ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

L'insetticida lindano: identificazione dei rischi possibili per la riproduzione umana

Maria Elsa Traina (a), Elisabetta Urbani (a),
Michele Rescìa (a), Alberto Mantovani (b)
(a) Laboratorio di Igiene Ambientale
(b) Laboratorio di Tossicologia Comparata e Ecotossicologia

ISSN 1123-3117
Rapporti ISTISAN
01/3

Istituto Superiore di Sanità
L'insetticida lindano: identificazione dei rischi possibili per la riproduzione umana.
Maria Elsa Traina, Elisabetta Urbani, Michele Rescìa, Alberto Mantovani
2001, 59 p. Rapporti ISTISAN 01/3

L'ipotesi che l'esposizione a sostanze inquinanti in grado di alterare l'equilibrio del sistema endocrino possa avere effetti sulla riproduzione umana e sullo sviluppo è attualmente oggetto d'interesse nella comunità scientifica. Particolare attenzione è stata indirizzata ai pesticidi organoclorurati a lunga persistenza nell'ambiente e negli organismi, per i quali esistono numerose evidenze di effetti nocivi per la riproduzione, negli studi di tossicologia sperimentale. L'insetticida lindano (l'isomero-γ dell'esaclorocicloesano), largamente utilizzato prima degli anni '80, non è stato fino ad oggi adeguatamente valutato per un possibile rischio riproduttivo a lungo termine. In questa rassegna è stata pertanto effettuata una revisione critica della letteratura scientifica sugli effetti di questo principio attivo sul sistema riproduttivo maschile e femminile, sulla gravidanza e sullo sviluppo. Attraverso un'analisi del consumo di prodotti a base di lindano e una valutazione dei livelli di questo principio attivo nell'ambiente e nei liquidi e tessuti biologici, con particolare riguardo alla situazione italiana, sono stati definiti i possibili periodi di maggiore esposizione (anni 1960-70) a quest'insetticida. Il presente rapporto intende costituire uno strumento di lavoro per chi compie studi di tossicologia sperimentale e di epidemiologia, per la prevenzione dei rischi riproduttivi negli ambienti di vita e di lavoro.

Parole chiave: Lindano, Riproduzione umana, Rischio tossicologico, Prevenzione

Istituto Superiore di Sanità
The insecticide lindane: identification of possible risks for human reproduction.
Maria Elsa Traina, Elisabetta Urbani, Michele Rescìa, Alberto Mantovani
2001, 59 p. Rapporti ISTISAN 01/3 (in Italian)

A growing international concern exists about the potential harm to human reproduction caused by pollutants able to interfere with the endocrine system. Particular interest is addressed to organochlorine pesticides persisting in the environment and organisms; such compounds are extensively studied for their adverse effects on reproductive functions and development of laboratory animals. The insecticide lindane (the γ-isomer of hexachlorocyclohexane), widely used before the 80s, has yet to be adequately evaluated as regards the possible reproductive risk. The present report contains a critical revision of the available scientific literature about lindane effects on the male and female reproductive systems, pregnancy and development. Besides, the possible higher exposure periods to this pesticide (years 60s-70s) have been determined through the analysis of the lindane products consumed and the evaluation of the active ingredient levels in the environment and in the tissues and biological fluids, with particular regard to Italy. The present review aims at supporting further toxicological and epidemiological studies to assess the possible reproductive risk posed by environmental and professional exposure to chlorinated insecticides.

Key words: Lindane, Human reproduction, Toxicological risk, Prevention

Il presente rapporto è stato elaborato nell'ambito del Progetto di Ricerca Finalizza 1% (Ministero della Sanità, Programma per la Ricerca Finalizzata 1999, Art.12, comma 2. del D.Lvo 502/1992): *Esposizione umana a xenobiotici con potenziale attività endocrina: valutazione del rischio per la riproduzione e per l'età evolutiva.*

Il rapporto è disponibile online nel sito di questo Istituto: www.iss.it.

© Istituto Superiore di Sanità 2001

DISCLAIMER

Portions of this document may be illegible in electronic image products. Images are produced from the best available original document.

INDICE

INTRODUZIONE 1

CARATTERISTICHE GENERALI
E PROPRIETÀ FISICO-CHIMICHE DEL LINDANO 3
Struttura chimica 3

UTILIZZO E DIFFUSIONE 4
Consumo in Italia e in altri Paesi europei 4
Diffusione nell'ambiente 10
Livelli ambientali 10

L'ESPOSIZIONE UMANA 12
Presenza di lindano nei fluidi biologici e tessuti umani 13
Sangue 13
Tessuto adiposo 14
Latte materno 15
Tessuti e fluidi biologici del sistema riproduttivo 17

EFFETTI DEL LINDANO SULL'UOMO 19
Studi clinici 19
Studi epidemiologici ed esposizione professionale 20

STUDI DI TOSSICOLOGIA SPERIMENTALE:
EFFETTI SUL SISTEMA RIPRODUTTIVO 23
Effetti sul sistema riproduttivo maschile 23
- Effetti nell'animale adulto 23
- Effetti sullo sviluppo 26
Effetti sul sistema riproduttivo femminile 27
- Effetti nell'animale adulto 27
- Effetti sullo sviluppo 30
Effetti sulla gravidanza e lo sviluppo prenatale 31
Studi *in vitro* 34

CLASSIFICAZIONE, VALUTAZIONE, STANDARD, NORMATIVA UE 41

CONCLUSIONI 42

BIBLIOGRAFIA 44

INTRODUZIONE

Alcuni inquinanti ambientali sono in grado di alterare l'equilibrio del sistema endocrino negli animali e nell'uomo con conseguenze talvolta irreversibili sullo sviluppo e la funzionalità di diversi apparati; in particolare il sistema riproduttivo è stato identificato come un bersaglio particolarmente suscettibile. Per indicare queste sostanze si usa il termine di xeno-ormoni o, più comunemente, il termine inglese *Endocrine-Disrupting Chemicals*, EDC (Toppari *et al.*, 1995).

Negli anni 1960-1970 era stata messa in evidenza nei modelli sperimentali *in vivo* e *in vitro* "l'estrogenicità" di un certo numero di inquinanti ambientali quali l'o,p'-DDT, il kepone, il metossicloro, i derivati fenolici e i bifenili policlorurati (PCB) . Negli ultimi anni, in seguito all'introduzione di nuovi metodi di screening, si sono aggiunti all'elenco altri pesticidi e composti di origine industriale quali il toxafene, la dieldrina, l'endosulfan, alcuni derivati alchilfenolici, il benzilbutilftalato e il bisfenolo-A (Soto *et al.*, 1995; Thomas, 1998), inoltre, crescente attenzione stanno ricevendo i composti tireostatici.

A destare preoccupazione non sono solo i dati sperimentali; alterazioni quali anomalie morfologiche del tratto genitale esterno, riduzione della fertilità e alterazioni del comportamento sono state infatti osservate in animali selvatici (pesci, uccelli, mammiferi) e sono state associate alla presenza di alcuni inquinanti a lunga persistenza quali gli organoclorurati (Tyler *et al.*, 1998; Vos *et al.*, 2000). Gli studi di tossicologia sperimentale *in vivo* e *in vitro* hanno evidenziato, per alcuni di questi composti, meccanismi d'azione diversi, ma sempre riconducibili ad un'attività sull'omeostasi degli ormoni sessuali.

Le molecole che possiedono un'attività antiandrogenica sono di particolare interesse per la patogenesi di effetti indotti da esposizioni avvenute in periodi critici per lo sviluppo morfologico e funzionale del sistema riproduttivo. L'azione di queste molecole può essere mediata dal legame con i recettori ormonali; altri meccanismi possono invece coinvolgere la sintesi o l'attività degli ormoni sessuali o alterare la funzionalità delle ghiandole endocrine o degli organi e tessuti bersaglio.

L'ipotesi che effetti sullo sviluppo e sulla funzionalità del sistema riproduttivo (evidenziabili anche a lungo termine) possano verificarsi nell'uomo per esposizioni a EDC è attualmente oggetto d'attenzione nella comunità scientifica. Sembrano sostenere quest'ipotesi le osservazioni sull'aumentata incidenza in alcuni Paesi del Nord-Europa, di patologie malformative, funzionali e tumorali del tratto riproduttivo maschile (Skakkebaek & Keiding, 1994; Adami *et al.*, 1994) e, più recentemente, le osservazioni sul ritardo di sviluppo in bambini esposti ai PCB. (Brouwer *et al.*, 1995; Jacobson & Jacobson, 1996).

Tra gli inquinanti ambientali gli EDC occupano pertanto un posto prioritario. Gli effetti sul sistema riproduttivo possono essere indotti da una esposizione prenatale e/o neonatale e manifestarsi (ed essere quindi osservabili) dopo un lungo periodo di latenza, al raggiungimento della maturità sessuale e inoltre non possono essere esclusi rischi anche a bassi livelli di esposizione.

La normativa dell'Unione Europea, per la classificazione e l'etichettatura delle sostanze e dei preparati pericolosi per la salute dell'uomo e/o per l'ambiente, è stata nel 1993 estesa agli effetti sulla fertilità e sullo sviluppo (Direttiva 93/21/CEE della Commissione del 27 aprile 1993, 18° adeguamento della Direttiva di base 67/548).

Per le sostanze introdotte sul mercato successivamente alla normativa, l'informazione tossicologica fornita dai produttori è, nella gran parte dei casi, sufficiente per definire un eventuale rischio per la riproduzione e lo sviluppo, poiché nel corso degli anni i protocolli

sperimentali proposti dalle agenzie sono stati modificati con l'introduzione di indicatori di tossicità più sensibili e specifici. A livello dell'OECD (Organisation de Coopération et de Développement Economiques, http://www.oecd.org/ehs, ultima consultazione 5/4/2001) è in corso un programma di aggiornamento delle linee guida tossicologiche per una migliore caratterizzazione degli effetti endocrini e anche su altri sistemi (es. sistema nervoso). Questa condizione non sempre si realizza per le sostanze introdotte sul mercato negli anni precedenti la normativa; ad esempio alcuni parametri tradizionalmente utilizzati negli studi ad una o più generazioni, quali l'indice di fertilità, sono risultati poco sensibili per la valutazione degli effetti riproduttivi nei roditori, rispetto ai parametri seminologici o istologici (ad esempio Nagao *et al.*, 2000).

Alla luce delle considerazioni esposte precedentemente assumono quindi particolare interesse le sostanze a lunga persistenza nell'ambiente e nei tessuti biologici, introdotte sul territorio italiano già da diversi anni, e che non sono state fino ad oggi adeguatamente valutate per un probabile rischio riproduttivo.

Tra questi, una sostanza largamente impiegata sino a tempi recenti, è il lindano, un insetticida organoclorurato con caratteristiche di persistenza nell'ambiente e nei tessuti e liquidi biologici; recenti acquisizioni sperimentali hanno, inoltre, evidenziato per questa molecola una potenziale tossicità per il sistema riproduttivo.

Nella presente rassegna ci si è pertanto proposti di fare una revisione critica delle informazioni tossicologiche attualmente disponibili sugli effetti riproduttivi del lindano, al fine di fornire uno strumento utilizzabile nelle attività di ricerca e di valutazione del rischio per l'uomo.

Nel tentativo di definire i periodi di maggiore esposizione a quest'insetticida sono stati analizzati i consumi di prodotti a base di lindano in Italia, negli ultimi cinquant'anni; particolare attenzione è stata rivolta ugualmente ad una revisione dei dati disponibili sulle concentrazioni del lindano nei tessuti biologici.

CARATTERISTICHE GENERALI E PROPRIETÀ FISICO-CHIMICHE DEL LINDANO

Il prodotto tecnico lindano è quasi interamente costituito dall'isomero γ-HCH del 1,2,3,4,5,6-esaclorocicloesano (HCH). Quasi tutti i prodotti commercializzati in Paesi diversi contengono infatti più del 95% di γ-HCH, l'unico isomero-HCH che possiede una significativa attività antiparassitaria. Il prodotto tecnico dell'HCH è invece una miscela di 8 isomeri tra cui solo 5 sono stabili. Nei prodotti dell'HCH commercializzati, il 65-70% è costituito dall'isomero α-HCH, il 5-12% dal β-HCH, il 14-15% dal γ-HCH ed il restante 10% da altri isomeri e composti. La struttura chimica del γ-HCH e le principali caratteristiche chimico-fisiche sono riportate in Tabella 1 (USEPA, 1988) e in Figura 1.

Tabella 1. Caratteristiche chimico-fisiche del lindano

Numero CAS (Chemical Abstract Service)	58-89-9
Formula chimica	$C_6H_6Cl_6$
Peso Molecolare	290.85
Stato fisico	Cristallo Bianco
Punto d'ebollizione	288°C
Punto di fusione	113°C
Densità	1,85 g/cm^3 a 20° C
Pressione di vapore	0.434 × 10^{-2} Pa a 20°C
Solubilità in acqua	7, 0-17 mg/l a 25°C
Coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua	3,2-3,7
Limite olfattivo	12 mg/l
Limite gustativo	12 mg/l

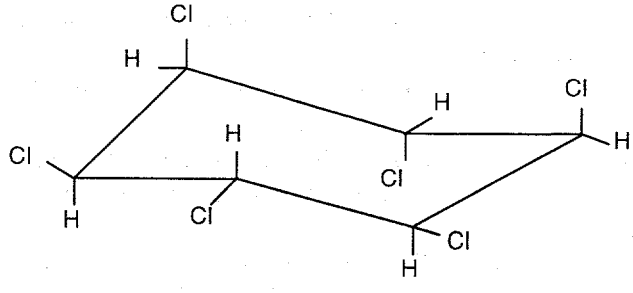

Figura 1. Struttura chimica del lindano;
Nome chimico (IUPAC): 1α,2α,3β,4α,5α,6β-esaclorocicloesano;
Nomi comuni: lindano, γ-BHC, γ-HCB

UTILIZZO E DIFFUSIONE

Il lindano è un insetticida a largo spettro introdotto sin dai primi anni '50, in sostituzione dell'HCH. L'HCH era stato sintetizzato nel 1825 da Faraday ed è stato utilizzato per le sue proprietà antiparassitarie dal 1942 (WHO, 1991).

Il lindano ha trovato impiego soprattutto nel trattamento delle sementi e dei suoli, degli alberi da frutta e del legname; è stato inoltre impiegato come prodotto antiparassitario per gli animali domestici e d'allevamento e in alcuni preparati farmaceutici sotto forma di lozioni, creme e shampoo per la cura e la prevenzione nell'uomo della pediculosi e della scabbia. Attualmente, nessun prodotto farmaceutico contenente lindano è riportato nel Prontuario Farmaceutico Italiano; inoltre il lindano non è compreso fra i principi attivi autorizzati come farmaci zootecnici in Europa (http://www.eudra.org/vetdocs/vets/mrl, ultima consultazione 5/4/2001).

Consumo in Italia e in altri Paesi europei

In Italia i prodotti antiparassitari agricoli a base di lindano sono stati consumati, in tutte le regioni, in quantità sempre crescenti dagli anni '50 fino al 1979 (Tabella 2, Figura 2). Nel decennio 1969-1979 sono stati raggiunti i valori massimi di consumo (circa 20 mila quintali/anno).

Il Decreto del Ministero della Sanità, DM del 12 luglio1975 (*Gazzetta Ufficiale-Serie Generale* n. 210, 7 agosto 1975) ha introdotto delle limitazioni all'utilizzo del lindano in campo agricolo, consentendone l'uso per il trattamento del terreno prima della semina, per la disinfestazione dei cereali nei magazzini e sulle sementi e per le coltivazioni della barbabietola. Nella maggior parte degli altri Paesi europei, le restrizioni d'uso e le revoche per il lindano sono state introdotte negli anni successivi (Breivik *et al.*, 1999). Ad esempio tra i Paesi Nordici l'uso del lindano è stato sospeso nel 1987 in Finlandia e tra il 1989 e il 1995 in Svezia, Olanda, Norvegia e Danimarca.

In Italia l'analisi del consumo per regioni e per anno, indica che circa il 50% dei prodotti è stato utilizzato nel Nord-Italia, il 20% e il 30% invece nelle regioni del Centro e del Sud, rispettivamente. La diminuzione del consumo di prodotti contenenti lindano inizia negli anni '80 ed è particolarmente evidente dal 1987.

Dal 1992 il consumo nelle regioni del Sud è paragonabile al consumo delle regioni del Nord-Italia.

Poiché la concentrazione del principio attivo nei diversi prodotti è variata nel corso degli anni, l'analisi dei consumi riportata precedentemente non consente di stimare la quantità di lindano effettivamente utilizzata in Italia.

Per valutare la composizione dei prodotti d'uso più comune commercializzati in Italia sono stati consultati i prontuari dei fitofarmaci (Muccinelli; Valmori) disponibili dal 1969 al 2000, (Tabella 3).

E' da notare che nel periodo immediatamente precedente il DM del 1975, il numero di prodotti era aumentato notevolmente, passando dai 148 commercializzati nel 1969 ai 230 degli anni 1973-1975; l'aumento riguardava in particolare i formulati a più alta concentrazione di lindano (Figura 3, 4).

Tabella 2. Consumo di prodotti a base di lindano in Italia negli ultimi 50 anni (dati espressi in quintali). Fonte: Annuario Statistico Italiano dell'ISTAT

Anno	Consumo totale	Nord	Centro	Sud e isole
1951	3.232	-	-	-
1952	4.506	-	-	-
1953	6.773	3.153	2.020	1.600
1954	9.033	4.700	2.461	1.872
1955	9.633	4.922	2.982	1.729
1956	12.092	5.236	3.155	3.701
1957	13.504	5.767	3.574	4.163
1958	16.246	7.409	4.403	4.434
1959	12.905	6.086	3.439	3.380
1960	12.049	5.628	3.240	3.181
1961	13.619	6.162	3.780	3.677
1962	14.384	6.157	3.436	4.791
1963	15.023	5.826	3.826	5.371
1964	12.075	5.315	3.489	3.271
1965	10.858	4.965	2.571	3.322
1966	15.734	6.842	3.571	5.321
1967	15.726	6.175	4.262	5.289
1968	19.399	8.045	5.321	6.033
1969	18.214	7.637	4.936	5.813
1970	19.723	8.574	6.091	5.274
1971	18.351	8.760	4.268	5.591
1972	16.550	8.977	3.418	4.480
1973	18.037	9.626	4.464	4.305
1974	20.510	10.880	4.123	5.727
1975	21.394	15.550	2.551	3.500
1976	18.838	12.992	2.986	3.004
1977	19.556	10.618	2.819	3.271
1978	20.521	13.604	3.186	3.870
1979	20.680	13.940	3.303	3.520
1980	15.761	10.204	2.644	3.004
1981	14.167	8.552	2.514	3.218
1982	13.337	8.140	2.805	2.485
1983	13.984	8.600	2.696	2.764
1984	14.776	9.360	2.553	2.772
1985	16.229	9.049	4.201	3.004
1986	10.820	6.739	2.258	1.843
1987	7.571	4.735	1.267	1.603
1988	5.991	3.276	952	1.764
1989	5.187	3.268	936	983
1990	3.592	2.140	703	749
1991	5.690	2.841	1.182	1.667
1992	3.081	1.178	578	1.325
1993	4.079	-	-	-
1994	4.206	1.686	264	2.256
1995	3.953	-	-	-
1996	4.136	1.658	547	1.924

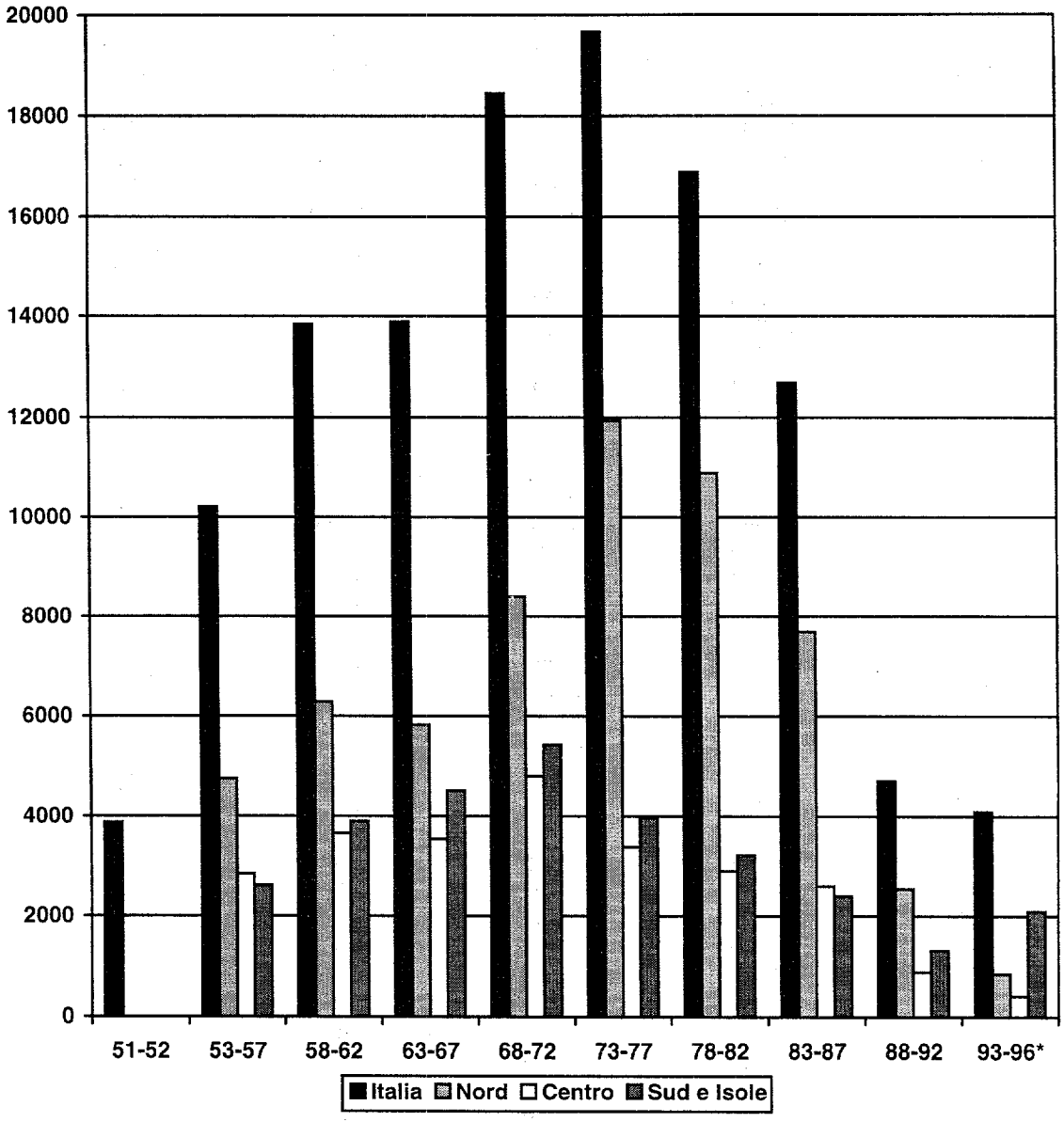

Figura 2. Consumo d'insetticidi organici di sintesi a base di lindano dal 1951 al 1996 (dati ISTAT).
I consumi sono espressi in quintali come media per anno nei periodi considerati.
I dati sono riferiti al consumo sul territorio nazionale e per regioni del Nord, Centro, Sud ed Isole.
*** Nel periodo 93-96, i dati sono riferiti agli anni 1994 e 1996.**

Tabella 3. Prodotti fitosanitari contenenti lindano a varie concentrazioni, commercializzati in Italia

Concentrazioni di lindano nei prodotti (%)	N. di prodotti commercializzati negli anni				
	1969 (1)	1973-1975 (1)	1985-1987 (1)	1990-1997 (1)	2000 (2)
0,02- 5	79	103	25	10	9
6-15	39	61	-	-	-
16-25	26	51	-	-	-
>30 (3)	4	15	-	-	-
Totale prodotti commercializzati	148	230	25	10	9

(1) Prontuario dei fitofarmaci Muccinelli.
(2) Nuovo repertorio dei fitofarmaci Valmori.
(3) Fino al 90% di principio attivo nei prodotti.

