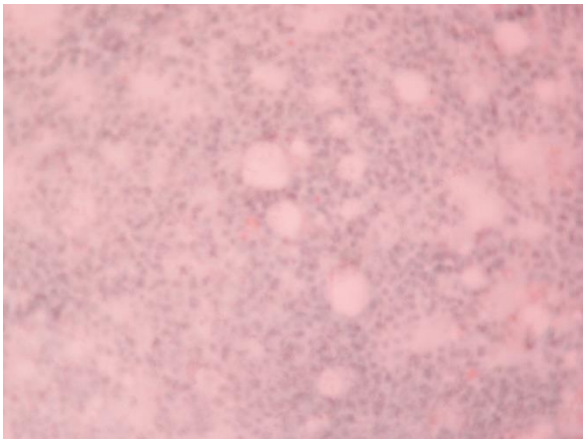
Γι’ αυτό το λόγο, η εκτίμηση επικινδυνότητας για τον προσδιορισμό των επιπέδων ασφάλειας των χημικών ουσιών, θα πρέπει να επικαιροποιηθεί, προκειμένου να ληφθούν υπόψη τα σενάρια έκθεσης στην πραγματική ζωή και να περάσει από την ενιαία χημική προσέγγιση στην προσέγγιση προσομοίωσης πραγματικού κινδύνου.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