Attualmente il lindano è presente, in concentrazioni fino al 3%, in 21 prodotti autorizzati dopo l'entrata in vigore del DL.vo 194/1995 che ha limitato la concentrazione del lindano nei prodotti (Sistema informativo sanitario del Ministero della Sanità, http://www.sanita.it/sanita/sis.htm, ultima consultazione del 5/4/2001). L'ultima edizione del nuovo repertorio dei fitofarmaci (Valmori, 2000) riporta 9 prodotti a base di lindano (Tabella 3).

A livello mondiale è stato stimato che il consumo annuale dell'isomero γ era di 11900 tonnellate (t) nel 1980 e di 8400 t nel 1990, mentre era per il solo lindano 5900 t e 4000 t, rispettivamente per gli stessi anni (Li *et al.*, 1996). Un'analisi successiva sulla distribuzione del consumo di HCH tecnico nei diversi continenti indicava un consumo globale, tra il 1948 e il 1997, di 9,7 10^6 t (Li, 1999). A livello globale il consumo di HCH tecnico raggiunge il massimo nel periodo 1970-1980 e decresce successivamente con l'introduzione delle revoche in Cina, in India e Unione Sovietica (Li, 1999). A livello europeo è stato stimato, per il periodo 1970-1996, un consumo totale di γ-HCH pari a 135000 t. La maggiore fonte di questo isomero era l'HCH tecnico fino al 1970, mentre negli anni successivi, con l'introduzione delle limitazioni d'uso dell'HCH tecnico, era il lindano (Breivik *et al.*, 1999).

Dalla stima effettuata dal *Centre International d'Etude du Lindane* (CIEL, 1998) il consumo annuo di lindano in Europa era di 2130 t negli anni 1992-1997; la Francia risultava, tra i Paesi europei, uno dei maggiori consumatori con una media annua di 1600 t fino al 1998 (anno di revoca).

In Italia più della metà dei prodotti riportati nei prontuari dei fitofarmaci, pubblicati prima del DM del 1975, contenevano, oltre al lindano, altri principi attivi organoclorurati con potenziale attività endocrina quali il DDT, l'HCH, l'esaclorobenzene (HCB), spesso in concentrazioni superiori al 30%. In particolare dal 1947 al 1974 sono stati utilizzati:

- prodotti a base di HCH; il consumo di questi formulati ha raggiunto nell'ultimo anno di produzione (l'HCH è stato ritirato dal mercato nel 1974) un picco pari a 74 mila quintali (Figura 5). Si può pertanto ipotizzare che i prodotti a base di HCH abbiano costituito una fonte ulteriore e non trascurabile di isomero γ sul territorio italiano.
- prodotti a base di DDT; i consumi massimi di questi formulati, dell'ordine di 20 mila quintali/anno, sono stati raggiunti nel decennio 1965-1975 (Figura 6). Con DM del 11 ottobre 1978 è stato vietato l'impiego del DDT in agricoltura.

I primi anni '70 rappresentano pertanto un periodo di massima diffusione sul territorio italiano di prodotti a base principi attivi organoclorurati.

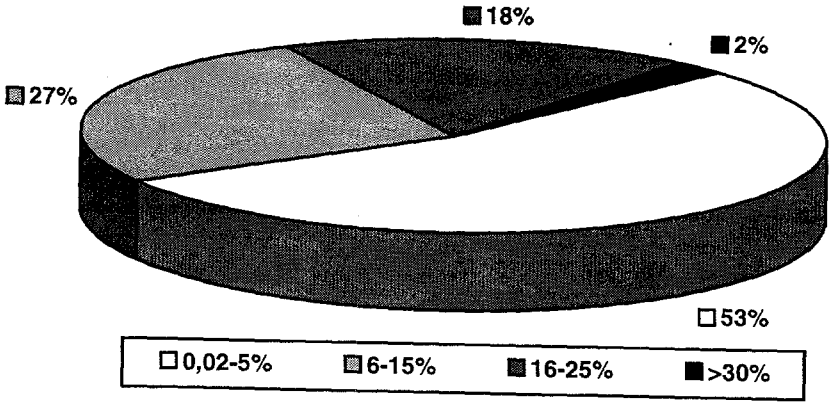

Figura 3. Distribuzione percentuale dei prodotti contenenti diverse concentrazioni di lindano, commercializzati in Italia nel 1969

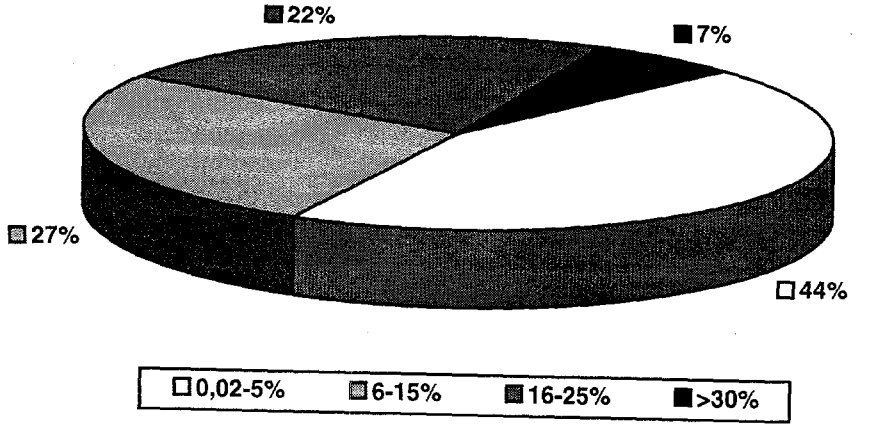

Figura 4. Distribuzione percentuale dei prodotti contenenti diverse concentrazioni di lindano, commercializzati in Italia negli anni 1973-1975

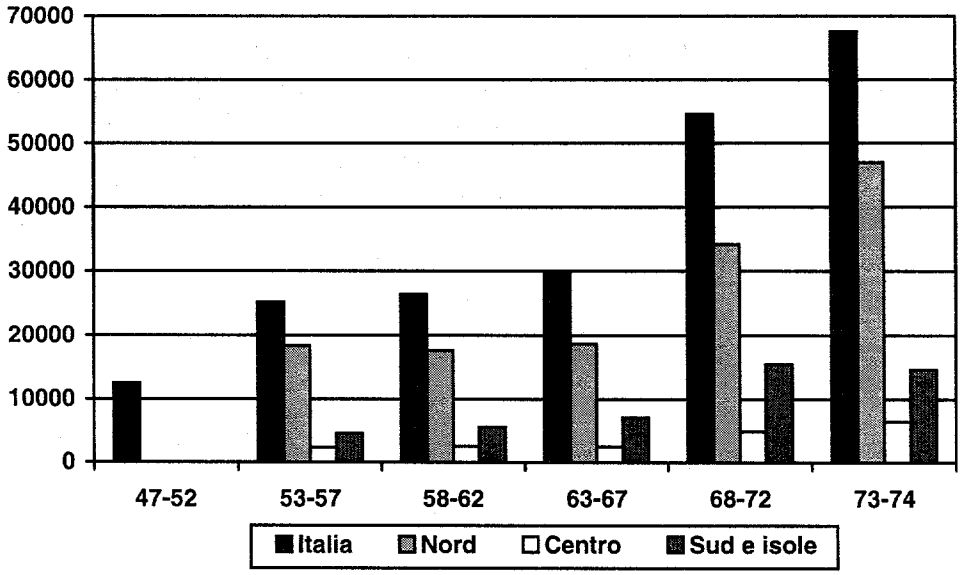

Figura 5. Consumo d'insetticidi organici di sintesi a base di HCH dal 1947 al 1974 (dati ISTAT). I consumi sono espressi in quintali come media per anno nei periodi considerati. I dati sono riferiti al consumo sul territorio nazionale e per regioni del Nord, Centro, Sud ed Isole

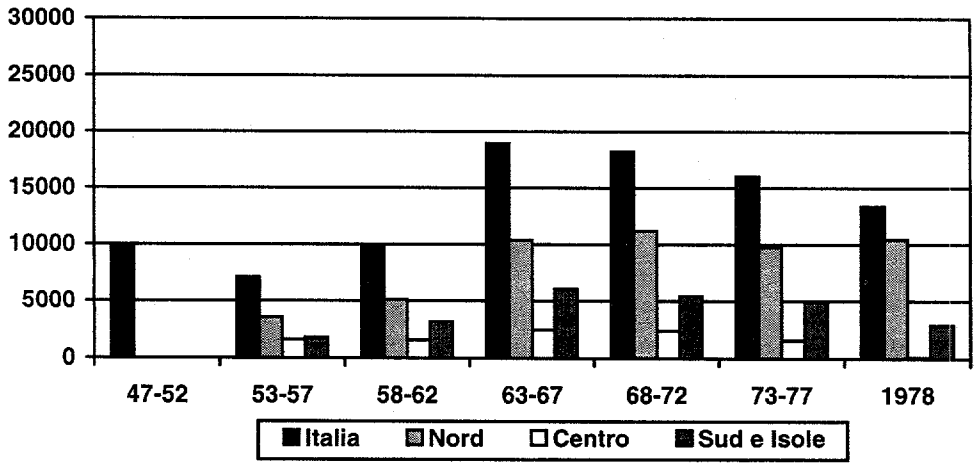

Figura 6. Consumo d'insetticidi organici di sintesi a base di DDT dal 1947 al 1978 (dati ISTAT). I consumi sono espressi in quintali come media per anno nei periodi considerati. I dati sono riferiti al consumo sul territorio nazionale e per regioni del Nord, Centro, Sud ed Isole

Diffusione nell'ambiente

Il lindano tende ad accumularsi nell'ambiente poiché biodegrada lentamente: l'emi-vita varia da 88 giorni a più di tre anni, secondo le condizioni ambientali (tipologia del terreno, profondità nel suolo, clima, ecc.). I prodotti di degradazione più frequentemente trovati sono il γ-pentaclorocicloesene, l'esa, il penta, il tetra e il tri-clorobenzene, il penta e il tetra-clorofenolo. Le migliori condizioni di biodegradazione si realizzano in anaerobiosi (emi-vita: 12-174 giorni); in queste condizioni i fenoli non si ritrovano come prodotti di degradazione.

La scarsa idrosolubilità del lindano ne favorisce l'assorbimento nella frazione organica del terreno. La molecola è pertanto relativamente immobile (migra lentamente nel suolo) e può essere trasportata solo dalle piogge e dalle acque d'irrigazione. Il suo passaggio nelle acque profonde avviene raramente.

A causa della loro bassa pressione di vapore gli isomeri dell'HCH (HCHs) sono poco volatili; tra i vari isomeri l'α-HCH e il γ-HCH presentano una volatilità più elevata. In condizioni d'alta temperatura i vari isomeri dell'HCH sono in parte degradati dai raggi UV (processo di declorurazione) in pentaclorocicloesene e tetraclorocicloesene.

Livelli ambientali

Le concentrazioni di HCH totale (somma di tutti gli isomeri) e dei diversi isomeri sono state determinate in diverse matrici ambientali quali piante, suolo, acqua ed aria e nei tessuti di diverse specie animali. Queste misure sono tuttora eseguite per evidenziare il trasporto globale dei diversi isomeri e il loro destino ambientale. Poiché il β-HCH è, tra i vari isomeri dell'HCH, il più persistente alla degradazione batterica e il meno volatile (Li, 1999), la sua presenza nelle matrici ambientali e/o biologiche è probabilmente un indicatore di contaminazione locale da HCH tecnico. La presenza invece nell'aria e nel mare del continente Artico degli isomeri α e γ, molto più volatili, indicherebbe un trasporto su lungo raggio; questi isomeri tenderebbero quindi a migrare più rapidamente e a depositarsi prevalentemente nelle regioni polari. Nella neve della regione artica canadese la concentrazione di HCH totale superava la concentrazione risultante dalla somma di tutti gli altri composti organoclorurati (Barrie *et al.*, 1992).

Vi sono differenze notevoli tra i livelli di contaminazione ambientale da γ-HCH e da HCH tecnico misurati in Europa e quelli misurati nei Paesi in via di sviluppo quali l'India, la Cina e l'Egitto. Recenti rassegne, cui si rimanda per un approfondimento della tematica, riportano un'analisi dettagliata della diffusione di queste molecole nelle diverse matrici ambientali (WHO, 1996; Willett *et al.*, 1998; Breivik *et al.*, 1999; Li, 1999). Qui di seguito sono state invece riportate solo alcune informazioni di carattere generale tratte da queste rassegne e, se disponibili, i dati che si riferiscono al territorio italiano.

Le concentrazioni di lindano misurate nell'*aria* sono generalmente basse: a livello di ng/m^3 (0,1-2) in aree urbane e agricole, a livello di μg/m^3 in ambienti confinati quali ad esempio le serre dopo lo spargimento dell'insetticida. Considerando la diffusione degli HCHs nell'atmosfera, le più alte concentrazioni sono state rilevate nell'emisfero Nord e in prossimità dei Paesi con più elevato consumo; campioni d'aria con concentrazioni pari a 10 ng/m^3 sono stati misurati nella regione del Golfo del Bengala (Willett *et al.*, 1998).

Nelle *acque di superficie* sono state misurate concentrazioni di lindano comprese tra 0,01-0,1 μg/l, con picchi di 12 μg/l nei fiumi contaminati con acque reflue. La contaminazione da

residui di HCHs risulta più elevata nelle acque di superficie alle latitudini Nord, quali il mare di Bering, il golfo dell'Alaska e del Nord-Pacifico.

Nelle *acque profonde* il lindano è stato trovato a livelli di ng/l (3-163).

La concentrazione di lindano nell'*acqua potabile* è generalmente inferiore a 0,001 µg/l.

Nell'*acqua piovana* il lindano e l'isomero α sono, tra i pesticidi misurati, quelli che si ritrovano più frequentemente. I dati riportati in 28 studi condotti in Europa indicano che il 90-100% dei campioni prelevati in alcuni Paesi contenevano lindano in concentrazioni comprese tra 0,02 e 0,833 µg/l (Dubus *et al.*, 2000).

Diversi studi sono stati condotti per misurare i livelli dell'HCH totale e di alcuni isomeri (in particolare α e β) nei *sedimenti* dei laghi, degli estuari dei fiumi e delle coste (Willett *et al.*, 1998). E' noto che la distribuzione degli inquinanti nei sedimenti costituisce una misura attendibile dei livelli di contaminazione dei laghi.

In *Italia*, nei sedimenti del lago di Garda (Bossi *et al.*, 1992) e del lago artificiale di Simbirizzi in Sardegna (Kalajzic *et al.*, 1998) sono state misurate, rispettivamente, concentrazioni dell'isomero γ pari a 0,60 e 0,20 µg/kg di sedimento secco. Nel lago di Garda le concentrazioni degli isomeri β e γ dell'HCH hanno mostrato una tendenza all'aumento nel periodo 1949-1989, probabilmente per un effetto di accumulo. Nel lago d'Orta, nella provincia di Novara, sono state misurate in diverse stazioni di prelievo, concentrazioni dell'isomero γ comprese tra 0,24 e 3,72 µg/kg di sedimento secco, e in una stazione corrispondente ad una discarica locale, una concentrazione massima di 13,73 µg/kg (Guzzella, 1997). Concentrazioni dell'isomero γ più basse (0,038 µg/kg di sedimento secco) sono state recentemente misurate nel lago Trasimeno, nella provincia di Perugia (Poletti *et al.*, 2000). La presenza di questi isomeri nei sedimenti dei laghi è probabilmente imputabile sia all'uso recente di lindano nelle coltivazioni di barbabietole da zucchero, sia all'utilizzo di prodotti a base di HCH negli anni precedenti la sua revoca.

Numerose specie animali sono state utilizzate per valutare la contaminazione ambientale dei vari isomeri dell'HCH, la loro evoluzione nel tempo e la loro diffusione a lunga distanza. Una descrizione delle informazioni disponibili è riportata nella rassegna di Willett *et al.*, 1998. Ad esempio gli isomeri β e γ dell'HCH sono stati misurati nelle uova di uccelli marini, in Norvegia e in un isola del mare d'Irlanda. Le concentrazioni di ambedue gli isomeri erano diminuite nel 1993 rispetto ai prelievi effettuati nel 1983 e i livelli dell'isomero γ erano al limite della rilevazione.

I pesci sono stati utilizzati come specie sentinella per valutare la contaminazione di fiumi in *Italia*. L'aumento della concentrazione degli isomeri α e γ osservato nel tessuto muscolare delle trote in un tratto del Po, localizzato a valle della confluenza del Lambro, indicava che il fiume Lambro era la fonte più rilevante di contaminazione del Po (Galassi *et al.*, 1996).

Per valutare il trasporto a lunga distanza degli HCHs, i residui degli isomeri sono stati misurati nei tessuti di alcune specie marine (anche mammiferi) del continente Artico. Ad esempio, come riportato nella rassegna di Willett (1998), concentrazioni di HCHs comprese tra 300 e 900 µg/kg sono state misurate nel tessuto adiposo degli orsi bianchi polari. I livelli di HCH nel grasso di 11 specie diverse di cetacei maschi adulti, erano significativamente più elevati negli animali dei mari freddi rispetto a quelli dei mari tropicali. L'analisi dei diversi isomeri dell'HCH mostrava che questi erano diversamente distribuiti nelle specie marine esaminate. Ad esempio nei mammiferi marini del Nord-Pacifico, del Nord-Atlantico e del Nord-Europa, il β-HCH era l'isomero preponderante nel grasso di alcune specie mentre gli isomeri α e γ lo erano in altre.

L'ESPOSIZIONE UMANA

L'esposizione umana al lindano avviene principalmente attraverso la dieta. Nei Paesi industriali è stato stimato che più del 90% del lindano assorbito dall'uomo proviene dal cibo, poiché le concentrazioni misurate nell'acqua potabile sono trascurabili.

Gli isomeri dell'HCH sono stati misurati nei prodotti caseari, nella carni bovine, nel pesce, nel pollame, nella frutta, negli ortaggi, nell'olio e nei grassi, nello zucchero. I più alti livelli degli isomeri α e β sono stati misurati nelle spezie e nelle piante aromatiche, mentre nel grasso animale sono stati trovati i più alti livelli di γ-HCH (>3200 μg/kg nel grasso di maiale). In alcuni Paesi, i prodotti caseari costituiscono una fonte importante di lindano, per l'esposizione umana; in Israele, ad esempio, alcuni prodotti del latte contenevano una concentrazione di lindano 100 volte superiore a quella misurata in prodotti simili negli Stati Uniti (Westin, 1993). In uno studio condotto in Spagna (de la Riva & Anadon, 1991) gli isomeri α, β e γ sono stati ritrovati rispettivamente nel 75, 37 e 96% dei 460 campioni di latte di mucca analizzati; in tre di questi campioni i livelli misurati superavano il limite di 0,1 mg/kg stabilito dall'Unione Europea (UE) nel 1986. E' stato stimato che nei Paesi Baschi, il pane, i cereali, il latte e i prodotti caseari erano gli alimenti che maggiormente contribuivano all'assunzione giornaliera di lindano nella dieta, negli anni 1988-1990 (Urieta *et al.*, 1996). In India, in uno studio multicentrico recentemente condotto in 12 regioni, la presenza di residui dell'HCH è stata rilevata in più del 80% dei 2205 campioni di latte raccolti. Le concentrazioni degli isomeri β e γ superavano, nel 42% e nel 8% dei campioni rispettivamente, i limiti massimi consentiti dalla normativa di questo Paese (Kalra *et al.*, 1999). In uno studio multicentrico condotto tra diversi Paesi europei (Badia-Vila *et al.*, 2000) sono state valutate le concentrazioni di β e γ-HCH nel burro; i livelli più elevati di γ-HCH sono stati trovati in Spagna con valori medi di 11,6 μg/kg (3 μg/kg negli altri Paesi).

L'assunzione giornaliera nella dieta (*Estimated Daily Intake*, EDI) dell'HCH totale, stimata negli anni 1981-1982 negli USA, era di circa 0,01 μg/kg di peso corporeo (0,008 μg di isomero α e 0,002 μg di isomero γ). In Olanda l'EDI calcolata risultava di circa 0,015 μg/kg di peso corporeo per gli isomeri α, β e γ. La *Food and Drug Administration* (FDA) ha stimato un EDI per l'HCH totale di 0,018 μg/kg nel lattante e di 0,025 μg/kg nella prima infanzia (Pohl & Tylenda, 2000).

In *Italia* non è tuttora disponibile una raccolta sistematica dei dati più recenti riguardanti i residui negli alimenti di origine animale. In uno studio condotto su bovini macellati nel 1971 e provenienti da allevamenti dell'Emilia Romagna e del Veneto, i residui dell'HCH sono stati evidenziati in alcuni campioni di carne e di grasso perirenale; la concentrazione media dell' HCH totale (isomeri α, β, δ e γ) risultava di 43 μg/kg (26 per l'isomero γ) nella carne e di 211μg/kg (98 per l'isomero γ) nel grasso perirenale. La contaminazione dei tessuti bovini, come suggerito dagli autori, derivava probabilmente dai trattamenti disinfestanti sugli animali e nelle stalle e dall'inquinamento degli alimenti trattati con fitosanitari in campo o nei locali di stoccaggio (Crisetig *et al.*, 1975). La situazione qualitativa e quantitativa degli HCHs e di altri residui organoclorurati a lunga persistenza nel grasso perirenale era confrontabile a quella evidenziata in altri studi effettuati su prodotti caseari, provenienti dalle stesse regioni. In campioni di burro, provenienti dalla provincia di Modena, sono stati trovati livelli medi di HCH totale di 380 μg/kg (Vivoli, 1970). In campioni di formaggio parmigiano reggiano la concentrazione media di HCH totale, calcolata sulla frazione lipidica, era di 219 μg/kg (Vivoli & Manicardi, 1971). Il lindano era tra i pesticidi più comunemente reperiti nei diversi alimenti

destinati al bestiame in diversi Paesi europei e in Italia (Pastore &Vecchia, 1974). In uno studio condotto in Emilia Romagna sui residui di organoclorurati nel miele, il lindano è stato misurato in alcuni campioni; le concentrazioni non erano tuttavia di entità rilevante (Sabatini *et al.*, 1976).

E' interessante notare che il γ-HCH è stato misurato in concentrazioni comprese tra 17 e 109 μg/kg in alcuni prodotti cosmetici contenenti derivati delle piante (Mariani *et al.*, 1995).

Presenza di lindano nei fluidi biologici e tessuti umani

L'esposizione al lindano è stata valutata nella popolazione generale attraverso il dosaggio dell'isomero γ-HCH nel sangue, nel tessuto adiposo e nel latte materno. Nei lavoratori esposti a pesticidi le concentrazioni del principio attivo sono state misurate unicamente nel sangue.

Il lindano nei tessuti biologici umani, nella popolazione generale, è generalmente determinato insieme agli altri isomeri dell'HCH e ad altri composti organoclorurati (DDT, DDE, HCB, PCB, ecc.).

Tra gli isomeri dell'HCH, l'isomero β, per la sua maggiore stabilità, per la sua più elevata capacità di accumularsi nei tessuti grassi (da 10 a 30 volte superiore all'isomero γ) e per la sua più lenta eliminazione dall'organismo (5 volte inferiore agli altri isomeri), è presente in concentrazioni maggiori nei tessuti ed è pertanto più frequentemente misurato. Inoltre, poiché gli isomeri α, γ e δ possono ugualmente trasformarsi nell'isomero β (WHO, 1991; WHO, 1996), le concentrazioni trovate per il β-HCH rispecchiano in parte anche l'assorbimento del lindano e ovviamente degli altri isomeri.

In tutti i Paesi occidentali i livelli di HCH totale o degli isomeri β e γ nei liquidi biologici hanno mostrato un decremento negli ultimi anni, in conseguenza delle limitazioni d'uso e delle revoche introdotte principalmente intorno agli anni '80 (Kutz *et al.*, 1991; Breivik *et al.*, 1999).

Sangue

Le concentrazioni di lindano misurate nel sangue sono dell'ordine di 0,1-1μg/l nella popolazione generale. In alcuni Paesi (ad esempio in India), dove l'uso di questo principio attivo in agricoltura non ha subito restrizioni, le concentrazioni ematiche misurate sono molto più elevate, talvolta al di sopra di 100 μg/l.