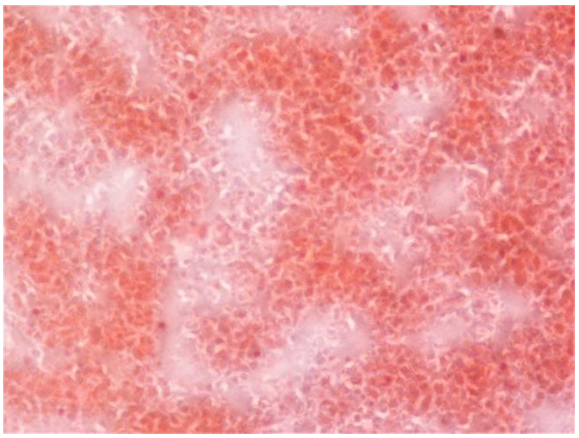
Ι. ΕΙΚΟΝΕΣ



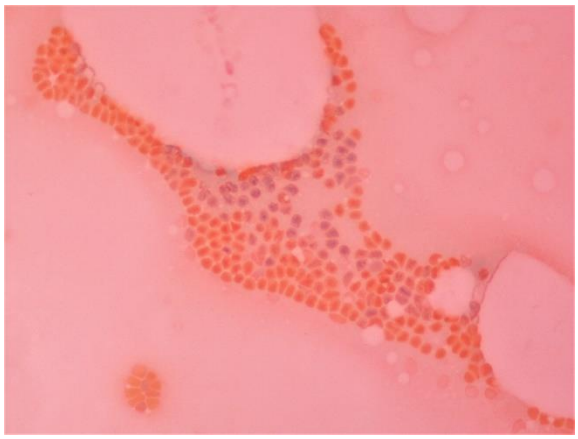
Εικόνα 1: 1F1 Heart x400



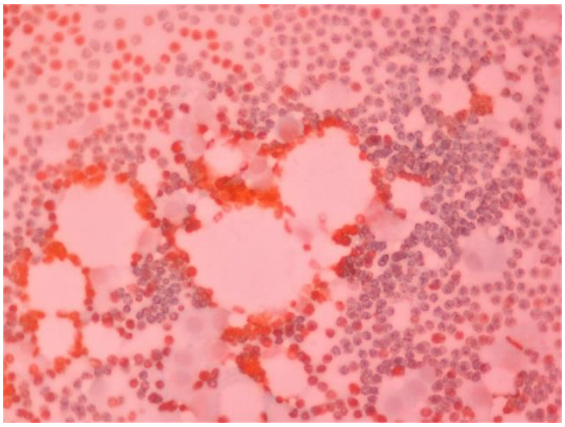
Εικόνα 2: 1F1 Kidney x400



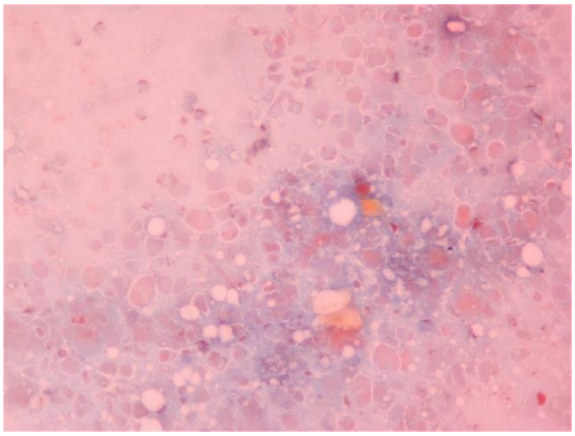
Εικόνα 3: 1F1 Liver x400



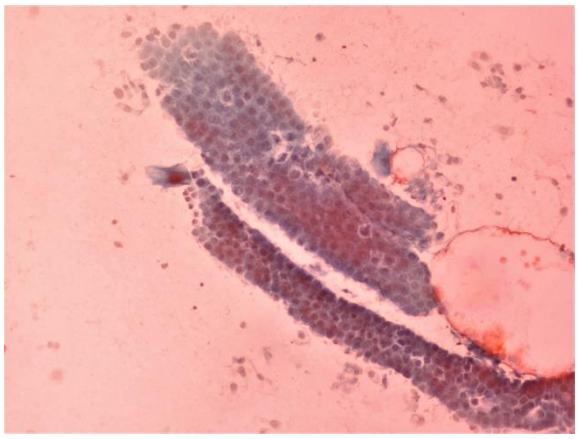
Εικόνα 4: 1F1 Thyroid x400



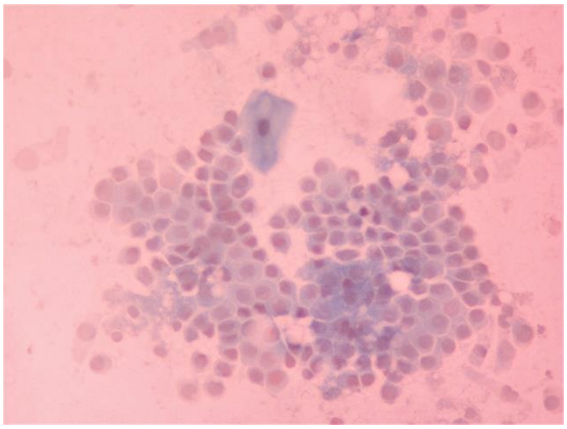
Εικόνα 5: 1F2 Ovary x400



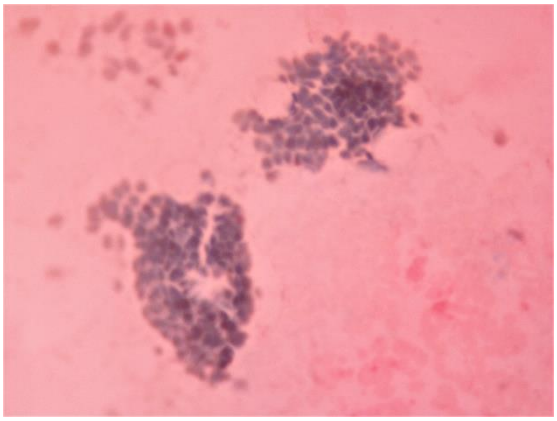
Εικόνα 6: 1M1 Testis x400



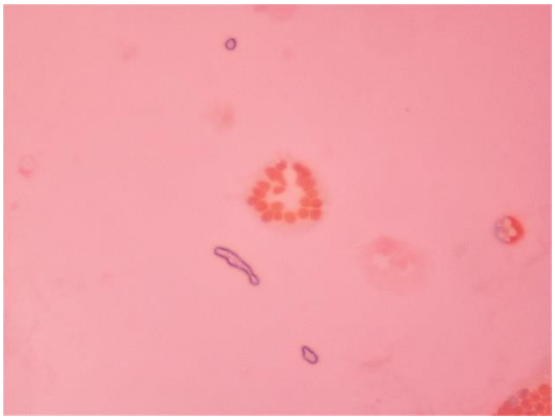
Εικόνα 7: 2F1 Kidney x200



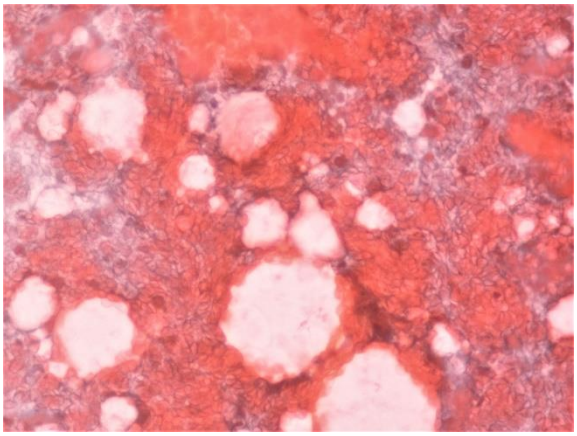
Εικόνα 8: 2F1 Kidney x400



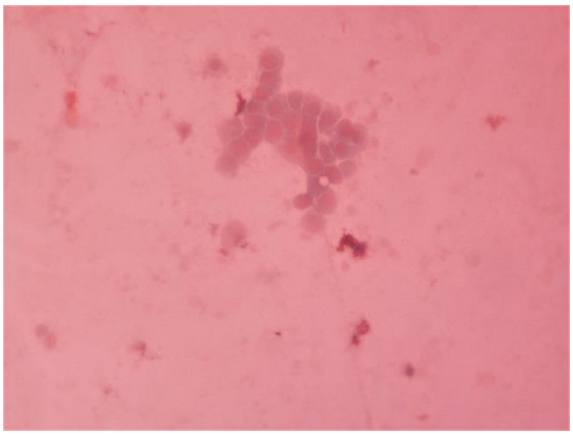
Εικόνα 9: 2F1 Ovary x400



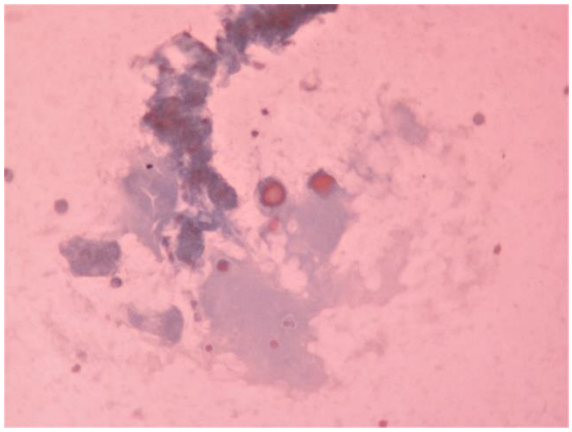
Εικόνα 10: 2F2 Thyroid x400



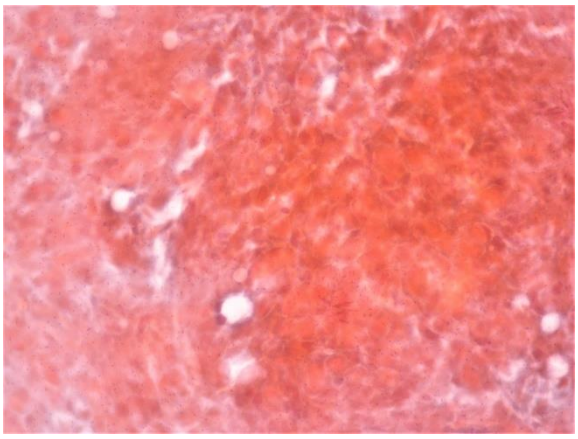
Εικόνα 11: 2M1 Kidney x400



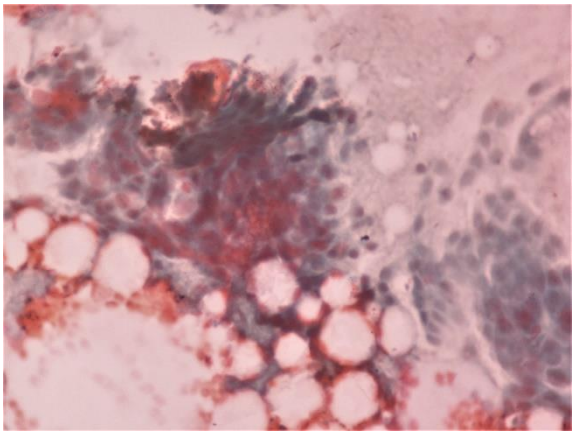
Εικόνα 12: 2M1 Thyroid x400



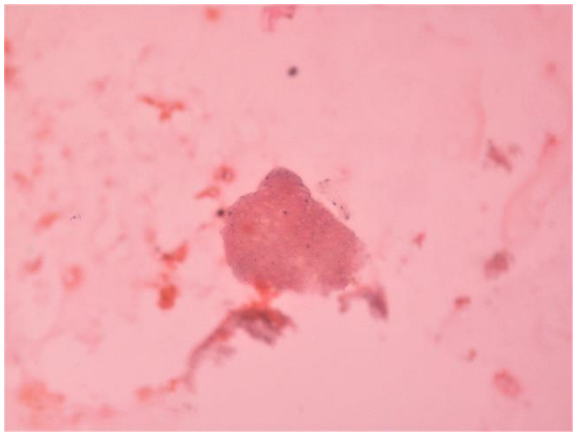
Εικόνα 13: 2M2 Liver x400



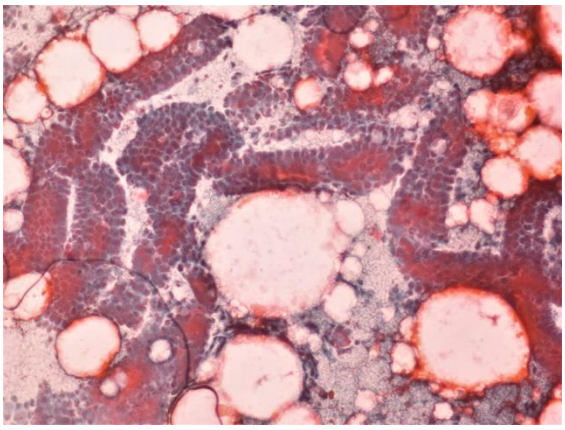
Εικόνα 14: 2M2 Testis x400



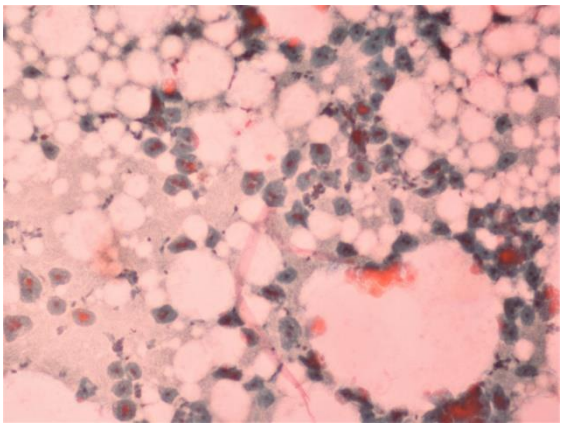
Εικόνα 15: 3F1 Ovary x400



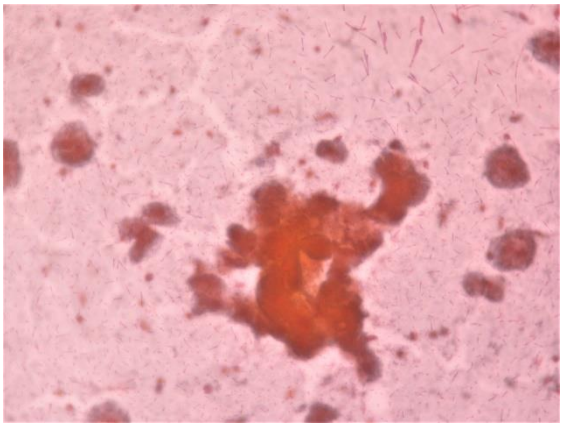
Εικόνα 16: 3F1 Thyroid X400



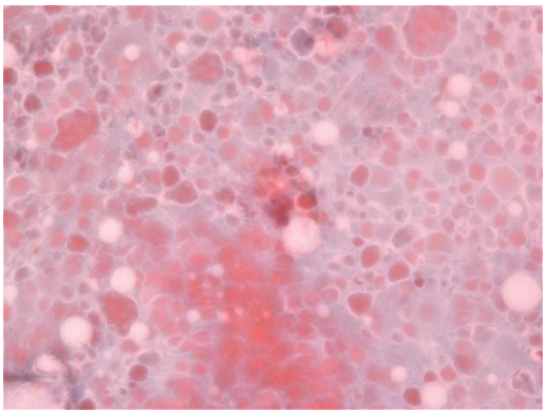
Εικόνα 17: 3F2 Kidney x200



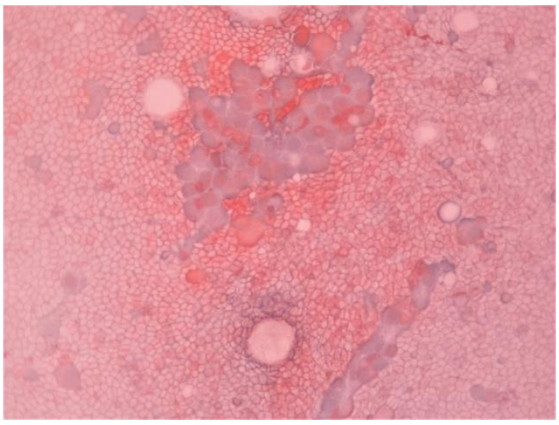
Εικόνα 18: 3F2 Ovary x200



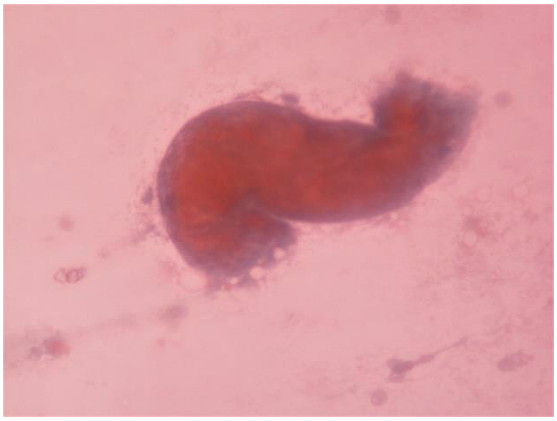
Εικόνα 19: 3M1 Liver x400



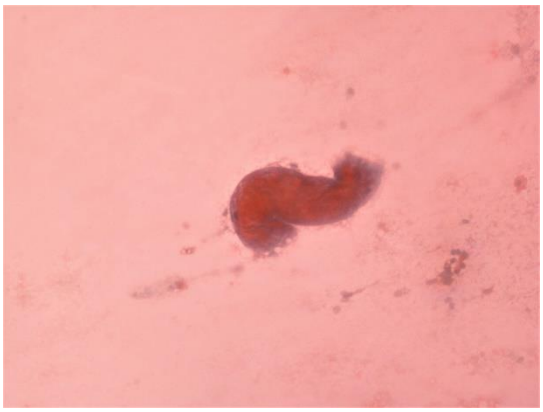
Εικόνα 20: 3M1 Testis x400



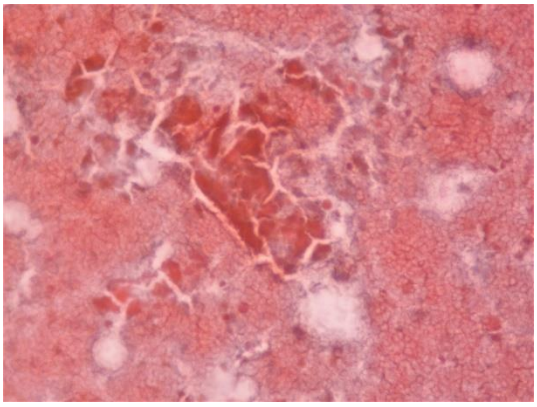
Εικόνα 21: 3M1 Thyroid(1) x400



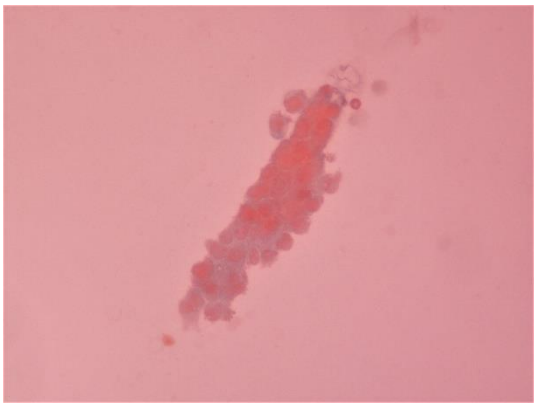
Εικόνα 22: 3M1 Thyroid(2) x400



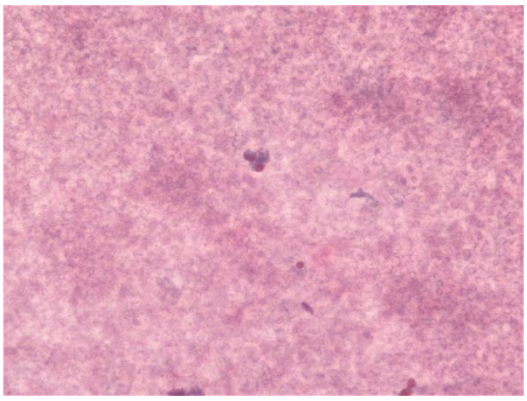
Εικόνα 23: 3M1 Thyroid(3) x200



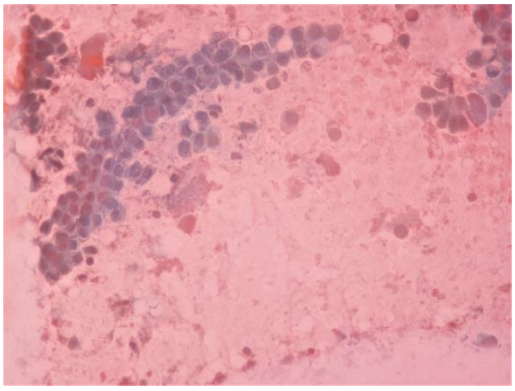
Εικόνα 24: 3M2 Kidney x400



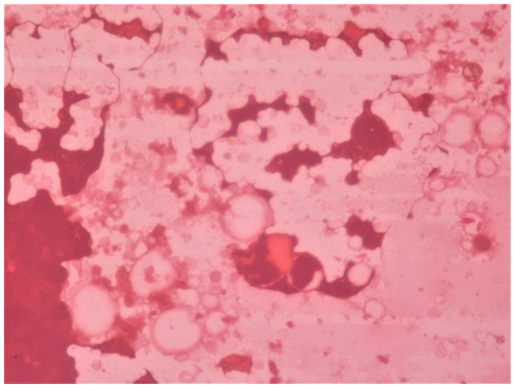
Εικόνα 25: 3M2 Thyroid x400



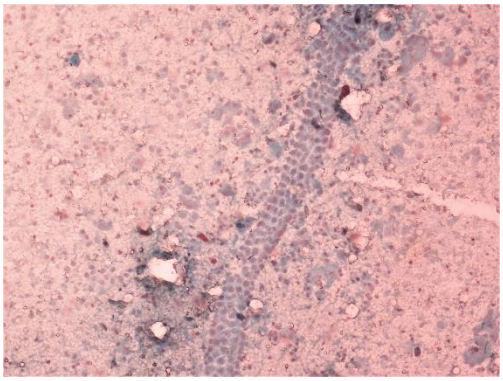
Εικόνα 26: 4F1 Heart x400



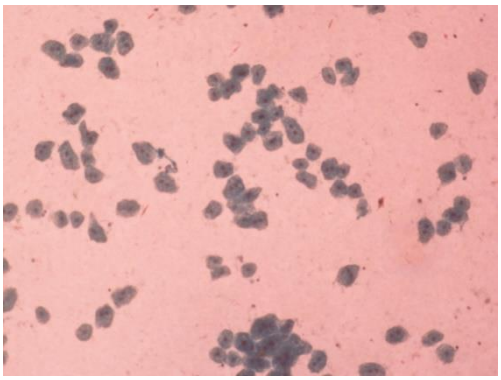
Εικόνα 27: 4F1 Ovary x400



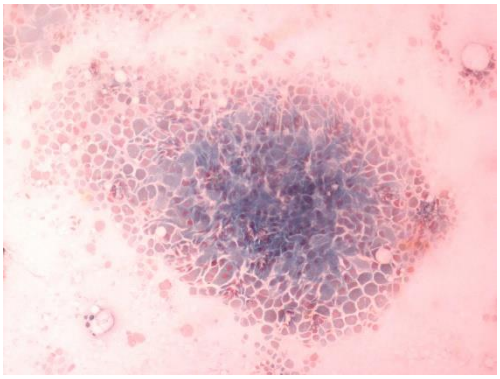
Εικόνα 28: 4M2 Heart x400



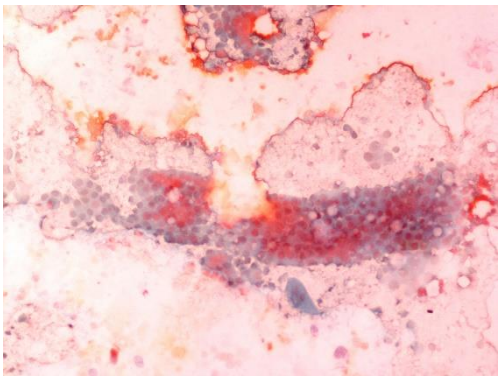
Εικόνα 29: 4M2 Kidney x200



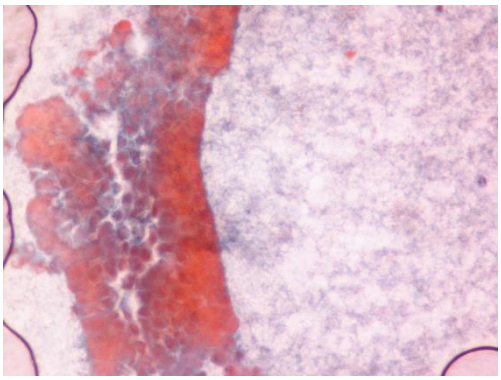
Εικόνα 30: 4M2 Liver x200



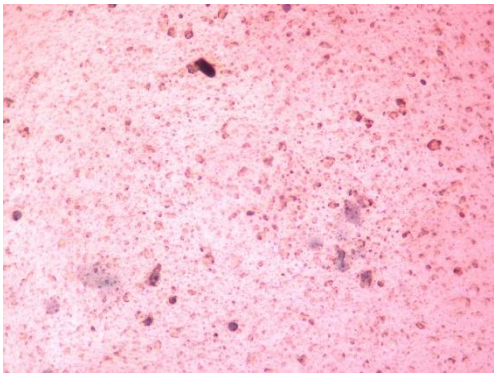
Εικόνα 31: 4M2 Testis x200



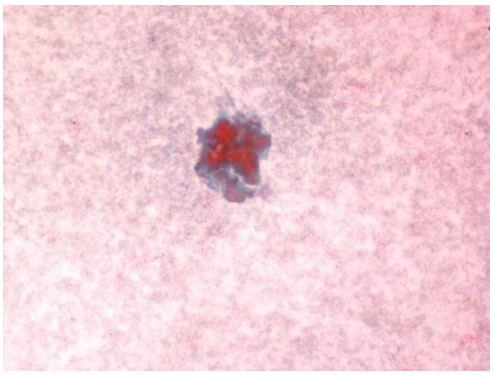
Εικόνα 32: 4M2 Thyroid x200



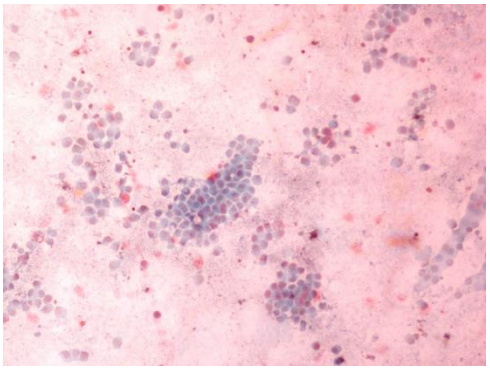
Εικόνα 33: 5F Kidney x400



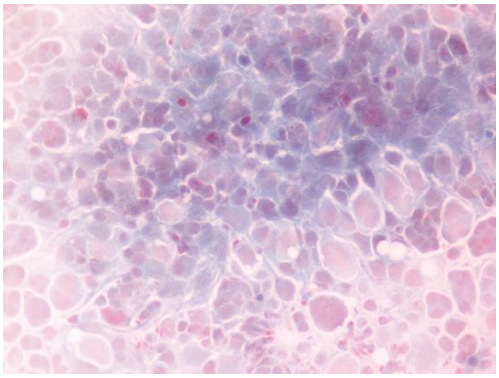
Εικόνα 34: 5M Liver x400



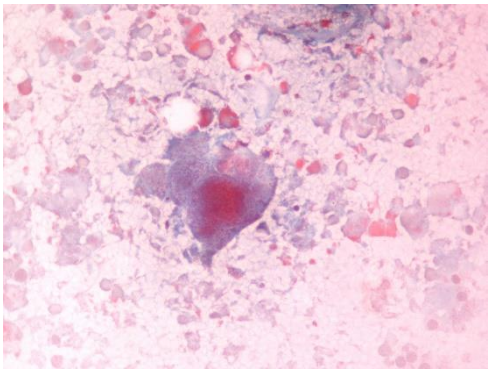
Εικόνα 35: 5M1 Heart x400



Εικόνα 36: 5M2 Kidney x200