Durante la produzione e l'utilizzazione di prodotti tecnici a base di HCH e/o di lindano, concentrazioni dell'isomero γ superiori a 100 μg/l (fino a 340 μg/l) sono state misurate nel sangue dei lavoratori esposti (vedi p.20). Questi livelli erano spesso associati a sintomi neurologici e ad una funzionalità epatica alterata. Nei campioni di sangue analizzati sono stati ugualmente misurati gli altri isomeri dell'HCH. L'isomero β, essendo il più persistente nel sangue, costituiva nella maggior parte dei campioni di siero dei lavoratori esposti il 60-90% dell'HCH totale. L'emi-vita dell'isomero β nel sangue intero, stimata in uno studio condotto tra i lavoratori di un impianto di produzione di pesticidi, risultava di 7,2 anni (Jung *et al.*, 1997); un'emi-vita di circa un giorno è stata invece calcolata per l'isomero γ in uno studio che valutava la penetrazione cutanea dei pesticidi nell'uomo (Feldmann & Maibach, 1974).

In uno studio condotto in *Italia* tra i floricoltori di un'area della Toscana (Bigazzi Grasso *et al.*, 1989) una differenza significativa per tutti gli organoclorurati misurati nel sangue,

compreso il lindano, è stata evidenziata fra i floricoltori e il gruppo di controllo composto da residenti della stessa area: le concentrazioni medie per il lindano erano, rispettivamente 20,51 e 9,03 μg/l. I livelli più alti di organoclorurati mostrano una correlazione positiva con l'età e con la durata dell'attività lavorativa in floricoltura. Rispetto a misurazioni condotte nel 1968, prima dell'introduzione delle restrizioni d'uso, ambedue i gruppi mostravano una considerevole riduzione dei livelli di lindano.

Tessuto adiposo

Nella Tabella 4 sono riportate le concentrazioni medie di lindano misurate nel tessuto adiposo (generalmente prelevato nel corso di interventi chirurgici), in diversi Paesi e negli ultimi vent'anni. Alcuni dati riferiti a misure effettuate in periodi precedenti sono invece riportati nella rassegna di Kutz *et al.* (1991).

Le concentrazioni dell'isomero γ nel tessuto adiposo mostrano ampie variazioni tra i vari Paesi. Valori dell'ordine dei μg/kg sono generalmente trovati nella popolazione dei Paesi occidentali, mentre in India i livelli sono nell'ordine dei mg/kg. In uno studio recente, condotto in Spagna, questo principio attivo è stato ugualmente misurato nel tessuto grasso di alcuni bambini in concentrazione media di 540 μg/kg (Olea *et al.*, 1999).

Le concentrazioni dell'isomero γ nel tessuto grasso trovate in alcune regioni del Nord-Italia, risultano tra le più elevate dei Paesi occidentali.

Tabella 4. Concentrazione media degli isomeri γ e ß, misurata nel tessuto adiposo in diversi Paesi negli ultimi vent'anni. I dati sono espressi in μg/kg ± DS di frazione grassa

Paese e anno dello studio	Campioni positivi [a]	Concentrazione (μg/kg) γ-HCH	β-HCH	Autori
Europa				
Italia (1969, Trento)	6/31	20	----	Prati *et al.*, 1971
Italia (1973-74, Roma)	23/28	74	951	Leoni *et al.*, 1977
Italia (1977, Trento)	29/29	214	----	Del Dot *et al.*, 1978
Italia (1983-84, Siena)	26/26	128±79	----	Focardi *et al.*, 1986
Italia (1985-86, Torino)	86/92	660±540	----	Pavan *et al.*, 1987
Italia (1985, Abruzzo)	22/22	-----	1045±313	Leoni *et al.*, 1987
Italia (1991, Trento)	27/57	12±22	-----	Poli *et al.*, 1991
Italia (1991, Abruzzo)	13/32	440±582	174±182	Giuliani *et al.*, 1994
Italia (1989, Genova)	27/28	104±93,1	213±259,9	Gallelli *et al.*, 1995
Belgio (1996-1998, Fiandre)	11/46	5	4	Pauwels *et al.*, 2000
Germania (1995-1998)	17/17	0,7-7,5*	14-577*	Schaefer *et al.*, 2000
Olanda (1986)	?	<10	270	Greve *et al.*, 1990
Polonia (1980, Poznan)	53/53	20	211	Szymczynski *et al.*,1986
Polonia (1989-92, Varsavia)	277/277	74	228	Ludwicki *et al.*, 1994
Spagna (1985-88,Catalogna)	256/256	60±40	1970±2950	Gomez *et al.*,1993
Spagna (1991, Navarra)	----	----	1530±920	Gomez *et al.*,1995
Spagna (Granada)	3/63	570±710	850±1610	Olea *et al.*, 1999
Spagna (1994, Murcia)	5/50	540	890	Olea *et al.*, 1999

segue

continua

Paese e anno dello studio	Campioni positivi [a]	Concentrazione (µg/kg) γ-HCH	β-HCH	Autori
Asia				
Giordania	28/32	150	873	Alawi *et al.*,1991
India (1982, Dehli)	340	1640	6430	Ramachandran *et al.*,1984
India (1977-1980)	?	388	1770	Jani *et al*, 1988
India (1988-89, Dehli)	8/8	90	180	Nair *et al.*, 1992
Iran (1991-92, Tebriz)	17/61	18±40	728±480	Burgaz *et al.*, 1995
Turchia (1991-92, Ankara)	2/60	2±10	1522±1030	Burgaz *et al.*, 1994
Turchia (1995-96, Manisa)	20/56	43	374	Cok *et al.*, 1998
Giappone (1974)	126	40	4950	Yamada *et al.*, 1976
Giappone (1979)	32	78	----	Yoshimura, 1985
Giappone (1984)	40	67	----	Yoshimura, 1985
America				
Canada (1976)	89/99	3	151	Mes *et al.*, 1982
Messico (1988-91, Veracruz)	16/72	420	85	Waliszewski *et al.*,1996
Messico (1997-98, Veracruz)	38/60	8±12	143±113	Waliszewski *et al.*,1999
Stati Uniti (1983)	----	----	140	Kutz *et al.*, 1991

a: campioni positivi per l'isomero γ-HCH (lindano)
*: valore minimo-valore massimo

Negli ultimi vent'anni è stata osservata, in molti Paesi, una graduale riduzione dei livelli degli isomeri dell'HCH nel tessuto adiposo. Questa riduzione riflette il decremento dei livelli ambientali osservato in seguito alle restrizioni d'uso e alle revoche introdotte in diversi Paesi dopo il 1974.

Latte materno

In Tabella 5 sono riportate le concentrazioni di lindano misurate nel latte materno, in diversi Paesi e negli ultimi vent'anni. Alcuni dati riferiti a misure effettuate negli anni precedenti sono riportati nella rassegna di Jensen del 1983. Le concentrazioni del lindano nel latte materno variano, come per il tessuto adiposo, dai µg/kg di frazione grassa nei Paesi occidentali ai mg/kg in alcuni Paesi in via di sviluppo.

In *Italia* gli studi condotti nelle regioni del Nord hanno evidenziato livelli piuttosto elevati rispetto agli altri Paesi europei nel periodo 1975-1985, con una tendenza alla riduzione negli anni più recenti.

Sulla base di dati tossicologici l'ATSDR (*Agency for Toxic Substances & Disease Registry*, USA) ha stabilito, per alcune sostanze, i livelli di rischio minimo (MRLs, *Minimum Risk Levels*). Per definizione gli MRL indicano la quantità di una sostanza che assorbita per via orale, al giorno e per un periodo di tempo definito, non provoca effetti nocivi per la salute (non sono prese in considerazione le sostanze cancerogene). Gli MRL sono valori guida intenzionalmente cautelativi poiché l'obiettivo è di proteggere le popolazioni più sensibili, quali ad esempio i lattanti.

Per il γ-HCH è stato stabilito, sulla base degli effetti immunologici valutati nei roditori, un MRL orale per una durata intermedia di esposizione (da 15 a 365 giorni) di 0,01 µg/kg/giorno (ATSDR, 2000).

Tabella 5. Concentrazione media degli isomeri γ e ß, misurata nel latte materno in diversi Paesi negli ultimi vent'anni. I dati sono espressi in μg/kg di frazione grassa nel latte

Paese e anno dello studio	Campioni positivi [a]	Concentrazione (μg/kg) γ-HCH	β-HCH	Autori
Europa				
Italia (Milano)	8/10	892[b]	474[b]	Cerutti *et al.*,1975
Italia (1975, Milano)	30/30	180	270	Cerutti *et al.*, 1976
Italia (1983-85, Roma)	18/65	<33[c]	167[c]	Dommarco *et al.*, 1987
Danimarca (1982)	6/57	20	80	Andersen *et al.*, 1984
Francia (1991)	20/20	37	287	Bordet *et al.*, 1993
Germania-Est (1989/90)	84/90	20	180	Horn *et al.*, 1994
Gran Bretagna (1997/98)	3/168	35	68	Harris *et al.*, 1999
Grecia (1983)	30/30	15	----	Fytianos *et al.*, 1985
Grecia (1995-97, Patras)	64/112	7	15	Schinas *et al.*, 2000
Olanda (1988)	26/329	<10	80	Albers *et al.*, 1996
Slovacchia (Bratislava)	26/26	15	136	Prachar *et al.*, 1993
Spagna (1991, Madrid)	33/51	10	235	Hernandez *et al.*, 1993
Cecoslovacchia (Praga)	17/17	71	639	Schoula *et al.*, 1996
Africa				
Egitto (1993)	57/60	281[c]	----	Saleh *et al.*, 1996
Kenia (1991, Nairobi)	26/216	18	83	Kinyamu *et al.*, 1998
Nigeria (Bendel State)	44/44	76	502	Atuma *et al.*, 1987
Uganda (1992/93)	2/143	440	70	Ejobi *et al.* 1996
Asia				
Giordania (1989/90, Amman)	22/59	230	400	Alawi *et al.*, 1992
Giordana (1997)	9/411	710	----	Nasir *et al.*, 1998
Hong Kong (1985)	21/25	60	15960	Ip *et al.*, 1989
India(1981-82, Ahmedabad)	50/50	388	1770	Jani *et al.* 1988
India (Dehli)	25/25	2800[c]	6600[c]	Nair *et al.*, 1996
India (Dehli)	55/61	2310	8830	Banerjee *et al.*, 1997
Irak (1983/84, Baghdad)	43/50	1067[c]	700[c]	Al Omar *et al.*, 1985
Iran (1991, Tebriz)	17/40	182	399	Cok *et al.*, 1999
Israele, (Gerusalemme)	45/100	40	350	Weisenberg *et al.*, 1985
Turchia (1995/96)	47/104	17	380	Cok *et al.*, 1997
Vietnam	---	8	508	Schechter *et al.*, 1991
America				
Brasile (Botucatu, SP)	9/42	37[c]	958[c]	Sant' Ana *et al.*, 1989
Brasile (1987/88, Porto Alegre)	15/30	20	900	Beretta *et al.*, 1994
Canada (1986)	292/412	2	30	Mes *et al.*, 1993
Canada (1992)	84/497	1	230	Newsome, 1995
El Salvador (1973-74, Usulutan)	7/40	86[c]	537[c]	DeCampos *et al.*, 1979
Messico (1997/98, Veracruz)	19/60	2	61	Waliszewski *et al.*, 1999
Messico (1989-90, Mexico City)	5/79	20	230	Elvia *et al.*, 2000
Stati Uniti (New York)	---	2	20	Scechter *et al.*, 1991
Oceania				
Australia (Victoria)	46/60	108	345	Quinsey *et al.*, 1995

a: campioni positivi per l'isomero γ (lindano)
b: concentrazione misurata nel colostro
c: valori espressi in μg/l di latte sono stati trasformati in μg/kg di grasso considerando un valore percentuale medio di grasso del 3%

Sulla base di questo MRL un lattante di 5 kg non dovrebbe assumere attraverso il latte materno più di 0,05 μg di γ-HCH al giorno. Considerando che un lattante di 5 kg consuma in media 700 ml di latte e che la sostanza grassa costituisce il 3,3% del peso del latte (peso specifico 1030), la concentrazione dell'isomero γ nel latte materno non dovrebbe pertanto superare i 2,1 ng/g di sostanza grassa. Nei Paesi occidentali le concentrazioni di γ-HCH misurate nel latte materno (Tabella 5) sono generalmente da 10 a 15 volte superiori al MRL stimato per un lattante di 5 kg; nei Paesi in via di sviluppo le concentrazioni raggiungono valori fino a 1000 volte il livello di rischio minimo.

Tessuti e fluidi biologici del sistema riproduttivo

Di particolare interesse sono le misure effettuate sui tessuti e fluidi biologici del sistema riproduttivo, soprattutto ai fini di una caratterizzazione del rischio per la riproduzione e per l'organismo in via di sviluppo.

Il lindano e gli altri isomeri dell'HCH sono stati misurati nel *liquido seminale* (Szymczynski & Waliszewsky, 1981; Stachel *et al.*, 1989; Wagner *et al.*, 1990; Kumar *et al.*, 2000). La concentrazione più elevata (media di 5 ng/g) è stata trovata per l'isomero ε in alcuni pazienti di una clinica per la fertilità in Polonia (Szymczynski & Waliszewsky, 1981). Concentrazioni medie di 6,1, 9,4 e 3 ng/g sono state misurate rispettivamente per gli isomeri α, β e γ nel liquido seminale di pazienti di un centro di fecondazione assistita in Germania (Wagner *et al.*, 1990). In un solo studio il lindano è stato misurato nel tessuto testicolare: una concentrazione compresa tra 22 e 83 ng/g di tessuto è stata misurata nel 70% dei 36 campioni ottenuti da biopsie effettuate in Polonia (Szymczynski & Waliszewski, 1983).

Nel *fluido follicolare* (18 campioni) prelevato nel corso di interventi di fecondazione assistita, in Germania, la concentrazione media era per il γ-HCH dell'ordine di 1,22 ng/ml di fluido follicolare, e di 0,34 e 0,67 ng/ml per l'α-HCH e il β-HCH, rispettivamente. Le concentrazioni degli HCHs e degli altri inquinanti organoclorurati (DDT, PCB, HCB, dieldrina, ecc.) misurate sugli stessi campioni di fluido follicolare erano, secondo gli autori, confrontabili ai livelli misurati nel siero in uno studio precedente (Trapp *et al.*, 1984). In un altro centro per la fecondazione assistita, gli isomeri α, β e γ sono stati misurati nel fluido follicolare e nel muco cervicale (Wagner *et al.*, 1990). Le concentrazioni medie trovate nel fluido follicolare erano più elevate nel gruppo di donne con sterilità di origine non nota (mediana di 10, 12,3 e 5 ng/g, rispettivamente per l'isomero α, β e γ). Gli HCHs mostravano inoltre un accumulo soprattutto nel muco cervicale (mediana di 19,2, 30,2 e 33 ng/g, rispettivamente per l'isomero α, β e γ).

Gli isomeri β e γ dell'HCH sono stati misurati in campioni di *endometrio* e di tessuto adiposo prelevati, tra il 1995 e il 1998, nel corso d'interventi d'isterectomia per mioma uterino, in 23 donne non professionalmente esposte (Schaefer *et al.*, 2000). Ambedue gli isomeri erano presenti, tuttavia le concentrazioni di β-HCH erano nettamente maggiori (mediane di 0,6 ng/g nell'endometrio e 38 ng/g nel tessuto adiposo rispetto a < 0,1 ng/g e 1,1 ng/g per il γ-HCH).

Il trasferimento di inquinanti organoclorurati dalla madre al feto è stato valutato misurando la concentrazione delle sostanze nel sangue, nel tessuto e liquidi placentari e nel cordone ombelicale, prelevati durante aborti, parti prematuri e parti a termine. In una indagine condotta in India 50 campioni di *tessuto e fluido placentare* sono stati raccolti nel corso di parti a termine di donne non professionalmente esposte a pesticidi. Il lindano è stato misurato nel 100% dei campioni ad una concentrazione media di 389 ppb nel tessuto placentare e di 27 ppb

nel fluido. La quantità di lindano misurata costituiva circa il 30% dell'HCH totale negli stessi campioni (Saxena *et al.*, 1980a). E' stato fatto un confronto tra le concentrazioni di organoclorurati (tra cui il lindano e l'HCH totale) nel sangue e nella placenta in 20 donne con parto a termine e 20 donne con aborto o parto prematuro, tutte provenienti da una zona rurale dell'India (Saxena *et al.*, 1980b; Saxena *et al.*, 1981a). Le concentrazioni medie di lindano e HCH misurate nella placenta erano circa il 50% della concentrazione ematica, nei due gruppi di donne. Le donne con aborti e parti prematuri mostravano tuttavia una concentrazione molto più elevata di tutti i composti organoclorurati misurati nel sangue e nella placenta rispetto al gruppo di controllo (parto a termine). Le concentrazioni medie di lindano, ad esempio, erano di 56 e 25,4 ppb, rispettivamente nel sangue e nella placenta delle donne con parti prematuri e aborti, e di 18,5 e 8,6 ppb nelle donne con parto a termine. E' stata ugualmente trovata una associazione tra la concentrazione totale degli organoclorurati misurati (DDT, DDE, HCH, lindano, aldrina) nel sangue e nella placenta e la prematurità del parto o dell'aborto. In uno studio successivo condotto su un gruppo di 100 donne gravide (Saxena *et al.*, 1981b; Siddiqui *et al.*, 1981) il lindano è stato inoltre misurato nel cordone ombelicale in concentrazioni inferiori (circa 12 ppb) rispetto a quelle determinate nel sangue materno e nella placenta (21 e 18 ppb, rispettivamente). Le quantità di lindano risultavano significativamente diverse se venivano valutate in due sottogruppi per età diverse (18-25 anni e 26-34 anni), per il possibile effetto di accumulo nel corso degli anni. Una più elevata escrezione degli isomeri dell'HCH nel latte e nella placenta è stata trovata associata all'età e alla dieta non-vegetariana (Siddiqui & Saxena, 1985). In uno studio jugoslavo (Bazulic *et al.*, 1984) la concentrazione di lindano misurata nel siero prelevato dal neonato o dal cordone ombelicale (valori medi 2,6-6,9 µg/l) era sempre maggiore rispetto alla concentrazione nel siero materno (valori medi 1,7-3,7 µg/l).

In uno studio molto recente l'isomero α è stato misurato in concentrazioni dell'ordine dei pg/ml nel *liquido amniotico* di donne sottoposte all'amniocentesi tra la 15ª e la 23ª settimana di gravidanza. La presenza di altri inquinanti quali il p,p'-DDE ed alcuni PCB, suggerivano una possibile esposizione del feto durante l'organogenesi a EDC, attive sullo sviluppo degli organi riproduttivi (Foster *et al.*, 2000).

EFFETTI DEL LINDANO SULL'UOMO

Studi clinici

La dose di lindano che induce nell'uomo una tossicità acuta varia considerevolmente a seconda del grado di purezza del prodotto e del tipo di veicolo che condiziona la modalità d'assorbimento. Una dose unica di 840 mg/kg di peso corporeo (p.c.) e di 180 mg/kg p.c. si è dimostrata letale nell'adulto e nel bambino, rispettivamente. L'applicazione su tutta la superficie corporea e per 18 ore di una lozione di lindano all'1% (scabicida) è risultata letale per un lattante di 2 mesi; le concentrazioni di lindano ritrovate, in questo caso, nel cervello e nel cuore erano di 110 e 33 µg/kg, rispettivamente (WHO, 1996).

Nei casi letali la morte può sopraggiungere dopo alcune ore o dopo pochi giorni dall'assunzione; generalmente l'arresto respiratorio e circolatorio è preceduto da convulsioni. In alcune condizioni una dose di 10-20 mg/kg p.c. può essere letale, ma concentrazioni più elevate possono essere tollerate se si interviene rapidamente e con cure appropriate.

Sintomi clinici d'intossicazione (nausea, vertigini, stato d'agitazione, mal di testa frontale e, a volte, vomito) sono stati osservati in seguito ad assunzioni volontarie e accidentali di lindano per via orale o dopo trattamenti terapeutici a dosi elevate. Si possono verificare inoltre contrazioni muscolari, disturbi dell'equilibrio, atassia, tremore. Dolori nella parte superiore dell'addome sono frequentemente associati a diarrea e incontinenza urinaria; convulsioni della durata di alcuni minuti possono ripresentarsi dopo alcune ore o anche dopo diversi giorni dall'assunzione della sostanza, in seguito a stimoli ottici, acustici o tattili.

Sono stati descritti numerosi casi d'intossicazione causati dall'ingestione di lindano a scopo terapeutico (come vermicida): in un paziente adulto (di 26 anni) un'unica dose di 45 mg/kg p.c. induceva convulsioni, nausea e vomito, mentre la somministrazione di 30 mg/kg p.c. per 3 giorni causava nausea solo in 6 su 15 pazienti trattati. Sintomi tossici gravi sono stati osservati in volontari adulti sani, dopo l'assunzione orale di 15-17 mg/kg p.c. di lindano in un veicolo liquido.

I bambini sembrano essere più sensibili: dopo la somministrazione di lindano a scopo terapeutico (scabicida) sono stati rilevati alcuni casi di anemia aplastica.

Gli studi clinici riportano che l'applicazione cutanea di lindano, a concentrazioni ≤ 5 mg/kg p.c., non causa generalmente effetti neurotossici acuti. In alcuni esperimenti condotti su volontari è stato evidenziato che l'assorbimento è spesso incompleto poiché la sostanza può essere rimossa dalla cute in seguito al lavaggio, all'evaporazione o allo sfaldamento degli strati cornei superficiali. La quantità assorbita dall'organismo dipende, in linea generale, sia dalla velocità di penetrazione della sostanza attraverso la cute, sia dalla sua velocità di rimozione dalla superficie; i pazienti affetti da scabbia, e in particolare le donne, presentano un maggiore assorbimento cutaneo rispetto agli individui sani.

L'assorbimento attraverso la cute della testa è stato valutato nei bambini, in seguito a terapie contro la pediculosi effettuate con shampoo contenenti lindano all'1%. La massima concentrazione di lindano (1,4 µg/l) è stata misurata nel siero 2-4 ore dopo la prima applicazione; applicazioni successive causavano un aumento dei livelli serici (Ginsburg *et al.*, 1977).

Studi epidemiologici ed esposizione professionale

La valutazione degli effetti del lindano nei lavoratori professionalmente esposti, è stata fortemente limitata dal fatto che, nella maggiore parte degli studi, la popolazione presa in considerazione era costituita da lavoratori addetti alla produzione, formulazione e utilizzazione dei prodotti a base di lindano, contemporaneamente esposti ad altri pesticidi o ad altre sostanze chimiche. È quindi difficile correlare gli effetti riportati in questi studi ad una sostanza specifica. Nella Tabella 6 sono riportati gli studi ritenuti più significativi per una valutazione degli effetti sulla salute umana correlati all'esposizione professionale.