Εικόνα 37: 5M2 Testis x400



Εικόνα 38: 5M2 Thyroid x400

ΙΙ. ΑΔΕΙΑ ΑΠΟ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΒΙΟΗΘΙΚΗΣ & ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΑΣ

MINISTRY OF EDUCATION AND RESEARCH

UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY OF CRAIOVA

Committee of Ethics and Academic and Scientific Deontology

No. 4 / 17.01.2020

Ethical Approval of Research Project

For the study (research project)

IN VIVO ESTIMATION OF THE BIOLOGICAL EFFECTS OF ENDOCRINE DISRUPTORS IN RABITS AFTER COMBINED AND LONG TERM EXPOSURE

Study coordinator: Daniela Calina
Research team: Anca Oana Docea, Ana Maria Buga

We confirm that the guidelines of the Ethical University Code of The University of Medicine and Pharmacy from Craiova were consulted and all ethical issues and implications related to the above project were considered. The study procedures were followed in accordance with these guidelines.

Ethical principles were followed underlying the Declaration of Helsinki and the University Code of Ethics on the proper conduct of research, together with the codes of practice established by the medical ethics code.

Ethical Approval:	Yes ☒	No ☐
Date: 17.01.2020		

Signature of Ethics Committee Chairman,
Liliana Novac, PhD., MD.

2 Petru Rares Street, 200349, Craiova, Dolj, ROMANIA
Phone: + 40 351 443522; Fax: +40 251 593077; E-mail: etica@webmail.umfcv.ro

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β (ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ)

1. Franz J E., Crestwood, M., "N-phosphonomethyl-glycine phytotoxicant compositions" assignor to Monsanto Company, St. Louis, Mo. No Drawing. Continuation-in-part of application Ser. No. 123,057, Mar. 10, 1971. This application Aug. 9, 1971, Ser. No. 170,38.
2. Henderson, A. M.; Gervais, J. A.; Luukinen, B.; Buhl, K.; Stone, D.; Cross, A.; Jenkins, J. 2010. Glyphosate General Fact Sheet; National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services. http://npic.orst.edu/factsheets/glyphogen.html
3. Monsanto International sàrl and Monsanto Europe sa, 2010, The agronomic benefits of glyphosate in Europe - Benefits of glyphosate per market use - REVIEW, p 1-82.
4. "Glyphosate formulation and their use for the inhibition of 5-eno-lpyruvylshikimate-3-phosphate synthase". Patents.google.com.
5. Cressey, Daniel (March 25, 2015). "Widely used herbicide linked to cancer" Nature.
6. "Glyphosate not classified as a carcinogen" ECHA. https://echa.europa.eu/el/-/glyphosate-not-classified-as-a-carcinogen-by-echa.
7. "Closing down on glyphosate inhibition with a new structure for drug discovery" Proc. of Nat. Acad. of Sciences of the USA 98 (6): 2944-6 2001.
8. "Glyphosate: EFSA updates toxicological profile, European Food Safety Authority" 2016,
9. "Environmental and Health effects of the herbicide glypsosate" Sci. Total Environ. 616-617:255-268. 2018.
10. "The National Medal of Technology and Innovation Recipients-1987" The United States Patent and Trademark office. 2012.
11. "Glyphosate poisoning" Toxicology Reviews 23 (3) :159-67.2004.
12. Stout, L.Ruecker, F. Chronic study of glyphosate administered in feed to albino rats. 1990. Environmental Protection Agency by Monsanto Agricultural Company.
13. Atkinson C, Strutt, A.V', Henderson W, Finch J, Hudson P. Glyphosate: 104 week combined chronic feeding/oncogenicity study in rats with 52 week interim kill/results after 104 weeks, Pesticide Residues in Food-2004: Toxicological evaluations.
14. Lavy T L 1 , Cowell J E, Steinmetz J R, Massey J . H Conifer seedling nursery worker exposure to glyphosate. Arch Environ Contam Toxicol . 1992 Jan; 22(1):6-13.
15. Jauhiainen A, Räsänen K, Sarantila R, Nuutinen J, Kangas. Occupational exposure of forest workers to glyphosate during brush saw spraying work. J. Am Ind Hyg Assoc J. 1991 Feb;52(2):61-4.
16. Glyphosate. Praft Human Health Risk Assessment in Support of Registration Review; EPA 2017.
17. Williams GM, Kroes R, Munro IC. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans.Regul Toxicol Pharmacol. 2000 Apr;31(2 Pt 1):117-65.
18. "Memorandum: EDSP Weight of Evidence Conclusions on the Tier 1 Screening Assays for the List "chemicals" 2015.
19. "Peer review of the pesticide risk assessment of the potential endocrine disrupting properties of glyphosate" EFSA Journal 15(9).2017.

20. "EPA Releases Praft Risk Assessments for Glyphosate" 2018.
21. Knezevich, A; Hogan, G. Achronic feeding study of glyphosate (Round up technical) in mice. EPA 1993.
22. Revised Glyphosate Issue Paper: Evaluation of Carcinogenic Potential; EPA 2017.
23. Cavaş T, Könen S. Detection of cytogenetic and DNA damage in peripheral erythrocytes of goldfish (Carassius auratus) exposed to a glyphosate formulation using the micronucleus test and the comet assay. Mutagenesis 2007 Jul; 22(4):263-8.
24. Ibrahim, Yehia A (2015). "A regulatory perspective on the potential carcinogenicity of glyphosate". Journal of Toxicology and Health 2(1)1.
25. De Roos AJ, Blair A, Rusiecki JA, Hoppin JA, Svec M, Dosemeci M, Sandler DP, Alavanja MC. Cancer incidence among glyphosate-exposed pesticide applicators in the Agricultural Health Study. Environ Health Perspect. 2005 Jan; 113(1):49-54.
26. "Non-Hodgkin lymphoma and occupational exposure to agricultural pesticide chemical groups and active Ingredients: a systematic review and meta-analysis".Int.J. Of Envir. Res. and Pub. Health 11 (4):4449-527 2017.
27. Rodwell, D.E., Tasker E.J, Blair, A.M, et al. Teratology study in rats. EPA1993.
28. Rodwell, D.E., Tasker E.J, Blair, A.M, et al. Teratology study in rats. Pesticide Residues in Food-Evaluations Part 2: Toxicological WHO & FAO 2004.
29. Arbuckle TE, Lin Z, Mery LS. An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population. Environ Health Perspect. 2001 Aug;109(8):851-7.
30. Brewster DW, Warren J, Hopkins WE 2nd. Metabolism of glyphosate in Sprague-Dawley rats: tissue distribution, identification, and quantitation of glyphosate-derived materials following a single oral dose. Fundam Appl Toxicol. 1991 Jul;17(1):43-51.
31. Wester RC, Melendres J, Sarason R, McMaster J, Maibach HI. Glyphosate skin binding, absorption, residual tissue distribution, and skin decontamination. Fundam Appl Toxicol. 1991 May;16(4):725-32.
32. Monsanto Corporation. The metabolism of glyphosate in Spragne Dawleyrats Part I. Excretion and tissue distribution of glyphosate and its metabolites following intravenous and oral administration. WHO 1988.
33. WHO. Environmental Health Criteria 159, Toxicological Evaluations Glyphosate 1994.
34. Hori Y, Fujisawa M, Shimada K, Hirose Y. Determination of the herbicide glyphosate and its metabolite in biological specimens by gas chromatography-mass spectrometry. A case of poisoning by roundup herbicide. J Anal Toxicol. 2003 Apr;27(3):162-6. doi: 10.1093/jat/27.3.162.
35. Talbot A, Ku TS, Chen CL, Li GC, Li HP. Glyphosate levels in acute Roundup herbicide poisoning.1994 Toxicology World Congress Abstracts. Ann.Emerg.Med. 1995; 26(6):117.
36. Herbicide Handbook 8th ed. Weed Science Society of America 2002.
37. Roberts T. R. Metabolic pathways of agrochemicals. Part 1: herbicides and plant growth regulators. The Royal Society of Chemistry (RSC), Cambridge, UK, 1998.
38. Reregistration Eligibility Decision (RED): Glyphosate; EPA 1993.
39. Ernest Flick, Cosmetics additives: an industrial guide, William Andrew, 1991.