Tabella 6. Studi epidemiologici in relazione all'esposizione professionale al lindano

Popolazione	Durata esposizione	Parametri valutati ed effetti riscontrati	Autori
Applicatori di pesticidi (n.=54)	1-20 anni	Livelli ematici di γ-HCH da 4,2 a 102 μg/l, metabolismo dei farmaci indotto e nel 40% dei lavoratori, iperproteinemia.	Kolmodin-Hedman 1974, 1984
Produttori di pesticidi (n.=118)	Almeno 10 anni	Nessun effetto è stato rilevato su fegato, reni sistema ematopoietico e sistema nervoso.	Herbst *et al.*, 1976
Produttori di pesticidi	Almeno 6 mesi	Nessun effetto significativo sulla frequenza delle aberrazioni cromosomiche nei linfociti.	Kiraly *et al.*, 1979
Produttori di pesticidi (n.=54)	1-30 anni	Livelli serici di γ-HCH da 5 a 188 μg/l (media 36,6 μg/l). Alterazioni dei livelli ematici di LH, FSH e testosterone non significative.	Tomczak *et al.*, 1981
Applicatori di pesticidi (n.=248)	16 settimane	Livelli medi di γ-HCH nel siero, in 5 gruppi di esposti, compresi tra 0,025 e 0,037μg/l.	Gupta *et al.*, 1982
Produttori di pesticidi (n.=54)	8 anni	Livelli ematici di γ-HCH tra 5-188 μg/l. Nessun effetto neurologico e neuromuscolare.	Baumann *et al.*, 1981
Produttori di pesticidi (n.=37)	Da 0 a 30 anni	Livelli ematici di γ-HCH tra 2-340 μg/l. In 3 esposti, elettroencefalogramma molto alterato; in 14, alterazioni di minore entità.	ACGIH, Inc., 1986 Czeglèdi-Janko & Avar, 1970
Produttori di pesticidi (n.=19) operatori (n.=26) controlli (n.=19)	Da 0 a 30 anni	Livelli ematici di γ-HCH: 57μg/l nei produttori, 16 μg/l negli operatori, 0,7μg/l nei controlli. Sintomi neurologici: parestesia, mal di testa, vertigini. In alcuni: vomito, tremore, convulsioni, insonnia, turbe della memoria, apprensione, ridotta libido.	Nigam *et al.*, 1986
Formulatori di pesticidi (n.=45)	Anche >10 anni	Livelli ematici di γ-HCH: 16-57 μg/l. Sintomi di tossicità in molti esposti.	Kashyap, 1986
Produttori di pesticidi (n.=45)	Anche >10 anni	Parestesia, apprensione, mal di testa, vertigini, vomito, insonnia, funzione epatica alterata. Sintomi più correlati all' intensità che alla durata dell'esposizione.	Chattopadhyay *et al.*, 1988
Lavoratori Forestali (n.=45)	4 mesi	Livelli ematici di γ-HCH fino a 36μg/l (1,5 μg/l in assenza di esposizione). Debolezza, nausea, gola irritata in 2 esposti con conc.> a 22 μg/l.	Drummond *et al.*, 1988
Floricoltori (n.=46) (n.=54)	Due studi nel 1968 e nel 1988	Nel 1988 livelli medi ematici di γ-HCH più elevati negli esposti che nel gruppo di controllo (20,51 e 9,03 μg/l) e ridotti rispetto al 1968 in entrambi i gruppi.	Bigazzi Grasso *et al.*, 1989

Sono stati condotti degli studi per valutare l'effetto irritante e sensibilizzante del lindano: i test cutanei, eseguiti sui lavoratori agricoli e sui controlli non esposti a pesticidi, non sono risultati positivi.

I sintomi osservati negli studi epidemiologici sono prevalentemente a carico del sistema nervoso centrale e periferico e del fegato ed associati a livelli ematici di γ-HCH ≥20 μg/l. Una correlazione dose-dipendente degli effetti è stata rilevata in alcuni studi. Effetti *neurocomportamentali* sono stati osservati in donne con esposizioni a lungo termine (media 10 anni) a conservanti del legno contenenti pentaclorofenolo e lindano (Peper *et al.*, 1999). Mancano tuttora osservazioni sul rischio di analoghi effetti sullo sviluppo neurologico derivante dall'esposizione *in utero* e/o durante l'infanzia.

Un eventuale rischio *cancerogeno* associato al lindano è stato valutato in alcuni studi epidemiologici. Davis *et al.*,1993, hanno trovato in uno studio caso-controllo un elevato rischio di tumore cerebrale tra i bambini trattati con shampoo contenenti lindano. La casistica era tuttavia troppo limitata per consentire una possibile correlazione con la durata e l'intensità dell'esposizione. Sulla base di studi caso-controllo effettuati nella popolazione maschile di quattro Stati americani (Kansas, Nebraska, Iowa e Minnesota) è stata recentemente ipotizzata un'associazione tra il linfoma non-Hodgkin e l'uso agricolo del lindano (Cantor *et al.*, 1992; Blair *et al.*, 1998).

E' stata inoltre valutata attraverso studi caso-controllo la possibile associazione tra il *tumore mammario* e la presenza di organoclorurati nel tessuto adiposo della mammella, in quanto sostanze con potenziale attività endocrina. I dati disponibili non consentono tuttavia di trarre delle conclusioni. In un'indagine condotta recentemente in Germania (Guttes *et al.*, 1998), ad esempio, la concentrazione del β-HCH è risultata più bassa nel tessuto mammario di donne affette da tumore maligno rispetto a quella misurata nei controlli, mentre l'isomero γ era al limite della rilevazione strumentale.

Studi specifici sugli effetti endocrini e riproduttivi

Riguardo agli effetti endocrini e riproduttivi, alterazioni dei livelli degli ormoni follicolo-stimolante (FSH), luteinizzante (LH) e testosterone nel sangue di lavoratori esposti all'HCH tecnico sono riportate in un solo studio (Tomczak *et al.*, 1981). Tuttavia, nonostante la presenza nel siero degli isomeri γ, α e β in concentrazioni elevate (media 36,6, 63,5 e 185 μg/l, rispettivamente), solo l'aumento dei livelli di LH risultava statisticamente significativo rispetto al gruppo di controllo.

La presenza di organoclorurati nei tessuti riproduttivi femminili è stata associata al rischio di infertilità e di esiti negativi della gravidanza (aborto, parto prematuro). Nella Tabella 7 sono riportate gli studi attualmente disponibili.

In uno studio condotto tra le pazienti di un centro per la fecondazione assistita (Wagner *et al.*, 1990), le concentrazioni medie degli isomeri α, β e γ, misurate nel fluido follicolare e nel muco cervicale, sono risultate più elevate nel gruppo di donne con sterilità di origine non nota. L'accumulo degli HCHs era particolarmente evidente nel muco cervicale. In un'indagine condotta tra le donne di una zona rurale dell'India (Saxena *et al.*, 1980b; Saxena *et al.*, 1981a) una concentrazione media più elevata di lindano (e di altri pesticidi organoclorurati) è stata trovata nel sangue e nella placenta di donne con aborti e parti prematuri (56 e 25,4 ppb di lindano, rispettivamente nel sangue e nella placenta) rispetto al gruppo di controllo con parto a termine (18,5 ppb nel sangue e 8,6 ppb nella placenta). E' stata ugualmente trovata un' associazione tra la concentrazione totale degli organoclorurati misurati (DDT, DDE, HCH,

lindano, aldrina) nel sangue e nella placenta e il grado di prematurità del parto o di precocità dell'aborto.

La possibile associazione tra l'esposizione ad organoclorurati a lunga persistenza, tra cui gli isomeri dell'HCH, e il rischio di effetti sulla fertilità e sulla gravidanza è stata valutata in due studi recenti condotti tra le donne affette da patologie riproduttive di un centro tedesco di endocrinologia, negli anni 1989-1993 (Gerhard *et al.*, 1998; Gerhard *et al.*, 1999). I livelli ematici di organoclorurati sono stati misurati in 489 donne infertili ed è stato osservato che il β-HCH era positivamente correlato al peso corporeo e che le concentrazioni ematiche più elevate dell' α-HCH erano associate a casi di fibromi uterini. Livelli più elevati di HCHs sono stati inoltre misurati nelle donne con episodi di aborti ripetuti e risultate positive agli anticorpi nei confronti di antigeni nucleari o tiroidei (Gerhard, 1998). In un gruppo di 89 donne con aborti ripetuti (almeno 2 aborti), la concentrazione ematica di almeno un organoclorurato tra quelli misurati, eccedeva nel 20% dei casi, i livelli ematici di riferimento precedentemente identificati dagli stessi autori. In particolare nel 10% delle donne con aborti ripetuti, il livello del γ-HCH superava il limite di riferimento di 0,1 μg/l, mentre per il β-HCH il limite di 0,7 μg/l era superato nel 7% dei casi. Le donne con una storia di almeno 4 aborti avevano delle concentrazioni di γ-HCH (oltre che di PCB totali e di HCB) significativamente più elevati rispetto alle altre donne del gruppo. Una correlazione inversa è stata trovata tra i livelli di testosterone, FSH, TSH e le concentrazioni di γ-HCH. Inoltre nelle donne con aborti precoci e tardivi, aumenti di diverse popolazioni di linfociti T, nonché dei monociti e cellule NK, erano direttamente associati ai livelli di γ-HCH. Infine, le donne con aborti precoci e con livelli ridotti di testosterone e di TSH, avevano le più alte concentrazioni ematiche di β-HCH.

Questi dati inoltre evidenziano un possibile rischio riproduttivo nelle donne esposte professionalmente al lindano; infatti gli studi occupazionali evidenziano livelli ematici sovente molto in eccesso rispetto alla concentrazione di 0,1 μg/l.

Tabella 7. Studi caso-controllo sulla riproduzione femminile

Popolazione	Durata esposizione	Parametri valutati ed effetti riscontrati	Autori
Donne di una zona Rurale dell'India: 25 casi/25 controlli	Non specificato	Nei casi di aborti e parti prematuri, concentrazione media di lindano (e di altri organoclorurati) nel sangue e nella placenta più elevati. Livelli totali di organoclorurati nella placenta e nel sangue sono associati al grado di precocità del parto o dell'aborto.	Saxena *et al.*, 1981a
Pazienti di un centro per la procreazione assistita (n.=68)	Non specificato	Nelle 15 donne con sterilità di origine non nota, elevati livelli medi degli isomeri α, β e γ nel fluido follicolare e nel muco cervicale rispetto alle 53 donne con sterilità di origine nota.	Wagner *et al.*, 1990
Donne infertili (n.=489)	1990-1993	Livelli elevati di α-HCH nel 44% dei casi di fibroma uterino. β-HCH più elevato nelle donne con aborti Anticorpi antinucleo tiroidei più frequenti in presenza di HCHs nel sangue.	Gerhard *et al.*, 1998
Donne con aborti ripetuti (n.=89)	1989-1993	Nel 10% delle donne con aborti ripetuti livelli di γ-HCH >limite di riferimento di 100 ng/l; per il β-HCH limite di 700 ng/l superato nel 7% dei casi. γ-HCH significativamente più elevato nei casi con almeno 4 aborti. Livelli ormonali e distribuzione linfocitaria alterati.	Gerhard *et al.*, 1999

STUDI DI TOSSICOLOGIA SPERIMENTALE: EFFETTI SUL SISTEMA RIPRODUTTIVO

Le caratteristiche tossicologiche del lindano sono state ampiamente descritte nelle monografie prodotte da agenzie e organismi internazionali (USEPA, 1988; WHO, 1991; WHO, 1996).

In questa sezione sono descritti e valutati gli effetti indotti dal lindano sul sistema riproduttivo maschile e femminile (effetti specifici sugli organi, alterazioni della fertilità) e sullo sviluppo sia prenatale che peri-postnatale.

Effetti sul sistema riproduttivo maschile

Effetti nell'animale adulto

Gli studi sperimentali fino ad oggi disponibili per valutare gli effetti specifici del lindano sul sistema riproduttivo maschile dei mammiferi, sono poco numerosi e sono stati prevalentemente condotti sul ratto. Una sintesi degli studi è riportata in Tabella 8.

Le prime osservazioni su alterazioni testicolari indotte dal lindano risalgono agli studi condotti sul ratto da Dikshith & Datta (1972). L'*iniezione intratesticolare* (0,25 mg per testicolo per 10 giorni) provocava infatti sia atrofia che ipertrofia dell'epitelio seminifero, alterazioni delle cellule spermatogeniche e la comparsa di cellule giganti multinucleate e di fluido edematoso.

Per *via intraperitoneale* (i.p.) il lindano provocava, in ratti adulti trattati per 10 giorni con dosi di 8 mg/kg p.c, una diminuzione significativa del peso assoluto e relativo del testicolo, degenerazione dei tubuli seminiferi ed effetti citotossici specifici sugli spermatociti e gli spermatidi (Chowdhury *et al.*, 1987). In uno studio successivo la somministrazione i.p. di 8 mg/kg p.c. per 45 giorni provocava nel testicolo una diminuzione significativa sia del numero di cellule di Leydig sia delle attività degli enzimi ialuronidasi e δ 5,3β idrossisteroido-deidrogenasi; l'alterazione della sintesi degli steroidi era inoltre evidenziata dall'aumento di colesterolo nel testicolo e dal rilascio di acido ascorbico (Chowdhury & Gautam, 1994).

Un quadro simile a quello descritto negli esperimenti precedenti è stato riprodotto nel ratto dopo la somministrazione della sostanza per *via orale* (Dikshit *et al.*, 1978; Srinivasan *et al.*, 1988; Dalsenter *et al.*, 1996). In particolare nei trattamenti per gavaggio con dose unica (30 mg/kg p.c.) o ripetuta (6 mg/kg p.c. per 5 giorni) sono state rilevate, due settimane dopo i trattamenti, alterazioni delle cellule del Sertoli (ipertrofia e assenza di organelli) e delle cellule germinali (presenza di cellule giganti multinucleate che indicano un'alterazione pre-necrotica della membrana cellulare) e una riduzione del numero di spermatidi (Dalsenter *et al.*, 1996). Gli animali non presentavano sintomi di tossicità generale e i pesi degli organi riproduttivi non erano significativamente ridotti rispetto ai controlli. La presenza della sostanza nel testicolo in concentrazioni rilevabili (770 ng/g testicolo dopo 24 ore dal trattamento con la dose unica e 163 ng/g testicolo 2 settimane dopo) suggeriva una possibile interazione diretta della sostanza con i componenti tissutali.

A livello della prostata è stata osservata una inibizione del legame del diidrotestosterone al recettore specifico nel ratto trattato con 60 mg/kg p.c. di lindano per 7 giorni. L'effetto era reversibile una settimana dopo la sospensione del trattamento (Simic *et al.*, 1991).

Tabella 8. Effetti del lindano sul sistema riproduttivo maschile nell'adulto: studi *in vivo*

Trattamento	Specie	Dose	Effetti osservati	Autori
Iniezione (intratesticolo)	Ratto	0,25 mg per 10 giorni/ testicolo	Nei testicoli ipertrofici: tessuto seminifero in degenerazione; cellule germinali giganti polimorfonucleate, proliferazione delle cellule interstiziali. Nei testicoli atrofici: ridotto diametro dei tubuli e presenza di fluido, cellule giganti polinucleate; spazi interstiziali dilatati e proliferazione dei vasi sanguigni; cellule germinali ed epitelio seminifero in degenerazione.	Dikshith & Datta, 1972
Iniezione (intraperitoneo)	Ratto	4 e 8 mg/kg* per 10 giorni	Diminuzione del peso testicolare assoluto e relativo. Alla dose più alta, spermatogenesi ridotta, tubuli in degenerazione.	Chowdhuri *et al.*, 1987
	Ratto	4 e 8 mg/kg* per 45 giorni	Riduzione del peso corporeo, del testicolo, delle ghiandole accessorie; accumulo di lipidi e degenerazione grassa nei tessuti testicolari.	Chowdhury *et al.*, 1990
	Ratto	4 e 8 mg/kg* per 45 giorni	Nel testicolo, riduzione dose-dipendente del peso; alla dose più alta, degenerazione delle Leydig, livelli ridotti della ialuronidasi, 5δ, 3β idrossisteroido deidrogenasi e acido ascorbico; aumento del colesterolo. Riduzione del testosterone serico.	Chowdury & Gautam, 1994
Orale (gavaggio)	Ratto	17,6 mg/kg* per 90 giorni	Alterazioni istologiche e biochimiche nel fegato e nel testicolo. Atrofia dei tubuli seminiferi e presenza di cellule germinali multinucleate.	Dikshith *et al.*, 1978
	Ratto	60 mg/kg* per 7 giorni	IFormazione del complesso diidrotestosterone-recettore inibito del 35%, nella prostata (citosol) di ratti adulti e prepuberi. L'effetto è reversibile.	Simic *et al.*, 1991
	Ratto	6 mg/kg* per 5 giorni 30 mg/kg* dose unica	Numero di spermatidi ridotto (2 sett. dopo), rigonfiamento delle cellule del Sertoli, con frammentazione o assenza di organuli. Presenza di lindano nel testicolo 24 ore e 2 sett. dopo la fine del trattamento.	Dalsenter *et al.*, 1996
Orale (dieta)	Ratto	800 ppm nel cibo per 2 settimane	Diametro dei tubuli seminiferi ridotto, atrofia testicolare, arresto della spermatogenesi e aumento degli spazi interstiziali.	Srinivasan *et al.*, 1988
Cutanea	Ratto	60 mg/kg* (dose unica e ripetuta per 4 giorni)	Assorbimento rapido. dopo 6 ore, presenza di lindano nel plasma e accumulo nel testicolo; dopo 4 dosi ripetute, conc. medie di 1,89 µg/ml nel plasma e di 3,9µg/g nel testicolo. Cellule di Leydig danneggiate.	Suwalsky *et al.*, 2000

* mg/kg di peso corporeo

Gli effetti osservati con il lindano confermano i risultati precedentemente ottenuti nel topo (Nigam *et al.*, 1979) e nel ratto (Shivanandappa & Krishnakumari, 1983) con HCH tecnico, contenente i diversi isomeri. Nello studio condotto sul ratto si osservava, alla dose più elevata somministrata con la dieta (150 mg/kg di cibo equivalente a ≥8 mg/kg p.c.), atrofia del testicolo, arresto della spermatogenesi e accumulo di lipidi nelle cellule del Sertoli e del Leydig. A livello biochimico è stato rilevato un aumento del contenuto di lipidi e di colesterolo nel testicolo, mentre l'attività degli enzimi δ 5,3β idrossisteroido-deidrogenasi, 17β idrossisteroido-deidrogenasi e glucosio-6-fosfato deidrogenasi era significativamente ridotta, suggerendo una inibizione della sintesi degli steroidi nelle cellule di Leydig. Gli effetti sulla spermatogenesi e sul metabolismo degli steroidi a livello testicolare risultavano più marcati con una dieta priva di vitamina A (Pius *et al.*, 1990).

La somministrazione per gavaggio di HCH alla dose di 3 e 6 mg/kg p.c. per 180 giorni, provocava nei ratti una degenerazione dello strato muscolare dei vasi deferenti e una inibizione della capacità di contrazione (Gautam *et al.*, 1989). La somministrazione nella dieta degli isomeri β e γ dell'HCH per 2 settimane, alla concentrazione di 80 mg/kg equivalente a ≥4 mg/kg p.c. (Srinivasan *et al.*, 1988), oltre ad alterazioni epatiche, provocava nei ratti lesioni testicolari quali l'atrofia dei tubuli, la necrosi dell'epitelio seminifero e l'assenza di spermatidi nel lume (gli effetti osservati erano più marcati per l'isomero β).

Effetti sulla funzionalità del sistema riproduttivo maschile sono stati ugualmente riportati dopo applicazioni *cutanee* di HCH nel ratto (Prasad *et al.*, 1995; Srivastava *et al.*, 1995) e nella cavia (Dikshith *et al.*, 1978). Nei ratti, l'applicazione di prodotto tecnico a concentrazioni di 50-100 mg/kg p.c. per 120 giorni, causava delle alterazioni dei parametri seminali (numero, motilità, morfologia degli spermatozoi) e dei livelli di enzimi testicolari specifici e una riduzione della concentrazione serica del testosterone. E' interessante notare che gli isomeri α, β, γ e δ si accumulavano in quantità misurabile nel testicolo e nel seme prelevato dall'epididimo. Nelle cavie, sono state ugualmente osservate, in seguito ad applicazioni di lindano per 30 giorni con dosi di 100, 200 e 500 mg/kg p.c. al giorno, lesioni testicolari di media o grave entità a seconda della dose.

Gli effetti sul testicolo indotti da un assorbimento cutaneo di lindano nel ratto, sono descritti in uno studio recentemente pubblicato (Suwalsky *et al.*, 2000). L'applicazione di 60 mg/kg p.c. ripetuta per 4 giorni consecutivi (dose totale di 240 mg/kg p.c.) di un prodotto farmaceutico all'1% di lindano, induceva gravi alterazioni delle cellule di Leydig. Le prime alterazioni ultrastrutturali osservate erano a carico del reticolo endoplasmatico liscio con conseguente rottura delle membrane nucleari e protoplasmatiche e lisi cellulare. Questi risultati suggerivano che il danno strutturale indotto dal pesticida poteva essere associato ad una interazione con le membrane. La concentrazione media di lindano misurata nel tessuto testicolare (7,4 μg/g), 6 ore dopo il trattamento con dosi ripetute, risultava circa 4 volte superiore a quella misurata nel plasma (1,89 μg/ml). E' interessante notare che la dose utilizzata in questo esperimento era compatibile con quella normalmente prescritta in America Latina ed altri Paesi per l'uomo nel trattamento della scabbia e la pediculosi con preparati di lindano all'1%.

Il meccanismo d'azione dell'HCH responsabile degli effetti sul sistema riproduttivo maschile non è stato ancora chiarito; alcuni studi recenti hanno messo in evidenza degli effetti sull'attività metabolica cellulare a livello mitocondriale, in particolare nei processi di sintesi dell'ATP (Roy & Chainy, 1996) e sui processi di difesa antiossidanti e di perossidazione lipidica nel testicolo: nei testicoli di ratti giovani il lindano provocava uno stress ossidativo, riducendo l'attività della superossido-dismutasi e della catalasi e di conseguenza aumentando i livelli del perossido di idrogeno e la perossidazione lipidica (Samanta *et al.*, 1999a; Samanta *et al.*, 1999b).

Effetti sullo sviluppo (esposizione prenatale, perinatale e prepuberale)

La tossicità riproduttiva e la tossicocinetica del lindano sono state valutate nei nati maschi di ratte esposte alla sostanza durante la gravidanza e l'allattamento, in fasi critiche per lo sviluppo del sistema riproduttivo maschile. Una sintesi degli studi è riportata in Tabella 9.

Tabella 9. Effetti del lindano sullo sviluppo del sistema riproduttivo maschile: studi *in vivo*

Trattamento	Specie	Dose	Effetti osservati	Autori
Orale (gavaggio)	Ratto	30 mg/ kg* dose unica GG[1] 15	Riduzione del numero di spermatidi nei nati maschi all'età adulta. Alterazione del comportamento sessuale.	Dalsenter *et al.*, 1997a
	Ratto	1 mg/kg* GP[2] 9-14 6 mg/kg* al GP9 o GP14	All'età adulta, peso del testicolo e numero di spermi e spermatidi ridotti. Alla pubertà e nell' adulto, livelli di testosterone ridotti (circa 50%) e alterazioni istologiche. Presenza di lindano nel testicolo.	Dalsenter *et al.*, 1997b
	Topo	15 mg/kg* GG 9-16	Nell'età adulta riduzione del peso del testicolo, del numero di spermatidi e alterazioni istologiche (iperplasia delle cellule interstiziali).	Traina *et al.*, 1999
Orale (dieta)	Visone	1mg/kg*/giorno (dal GG1 fino all'età adulta /3 generazioni)	Ridotta dimensione dei testicoli nei maschi della terza generazione.	Beard & Rawlings, 1998
	Montone	1 mg/kg*/giorno (dal GG1 fino a 28 settimane di età).	Comportamento sessuale alterato. Durante lo sviluppo, concentrazione serica di LH ed estradiolo ridotta; all'età adulta, ridotta secrezione di testosterone dopo stimolazione con gonadotropine.	Beard *et al.*, 1999

* mg/kg di peso corporeo
1) GG= giorno di gravidanza
2) GP= giorno postnatale

Dopo la somministrazione al 15° giorno di gravidanza di una dose unica di 30 mg/kg p.c., Dalsenter *et al.* (1997a) hanno osservato nei maschi, all'età adulta, una riduzione significativa del numero di spermatidi. Inoltre, 7 mesi dopo il trattamento, sono state evidenziate nei maschi esposti *in utero* alterazioni del comportamento sessuale (perdita d'interesse per la femmina, assenza di attività sessuale) e una riduzione significativa dei livelli serici di testosterone.

In un esperimento successivo (Dalsenter *et al.*, 1997b) il lindano era stato somministrato per gavaggio alle femmine durante l'allattamento, in un'unica dose (6 mg/kg p.c.) al 9° o al 14° giorno dopo il parto, e in dosi ripetute (1 mg/kg p.c.) dal 9° al 14° giorno. In tutti i gruppi di trattamento, nei nati maschi all'età adulta, è stata osservata una diminuzione significativa del peso del testicolo e del numero di spermatidi e spermatozoi. Alla pubertà i livelli ematici di testosterone erano significativamente ridotti (fino al 50% per la dose più alta) e nei preparati istologici il numero di cellule del Leydig risultava diminuito rispetto ai controlli. La concentrazione di lindano nel testicolo era confrontabile con quella misurata nel cervello e pari alla metà di quella misurata nel fegato e nel rene. Questo studio ha dimostrato che il lindano in

alcune fasi di sviluppo postnatale è in grado di indurre effetti riproduttivi nei nati, rilevabili anche nell'età adulta.

In uno studio recente (Traina *et al.*, 1999) la somministrazione prenatale di lindano nel topo (15 mg/kg p.c. dal 9° al 16° giorno di gravidanza GG) induceva, nei nati maschi all'età adulta (60 giorni), effetti a lungo termine sul testicolo quali riduzione del peso e del numero di spermatidi e alterazioni biochimiche. Inoltre gli effetti osservati dopo i trattamenti *in utero* erano confrontabili con quelli indotti dalla somministrazione, nello stesso periodo di gestazione, dell'estrogeno di sintesi dietilstilbestrolo o DES (10 µg/kg p.c.). La somministrazione di lindano nel periodo postnatale, dal 5° al 9° giorno di allattamento, causava nei maschi adulti effetti simili seppure meno rilevanti. L'ipotesi che il lindano possa interagire con il sistema ormonale, svolgendo un'attività di tipo estrogenica, sembra essere sostenuta dai risultati ottenuti sulle femmine (Mantovani *et al*, 2000).

Altre specie animali sono state oggetto di osservazioni per valutare gli effetti a lungo termine del lindano. In uno studio a tre generazioni, visoni sono stati esposti attraverso la dieta ad una dose giornaliera di 1 mg/kg p.c. (Beard & Rawlings, 1998). Il trattamento iniziato allo svezzamento, si prolungava nelle generazioni successive fino all'età adulta della terza generazione. Il periodo di esposizione comprendeva pertanto le fasi di accoppiamento, gestazione e allattamento. Nei nati maschi della terza generazione si osservava una diminuzione, statisticamente significativa, della dimensione dei testicoli. Nessun sintomo di tossicità era stato rilevato tra gli animali trattati e i livelli serici di testosterone non risultavano alterati.

In conclusione gli studi *in vivo* relativi agli effetti del lindano sul sistema riproduttivo maschile di animali adulti hanno evidenziato, in alcune specie, riduzione del peso degli organi riproduttivi e alterazioni numeriche, morfologiche e funzionali delle cellule del testicolo (cellule germinali, di Leydig e del Sertoli) alla maturità sessuale. Negli organismi in via di sviluppo, il passaggio di lindano attraverso la barriera placentare e/o il latte materno induce degli effetti simili sul testicolo, osservabili a lungo termine dopo il raggiungimento della maturità sessuale (anche nella 3ª generazione).

Effetti sul sistema riproduttivo femminile

Effetti nell'animale adulto

Una sintesi degli studi per valutare gli effetti del lindano sul sistema riproduttivo femminile è riportata in Tabella 10.

Effetti del lindano sul ciclo estrale sono stati messi in evidenza nelle femmine adulte dopo *somministrazione i.p.* Una dose di 5 mg/kg p.c. (2 volte a settimana) provocava un significativo prolungamento del proestro con un conseguente ritardo dell'ovulazione. Gli effetti sul ciclo estrale erano evidenziati a livello delle cellule vaginali, dall'elevata concentrazione di glicogeno e di alcuni enzimi (sorbitolo deidrogenasi, fosfatasi alcalina) durante il proestro, e dall'aumento dei mucopolisaccaridi durante l'estro (Lahiri *et al.*, 1985). Un trattamento eseguito nel giorno del diestro con dosi ≥ a 25 mg/kg (Uphouse & Williams, 1989) aumentava in modo significativo la durata del ciclo estrale; inoltre in alcune femmine trattate con 50 mg/kg p.c. il proestro, messo in evidenza da modificazioni a livello vaginale, non si verificava o era posticipato.

Tabella 10. Effetti del lindano sul sistema riproduttivo femminile nell'animale adulto: studi *in vivo*

Trattamento	Specie	Dose	Effetti osservati	Autori
Iniezione (intraperitoneo)	Ratto	5-10 mg/kg*, 2 volte/settimana	Alterazioni del ciclo estrale: prolungamento del proestro (5-7 volte >del normale) e ovulazione ritardata.	Lahiri *et al.*, 1985
	Ratto	25-75 mg/kg* nel proestro.	Alterazione del comportamento sessuale: riduzione dose-dipendente della recettività all'accoppiamento (lordosi).	Uphouse, 1987
	Ratto	10-50 mg/kg* nel diestro	Per dosi ≥25 mg/kg aumento significativo della durata del ciclo vaginale, recettività sessuale ridotta; alla dose di 50 mg/kg, proestro vaginale assente durante il periodo di trattamento e nei 6-8 giorni successivi.	Uphouse & Williams, 1989
Orale (gavaggio)	Ratto	20 mg/kg* /giorno per 30 giorni	Nelle femmine ovariectomizzate: aumento significativo della conc.di glicogeno in utero, vagina e cervice in assenza di alterazioni istologiche.	Raizada *et al.*, 1980
	Ratto	10-40 mg/kg*/ giorno/ 5 giorni (in adulte ovariectomizzate)	Il lindano non altera il numero di recettori estrogenici e non induce la produzione di progesterone (estrogeno-dipendente) a livello dell'ipotalamo, dell'ipofisi e dell' utero. Conc. di estradiolo serico normale.	Laws *et al.*, 1994
	Topo	0,8 mg/kg*/4 sett. 1,2 mg/kg*/6 sett. 3 mg/kg* /2 sett. 3 mg/kg* /4 sett.	Inibizione dose dipendente della steroidogenesi a livello ovarico. Alla dose più alta, formazione del pregnenolone e sua conversione in progesterone, fortemente inibite.	Sircar & Lahiri, 1990
			Funzioni adrenocorticali alterate. Peso ridotto, alterazioni istologiche, glucocorticoidi in ridotta concentrazione nella ghiandola e nel plasma.	Lahiri & Sircar, 1991
	Coniglio	0,8-4 mg/kg*/ giorno/ 12-15 settimane	Accumulo della sostanza nell'ovaio, ovidotto, tessuto uterino e fluido follicolare. Frequenza dell'ovulazione ridotta.	Lindenau *et al.*, 1994
Orale (dieta)	Pecora	2,5 mg/kg*/2 volte a sett. per 43 giorni	Assenza di tossicità. Diminuzione dei livelli basali di LH; aumento delle concentrazioni seriche di insulina ed estradiolo;	Rawlings *et al.*, 1998

* mg/kg di peso corporeo

Effetti sul comportamento sessuale sono stati osservati in ratte femmine adulte trattate per iniezione i.p. con dosi di lindano comprese tra 25 e 75 mg/kg (Uphouse, 1987): nel giorno del proestro, il lindano provocava un'inibizione dose-dipendente della lordosi e della recettività sessuale. Questi effetti, simili a quelli indotti dal kepone, un altro insetticida organoclorurato con attività estrogenica accertata, suggerivano un'interazione a livello dei neurotrasmettitori. E' stata pertanto ipotizzata un'associazione tra gli effetti riproduttivi osservati e l'inibizione a

livello centrale del sistema GABA (γ-aminobutyric acid), meccanismo ritenuto responsabile dei sintomi neurologici indotti dal lindano. Tuttavia la mancanza di effetti sul comportamento sessuale e sul ciclo estrale dopo la somministrazione di picrotoxina, noto inibitore del sistema GABA, nel giorno di proestro o di diestro, non sostenevano questa ipotesi.

L'ipotesi che il lindano possa interagire con l'attività estrogenica è stata suggerita da uno studio condotto *per via orale* su ratte ovariectomizzate (Raizada *et al.*, 1980). La somministrazione di lindano (20 mg/kg p.c. al giorno per 30 giorni) causava un aumento significativo del contenuto di glicogeno negli organi riproduttivi (utero, cervice e vagina). L'attività dell'insetticida appariva comunque debole rispetto all'estradiolo dipropionato utilizzato come controllo positivo che, oltre ad aumentare da 2 a 4 volte il contenuto di glicogeno, alterava significativamente il peso degli organi riproduttivi.

In uno studio successivo (Laws *et al.*, 1994) è stata valutata l'eventuale capacità del lindano di inibire la risposta dei tessuti estrogeni-dipendenti all'estradiolo, attraverso un'azione mediata dai recettori estrogenici stessi. L'affinità del lindano per i recettori estrogenici (ER) e progestinici (PR) è stata misurata in ratte adulte ovariectomizzate e stimolate con 17-β estradiolo benzoato (EB). La somministrazione orale di lindano a dosi comprese tra 10 e 40 mg/kg p.c., per 5 giorni, non alterava l'affinità dell'EB per i recettori, la distribuzione dei recettori ER del citosol e del nucleo o la risposta funzionale all'estrogeno misurata dall'induzione dei recettori PR, a livello dell'ipotalamo, dell'ipofisi e dell'utero. Questi risultati non indicavano pertanto un'interazione diretta del lindano con gli ER.

Gli effetti del lindano sul sistema riproduttivo femminile sono stati studiati su altre specie animali. Nel topo è stata messa in evidenza un'interazione del lindano con il sistema ormonale a livello ovarico (Sircar & Lahiri, 1990). La somministrazione orale per gavaggio di lindano per periodi di 2-6 settimane, a dosi comprese tra 1 e 3 mg/kg p.c. (quantità totali di 22-86 mg/kg p.c., la dose letale 50, DL50, stimata nel topo è 84 mg/kg p.c.) provocava un'inibizione dose-dipendente della scissione della catena laterale del colesterolo nei mitocondri dell'ovaio. Alla dose più alta la formazione di pregnenolone e di conseguenza la sua conversione a progesterone erano fortemente inibite (fino al 75%). Alterazioni della ghiandola surrenalica sono state inoltre osservate nel topo dopo somministrazione per gavaggio di 1-3 mg/kg p.c./giorno di lindano, per periodi compresi tra 2 e 8 settimane. Nei gruppi di trattamento, il peso della ghiandola surrenale risultava ridotta ed erano evidenti alterazioni istologiche a carico della corteccia; inoltre il contenuto di glucocorticoidi e di acido ascorbico risultava ridotto, mentre il colesterolo era aumentato rispetto ai controlli (Lahiri & Sircar, 1991).

L'accumulo dell'isomero γ nel tratto riproduttivo femminile è stato invece valutato nel coniglio. Dopo la somministrazione di 0,8-4 mg/kg p.c. di lindano al giorno per circa 3 mesi, l' isomero γ era presente in quantità misurabile nell'ovaio, nell'ovidotto, nel fluido follicolare e nel tessuto e fluido uterino; inoltre gli animali trattati avevano una frequenza di ovulazione significativamente ridotta rispetto ai controlli (Lindenau *et al.*, 1994).

Nella pecora la somministrazione di 2,5 mg/kg p.c. (2 volte a settimana per 43 giorni) causava un aumento significativo dei livelli serici dell'estradiolo e dell'insulina, mentre le concentrazioni di tiroxina e di LH risultavano ridotte (Rawlings *et al.*, 1998).

Effetti sullo sviluppo (esposizione prenatale, perinatale e prepuberale)

La somministrazione di lindano, per iniezione o per via orale, prima della maturità sessuale, provoca nella femmina di ratto alterazioni dei livelli ormonali, del ciclo estrale e delle risposte dei tessuti estrogeno-dipendenti (Tabella 11).

Tabella 11. Effetti del lindano sullo sviluppo del sistema riproduttivo femminile: studi *in vivo*

Trattamento	Specie	Dose	Effetti osservati	Autori
Iniezione (intraperitoneo)	Ratto	15 mg/kg*/7giorni (immature)	Attivazione degli enzimi microsomiali epatici che metabolizzano l'estrone	Welch *et al.*, 1971
Orale (gavaggio)	Ratto	0-40mg/kg*/ giorno (svezzamento-età adulta)	A dosi ≥20 mg/kg, aumento del peso dopo 110 giorni di trattamento, ritardo nell'apertura vaginale, ciclo estrale alterato, peso dell'utero e dell'ipofisi ridotti, aumento del consumo di cibo durante il proestro.	Chadwick *et al.*, 1988
Orale (gavaggio)	Ratto	5-40 mg/kg* (svezzamento-età adulta)	Apertura vaginale ritardata e alterazione reversibile del ciclo ovarico. Nel giorno del proestro, alle dosi più alte, peso dell' utero e dell'ipofisi ridotto, alterazioni dei livelli serici ed ipofisari di LH (↓), prolattina (↓) e FSH (↑). Nelle prepubere trattate, ridotta risposta dell' utero e ipofisi all'EB (effetto antiestrogenico).	Cooper *et al.*, 1989
	Ratto	30-60 mg/kg*/ 7 giorni (immature)	Formazione del complesso estradiolo-recettore nel citosol dell'utero significativamente inibita (inibizione non-competitiva). L'effetto sui RE è stato evidenziato anche in vitro.	Tezak *et al.*, 1992
	Ratto	40 mg/kg*/7giorni giorni (immature)	Nessuna alterazione del n° di RE e della sintesi di progesterone nell'ipotalamo, ipofisi e utero e dei livelli di estradiolo serico.	Laws *et al.*, 1994
Orale (dieta)	Pecora	1 mg/kg*/ giorno, (GG1 fino a 67 settimane di età)	Alterazioni ormonali: livelli serici di T4 ridotti durante lo sviluppo, aumento nella frequenza dei picchi di LH, riduzione del numero e del volume dei corpi lutei, cicli estrali più brevi.	Beard & Rawlings, 1999

* mg/kg di peso corporeo

In uno studio condotto da Welch *et al.* (1971) su ratte prepubere all'età di 19 giorni, il metabolismo dell'estrone mediato dagli enzimi microsomiali epatici risultava stimolato dalla somministrazione di insetticidi organoclorurati tra i quali il lindano. Le ratte trattate con lindano per *iniezione i.p.* (15 mg/kg p.c. per 7 giorni) metabolizzavano a livello epatico circa il 50% in più dell'estrone rispetto ai controlli; inoltre quando le femmine, 24 ore dopo l'ultima somministrazione di lindano, erano trattate con un'iniezione di estrone-6,7-H^3, l'aumento di peso dell'utero (azione uterotropica dell'estrogeno) era inibito del 50% rispetto ai controlli trattati solo con l'estrogeno.

Un aumento significativo del peso corporeo (>20%) è stato osservato nelle femmine di ratto dopo la somministrazione *orale* di 20 e 40mg/kg di lindano, dall'età di 21 giorni e per 110 giorni consecutivi. Altri effetti, non sempre correlati alla dose, quali il ritardo dell'apertura vaginale e della comparsa di cicli vaginali regolari, alterazioni del quadro citologico vaginale, erano presenti in alcuni dei gruppi trattati con dosi comprese tra 5 e 40 mg/kg (Chadwick *et al.* 1988; Cooper *et al.*, 1989). Inoltre alla fine del periodo di trattamento e con le dosi più alte, si

osservava una diminuzione del LH e della prolattina nel siero e nell'ipofisi e una riduzione significativa dell'estradiolo serico (solo per la dose di 40 mg/kg).

In un esperimento condotto successivamente per valutare la risposta del tessuto uterino e degli ormoni ipofisari, un gruppo di femmine è stato trattato dallo svezzamento (21° giorno) all'età adulta con dosi di lindano di 30 mg/kg p.c./giorno e all'età di 27 giorni con una iniezione di EB. L'aumento del peso uterino e del LH serico nelle femmine trattate con lindano risultava minore rispetto al gruppo di controllo, 30 ore dopo la stimolazione con l'estrogeno. Inoltre la riduzione dei livelli ipofisari di LH, FSH e prolattina indotta dall'EB era minore nelle femmine trattate con lindano rispetto ai controlli che avevano ricevuto solo EB. Questi dati indicavano che il lindano era in grado di alterare la risposta dei tessuti estrogeno-dipendenti alla stimolazione di ormoni steroidei ovarici e che questo effetto anti-estrogenico del lindano poteva essere responsabile delle alterazioni osservate nelle femmine.

I risultati ottenuti da Tezak *et al.* (1992) suggerivano invece una interazione diretta del lindano con il recettore estrogenico, a livello dei tessuti bersaglio, attraverso una inibizione della formazione del complesso recettore-ormone. La somministrazione orale di lindano in ratte di 21 giorni (30-60 mg/kg/giorno per 7 giorni) induceva infatti una diminuzione del numero di siti liberi di legame sui recettori estrogenici, a livello dell'utero. L'inibizione della formazione del complesso recettore-estradiolo nel citosol era dose-dipendente sia nei trattamenti *in vivo* (30% e 46% di riduzione, a 30 e 60 mg/kg rispettivamente) che nell'esperimento condotto *in vitro* sul citosol di uteri prelevati in ratte di 28 giorni non trattate (11% e 42% di riduzione). Lo studio della cinetica di reazione indicava tuttavia che l'inibizione del legame dell'estrogeno al recettore specifico, indotta dal lindano, non era di tipo competitivo poiché l'affinità di legame per il recettore non risultava alterata (Laws *et al.*, 1994). I risultati preliminari di un recente studio suggeriscono un possibile effetto simil-estrogenico nel topo, in seguito ad esposizione prenatale al lindano. Tra gli indici di sviluppo puberale esaminati è stata osservata una precocità dell'apertura vaginale, inoltre erano presenti una ipertrofia e iperplasia dell'endometrio (Mantovani *et al.*, 2000).

In conclusione gli studi sperimentali suggeriscono che il lindano nella femmina può interferire con gli ormoni sessuali ed alterare i tessuti e le funzioni ormono-dipendenti. Le evidenze attualmente disponibili non consentono tuttavia di chiarire il meccanismo d'azione responsabile degli effetti osservati. Una possibile interazione diretta sui recettori estrogenici è tuttora controversa. Nel ratto sono stati descritti sia effetti estrogenici (Raizada *et al.*, 1980; Uphouse, 1987) che effetti antiestrogenici (Chadwick *et al.*,1988; Cooper *et al.*, 1989). Queste diverse risposte potrebbero dipendere dalla fase biologica in cui avviene l'esposizione. Non sono inoltre da escludere interazioni dirette del lindano con il metabolismo degli steroidi a livello del fegato, della corteccia surrenale e dell'ovaio.

Effetti sulla gravidanza e lo sviluppo prenatale

Gli effetti del lindano sulla gravidanza sono stati valutati in un numero limitato di studi ad una o più generazioni effettuati mediante somministrazioni attraverso la dieta. Gli studi per valutare gli effetti sul concepito sono stati invece condotti su diverse specie animali (topi, ratti, conigli, cani e maiali) e con diverse vie di somministrazione (orale, cutanea, intraperitoneale). Una sintesi delle informazioni attualmente disponibili è riportata in Tabella 12.

Uno studio a tre generazioni nel ratto (Palmer *et al.*, 1978b) non ha messo in evidenza alterazioni significative della frequenza di accoppiamenti e di gravidanze nei gruppi trattati (25-100 mg/kg alimento equivalente a 1,25-5 mg/kg p.c.) rispetto ai controlli. Non vi erano inoltre

differenze significative nella frequenza di malformazioni, e nella dimensione e crescita delle nidiate. Nelle femmine di terza generazione, nei gruppi esposti a dosi ≥ 25 mg/kg, sono stati invece osservati un aumento del peso del fegato e la presenza di epatociti ingrossati e con vacuoli, effetti probabilmente associati ad una induzione enzimatica. Il NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) per quest'effetto era di 25 mg/kg di alimento (1,25 mg/kg p.c.).

Una minore efficienza riproduttiva è stata invece osservata nel visone. La somministrazione di lindano a una concentrazione di 1mg/kg di alimento (dose in mg/kg p.c. non specificato) nelle femmine, tre settimane prima dell'accoppiamento e per tutto il periodo successivo fino allo svezzamento dei nati (8 settimane dopo il parto) riduceva in modo significativo la percentuale di femmine che partorivano, senza alterare la frequenza degli accoppiamenti e il numero di impianti. La proporzione di perdite embrionali post-impianto era aumentata nel gruppo trattato (Beard *et al.*, 1997). In uno studio successivo (Beard & Rawlings, 1998), in cui maschi e femmine ricevevano la stessa dose di lindano nella dieta (1 mg/kg di alimento) dal concepimento fino all'età adulta e per tre generazioni, è stata osservata una minore frequenza di parti e una ridotta dimensione delle nidiate (fino al 60%) rispetto ai gruppi di controllo. E' stata osservata, tra gli animali che si accoppiavano, una riduzione statisticamente significativa della percentuale di animali che partorivano e della dimensione delle nidiate, nei gruppi trattati rispetto ai controlli.

Nel topo, effetti più o meno gravi a seconda del periodo di esposizione prenatale, sono stati osservati dopo somministrazione per gavaggio di dosi inferiori a 10 mg/kg p.c. Il trattamento effettuato ad inizio gestazione (giorni di gestazione, GG 1-4) inibiva totalmente l'impianto, a metà gestazione (GG 6-12), provocava un riassorbimento della nidiata, a fine gestazione (GG 14-19), invece causava un aumento della frequenza di mortalità tra i nati (Sircar & Lahiri, 1989). Negli studi condotti da Frohberg & Bauer (1972a;1972b) nel topo, la somministrazione di lindano durante l'organogenesi (GG 6-15) per i.p (6 mg/kg) o per gavaggio (12-60 mg/kg) non induceva gravi alterazioni se non un aumento della mortalità fetale e una riduzione del peso dei nati alla dose di 60 mg/kg/giorno, in presenza di un'evidente tossicità materna (48% di mortalità). In un altro studio condotto sul coniglio, un aumento della frequenza di perdite post-impianto è stato osservato nei gruppi trattati per gavaggio durante l'organogenesi (GG 6-18) con dosi tra 5 e 20 mg/kg p.c.; la somministrazione di lindano provocava tuttavia una tossicità materna evidente durante il trattamento (letargia, tachipnea) e una riduzione dell'aumento di peso durante la gestazione (Palmer *et al.*, 1978a).

In altre specie (ratto, coniglio, cane, mucca e maiale) il trattamento per via orale con dosi che non causavano tossicità materna, non inducevano effetti sulla mortalità fetale, sul numero e sulla crescita dei nati (Tabella 12).

Gli studi di tossicità prenatale non hanno messo in evidenza effetti teratogeni rilevanti negli animali trattati con lindano per via orale (dieta e gavaggio) e per iniezione sottocutanea. L'unica anomalia riportata nel ratto e nel coniglio era un'aumentata incidenza di nati con costole soprannumerarie. Questo effetto era presente solo in alcune delle nidiate trattate con dosi di 20 mg/kg p.c./giorno (GG 6-15) e sempre in presenza di una tossicità materna (Palmer *et al.*, 1978a).