40. EFSA, Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to para hydroxybenzoates (E214-209), in the EFSA Journal, vol.85, 2004.
41. Bendini A, Cerretani L, Carrasco-Pancorbo A, Gómez-Caravaca AM, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A, Lercker G. Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade. Molecules. 2007 Aug 6; 12(8):1679-719.
42. E. Atawodi, L Yususu et al .Phenolic Compounds and Antioxidant Potential of Nigerian Red Palm Oil. International Journal of Biology May 2011.
43. Dey G, Chakraborty M, Mitra A. Profiling C6-C3 and C6-C1 phenolic metabolites in Cocos nucifera. J Plant Physiol. 2005 Apr; 162(4):375-81.
44. Freese E, Sheu CW, Galliers E. Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. Nature. 1973 Feb 2;241(5388):321-5.
45. Nes IF, Eklund T. The effect of parabens on DNA, RNA and protein synthesis in Escherichia coli and Bacillus subtilis. J Appl Bacteriol. 1983 Apr; 54(2):237-42.
46. HUGO WB, FOSTER JH. GROWTH OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA IN SOLUTIONS OF ESTERS OF P-HYDROXYBENZOIC ACID. J Pharm Pharmacol. 1964 Mar;16:209.
47. Rastogi SC, Schouten A, de Kruijf N, Weijland JW. Contents of methyl-, ethyl-, propyl-, butyl- and benzylparaben in cosmetic products. Contact Dermatitis. 1995 Jan; 32(1):28-30.
48. Yazar K, Johnsson S, Lind ML, Boman A, Lidén C. Preservatives and fragrances in selected consumer-available cosmetics and detergents. Contact Dermatitis. 2011 May; 64(5):265-72.
49. Regolamento UE 1129/2011.
50. Lakeram M, Lockley DJ, Sanders DJ, Pendlington R, Forbes B. Paraben transport and metabolism in the biomimetic artificial membrane permeability assay (BAMPA) and 3-day and 21-day Caco-2 cell systems. J Biomol Screen. 2007 Feb; 12(1):84-91.
51. Janjua NR, Frederiksen H, Skakkebaek NE, Wulf HC, Andersson AM. Urinary excretion of phthalates and paraben after repeated whole-body topical application in humans. Int J Androl. 2008 Apr;31(2):118-30.
52. Castelain F and M Castelain. Parabens: a real buzzard or a scare story; Europ. J. of Dermatology, 22(6): 723-727, 2012.
53. Fisher A, The paraben paradoxes, Cutis, 12(6): 830-2, 1973.
54. Fisher A, Contact dermatitis due to food additives, Cutis, 16: 967-966.
55. Carradori S, Peluso AM, Faccioli M. Systemic contact dermatitis due to parabens. Contact Dermatitis. 1990 Apr;22(4):238-9.
56. Aeling JL, Nuss DD. Letter: Systemic eczematous "contact-type" dermatitis medicamentosa caused by parabens. Arch Dermatol. 110(4):640, 1974.
57. Soni MG, Taylor SL, Greenberg NA, Burdock GA. Evaluation of the health aspects of methyl paraben: a review of the published literature. Food Chem Toxicol. 2002 Oct; 40(10):1335-73.
58. Bairati C, Goi G, Lombardo A, Tettamanti G. The esters of p-hydroxy-benzoate (parabens) inhibit the release of lysosomal enzymes by mitogen-stimulated peripheral human lymphocytes in culture. Clin Chim Acta. 1994 Jan 31; 224(2):147-57.

59. Nakagawa Y, Moldéus P. Mechanism of p-hydroxybenzoate ester-induced mitochondrial dysfunction and cytotoxicity in isolated rat hepatocytes. Biochem Pharmacol. 1998 Jun 1;55(11):1907-14.
60. Darbre PD. Underarm antiperspirants/deodorants and breast cancer. Breast Cancer Res. 2009; 11 Suppl 3(Suppl 3):S5.
61. JECFA: Safety evaluation of certain Food additive and contaminant hydroxy- and alkoxy-substituted benzyl derivatives.
62. Legge “Lachaud”: voto del Senato 2010-2011.
63. Clarification on Opinion SCCS/1348/10 in the light of the Danish clause of safeguard banning the use of parabens in cosmetic products intended for children under three years of age.
64. Solubility of triclosan in selected solvents and chemicals.co-publications. greenfacts.org.2018
65. Russell AD. Whither triclosan? J Antimicrob Chemother. 2004 May;53(5):693-5.
66. Halden RU. On the need and speed of regulating triclosan and triclocarban in the United States. Environ Sci Technol. 2014 Apr 1;48(7):3603-11.
67. Thompson A, Griffin P, Stuetz R, Cartmell E. The fate and removal of triclosan during wastewater treatment. Water Environ Res. 2005 Jan-Feb;77(1):63-7.
68. Record in the Household Products Database of NLM.
69. Perencevich EN, Wong MT, Harris AD. National and regional assessment of the antibacterial soap market: a step toward determining the impact of prevalent antibacterial soaps. Am J Infect Control. 2001 Oct;29(5):281-3.
70. Kim SA, Moon H, Lee K, Rhee MS. Bactericidal effects of triclosan in soap both in vitro and in vivo. J Antimicrob Chemother. 2015 Dec; 70(12):3345-52.
71. Food and Drug Administration 1994.
72. Brady LM, Thomson M, Palmer MA, Harkness JL. Successful control of endemic MRSA in a cardiothoracic surgical unit. Med J Aust. 1990 Mar 5;152(5):240-5.
73. Coia JE, Duckworth GJ, Edwards DI, Farrington M, Fry C, Humphreys H, Mallaghan C, Tucker DR; Joint Working Party of the British Society of Antimicrobial Chemotherapy; Hospital Infection Society; Infection Control Nurses Association. Guidelines for the control and prevention of meticillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in healthcare facilities. J Hosp Infect. 2006 May;63 Suppl 1:S1-44.
74. Renko M, Paalanne N, Tapiainen T, Hinkkainen M, Pokka T, Kinnula S, Sinikumpu JJ, Uhari M, Serlo W. Triclosan-containing sutures versus ordinary sutures for reducing surgical site infections in children: a double-blind, randomised controlled trial. Lancet Infect Dis. 2017 Jan;17(1):50-57.
75. The centers for Disease Control and Prevention updated quidline now include a recommendation for Triclosan, Coated Sutures, Ethicom.
76. Allmyr M, Adolfsson-Erici M, McLachlan MS, Sandborgh-Englund G. Triclosan in plasma and milk from Swedish nursing mothers and their exposure via personal care products. Sci Total Environ. 2006 Dec 15;372(1):87-93.
77. Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL. Urinary concentrations of triclosan in the U.S. population: 2003-2004. Environ Health Perspect. 2008 Mar; 116(3):303-7.

78. Yin J, Wei L, Shi Y, Zhang J, Wu Q, Shao B. Chinese population exposure to triclosan and triclocarban as measured via human urine and nails. Environ Geochem Health. 2016 Oct;38(5):1125-1135.
79. Heffernan AL, Baduel C, Toms LM, Calafat AM, Ye X, Hobson P, Broomhall S, Mueller JF. Use of pooled samples to assess human exposure to parabens, benzophenone-3 and triclosan in Queensland, Australia. Environ Int. 2015 Dec;85:77-83.
80. Weiss L, Arbuckle TE, Fisher M, Ramsay T, Mallick R, Hauser R, LeBlanc A, Walker M, Dumas P, Lang C. Temporal variability and sources of triclosan exposure in pregnancy. Int J Hyg Environ Health. 2015 Aug;218(6):507-13.
81. Pycke BF, Geer LA, Dalloul M, Abulafia O, Jenck AM, Halden RU. Human fetal exposure to triclosan and triclocarban in an urban population from Brooklyn, New York. Environ Sci Technol. 2014;48(15):8831-8.
82. Moss T, Howes D, Williams FM. Percutaneous penetration and dermal metabolism of triclosan (2, 4, 4’-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether). Food Chem Toxicol. 2000 Apr; 38(4):361-70.
83. Kanetoshi A, Katsura E, Ogawa H, Ohyama T, Kaneshima H, Miura T. Acute toxicity, percutaneous absorption and effects on hepatic mixed function oxidase activities of 2, 4, 4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether (Irgasan DP300) and its chlorinated derivatives. Arch Environ Contam Toxicol. 1992 Jul;23(1):91-8.
84. Sandborgh-Englund G, Adolfsson-Erici M, Odham G, Ekstrand J. Pharmacokinetics of triclosan following oral ingestion in humans. J Toxicol Environ Health A. 2006 Oct;69(20):1861-73.
85. Geens T, Neels H, Covaci A. Distribution of bisphenol-A, triclosan and n-nonylphenol in human adipose tissue, liver and brain. Chemosphere. 2012 May;87(7):796-802.
86. Fang JL, Vanlandingham M, da Costa GG, Beland FA. Absorption and metabolism of triclosan after application to the skin of B6C3F1 mice. Environ Toxicol. 2016 May;31(5):609-23.
87. Louis GW, Hallinger DR, Braxton MJ, Kamel A, Stoker TE. Effects of chronic exposure to triclosan on reproductive and thyroid endpoints in the adult Wistar female rat. J Toxicol Environ Health A. 2017;80(4):236-249.
88. Wang CF, Tian Y. Reproductive endocrine-disrupting effects of triclosan: Population exposure, present evidence and potential mechanisms. Environ Pollut. 2015 Nov;206:195-201.
89. Ghassabian A, Bongers-Schokking JJ, Henrichs J, Jaddoe VW, Visser TJ, Visser W, de Muinck Keizer-Schrama SM, Hooijkaas H, Steegers EA, Hofman A, Verhulst FC, van der Ende J, de Rijke YB, Tiemeier H. Maternal thyroid function during pregnancy and behavioral problems in the offspring: the generation R study. Pediatr Res. 2011 May;69(5 Pt 1):454-9.
90. Li Y, Shan Z, Teng W, Yu X, Li Y, Fan C, Teng X, Guo R, Wang H, Li J, Chen Y, Wang W, Chawinga M, Zhang L, Yang L, Zhao Y, Hua T. Abnormalities of maternal thyroid function during pregnancy affect neuropsychological development of their children at 25-30 months. Clin Endocrinol (Oxf). 2010 Jun;72(6):825-9.