Tabella 12. Effetti sulla fertilità e sul concepito (embriotossicità, fetotossicità, teratogenesi)

Trattamento	Specie	Dose	Effetti osservati	Autori
Iniezione (sottocute)	Topo	6 mg/kg* (GG 11-13 o 6-15)	Nessun effetto sul numero di impianti o di embrioni, sulla % di riassorbimenti, sull'incidenza di malformazioni.	Frohberg and Bauer, 1972a
	Ratto	0-30 mg/kg* (GG 6-15)	Tossicità materna con 15 e 30 mg/kg. Nessun effetto su gestazione e nidiate (vitalità, sviluppo, malformazioni).	Reno, 1976a
	Coniglio	0-30 mg/kg* (GG 6-18) 45 mg/kg*(GG 6-9)	A 30 e 45 mg/kg, tossicità materna; a 45 mg/kg, numero di riassorbimenti aumentato ed elevata mortalità materna.	Reno, 1976b
Orale (gavaggio)	Ratto	12,5-25 mg/kg*/giorno (intera gestazione)	A 25 mg/kg aumento della mortalità embrionale post-impianto; nessuna dose induceva effetti teratogeni.	Mametkulie v, 1976 in Izmerov,19 83
	Ratto	0-20 mg/kg* (GG 6-15)	A 20 mg/kg tossicità materna (ridotta assunzione di cibo e peso ridotto); nella prole, aumento della frequenza di costole sovranumerarie.	Palmer *et al.*, 1978 a
	Ratto	3,12-6,25-12,5 mg/kg* (GG 6-15)	Nessun effetto sui feti e nessuna malformazione.	Khera *et al.*, 1979
	Topo	12-30-60 mg/kg* (GG 6-15 e 11-12)	A 60 mg/kg, aumento della letalità fetale e materna, diminuzione dei pesi fetali e ridotto accrescimento delle madri; Nessun effetto sul numero di impianti, % di riassorbimento, sull' incidenza di malformazioni.	Frohberg and Bauer, 1972b
	Topo	10 mg/kg* (GG 1-4); 6 mg/kg* (GG 6-12); 7 mg/kg* (GG 14-19)	Ad inizio gestazione: assenza totale di impianto. A metà gestazione: totale riassorbimento dei feti. A fine gestazione: mortalità nella nidiata e peso dei nati ridotti. Questi effetti non si verificano in presenza di estrogeno e progesterone.	Sircar and Lahiri, 1989
	Topo	30 mg/kg* (GG12)	Aumento della concentrazione di metaboliti lipidici nel siero materno e nel fluido amniotico (induzione della perossidazione lipidica).	Hassoun *et al.*, 1996
	Cane	0-15 mg/kg* (GG 1-5)	Nessun effetto significativo sullo sviluppo e vitalità delle nidiate.	Earl *et al.*, 1973
	Coniglio	5-10-20 mg/kg p.c. (GG 6-18)	In tutti gli animali, durante il trattamento, tachipnea e letargia, riduzione della crescita ponderale e dell'assunzione di cibo; a 5 e 20 mg/kg aumento delle perdite post-impianto; aumento del n. di nati con costole sovranumerarie, a 20 mg/kg. Peso e crescita delle nidiate normale, assenza di altre malformazioni.	Palmer *et al.*, 1978a

continua

Trattamento	Specie	Dose	Effetti osservati	Autori
Orale (dieta)	Ratto	5-10 mg/kg*/giorno (90-138 giorni)	La somministrazione di 10 mg/kg nelle femmine per 138 giorni provoca riduzione dell'indice di fertilizzazione.	Trifonova *et al.* 1970
	Ratto	25-50-100 mg/kg cibo maschi e femmine: 3 generazioni	Nessun effetto su fertilità, gestazione, incidenza di malformazioni, dimensione e crescita delle nidiate. Nelle femmine della 3[a] generazione, a 25 mg/kg aumento del peso del fegato; a 50-100 mg/kg epatociti ingrossati e con vacuoli.	Palmer *et al.*, 1978b
	Mucca	28 mg/kg* (avvelenamento accidentale: 6[a]-17[a] sett. prima del parto)	Tossicità materna (convulsione, tremore) Nessun effetto sulla durata della gestazione e sullo sviluppo prenatale, assenza di malformazioni.	McParland *et al.*, 1973
	Maiale	0-50-500 mg/kg cibo 30 giorni prima e dopo l'accoppiamento	Nessun effetto sul numero e sul peso degli embrioni e sull'ovulazione.	Duee *et al.*, 1975
	Visone	1 mg/kg*/giorno (prima dell' accoppiamento, fino allo svezzamento)	Fertilità alterata: ridotta frequenza di parti e aumento della percentuale di perdite post-impianto, nei gruppi trattati.	Beard *et al.*, 1997
	Visone	1 mg/kg*/giorno dall'accoppiamento all'età adulta, (3 generazioni)	Efficienza riproduttiva alterata: ridotta percentuale di femmine accoppiate che partoriscono e ridotta dimensione delle nidiate (fino a 60% rispetto ai controlli).	Beard and Rawlings, 1998

* mg/kg di peso corporeo
1) GG =giorni di gestazione.

I dati disponibili consentono di concludere che il lindano non è un composto teratogeno neppure a dosi che inducono evidente tossicità materna. Tuttavia, almeno in alcune specie (topo, visone) si osservano effetti avversi sul mantenimento e sull'andamento della gravidanza che potrebbero suggerire un'alterata omeostasi ormonale.

Studi *in vitro*

Diversi modelli sperimentali *in vitro* sono stati utilizzati per mettere in evidenza i possibili meccanismi d'azione responsabili degli effetti osservati sulla funzione riproduttiva maschile e femminile. Sono stati inoltre caratterizzate le interazioni del lindano sulla maturazione dell'ovocita, sul processo di fecondazione e sullo sviluppo pre- e post-impianto dell'embrione.

Una sintesi delle informazioni attualmente disponibili è riportata in Tabella 13.

Alcuni studi hanno valutato la possibile interazione diretta del lindano con i *recettori degli ormoni sessuali*. Riguardo ai recettori estrogenici, il test E-screen, che misura il grado di proliferazione delle cellule MCF-7 (tumore mammario umano) dopo stimolazione con estrogeni, è risultato negativo in presenza di lindano alla concentrazione di 10 µmoli (Soto *et*

al., 1995). Questo risultato indicava che questa sostanza non era in grado di legarsi ai recettori estrogenici e confermava i risultati ottenuti in alcuni studi condotti su femmine di ratto prepubere o ovariectomizzate (Laws *et al.*, 1994). L'interazione del lindano con i recettori estrogenici è stata studiata su un altro modello *in vitro* con colture primarie di epatociti di trote, per valutare l'espressione estrogeno-dipendente del gene per la vitellogenina (Flouriot *et al.*, 1995). La sintesi della vitellogenina, che normalmente avviene nelle femmine ovipare alla maturazione sessuale, è stata evidenziata nei pesci maschi esposti a sostanze ambientali con attività estrogenica. Questa proteina è stata pertanto proposta come marker biologico nei pesci e in altri vertebrati ovipari per valutare l'esposizione ad EDC (Sumpter & Jobling, 1995; Palmer & Palmer, 1995). Nelle colture primarie di epatociti il lindano provocava un accumulo del mRNA della vitellogenina; l'induzione dell'espressione genica appariva mediata dai recettori estrogenici poiché l'effetto di accumulo era inibito dal pretrattamento delle colture primarie con sostanze antiestrogeniche (ICI 164, ICI 384). Tuttavia in un altro test il lindano, contrariamente ad altri xenobiotici saggiati (clordecone, nonilfenolo), non era in grado di competere con il [^{3}H]estradiolo per il legame al recettore estrogenico; questo risultato suggeriva una probabile interazione indiretta del lindano mediata dai suoi metaboliti epatici e non era pertanto in contrasto con i risultati precedentemente ottenuti sulle colture di cellule e tessuti di mammiferi.

Tabella 13. Effetti sul sistema riproduttivo maschile e femminile e sullo sviluppo: studi *in vitro*

Modello sperimentale	Dose	Effetti osservati	Autori
E-screen (MCF-7, tumore mammario umano)	10 µmoli	Nessuna proliferazione delle cellule MCF-7, né interazione con i recettori estrogenici.	Soto *et al.*, 1995
Coltura primaria di epatociti di trote	10-100 µmoli	Induzione di RE e accumulo di mRNA per la vitellogenina. Effetto inibito dall'aggiunta di antiestrogenici (tamoxifene, ICI 164, 384).	Flouriot *et al.*, 1995
Test in vitro: recettori steroidei e proteine che legano gli ormoni	100 µmoli	Inibizione del legame specifico tra il [^{3}H]5 α-diidrotestosterone (DHT) e il RA; nessuna interferenza sul legame del DHT con la proteina che lega gli androgeni (ABP).	Danzo, 1997
Spermatozoi umani	10-60 µmoli	Depolarizzazione della membrana degli spermatozoi e aumento del Ca^{2+} intracellulare (alterazione della conduzione di membrana e/o del potenziale soglia dei canali ionici).	Silvestroni *et al.*, 1997
Spermatozoi umani	0.1-30 µmoli	Il lindano altera la dinamica molecolare disponendosi all'interno della membrana dello spermatozoo. Alla dose di 0,1 µmoli, inibita risposta dello spermatozoo al progesterone.	Silvestroni & Palleschi,1999
Cellule mioidi peritubulari di ratto (coltura primaria)	20-200 µmoli	Depolarizzazione della membrana e aumento del Ca^{2+} intracellulare nelle cellule mioidi peritubulari.	Silvestroni *et al.*, 1999b
Cellule di carcinoma prostatico umano PC-3, transfettate con geni per RA e per luciferasi	10 µmoli	Il lindano non interferisce con i RA né con l'ABP, contrariamente ad altri organoclorurati (p,p'-DDE).	Schrader & Cooke, 2000

segue

continua

Modello sperimentale	Dose	Effetti osservati	Autori
Cellule tumorali di Leydig MA-10, di topo	10-100 µmoli con $(Bu)_2$ cAMP (1 mmoli)	Diminuzione dose-dipendente della sintesi di progesterone, dopo stimolazione con (Bu_2) cAMP; assenza di effetto su sintesi proteica, proteina-chinasi A e espressione degli enzimi della steroidogenesi. Proteina StAR ridotta.	Walsh & Stocco, 2000
Cellule del Sertoli, colture primarie di ratto	10-100 µmoli	Aumento dell'attività degli enzimi mitocondriali, della secrezione di lattato e della inibina B, in assenza di citotossicità.	Monsees *et al.*, 2000
Cellule del miometrio di ratto	1-10 µmoli	Aumento dose-dipendente del $[Ca^{2+}]$ interno, attraverso il rilascio selettivo dei depositi di inositolo 1,4,5-trifosfato. A 10µmoli inibizione della comunicazione intercellulare e aumento della proteina chinasi C.	Criswell *et al.*, 1994, 1995a
	0,1-100 µmoli	Aumento dose-dipendente di cAMP e di acido arachidonico triziato (possibile evento critico nella inibizione della comunicazione intercellulare tra i miociti dell'utero).	Criswell & Loch-Caruso, 1995b
Tessuto uterino di ratto, prelevato a metà gestazione	5-100 µmoli	Riduzione dose-dipendente della forza di contrazione muscolare; a 30 µmoli arresto delle contrazioni. Effetto potenziato dall'inibizione della fosfolipasi A2 o dall'aggiunta dell'antiossidante quinacrina.	Criswell & Loch-Caruso, 1999
Cellule dell'utero e delle tube di bovini	8-200 µmoli	Inibizione della sintesi di DNA, nelle cellule epiteliali e stromali. Il legame dell' estradiolo marcato ai RE dell'endometrio non è inibito. Nessun aumento della depolarizzazione e dell' attività ossidativa nelle cellule degli ovidotti.	Tiemann *et al.*, 1996, 1998
Cellule dell'endometrio e delle tube (bovini)	32-64 µmoli	Con 64 µmoli e dopo 30 min. d'incubazione, ATPasi-Mg^{2+}dipendente inibita nella frazione microsomiale delle cellule dell' endometrio.	Tiemann *et al.*, 1999a
Cellule delle tube (bovini)	8-128 µmoli	Comunicazione intercellulare giunzionale inibita. Effetto non associato ad un aumento di $[Ca^{2+}]$ nelle cellule.	Tiemann *et al.*, 1999b
Follicolo ovarico di ratto	5-15 µmoli	Iinibizione della maturazione del follicolo, con alterazione delle giunzioni tra l'ovocita e le cellule della granulosa.	Li & Mather, 1997
Ovociti bovini	7,5-29 µg/ml	Inibizione dose-dipendente della maturazione dell'ovocita. Nessun effetto sul processo di fecondazione degli ovociti; n° di embrioni agli stadi di morula e blastocisti ridotti.	Alm *et al.*, 1998
Embrione di ratto completo di sacco vitellino al GG10	50-400 µmoli	Aumento dose dipendente della mortalità (88% a 400 µmoli) e dell'incidenza di malformazioni. Ritardo nella crescita.	Mc Nutt & Harris, 1994
Embrioni di topo pre-impianto	3,6-29 µg/ml	Alla dose più alta, totale degenerazione degli embrioni. Inibizione dose-dipendente della formazione e maturazione delle blastocisti.	Alm *et al.*, 1996

Riguardo agli effetti sul *sistema riproduttivo maschile* è stata valutata la capacità di alcuni xenobiotici, tra cui il γ-HCH, di inibire il legame degli ormoni endogeni con i recettori degli androgeni e con alcune proteine che legano gli ormoni. Il lindano causava una inibizione statisticamente significativa del legame specifico tra l'ormone 5α-diidrotestosterone (5α-DHT) marcato, il recettore androgenico e le globuline che legano gli ormoni (hSHBG); la sostanza non interagiva invece sul legame tra il 5α-DHT e l'ABP (la proteina che lega gli androgeni), né sul legame tra il 17β-estradiolo marcato e il recettore estrogenico (Danzo, 1997). Un complesso modello è stato utilizzato per evidenziare l'eventuale attività anti-androgenica di alcuni additivi alimentari e di contaminanti organoclorurati, tra cui gli HCHs (Schrader & Cooke, 2000). Cellule di carcinoma prostatico umano PC-3 insensibili agli androgeni, sono state transfettate con il vettore pCMV5-hAR che contiene l'intera sequenza di DNAc codificante il recettore androgenico umano e con un plasmide (pMAMneo-luc) contenente il gene androgeno-dipendente che codifica la luciferasi. Su queste cellule trasformate (PC-3 LUC^{AR+}), il diidrotestosterone (DHT) induceva una attivazione dose-dipendente dell'attività luciferasi, mediata dal legame dell'androgeno con il recettore. Gli isomeri β, δ e γ dell'HCH non erano in grado di attivare il recettore androgenico; l'isomero α, in assenza di DHT non aveva effetto sull'attivazione del recettore, tuttavia alla concentrazione di 10 μmoli nel mezzo di coltura e in presenza di DHT, inibiva l'attivazione del recettore androgenico mediata dal DHT, senza alterare la vitalità delle cellule.

Risultati molto suggestivi sono stati recentemente ottenuti riguardo agli effetti del lindano sulla steroidogenesi, utilizzando colture di cellule di Leydig tumorali (linea cellulare di topo MA-10). Su questo modello il lindano induceva una diminuzione, dose-dipendente e statisticamente significativa, della produzione di progesterone normalmente indotta dall'aggiunta nel mezzo di coltura di $(Bu)_2$cAMP (Walsh & Stocco, 2000). L'effetto si verificava senza alterare la sintesi proteica, indicando un assenza di tossicità cellulare acuta. L'inibizione della steroidogenesi causata da una concentrazione di 50 μmoli era maggiore per l'isomero γ (81% di inibizione) rispetto agli isomeri α (64%) e δ (74%) ed era già ben evidente dopo due ore dall'aggiunta della sostanza nel mezzo di coltura (60% d'inibizione). Per verificare se questo effetto sulla steroidogenesi fosse mediato dall'inibizione dell'attività del sistema P450 e/o dalla 3β-idrossisteroido-deidrogenasi (3β-HSD) sono state effettuate delle determinazioni enzimatiche utilizzando come substrato un analogo solubile del colesterolo (22R-HC) e una analisi Western blot delle proteine mitocondriali. I risultati ottenuti escludevano un'alterazione sull'espressione di enzimi coinvolti nella sintesi degli steroidi. Effetti molto evidenti sono stati invece osservati sui livelli di una proteina carrier del colesterolo, la proteina StAR, che normalmente sotto il controllo della $(Bu)_2$cAMP trasporta il colesterolo nella membrana mitocondriale e svolge pertanto un ruolo importante nella regolazione della sintesi degli steroidi. L'analisi Western blot rilevò infatti che il lindano (ma anche gli altri isomeri) riduceva in modo significativo il livello della proteina StAR (76% d'inibizione) e l'espressione del suo mRNA (55% d'inibizione) nelle cellule tumorali di Leydig.

Gli effetti del lindano sulle cellule del Sertoli di ratto in colture primarie sono stati evidenziati in uno studio recente (Monsees *et al.*, 2000). In assenza di citotossicità, è stato osservato un lieve aumento dell'attività deidrogenasi mitocondriale, indicatore di uno stress cellulare e un aumento significativo della produzione di lattato con concentrazioni di lindano ≥25 μM (fino a 1,7 volte rispetto ai controlli) e dell'inibina B con concentrazioni di 25 e 50 μmoli. L'inibina B era invece significativamente ridotta con una concentrazione di 100 μmoli. Il lattato secreto dalla cellula del Sertoli costituisce il substrato energetico per gli spermatociti e

gli spermatidi; un aumento di lattato può essere un indicatore sensibile e specifico per le sostanze che colpiscono le cellule del Sertoli, quali il mono-2-etil-esil ftalato ed il 1-3-dinitrobenzene. L'incremento di inibina B era comparabile a quello indotto, sempre nelle cellule del Sertoli, dall'etinil-estradiolo alla concentrazione di 10 μmoli: è degno di nota che il recettore estrogenico β è specificamente espresso in queste cellule, mentre le cellule di Leydig esprimono il recettore α.

Per evidenziare eventuali meccanismi molecolari responsabili di alterazioni sulle cellule spermatiche sono stati studiati gli effetti del lindano sulle caratteristiche biofisiche delle membrane di spermatozoi umani. Il lindano, inserendosi tra i fosfolipidi, induceva negli spermatozoi esposti una depolarizzazione transitoria della membrana, l'apertura di canali per gli ioni Ca^{2+} con conseguente aumento di Ca^{2+} all'interno della cellula. La depolarizzazione della membrana si verificava sia in assenza di ioni Ca^{2+} e Na^{+} sia in presenza di tampone con alta concentrazione di ioni K^{+}, indicando un'alterazione del potenziale bipolare di membrana. Gli effetti osservati erano dose-dipendenti (Silvestroni *et al.*, 1997). E' stato inoltre osservato che il lindano è in grado di inibire la reazione acrosomiale spontanea o indotta dal progesterone in spermatozoi umani. L'effetto era probabilmente causato dalle modificazioni biofisiche della superficie dello spermatozoo indotte dal lindano. L'inibizione della reazione acrosomiale stimolata dal progesterone era dose-dipendente e già statisticamente significativa alla concentrazione di 0,1μmoli, ad una dose quindi simile alle concentrazioni di lindano misurate nel muco cervicale di donne non esposte con problemi di fertilità (Wagner *et al.*, 1990). Questo risultato suggeriva che inquinanti ambientali presenti nel tratto riproduttivo femminile potevano compromettere dei processi biologici importanti per la fecondazione, quali la reazione acrosomiale. In uno studio successivo gli effetti del lindano sulla membrana sono stati studiati su cellule mioidi peritubulari di testicolo di ratto (Silvestroni *et al.*, 1999b). Queste cellule costituiscono lo strato di muscolatura liscia intorno ai tubuli seminiferi e partecipano contraendosi alla progressione degli spermi nel lume dei tubuli. Inoltre le cellule mioidi peritubulari secernono alcune sostanze attive sul differenziamento e sulla funzionalità della cellula del Sertoli (Maekawa *et al.*, 1996). L'esposizione di queste cellule al lindano provocava un aumento della polarità e un'alterazione del potenziale bipolare intrinseco alla membrana. Il lindano provocava contemporaneamente un aumento degli ioni Ca^{2+} all'interno della cellula, derivante sia dal rilascio di Ca^{2+} da un deposito intracellulare sensibile all'inositolo 1,4,5-trifosfato, sia dal passaggio di Ca^{2+} all'interno per effetto della depolarizzazione. Inoltre concentrazioni dell'ordine di 10 μmoli erano in grado di inibire l'aumento della concentrazione di Ca^{2+} e le contrazioni indotte dagli agonisti naturali vasopressina e endotelina-1.

Riguardo al *sistema riproduttivo femminile* gli studi fino ad oggi disponibili sono prevalentemente indirizzati agli effetti del lindano sulla funzione contrattile dell'utero e sui meccanismi molecolari responsabili di alterazioni dell'equilibrio ionico e della comunicazione intercellulare, in alcuni tessuti del tratto riproduttivo.

Nelle cellule isolate dalla muscolatura liscia uterina di ratte gravide ed esposte a varie concentrazioni di lindano (Criswell *et al.*, 1994; Criswell *et al.*, 1995a; Criswell *et al.*, 1995b) sono state osservate diverse alterazioni biochimiche quali un aumento della concentrazione di Ca^{2+} e di adenosina-monofosfato ciclica (cAMP) all'interno della cellula e un maggiore rilascio di acido arachidonico tritiato; inoltre il lindano inibiva la comunicazione intergiunzionale tra le cellule del miometrio. In uno studio più recente (Criswell & Loch-Caruso, 1999) l'effetto sulle contrazioni uterine è stato valutato sul tessuto uterino di ratte, prelevato in un periodo intermedio della gestazione ed esposto a varie concentrazioni di lindano. E' stata osservata una inibizione della forza di contrazione (fino al 100%), correlata alla concentrazione di lindano (5-30 μmoli). L'inibizione era reversibile se si rimuoveva la sostanza per lavaggio del tessuto e

non era pertanto associata ad un effetto citotossico. Il lindano causava inoltre un effetto sul tipo di contrazione: con una concentrazione di 5 μmoli, le contrazioni di tipo oscillatorio erano inibite nel 20% dei campioni di tessuto uterino; questa percentuale aumentava con l'aumentare della concentrazione di lindano. La risposta del tessuto uterino agli HCHs risultava isomero-specifico. L'isomero β infatti, usato sullo stesso modello sperimentale, non causava un rilassamento della muscolatura uterina ma aumentava invece la frequenza delle contrazioni.

Gli effetti del lindano sono stati valutati su colture di cellule prelevate dalle tube e dall'utero di bovini (Tiemann *et al.*, 1996; Tiemann *et al.*, 1998; Tiemann *et al.*, 1999a; Tiemann *et al.*, 1999b). A livello molecolare il γ-HCH inibiva la sintesi di DNA (valutata dall'incorporazione di timidina ^{3}H) in misura più marcata nelle cellule uterine epiteliali e stromali rispetto alle cellule della muscolatura liscia dell'utero e delle tube. L'inibizione era comunque minore per il γ-HCH rispetto al DDT e al metossicloro (MXC) saggiati sullo stesso modello *in vitro*. Inoltre mentre DDT e MXC erano in grado di inibire il legame dell'estradiolo marcato con i recettori del tessuto endometriale uterino, il γ-HCH non causava nessun effetto. Un'inibizione dell'ATPasi-Mg^{2+}-dipendente nella frazione microsomiale è stata inoltre osservata nelle cellule endometriali esposte al lindano; l'effetto era anche in questo caso minore rispetto a quello indotto dal DDT e MXC. In questa serie di esperimenti condotta da Tiemann & Kuchenmeister (1999a) un risultato interessante è stato osservato sui processi di comunicazione intercellulare: il lindano causava infatti un'inibizione dose-dipendente (con conc. ≥32 μmoli e ≥8μmoli, dopo 1 ora e 5 ore d'incubazione rispettivamente) della comunicazione intergiunzionale tra le cellule delle tube in coltura, non associata ad un aumento del [Ca^{2+}] all'interno delle cellule (Tiemann & Pohland, 1999b).

Alcuni studi sono stati condotti per valutare gli effetti del lindano sulla *maturazione dell'ovocita*, sul *processo di fecondazione* e *sull'embrione pre- e post-impianto*. Una inibizione dose-dipendente della normale maturazione dell'ovocita *in vitro* è stata osservata sia nel ratto che nei bovini (Li & Mather, 1997; Alm *et al.*, 1998). Nel modello sperimentale di Li & Mather costituito da una co-cultura di ovociti e cellule della granulosa prelevati dall'ovaio di ratto, la riorganizzazione *in vitro* del follicolo non avveniva in presenza di lindano alla concentrazione di 15 μmoli. L'effetto era riconducibile ad una inibizione della formazione delle giunzioni intercellulari; con una tecnica immunoistochimica si osservava infatti una riduzione dose-dipendente o totale (a 15μmoli) della connexina 43, normalmente presente nelle giunzioni tra l'ovocita e le cellule della granulosa. Nel complesso ovocita-cumulo ooforo, estratto dall'ovaio di bovini e utilizzato nel modello di Alm *et al.* l'esposizione al lindano alterava in modo significativo il processo di maturazione e la frequenza di degenerazione dell'ovocita *in vitro*. La frequenza della telofase 1 e della metafase 2 nel processo meiotico era ridotta di circa il 50% rispetto al controllo, con una concentrazione di γ-HCH di 29 μg/ml. Con la stessa concentrazione la frequenza di ovociti con una cromatina in degenerazione aumentava di circa il 40% rispetto ai controlli. Ambedue gli effetti erano correlati alla concentrazione del pesticida ed erano ancora osservabili ad una concentrazione di 7,5 μg/ml. Il grado di espansione del cumulo ooforo era ugualmente influenzato dalla concentrazione del pesticida.

Per evidenziare eventuali effetti sul *processo di fecondazione* e sullo *sviluppo dell'embrione*, alcuni complessi ovocita-cumulo ooforo, esposti al γ-HCH a concentrazioni di 7,5 μg/ml, sono stati portati a maturazione e fecondati *in vitro* (IVF) con del seme bovino crioconservato. Gli embrioni ottenuti sono stati mantenuti in co-colture con cellule epiteliali di ovidotti, per 5 o 6 giorni e valutati per il numero di blastomeri (nuclei) formati. I risultati mostrarono che non vi era una differenza significativa nella frequenza di fecondazione degli ovociti maturi esposti, né nella frequenza di scissione a 48 ore dopo la IVF, rispetto ai controlli. Il numero di embrioni

allo stadio di morula o di blastocisti, 7 giorni dopo l'IVF, era invece significativamente ridotto nel gruppo trattato rispetto al controllo. La qualità degli embrioni non era tuttavia alterata, poiché il numero di cellule nelle morule e nelle blastocisti del gruppo esposto era confrontabile al controllo (Alm *et al.*, 1998). Gli effetti sullo sviluppo embrionale sono stati ugualmente studiati sul topo, valutando il numero di embrioni interi e di blastocisti di 8 cellule, dopo l'esposizione a varie concentrazioni di lindano. Alla concentrazione di 29 μg/ml gli embrioni esposti andavano incontro ad una degenerazione totale, mentre alle dosi più basse fino a 7,5 μg/ml, vi era un riduzione dose-dipendente del numero di blastocisti e di embrioni interi. Una tossicità del γ-HCH era evidenziabile anche in stadi più avanzati della embriogenesi: l'esposizione diretta al lindano nel mezzo di coltura, di embrione di ratto all'età gestazionale di 10 giorni, causava un aumento dose e tempo-dipendente della mortalità (88% a 400μmoli), un aumento nella frequenza delle malformazioni e un ritardo nella crescita degli embrioni. Inoltre rispetto ai controlli, gli embrioni trattati avevano dei livelli di cisteina e glutatione (GSH) significativamente ridotti (McNutt & Harris, 1994).

In conclusione gli studi *in vitro* hanno evidenziato che il lindano può causare effetti specifici su diversi tipi cellulari presenti nei tessuti riproduttivi: in particolare, disturbi dell'equilibrio ionico e del potenziale di membrana sono stati osservati a carico di miometrio, spermatozoi e cellule mioidi peritubulari del testicolo. Gli effetti avversi osservati *in vitro*, sulla maturazione di oociti, follicoli ovarici e embrioni pre-impianto potrebbero analogamente originare da un disturbo delle comunicazioni intercellulari. Per contro gli studi *in vitro* disponibili, pur indicando un potenziale effetto endocrino, non sono sufficienti a caratterizzarlo. I dati più completi per le cellule del sistema riproduttivo maschile (cellule di carcinoma prostatico e cellule di Leydig) indicano una interazione con la sintesi e il trasporto degli steroidi più che con i recettori androgenici. L'interazione con il recettore estrogenico osservato negli epatociti di trota non è stata finora confermata in cellule e frazioni subcellulari di mammifero.

CLASSIFICAZIONE, VALUTAZIONE, STANDARD, NORMATIVA UE

La Commissione Consultiva Tossicologica Nazionale (CCTN) nel 1992 e nel 1995 ha valutato il potenziale mutageno e cancerogeno del lindano concludendo per le categorie 4B di mutagenesi (sostanza non valutabile per l'inadeguatezza dei dati) e 4B di cancerogenesi (sostanza che in esperimenti adeguati ha indotto effetti cancerogeni di dubbio significato per l'uomo).

Il valore limite di soglia negli ambienti di lavoro (Treshold Limit Value, TLV) stabilito dagli organismi e agenzie americane regolamentative US ACGIH 2000, OSHA 1999, NIOSH 1999, è di 0,5 mg/m^3 (cute, TLV-TWA 8 ore). L'effetto critico usato come base per il TLV è la tossicità a carico del sistema nervoso centrale e del fegato.

I valori limite CEE e gli intervalli di sicurezza per il lindano in frutta, ortaggi e cereali sono stabiliti dall'ordinanza ministeriale del 18/7/1990.

Un ADI (Acceptable Daily Intake) di 1 μg/kg p.c. è stato definito nel 1997 dal JMPR (Joint FAO-WHO Meeting on Pesticide Residues), sulla base di studi a lungo termine nel ratto e nel cane.

La US EPA (Environmental Protection Agency) ha stabilito nel 1988 una dose di riferimento (cioè un'esposizione senza effetti avversi sulla base delle conoscenze disponibili) per esposizione orale per il tempo di vita di 0,3 μg/kg p.c. L'effetto critico è la tossicità per il fegato e il rene in uno studio sub-cronico nel ratto.

Una dose di riferimento (MRL) orale per una durata intermedia di esposizione (da 15 a 365 giorni) di 0,01 μg/kg/giorno è stata stabilita dall'ATSDR 2000, sulla base degli effetti immunologici valutati nei roditori ed utilizzando un fattore di sicurezza di 1000 per proteggere gli individui più suscettibili quali i lattanti (dati forniti dall'Inventario Nazionale delle Sostanze Chimiche dell'Istituto Superiore di Sanità).

Inoltre lo Standing Committee on Plant Health dell'Unione Europea, nella riunione del 13/7/2000, ha valutato gli aspetti ambientali e tossicologici del lindano, con particolare riguardo alla sicurezza dei lavoratori, ed ha concluso che i fitosanitari contenenti questo principio attivo non possono essere inclusi nell'allegato I della Direttiva 91/414/EEC; pertanto, in seguito al recepimento di tale decisione, non potranno essere utilizzati nei Paesi dell'Unione Europea.

CONCLUSIONI

Il decennio 1969-1979 ha rappresentato in Italia il periodo di massima diffusione sul territorio di prodotti agricoli a base di lindano e di HCH tecnico. Il consumo ha raggiunto i livelli più elevati, in particolare nelle regioni del Nord-Italia, nei primi anni '70, immediatamente prima dell'immissione dei decreti ministeriali DM del 1974 e del 1975, che rispettivamente revocavano l'uso del HCH tecnico e limitavano l'utilizzo agricolo del lindano. A livello globale il consumo di HCH tecnico ha raggiunto i livelli più elevati nel periodo 1970-1980, con una tendenza alla diminuzione negli anni successivi, con l'introduzione delle revoche in Cina, in India e Unione Sovietica (Li, 1999).

L'informazione sull'esposizione umana è piuttosto carente in Italia. Tuttavia i dati disponibili hanno evidenziato, per gli anni 1975-1985, che i livelli degli isomeri β e γ nel tessuto adiposo e nel latte materno erano tra i più elevati nei Paesi europei. Ambedue questi "depositi" di γ-HCH possono assumere un ruolo importante durante la vita perinatale per l'induzione di effetti tossici negli organismi in via di sviluppo.

Sulla base dei dati di consumo e di monitoraggio biologico sulla popolazione generale e tenendo conto della capacità di persistenza e di accumulo nell'ambiente e nei tessuti biologici, non è pertanto improbabile che gli HCH_s abbiano raggiunto in alcuni momenti concentrazioni sufficientemente elevate da indurre effetti nocivi per la salute umana.

Gli studi di tossicologia *in vivo* e *in vitro*, analizzati nella presente rassegna, hanno evidenziato una possibile vulnerabilità del sistema riproduttivo maschile e femminile al γ-HCH. Gli effetti sono stati osservati sia sugli animali adulti che sugli organismi in via di sviluppo; tuttavia, allo stato attuale delle conoscenze, non vi è una chiara indicazione dei principali meccanismi d'azione coinvolti; diversi processi tra i quali l'interazione con recettori ormonali, l'inibizione del trasporto degli ormoni sessuali all'interno delle cellule bersaglio o della comunicazione intercellulare, sono stati a seconda del modello sperimentale utilizzato, ritenuti responsabili dei danni riproduttivi osservati. Gli studi *in vitro* hanno inoltre evidenziato dei meccanismi d'interferenza diretta con le cellule germinali. Lo spermatozoo umano sembra essere un bersaglio sensibile all'azione del lindano: alterazioni di processi biologici fondamentali per la fecondazione, quali l'attivazione delle reazioni acrosomiali, possono essere indotte *in vitro* da concentrazioni dell'ordine di μmoli.

Vi sono evidenze sperimentali sufficienti per indicare che il lindano, pur non essendo un agente teratogeno, può interferire con il normale andamento ed esito della gravidanza. La presenza accertata di lindano nel tessuto e nei liquidi biologici del sistema riproduttivo femminile (muco cervicale, fluido follicolare, placenta, liquido amniotico) induce a non sottovalutare l'eventuale rischio sia per il processo di fecondazione e la gravidanza sia per il normale sviluppo del concepito.

Un'importante indicazione in tale senso è fornita dalla correlazione fra livelli ematici di organoclorurati, fra cui il γ-HCH e disturbi della riproduzione femminile, in particolare la abortività ricorrente; nel caso del γ-HCH si è inoltre osservata una correlazione, in questi stessi studi, con alterazioni ormonali ed incrementi dei linfociti T (Gerhard *et al.*, 1998; Gerhard *et al* 1999).

Infine non è trascurabile, per una valutazione del rischio riproduttivo a lungo termine, che siano state contemporaneamente presenti sul territorio italiano, altre molecole organoclorurate a lunga persistenza, la cui presenza nei liquidi e tessuti biologici umani è stata quasi sempre messa in evidenza insieme agli HCHs. Sono noti, nei modelli sperimentali *in vivo* e *in vitro*, gli

effetti estrogenici del DDT e dei suoi derivati sul sistema riproduttivo maschile e femminile (Bulger & Kupfer, 1983). Di recente, alcuni studi hanno messo in evidenza che la somministrazione prenatale o perinatale del DDE (il principale metabolita del p,p'-DDT), provoca nel ratto alterazioni dello sviluppo riproduttivo nei maschi; gli effetti osservati sono probabilmente associati ad un'attività anti-androgenica del DDE (You *et al.*, 1998; You *et al.*, 1999). Va quindi attentamente valutata la possibilità di un'esposizione multipla a diversi EDC con analogo meccanismo di azione e/o bersaglio ed il conseguente rischio di effetti cumulativi.

BIBLIOGRAFIA

AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENISTS INC. *Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices.* 5th ed. Cincinnati (Ohio): ACGIH; 1986, p.348.

ADAMI, H.O., BERGSTRÖM, R., MÖHNER, M., ZATONSKI, W., STORM, H., EKBOM, A., TRETLI, S., TEPPO, L., ZIEGLER, H., RAHU, M., GUREVICIUS, R., STENGREVICS, A. Testicular cancer in nine Northern European countries. *International Journal of Cancer* 1994;59:33-38.

ALAWI, M.A., ABABNEH, M. Residue analysis of chlorinated pesticides in Jordanian human adipose tissues. *Analytical Letters* 1991a;24:1897-1911.

ALAWI, M.A., AMMARI, N., AL-SHURAIKI, Y. Organochlorine pesticide contaminations in human milk samples from women living in Amman, Jordan. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 1992;23:235-239.

ALBERS, J.M.C., KREIS, I.A., LIEM, A.K.D., VAN ZOONEN, P. Factors that influence the level of contamination of human milk with polychlorinated organic compounds. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 1996;30:285-291.

ALM, H., TIEMANN, U., TORNER, H. Influence of organochlorine pesticides on development of mouse embryos in vitro. *Reproductive Toxicology* 1996;10:321-326.

ALM, H., TORNER, H., TIEMANN, U., KANITZ, W. Influence of organochlorine pesticides on maturation and postfertilization development of bovine oocytes in vitro. *Reproductive Toxicology* 1998;12:559-563.

AL OMAR, M.A., TAWFIQ, S.J., AL-OGAILY, N. Organochlorine residues levels in human milk from Baghdad. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1985;35:65-67.

ANDERSEN, J.R., ORBAEK, K. Organochlorine contaminants in human milk in Denmark, 1982. *Ambio* 1984;13:266-268.

ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *Minimal risk level (MRL_S) for hazardous substances*, 2000.

ATUMA, S.S., OKOR, D.I. Organochlorine contaminants in human milk. *Acta Paediatrica Scandinavica* 1987;76:365-366.

BADIA-VILA, M., OCIEPA, M., MATEO, R, GUITART, R. Comparison of residue levels of persistent organochlorine compounds in butter from Spain and from other European countries. *Journal of Environmental Science & Health- Part B: Pesticides, Food, Contaminants, & Agricultural Wastes* 2000; 35:201-210.

BANERJEE, B.D., ZAIDI, S.S.A., PASHA, S.T., RAWAT, D.S., KONER, B.C., HUSSAIN, Q.Z. Levels of HCH residues in human milk samples from Delhi, India. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1997;59:403-406.

BARRIE, L.A., GREGOR, D., HARGRAVE, B., LAKE, R., MUIR, D., SHEARER, R., TRACEY, B., BIDLEMAN, T. Arctic contaminants: sources, occurrence and pathways. *The Science of the Total Environment* 1992;122:1-74.

BAUMANN,K., BEHLING, K., BRASSOW, H.L., STAPEL, K. Occupational exposure to hexachlorocyclohexane. III. Neurophysiological findings and neuromuscolar function in chronically exposed workers. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1981; 48:165-172.

BAŽULIĆ, D., ŠTAMPAR-PLASAJ, B., BUJANOVIC, V. *et al.* Organochlorine pesticide residues in the serum of mothers and their newborns from three Yugoslav towns. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1984;32:265-268.

BEARD, A.P., McRAE, A.C., RAWLINGS, N.C. Reproductive efficiency in mink (Mustela vison) treated with the pesticides lindane, carbofuran and pentachlorophenol. *Journal of Reproduction and Fertility* 1997;111:21-28.

BEARD, A.P., RAWLINGS, N.C. Reproductive effects in mink (Mustela vison) exposed to the pesticides lindane, carbofuran and pentachlorophenol in a multigeneration study. *Journal of Reproduction and Fertility* 1998;113:95-104.

BEARD, A.P., BARTLEWSKI, P.M., CHANDOLIA, R.K., HONARAMOOZ, A., RAWLINGS, N.C. Reproductive and endocrine function in rams exposed to the organochlorine pesticides lindane and pentachlorophenol from conception. *Journal of Reproduction and Fertility* 1999;115:303-314.

BEARD, A.P., RAWLINGS, N.C. Thyroid function and effects on reproduction in ewes exposed to the organochlorine pesticides lindane or pentachlorophenol (PCP) from conception. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 1999;58:509-530.

BERETTA, M., DICK, T. Organochlorine compounds in human milk, Porto Alegre, Brazil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1994;53:357-360.

BIGAZZI GRASSO, C., CAPEI, R., MAROTTINI, E. Aspetti attuali del problema dei residui di insetticidi. *Annali di Igiene Medicina Preventiva e di Comunità* 1989;1:741-752.

BLAIR, A., CANTOR, K.P., ZAHM, S.H Non-Hodgkin's lymphoma and agricultural use of the insecticide lindane. *American Journal of Industrial Medicine* 1998;33:82-87.

BORDET, F., MALLET, J., MAURICE, L., BORREL, S., VENANT, A. Organochlorine pesticide and PCB congener content of French human milk. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1993;50:425-432.

BOSSI, R., LARSEN, B., PREMAZZI, G. Polychlorinated biphenyl congeners and other chlorinated hydrocarbons in bottom sediment cores of lake Garda (Italy). *The Science of the Total Environment* 1992; 121:77-93.

BREIVIK, K., PACYNA, J.M., MUNCH, J. Use of α, β, and γ, hexachlorocyclohexane in Europe, 1970-1996. *The Science of the Total Environment* 1999;239:151-163.

BROUWER, A., AHLBORG, U.G., VAN DEN BERG, M., BIRNBAUM, L.S., BOERSMA, E.R., BOSVELD, B., DENISON, M.S., GRAY, L.E., HAGMAR, L., HOLENE, *et al.* Functional aspects of developmental toxicity of polyhalogenated aromatic hydrocarbons in experimental animals and human infants. *European Journal of Pharmacology* 1995;293:1-40.

BULGER, W.H., KUPFER, D. Estrogenic action of DDT analogs. *American Journal of Industrial Medicine* 1983;4:163-173.

BURGAZ, S., AFKHAM, B.L., KARAKAYA, A.E. Organochlorine pesticide contaminants in human adipose tissue collected in Ankara (Turkey) 1991-92. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1994;53:501-508.

BURGAZ, S., AFKHAM, B.L., KARAKAYA, A.E. Organochlorine pesticide contaminants in human adipose tissue collected in Tebriz (Iran). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1995; 54:546-553.

CANTOR, K.P., BLAIR, A., EVERETT, G., GIBSON, R., BURMEISTER, L.F., BROWN, L.M., SCHUMAN, L., DICK F.R. Pesticides and other agricultural risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men in Iowa and Minnesota. *Cancer Research* 1992;52:2447-2455.

CERUTTI, G., KADERAVEK, G., ZAPPAVIGNA, R., GEROSA, A., PIROVANO, G. Grasso, acidi grassi gliceridici e residui di antiparassitari clororganici in colostri di donna. *Il Latte* 1975;1:731-736.

CERUTTI, G., GEROSA, A., ZAPPAVIGNA, R. Residui di antiparassitari organici clorurati in latti di donna. *Il Latte* 1976;2:317-321.

CHADWICK, R.W., COOPER, R.L., CHANG, J., REHNBERG, G.L., McELROY, W.K. Possible antiestrogenic activity of lindane in female rats. *Journal of Biochemical Toxicology* 1988;3:147-158.

CHATTOPADHYAY, P., KARNIK, A.B., THAKORE, K.N., LAKKAD, B.C., NIGAM, S.K., KASHYAP, S.K. Health effects among workers involved in the manufacture of hexachlorocyclohexane. *Journal of Social and Occupational Medicine* 1988;38:77-81.

CHOWDHURY, A.R., VENKATAKRISHNA-BHATT, H., GAUTAM, A.K. Testicular changes of rats under lindane treatment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1987;38:154-156.

CHOWDHURY, A.R., GAUTAM, A.K., BHATNAGAR, V.K. Lindane induced changes in morphology and lipids profile of testes in rats. *Biomedica Biochimica Acta* 1990;49:1059-1065.

CHOWDHURY, A.R., GAUTAM, A.K. Steroidogenic impairment after lindane treatment in male rats. *Sangyo Ika Daigaku Zasshi* 1994;16:145-152.

CENTRE INTERNATIONAL D'ETUDES DU LINDANE. Letter from J.W.C. Randall to Jorg Munch 17.04.88. CIEL: 1998.

COK, I., BILGILI, A., OZDEMIR, M., OZBEK, H., BILGILI, N., BURGAZ, S. Organochlorine pesticide residues in human breast milk from agricultural regions of Turkey, 1995-96. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1997;59:577-582.

COK, I., BILGILI, A., YARSAN, E., BAGCI, C., BURGAZ, S. Organochlorine pesticide residue levels in human adipose tissue of residents of Manisa (Turkey), 1995-96. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1998;61:311-316.

COK, I., KARAKAYA, A.E., AFKHAM, B.L., BURGAZ, S. Organochlorine pesticide contaminants in human milk samples collected in Tebriz (Iran). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1999;63:444-450.

COOPER, R.L., CHADWICK, R.W., REHNBERG, G.L., GOLDMAN, J.M., BOOTH, K.C., HEIN, J.F., McELROY, W.K. Effect of lindane on hormonal control of reproductive function in the female rat. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1989;99:384-394.

CRISETIG, G., MORA, A., VIVIANI, R. Residui di composti organo-alogenati persistenti in tessuti di bovino. *Folia Veterinaria Latina* 1975;5:1-26.

CRISWELL, K.A., STUENKEL, E.L, LOCH-CARUSO, R. Lindane increases intracellular calcium in rat myometrial smooth muscle cells through modulation of inositol 1,4,5-triphosphate-sensitive stores. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1994;270:1015-1024.

CRISWELL, K.A., LOCH-CARUSO, R., STUENKEL, E.L. Lindane inhibition of gap junctional communication in myometrial myocytes is partially dependent on phosphoinositide-generated second messengers. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1995a;130:280-293.

CRISWELL, K.A., LOCH-CARUSO, R. Lindane-induced elimination of gap junctional communication in rat uterine myocytes is mediated by an arachidonic acid-sensitive cAMP-independent mechanism. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1995b;135:127-138.

CRISWELL, K.A., LOCH-CARUSO, R. Lindane-induced inhibition of spontaneous contractions of pregnant rat uterus. *Reproductive Toxicology* 1999;13:481-490.

CZEGLEDI-JANKO, G., AVAR, P. Occupational exposure to lindane; clinical and laboratory findings. *British Journal of Industrial Medicine* 1970;27:283-286.

DALSENTER, P.R., FAQI, A.S., WEBB, J., MERKER, H.J., CHAHOUD, I. Reproductive toxicity and tissue concentrations of lindane in adult male rats. *Human and Experimental Toxicology* 1996;15:406-410.

DALSENTER, P.R., FAQI, A.S., CHAHOUD, I. Serum testosterone and sexual behavior in rats after prenatal exposure to lindane. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1997a;59:360-366.

DALSENTER, P.R., FAQI, A.S., WEBB, J. MERKER, H.J., CHAHOUD, I. Reproductive toxicity and toxicokinetics of lindane in the male offspring of rats exposed during lactation. *Human and Experimental Toxicology* 1997b;16:146-153.

DANZO, B.J. Environmental xenobiotics may disrupt normal endocrine function by interfering with the binding of physiological ligands to steroid receptors and binding proteins. *Environmental Health Perspectives* 1997;105:294-301.

DAVIS., J.R., BROWNSON, R.C., GARCIA, R., BENTZ, J.B., TURNER, A. Family pesticide use and childhood brain cancer. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 1993;24:87-92.

DE CAMPOS, M., OLSZYNA MARZYS, A.E. Contamination of human milk with chlorinated pesticides in Guatemala and in El Salvador. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 1979;8:43-58.

DE LA RIVA, C., ANADON, A. Organochlorine pesticides in cow's milk from agricultural region in north western Spain. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1991;46:527-533.

DEL DOT, M., STRINGARI, G., AVANCINI, D. Ricerca comparativa sui livelli di pesticidi clorurati organici di sintesi in campioni di popolazione urbana e rurale della provincia di Trento negli anni 1969 e 1977. *Igiene Moderna* 1978; 71:980-988.

DIKSHITH, T.S.S., DATTA, K.K. Effect of intratesticular injection of lindane and endrin on the testes of rats. *Acta Pharmacologica et Toxicologica* 1972;31:1-10.

DIKSHITH, T.S.S., DATTA, K.K., KUSHWAH, H.S., RAIZADA, R.B. Histopathological and biochemical changes in guinea pigs after repeated dermal exposure to benzene hexachloride. *Toxicology* 1978;10:55-66.

DIKSHITH, T.S.S., TANDON, S.K., DATTA, K.K., GUPTA, P.K., BEHARI, J.R. Comparative responses of male rats to parathion and lindane: histopathological and biochemical studies. *Environmental Research* 1978;17:1-9.

DOMMARCO, R., DI MUCCIO, A., CAMONI, I., GIGLI, B. Organochlorine pesticide and polichlorinated biphenyl residues in human milk from Rome (Italy) and surroundings. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1987;39:919-925.

DRUMMOND, L., GILLANDERS, E.M., WILSON, H.K. Plasma γ-hexachlorocyclohexane concentrations in forestry workers exposed to lindane. *British Journal of Industrial Medicine* 1988;45: 493-497.