91. Koeppe ES, Ferguson KK, Colacino JA, Meeker JD. Relationship between urinary triclosan and paraben concentrations and serum thyroid measures in NHANES 2007-2008. Sci Total Environ. 2013 Feb 15;445-446:299-305.
92. Yueh MF, Taniguchi K, Chen S, Evans RM, Hammock BD, Karin M, Tukey RH. The commonly used antimicrobial additive triclosan is a liver tumor promoter. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Dec 2;111(48):17200-5.
93. Kim JY, Yi BR, Go RE, Hwang KA, Nam KH, Choi KC. Methoxychlor and triclosan stimulates ovarian cancer growth by regulating cell cycle- and apoptosis-related genes via an estrogen receptor-dependent pathway. Environ Toxicol Pharmacol. 2014 May; 37(3):1264-74.
94. Lee HR, Hwang KA, Nam KH, Kim HC, Choi KC. Progression of breast cancer cells was enhanced by endocrine-disrupting chemicals, triclosan and octylphenol, via an estrogen receptor-dependent signaling pathway in cellular and mouse xenograft models. Chem Res Toxicol. 2014 May 19; 27(5):834-42.
95. Deepa PR, Vandhana S, Jayanthi U, Krishnakumar S. Therapeutic and toxicologic evaluation of anti-lipogenic agents in cancer cells compared with non-neoplastic cells. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2012 Jun;110(6):494-503.
96. Krousel-Wood M, Chen W, Whelton PK. Urinary triclosan concentrations are inversely associated with body mass index and waist circumference in the US general population: Experience in NHANES 2003-2010. Int J Hyg Environ Health. 2015 Jun; 218(4):401-6.
97. Cherednichenko G, Zhang R, Bannister RA, Timofeyev V, Li N, Fritsch EB, Feng W, Barrientos GC, Schebb NH, Hammock BD, Beam KG, Chiamvimonvat N, Pessah IN. Triclosan impairs excitation-contraction coupling and Ca2+ dynamics in striated muscle. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Aug 28; 109(35):14158-63.
98. Etzel TM, Calafat AM, Ye X, Chen A, Lanphear BP, Savitz DA, Yolton K, Braun JM. Urinary triclosan concentrations during pregnancy and birth outcomes. Environ Res. 2017 Jul; 156:505-511.
99. Vélez MP, Arbuckle TE, Fraser WD. Female exposure to phenols and phthalates and time to pregnancy: the Maternal-Infant Research on Environmental Chemicals (MIREC) Study. Fertil Steril. 2015 Apr; 103(4):1011-1020.e2.
100. Lassen TH, Frederiksen H, Kyhl HB, Swan SH, Main KM, Andersson AM, Lind DV, Husby S, Wohlfahrt-Veje C, Skakkebæk NE, Jensen TK. Prenatal Triclosan Exposure and Anthropometric Measures Including Anogenital Distance in Danish Infants. Environ Health Perspect. 2016 Aug; 124(8):1261-8.
101. Crawford BR, Decatanzaro D. Disruption of blastocyst implantation by triclosan in mice: impacts of repeated and acute doses and combination with bisphenol-A. Reprod Toxicol. 2012 Dec;34(4):607-13.
102. Feng Y, Zhang P, Zhang Z, Shi J, Jiao Z, Shao B. Endocrine Disrupting Effects of Triclosan on the Placenta in Pregnant Rats. PLoS One. 2016 May 5;11(5):e0154758.
103. Spanier AJ, Fausnight T, Camacho TF, Braun JM. The associations of triclosan and paraben exposure with allergen sensitization and wheeze in children. Allergy Asthma Proc. 2014 Nov-Dec;35(6):475-81.

104.Hong S, Kwon HJ, Choi WJ, Lim WR, Kim J, Kim K. Association between exposure to antimicrobial household products and allergic symptoms. Environ Health Toxicol. 2014 Nov 21;29:e2014017.

105.Tan WP, Suresh S, Tey HL, Chiam LY, Goon AT. A randomized double-blind controlled trial to compare a triclosan-containing emollient with vehicle for the treatment of atopic dermatitis. Clin Exp Dermatol. 2010 Jun;35(4):e109-12.

106.Udoji F, Martin T, Etherton R, Whalen MM. Immunosuppressive effects of triclosan, nonylphenol, and DDT on human natural killer cells in vitro. J Immunotoxicol. 2010 Jul-Sep; 7(3):205-12.

107.Braoudaki M, Hilton AC. Low level of cross-resistance between triclosan and antibiotics in Escherichia coli K-12 and E. coli O55 compared to E. coli O157. FEMS Microbiol Lett. 2004 Jun 15; 235(2):305-9.

108.Chen Y, Pi B, Zhou H, Yu Y, Li L. Triclosan resistance in clinical isolates of Acinetobacter baumannii. J Med Microbiol. 2009 Aug;58(Pt 8):1086-1091.

109.Juncker J-C. Commission impemeting decision not approving triclosan as an existing active substance for use in biocidal products for product type1. In 528/2012, edited by Union European. Brussels: Jean-Claude Junker, 2016.

110.Pivnenko K, Pedersen GA, Eriksson E, Astrup TF. Bisphenol A and its structural analogues in household waste paper. Waste Manag. 2015 Oct;44:39-47.

111.Serini, Volker. “Polycarbonates” Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry, 2000.

112.Kroschwitz, Jacueline F. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Compounds. Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry.

113.Dagani MS, Barda Hj, Benya TJ, Sanders DC. Bromine Lompounds. Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry.

114.Concern over canned foods. Consumer Reports 2009.

115. Soaring BPA Levels Found in People WHO Eat Canned Foods Fox News, 2011.

116.Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL. Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. Environ Health Perspect. 2008 Jan; 116(1):39-44.

117.vom Saal FS, Akingbemi BT, Belcher SM, Birnbaum LS, Crain DA, Eriksen M, Farabollini F, Guillette LJ Jr, Hauser R, Heindel JJ, Ho SM, Hunt PA, Iguchi T, Jobling S, Kanno J, Keri RA, Knudsen KE, Laufer H, LeBlanc GA, Marcus M, McLachlan JA, Myers JP, Nadal A, Newbold RR, Olea N, Prins GS, Richter CA, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM, Talsness CE, Vandenbergh JG, Vandenberg LN, Walser-Kuntz DR, Watson CS, Welshons WV, Wetherill Y, Zoeller RT. Chapel Hill bisphenol A expert panel consensus statement: integration of mechanisms, effects in animals and potential to impact human health at current levels of exposure. Reprod Toxicol. 2007 Aug-Sep; 24(2):131-8.

118.Ahmed RA, ElGhamrawy TA, Salama EE. Effect of prenatal exposure to bisphenol a on the vagina of albino rats: immunohistochemical and ultrastructural study. Folia Morphol (Warsz). 2014 Nov;73(4):399-408.

119.vom Saal FS, Akingbemi BT, Belcher SM, Birnbaum LS, Crain DA, Eriksen M, Farabollini F, Guillette LJ Jr, Hauser R, Heindel JJ, Ho SM, Hunt PA, Iguchi T, Jobling S, Kanno J, Keri

RA, Knudsen KE, Laufer H, LeBlanc GA, Marcus M, McLachlan JA, Myers JP, Nadal A, Newbold RR, Olea N, Prins GS, Richter CA, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM, Talsness CE, Vandenbergh JG, Vandenberg LN, Walser-Kuntz DR, Watson CS, Welshons WV, Wetherill Y, Zoeller RT. Chapel Hill bisphenol A expert panel consensus statement: integration of mechanisms, effects in animals and potential to impact human health at current levels of exposure. Reprod Toxicol. 2007 Aug-Sep; 24(2):131-8.

120. Kadry M. Sadek, Tarek K. Abouzed, Mousa A. Ayoub Oxidative and Hormonal Disruptions Underlie Bisphenol A - Induced Testicular Toxicity in Male Rabbits. International J of Biol. Vet. Agric. and Food Engineering, 2014.
121. Bisphenol A European Food Safety Authority, 2015.
122. MSC unanimously agrees that Bisphenol A is an endocrine disruptor All news-ECHA, 2017.
123. Gore AC, Chappell VA, Fenton SE, Flaws JA, Nadal A, Prins GS, Toppari J, Zoeller RT. EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. Endocr Rev. 2015 Dec; 36(6):E1-E150.
124. Giulivo M, Lopez de Alda M, Capri E, Barceló D. Human exposure to endocrine disrupting compounds: Their role in reproductive systems, metabolic syndrome and breast cancer. A review. Environ Res. 2016 Nov;151:251-264.
125. Rudy Abo1, Nicolai-Alexeji Kummer, Broder J. Merkel Optimized photodegradation of Bisphenol A in water using ZnO, TiO2and SnO2 photocatalysts under UV radiation as a decontamination procedure.Drinking water Engineering and Scienc. 9(2):27-35, 2016.
126. Marcia C Inhorn , Pasquale Patrizio. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century.Hum. Jul-Aug 2015; 21(4):411-26.
127. Yang C, Barlow SM, Muldoon Jacobs KL, Vitcheva V, Boobis AR, Felter SP, Arvidson KB, Keller D, Cronin MTD, Enoch S, Worth A, Hollnagel HM. Thresholds of Toxicological Concern for cosmetics-related substances: New database, thresholds, and enrichment of chemical space. Food Chem Toxicol. 2017 Nov; 109(Pt 1):170-193.
128. Tsatsakis AM, Kouretas D, Tzatzarakis MN, Stivaktakis P, Tsarouhas K, Golokhvast KS, Rakitskii VN, Tutelyan VA, Hernandez AF, Rezaee R, Chung G, Fenga C, Engin AB, Neagu M, Arsene AL, Docea AO, Gofita E, Calina D, Taitzoglou I, Liesivuori J, Hayes AW, Gutnikov S, Tsitsimpikou C. Simulating real-life exposures to uncover possible risks to human health: A proposed consensus for a novel methodological approach. Hum Exp Toxicol. 2017 Jun;36(6):554-564.
129. European Food Safety Authority (2013. Scientific Opinion on the hazard assessment of endocrine disruptors. Scientific criteria for identification of endocrine disruptors and appropriateness of existing test methods for assessing effects mediated by these substances on human health and the environment, 11 (2) 3132/8499.
130. Machtinger R, Berman T, Adir M, Mansur A, Baccarelli AA, Racowsky C, Calafat AM, Hauser R, Nahum R. Urinary concentrations of phthalate metabolites, bisphenols and personal care product chemical biomarkers in pregnant women in Israel. Environ Int. 2018 Jul;116:319-325.

131. Dann AB, Hontela A. Triclosan: environmental exposure, toxicity and mechanisms of action. J Appl Toxicol. 2011 May;31(4):285-311.
132. Błędzka D, Gromadzińska J, Wąsowicz W. Parabens. From environmental studies to human health. Environ Int. 2014 Jun;67:27-42.
133. Parvez S, Gerona RR, Proctor C, Friesen M, Ashby JL, Reiter JL, Lui Z, Winchester PD. Glyphosate exposure in pregnancy and shortened gestational length: a prospective Indiana birth cohort study. Environ Health. 2018 Mar 9; 17(1):23.
134. Van Bruggen AHC, He MM, Shin K, Mai V, Jeong KC, Finckh MR, Morris JG Jr. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. Sci Total Environ. 2018 Mar; 616-617:255-268.
135. Katsikantami I, Sifakis S, Tzatzarakis MN, Vakonaki E, Kalantzi OI, Tsatsakis AM, Rizos AK. A global assessment of phthalates burden and related links to health effects. Environ Int. 2016 Dec;97:212-236.
136. Rodricks JV, Swenberg JA, Borzelleca JF, Maronpot RR, Shipp AM. Triclosan: a critical review of the experimental data and development of margins of safety for consumer products. Crit Rev Toxicol. 2010 May;40(5):422-84.
137. Rochester JR. Bisphenol A and human health: a review of the literature. Reprod Toxicol. 2013 Dec; 42:132-55.
138. Gaur H, Bhargava A. Glyphosate induces toxicity and modulates calcium and NO signaling in zebrafish embryos. Biochem Biophys Res Commun. 2019 Jun 11;513(4):1070-1075.
139. Tsatsakis A, Docea AO, Constantin C, Calina D, Zlatian O, Nikolouzakis TK, Stivaktakis PD, Kalogeraki A, Liesivuori J, Tzanakakis G, Neagu M. Genotoxic, cytotoxic, and cytopathological effects in rats exposed for 18 months to a mixture of 13 chemicals in doses below NOAEL levels. Toxicol Lett. 2019 Nov;316:154-170.
140. IARC. March 2016 Q and A on Glyphosate.
141. Auletta C (1995).An 18-month oral oncogenicity study of triclosan in the mouse via dietary administration. Pharmaco LSR. Study no. 93-2260.
142. Yau E, Green J. (1986). FAT 80’ 023 2-year oral administration to rats (MIN 833005). Ciba-Gergy. Limited. April 28.
143. Lankas, GR. And Hogan, G.K, a lifetime feeding study of glyphosate (Roundup technical) in mice. Project #77-2061.
144. Meyer, T.W Tubular injury in glomerular disease. Kidney Intl 63 (2003), 774-787.
145. Chambers P 1999).FAT 80’ 023/s Potential tumorigenic and chronic toxicity effects in prolonged dietary administration to hamsters. Hundingdon Life Sciences Ltd.
146. Boas M, Feldt-Rasmussen U, Main KM. Thyroid effects of endocrine disrupting chemicals. Mol Cell Endocrinol. 2012 May 22; 355(2):240-8.
147. Swanson, N., Leu, A., Abrahamson, J., & Wallet, B. (2014). Genetically engineered crops, glyphosate and the deterioration of health in the United States of America.
148. Alarcón R, Ingaramo PI, Rivera OE, Dioguardi GH, Repetti MR, Demonte LD, Milesi MM, Varayoud J, Muñoz-de-Toro M, Luque EH. Neonatal exposure to a glyphosate-based herbicide alters the histofunctional differentiation of the ovaries and uterus in lambs. Mol Cell Endocrinol. 2019 Feb 15; 482:45-56.

149. Rivera OE, Varayoud J, Rodríguez HA, Muñoz-de-Toro M, Luque EH. Neonatal exposure to bisphenol A or diethylstilbestrol alters the ovarian follicular dynamics in the lamb. Reprod Toxicol. 2011 Nov;32(3):304-12.
150. Clair E, Mesnage R, Travert C, Séralini GÉ. A glyphosate-based herbicide induces necrosis and apoptosis in mature rat testicular cells in vitro, and testosterone decrease at lower levels. Toxicol In Vitro. 2012 Mar;26(2):269-79.

© 2021

Ιωάννης Σεγρεδάκης

ALL RIGHTS RESERVED