DUBUS, I.G., HOLLIS, J.M., BROWN, C.D. Pesticides in rainfall in Europe. *Environmental Pollution* 2000;110:331-344.

DUEE, P.H., BORIES, G., FROC, J., HASCOET, M., HENRY, Y., PELERAN, J.C., CONSEIL, G. Influence d'une teneur élevée en pesticide (lindane) dans l'aliment sur le taux d'ovulation et la mortalité embryonnaire chez la truie. *Journal de la recherche porcine française* 1975;331-335.

EARL, F.L., MILLER, E., VAN LOON, E.J. Reproductive, teratogenic and neonatal effects of some pesticides and related compounds in beagle dogs and miniature swine. In: Deichmann W.B. (Ed.) *Pesticides and environment: a continuing controversy.* New York: Intercontinental Medical Book Corporation; 1973. p.253-266.

EJOBI, F., KANJA, L.W., KYULE, M.N., MULLER, P., KRUGER, J., LATIGO, A.A.R. Organochlorine pesticide residues in mothers' milk in Uganda. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1996;56:873-880.

ELVIA, L.F., SIOBAN, H.D., BERNARDO, H.P., CARRILLO CONSTANZA, S. Organochlorine pesticide exposure in rural and urban areas in Mexico. *Journal of Exposure and Environmental Epidemiology* 2000;10:394-399.

FELDMANN, R.J., MAIBACH, H.I. Percutaneous penetration of some pesticides and herbicides in man. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1974;28:126-132.

FLOURIOT, G., PAKDEL, F., DUCOURET, B., VALOTAIRE, Y. Influence of xenobiotics on rainbow trout liver estrogen receptors and vitellogenin gene expression. *Journal of Molecular Endocrinology* 1995;15:143-151.

FOCARDI, S., FOSSI, C., LEONZIO, C., ROMEI, R. PCB congeners, hexachlorobenzene and organochlorine insecticides in human fat in Italy. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1986;36:644-650.

FOSTER, W., CHAN, S., PLATT, L., HUGHES, C. Detection of endocrine disrupting chemicals in samples of second trimester human amniotic fluid. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2000;85:2954-2955.

FROHBERG, H., BAUER, A. *Lindane. Testing for teratogenic effects in mice following subcutaneous injection.* Darmstadt, E.Merck; 1972a. (Unpublished report 4/24/72 submitted to WHO by Centre International D'etudes Du Lindane).

FROHBERG, H., BAUER, A. *Lindane. Testing for teratogenic effects in mice following oral administration.* Darmstadt, E.Merck; 1972b. (Unpublished report 4/107/72 submitted to WHO by Centre International D'etudes Du Lindane).

FYTIANOS, K., VASILIKIOTIS, G., WEIL, L., KAVLENDIS, E., LASKARIDIS, N. Preliminary study of organochlorine compounds in milk products, human milk and vegetables. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1985;34:504-508.

GALASSI, S., VIGANO', L., SANNA, M. Bioconcentration of organochlorine pesticides in rainbow trout caged in the river Po. *Chemosphere* 1996;9:1729-1739.

GALLELLI, G., MANGINI, S., GERBINO, C. Organochlorine residues in human adipose , hepatic tissues from autopsy sources in Northern Italy. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 1995; 46:293-300.

GAUTAM, A.K., G,HI, D.N., JANI, J.P., VENKATAKRISHNA-BHATT, H., CHOWDHURY, A.R. Histological and pharmacological changes in vas deferens of rats exposed to hexachlorocyclohexane. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology* 1989;63:463-466.

GERHARD, I., DANIEL, V., LINK, S., MONGA, B., RUNNEBAUM, B. Chlorinated hydrocarbons in women with repeated miscarriages. *Environmental Health Perspectives* 1998;106:675-681.

GERHARD, I., MONGA, B., KRÄHE, J., RUNNEBAUM, B. Chlorinated hydrocarbons in infertile women. *Environmental Research* 1999;80:299-310.

GINSBURG, C.M., LOWRY, W., REISCH, J.S. Absorption of lindane (gamma benzene hexachloride) in infants and children. *Journal of Pediatrics* 1977;91:998-1000.

GIULIANI, A.R., SIMI, M., FABIANI, L., VALENTE, A., MARINELLI, G. Accumulation levels of organochlorine pesticides in human adipose tissue: a new sample survey in Abruzzo. *Annali di Igiene* 1994;6:539-544.

GOMEZ CATALAN, J., PLANAS, J., TO-FIGUERAS, J., CORBELLA, J. Organochlorine pesticide residues in the population of Catalonia (Spain). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1993;51:160-164.

GOMEZ CATALAN, J., LEZAUN, M., TO FIGUERAS, J., CORBELLA, J. Organochlorine residues in the adipose tissue of the population of Navarra (Spain). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1995;54:534-540.

GREVE, P.A., VAN ZOONEN, P. Organochlorine pesticides and PCBs in tissues from Dutch citizens (1968-1986). *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry* 1990;38:265-277.

GUPTA, S.K., PARIKH, J.R., SHAH, M.P., CHATTERJEE, S.K., KASHYAP, S.K. Changes in serum hexachlorocyclohexane (HCH) residues in malaria spraymen after short-term occupational exposure. *Archives of Environmental Health* 1982;37:41-44.

GUTTES, S., FAILING, K., NEUMANN, K., KLEINSTEIN, J., GEORGII, S., BRUNN, H. Chlororganic pesticides and polychlorinated biphenyls in breast tissue of women with begnin and malignant breast disease. *Archives of Environmental Contamination & Toxicology* 1998;35:140-147.

GUZZELLA, I. PCBs and organochlorine pesticides in lake Orta (Northern Italy) sediments. *Water, Air and Soil Pollution* 1997;99:245-254.

HARRIS, C.A., O'HAGAN, S., MERSON, G.H.J. Organochlorine pesticide residues in human milk in the United Kingdom 1997-98. *Human and Experimental Toxicology* 1999;18:602-606.

HASSOUN, E.A., BAGCHI, D., STOHS, S.J. TCDD, endrin and lindane induced increases in lipid metabolites in maternal sera and amniotic fluids of pregnant C57BL/6J and DBA/2J mice. *Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology* 1996;94:157-169.

HERBST, M. Toxicology of lindane. *Proceedings of the symposium on lindane*. Lyon-Chazay, 29 April 1976. Brussels: CIEL; 1976. p.43-69.

HERNANDEZ, L.M., FERNANDEZ, M.A., HOYAS, E., GONZALES, M.J., GARCIA, J.F. Organochlorine insecticide and polychlorinated biphenyl residues in human breast milk in Madrid (Spain). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1993;50:308-315.

HORN, M., HEINZOW, B., DOLK, G. Contamination of human milk with DDT, HCH, HCB and PCB on the territory of the former GDR. Investigation and residue interpretation. *Zentralblatt fur Hygiene und Umweltmedizin* 1994;196:95-103.

IP, H.M.H., PHILLIPS, D.J.H. Organochlorine chemicals in human breast milk in Hong Kong. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 1989;18:490-494.

IZMEROV, N.F. (Ed.). *Lindane*. Moscow: Centre of International Projects, GKNT (IRPTC Scientific reviews of Soviet literature on toxicity and hazards of chemicals No40); 1983.

JACOBSON, J.L., JACOBSON, S.W. Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls *in utero*. *New England Journal of Medicine* 1996;335:783-789.

JANI, J.P., PATEL, J.S., SHAH, M.P., GUPTA, S.K., KASHYAP, K. Levels of organochlorine pesticides in human milk in Ahmebadab, India. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1988;60:111-113.

JANI, J.P., PATEL, J.S., SHAH, M.P., VARIYA, M.R., SHAH, Y.H., GUPTA, S., KASHYAP, S.K. Levels of dichlorodiphenyltrichloroethane and hexachlorocyclohexane in human adipose tissue of the Indian population. *Scandinavian Journal of Work and Environmental Health* 1988;14:201-204.

JENSEN, A.A. Chemical contaminants in human milk. *Residue Reviews* 1983;89:1-128.

JUNG, D., BECHER, H., EDLER, L., FLESCH-JANYS, D., GURN, P., KONIETZKO, J., MANZ, A., PAPKE, O. Elimination β-hexachlorocyclohexane in occupationally exposed persons. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 1997;51:23-34.

KALAJZIC, T., BIANCHI, M., MUNTAU, H., KETTRUP, A. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides (OCPs) in the sediments of an Italian drinking water reservoir. *Chemosphere* 1998;36:1615-1625.

KALRA, R.L., KAUR, H., SHARMA, S., KAPOOR, S.K. *et al.* DDT and HCH residues in dairy milk samples collected from different geographical regions of India: a multicentre study. *Food Additives and Contaminants* 1999;16:411-417.

KARMAUS, W., WOLF, N. Reduced birthweight and length in the offspring of females exposed to PCDFs, PCP and lindane. *Environmental Health Perspectives* 1995;103:1120-1125.

KASHYAP, S.K. Health surveillance and biological monitoring of pesticide formulators in India. *Toxicology Letters* 1986;33:107-114.

KHERA, K.S., WHALEN, C., TRIVETT, G., ANGERS, G. Teratogenicity studies on pesticidal formulations of dimethoate, diuron and lindane in rats. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1979;22:522-529.

KINYAMU, J.K., KANJA, L.W., SKAARE, J.U., MAITHO, T.E. Levels of organochlorine pesticides residues in milk of urban mothers in Kenia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1998;60:732-738.

KIRALY, J., SZENTESI, I., RUZICSKA, M., CZEIZE, A. Chromosomes studies in workers producing organophosphate insecticides. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 1979;8:309-319.

KOLMODIN-HEDMAN, B. *Exposure to lindane and DDT and its effects on drug metabolism and serum lipoproteins.* [Thesis]. Stockolm: Department of Clinical Pharmacology (at Huddinge Hospital) and Pharmacology, Karolinska Institute, Toxicology (Swedish Medical Research Council) and Division of Occupational Medicine, National Board of Occupational Safety and Health; 1974.

KOLMODIN-HELDMAN, B. Pesticides. In: Aitrio A., Riihimaki V., & Vainio H, (Ed.) *Biologoical monitoring and surveillance of workers exposed to chemicals.* Washington, DC: Hemisphere Publishing Corp.; 1984. p. 209-218.

KUMAR, R., PANT, N., SRIVASTAVA, S.P. Chlorinated pesticides and heavy metals in human semen. *International Journal of Andrology* 2000;23:145-149.

KUTZ, F.W., WOOD, P.H., BOTTIMORE, D.P. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 1991;120: 1-82.

LAHIRI, P., CHAKRAVARTY, S., MONDAL, A., SIRCAR, S. Effect of lindane on cytology and cytochemistry of exfoliated vaginal cells. *Experimental and Clinical Endocrinology* 1985;85:303-308.

LAHIRI, P., SIRCAR, S. Suppression of adrenocortical function in female mice by lindane (γ-HCH). *Toxicology* 1991;66:75-79.

LAWS, S.C., CAREY, S.A., HART, D.W., COOPER, R.L. Lindane does not alter the estrogen receptor or the estrogen-dependent induction of progesterone receptors in sexually immature or ovariectomized adult rats. *Toxicology* 1994;92:127-142.

LEONI, V., D'ALESSANDRO DE LUCA, E., BIOCCA, M. Aggiornamento di dati sulla presenza di pesticidi clororganici nei tessuti adiposi umani. *Nuovi Annali d'Igiene e Microbiologia* 197;28:15-24.

LEONI, V., D'INNOCENZO, C., MARINELLI, G. *et al.* L'esaclorobenzene ed i depositi dei pesticidi cloro-organici nei tessuti adiposi nella Regione Abruzzo nel 1985. *Igiene Moderna* 1987;87:438-451.
LI, Y.F., MCMILLAN, A., SCHOLTZ, M.T. Global HCH usage with 1°x 1° longitude/latitude resolution. *Environmental Science and Technology* 1996;30:3525-3533.

LI, Y.F. Global technical hexachlorocyclohexane usage and its contamination consequences in the environment: from 1948 to 1997. *The Science of the Total Environment* 1999;232:121-158.

LI, R., MATHER, J.P. Lindane, an inhibitor of gap junction formation, abolishes oocyte directed follicle organizing activity in vitro. *Endocrinology* 1997;138:4477-4480.

LINDENAU, A., FISCHER, B., SEILER, P., BEIER, H.M. Effects of persistent chlorinated hydrocarbons on reproductive tissues in female rabbits. *Human Reproduction* 1994; 9:772-780.

LUDWICKI, J.K., GORALZYCK, K. Organochlorine pesticides and PCBs in human adipose tissues in Poland. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1994;52:400-403.

MAEKAWA, M., KAMIMURA, K., NAGANO, T. Peritubular myoid cells in the testis: their structure and function. *Archives of Histology and Cytology* 1996;59:1-13.

MANTOVANI, A., MACRI', C., RICCIARDI, C., STAZI, A.V., MARANGHI, F., URBANI, E., RESCIA, M., TRAINA, M.E. Prenatal exposure of mouse female pups to lindane: preliminary findings. *Reproductive Toxicology* 2000; 14:566.

MARIANI, E., BARGAGNA, A., LONGOBARDI, M. Gas chromatographic determination of pesticides and PCBs in cosmetics containing plant derivatives. *Il Farmaco* 1995;50:193-196.

McNUTT, T.L., HARRIS, C. Lindane embryotoxicity and differential alteration of cysteine and glutathione levels in rat embryos and visceral yolk sacs. *Reproductive Toxicology* 1994;8:351-362.

McPARLAND, P.J., McCRACKEN, R.M., O'HARE, M.B., RAVEN, A.,M. Benzenehexachloride poisoning in cattle. *Veterinary Record* 1973;93:369-371.

MES, J., DAVIES, D.J., TURTON, D. Polychlorinated biphenyls and other chlorinated hydrocarbon residues in adipose tissue of Canadians. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1982; 28:97-104.

MES, J., DAVIES, D.J., DOUCET, J., WEBER, D., MCMULLEN, E. Levels of chlorinated hydrocarbon residues in Canadian human breast milk and their relationship to some characteristics of the donors. *Food Additives and Contaminants* 1993;10:429-441.

MONSEES, T.K., FRANZ, M., GEBHARDT, U., WINTERSTEIN, U., SCHILL, W.B., HAYATPOUR, J. Sertoli cells as a target for reproductive hazards. *Andrologia* 2000;32:239-246.

MUCCINELLI, M. *Prontuario dei fitofarmaci.* Bologna: Calderini Edagricole, ed. 1969, 1973, 1985, 1986, 1987, 1990, 1993, 1997.

NAGAO, T., SAITO, Y., USUMI, K., NAKAGOMI, M., YOSHIMURA, S., ONO, H. Disruption of the reproductive system and reproductive performance by administration of nonylphenol to newborn rats. *Human and Experimental Toxicology* 2000;19:284-296.

NAIR, A., PILLAI, M.K.K. Trends in ambient levels of DDT and HCH residues in humans and the environment of Dehli, India. *The Science of the Total Environment* 1992;121:145-147.

NAIR , A., MANDAPATI, R., DUREJA, P., PILLAI, M.K.K. DDT and HCH load in mothers and their infants in Dehli, India. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1996;56:58-64.

NASIR, K., BILTO, Y.Y., AL-SHURAIKI, Y. Residues of chlorinated hydrocarbons insecticides in human milk of Jordanian women. *Environmental Pollution* 1998,99:141-148.

NEWSOME, W.H., DAVIES, D. , DOUCET, J. PCB and organochlorine pesticides in Canadian human milk-1992. *Chemosphere* 1995;30:2143-2153.

NIGAM, S.K., LAKKAD, B.C., KARNIK, A.B., THAKORE, K.N., BHATT, D.K., BABU, K.A., KASHYAP, K. Effect of hexachlorocyclohexane feeding on testicular tissue of pure inbred Swiss mice. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1979; 23:431-437.

NIGAM, S.K., KARNIK, A.B., MAJUMDER, S.K., VISWESWARRIAH, K., SURYANARAYANA-RAJU, G., MUKTHA-BAI, K., LAKKAD, B.C., THAKORE, K.N., CHATTERJEE, B.B. Serum hexachlorocyclohexane residues in workers engaged at a HCH manufacturing plant. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1986;57:315-320.

OLEA, N., OLEA SERRANO, F., LARDELLI CLARET, P., RIVAS, A., BARBA NAVARRO, A. Inadvertent exposure to xenoestrogens in children. *Toxicological and Industrial Health* 1999;15:151-158.

PALMER, A.K., BOTTOMLEY, A.M., WORDEN, A.N., FROHBERG, H., BAUER, A. Effect of lindane on pregnancy in the rabbit and rat. *Toxicology* 1978a; 9:239-247.

PALMER, A.K., COZENS, D.D., SPICER, E.J.F., WORDEN, A.N. Effects of lindane upon reproductive function in a 3-generation study in rats. *Toxicology* 1978b;10:45-54.

PALMER, B.D., PALMER, S.K. Vitellogenin induction by xenobiotic estrogens in the red-eared turtle and African clawed frog. *Environmental Health Perspectives* 1995;103 (S4):19-25.

PASTORE, M., VECCHIA, P. Residui di cloroderivati organici nei mangimi per animali lattiferi. *Rivista della Società Italiana di Scienze dell'Alimentazione* 1974;3:49-55.

PAUWELS, A., COVACI, A., WEYLER, J., DELBEKE, L., DHAUT, M., DE SUTTER, P., O'HOOGHIE, T., SCHEPENS, P.J.C. Comparison of persistent organic pollutants residues in serum and adipose tissue in a female population in Belgium 1996-98. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 2000;39:265-270.

PAVAN, I., BUGLIONE, E., PETTINATI, G., PERRELLI, G., RUBINO, G.F., BICCHI, C., D'AMATO, A., CARLINO, F., BUGIANI, M. , POLIZZI, S. Accumulo di pesticidi organoclorurati nel tessuto adiposo umano: dati della provincia di Torino. *Medicina del Lavoro* 1987;78:219-228.

PEPER, M., ERTL, M., GERHARD, I. Long-term exposure to wood-preserving chemicals containing pentachlorophenol and lindane is related to neurobehavioral performance in women. *American Journal of Industrial Medicine* 1999;35:632-645.

PIUS, J., SHIVANANDAPPA, T., KRISHNAKUMARI, M.K. Protective role of vitamin A in the male reproductive toxicity of hexachlorocyclohexane (HCH) in the rat. *Reproductive Toxicology* 1990;4:325-330.

POHL, H.R., TYLENDA, C.A. Breast-feeding exposure of infants to selected pesticides: a public health viewpoint. *Toxicology and Industrial Health* 2000;16:65-77.

POLETTI, A., PROIETTI, G., MURGIA, S.M., SELVAGGI, R., POLETTI, L., LUDOVISI, A. Interference from sulfur in chlorinated pesticides gas chromatographic analysis in lake sediments. *Annali di Chimica* 2000;90:503-507.

POLI, A., DEL DOT, M., ROLLO, L. *et al.* Presenza di residui di organoclorurati nel tessuto adiposo umano di soggetti della provincia di Trento. *Igiene Moderna* 1991;96:285-298.

PRACHAR, V., VENINGEROVA, M., UHNAK, J. Levels of polychlorinated biphenyls and some other organochlorine compounds in breast milk samples in Bratislava. *The Science of the Total Environment* 1993;S:237-242.

PRASAD, A.K., PANT, N., SRIVASTAVA, S.C., KUMAR, R., SRIVASTAVA, S.P. Effect of dermal application of hexachlorocyclohexane (HCH) on male reproductive system of rat. *Human and Experimental Toxicology* 1995;14:484-488.

PRATI, L , DEL DOT, M. Ricerca sui livelli di accumulo di pesticidi clorurati organici di sintesi in tessuti adiposi umani nella provincia di Trento. I*giene Moderna* 1971;64:36-44.

QUINSEY, P.M., DONOHUE, D.C., AHOKAS, J.T. Persistence of organochlorines in breast milk of women in Victoria, Australia. *Food and Chemical Toxicology* 1995;33:49-56.

RAIZADA, R.B., MISRA, P., SAXENA, P., DATTA, K.K., DIKSHITH, T.S. Weak estrogenic activity of lindane in rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 1980;6:483-492.

RAMACHANDRAN, M., BANERJEE, B.D., GULATYI, M., GROVER, A., ZAIDI. S.S.A., HUSSAIN, Q.C. DDT and HCH residues in the body fat and blood samples from some Dehli hospitals. *Indian Journal of Medical Research* 1984;80:590-593.

RAWLINGS, N.C., COOK, S.J., WALDBILLIG, D. Effects of the pesticides carbofuran, chlorpyrifos, dimethoate, lindane, triallate, trifluralin, 2,4-D and pentachlorophenol on the metabolic endocrine and reproductive endocrine system in ewes. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 1998;54:21-36.

RENO, F.E. *Teratology study in rats: lindane (gamma benzene hexachloride, USP).* Madison, Wisconsin: Hazelton Laboratories America Inc.; 1976a (Unpublished report submitted to WHO by CIEL).

RENO, F.E. *Teratology study in rabbits: lindane (gamma benzene hexachloride, USP).* Madison, Wisconsin, Hazelton Laboratories America Inc.; 1976b (Unpublished report submitted to WHO by CIEL).

ROY, A., CHAINY, G.B.N. Age-related change in rat testicular ATPase activities in response to HCH treatment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1996;56:165-170.

SABATINI, A.G., SAVIGNI, G. Residues of chlororganic and phosphorganic phitodrugs in samples of honey produced in Emilia-Romagna. *Se Ta e Nu; Rivista di Scienza e Tecnologia degli Alimenti e di Nutrizione Umana* 1976;6:167-170.

SALEH, M., KAMEL, A., RAGAB, A., EL-BAROTY, G., EL-SEBAE, A.K. Regional distribution of organochlorine insecticide residues in human milk from Egypt. *Journal of Environmental Science and Health* 1996;B3:241-255.

SAMANTA, L., SAHOO, A., CHAINY, G.B.N. Age-related changes in rat testicular oxidative stress parameters by hexachlorocyclohexane. *Archives of Toxicology* 1999;73:96-107.

SAMANTA, L., ROY, A., CHAINY, G.B.N. Changes in rat testicular antioxidant defence profile as a function of age and its impairment by hexachlorocyclohexane during critical stages of maturation. *Andrologia* 1999;31:83-90.

SANT'ANA, L.S., VASSILIEFF, I., JOKL, L. Levels of organochlorine insecticides in milk of mothers from urban and rural areas of Botucatu, SP, Brazil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1989;42:911-918.

SAXENA, M.C., SETH, T.D., MAHAJAN, P.L. Organochlorine pesticides in human placenta and accompanying fluid. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 1980a;7:245-251.

SAXENA, M.C., SIDDIQUI, M.K.J., BHARGAVA, T.D., SETH, C.R., KRISHNA MURTI, C.R., KUTTY, D. Role of chlorinated hydrocarbon pesticides in abortions and premature labour. *Toxicology* 1980b;17:323-331.

SAXENA, M.C., SIDDIQUI, M.K.J., SETH, C.R., KRISHNA MURTI, C.R., BHARGAVA, T.D., KUTTY, D. Organochlorine pesticides in specimens from women undergoing spontaneous abortion, premature or full-term delivery. *Journal of Analytical Toxicology* 1981a;5:6-9.

SAXENA, M.C., SIDDIQUI, M.K.J., BHARGAVA, T.D., KRISHNA MURTI, C.R., KUTTY, D. Placental transfer of pesticides in humans. *Archives of Toxicology* 1981b;48:127-134.

SCHAEFER, W.R., HERMANN, T., MEINHOLD-HEERLEIN, I., DEPPERT, W.R., ZAHRADNIK, H.P. Exposure of human endometrium to environmental estrogens, antiandrogens and organochlorine compounds. *Fertility and Sterility* 2000;74:558-563.

SCHECTER, A., FURST, P., FURST, C., PAPKE, O., BALL, M., DAI, L.C., QUINH, H. T., PHOUNG N.T.N., BEIM, A., VLASOV, B., CHONGCHET, V., CONSTABLE, J.D., CHARLES, K. Dioxins, dibenzofurans and selected chlorinated organic compounds in human milk and blood from Cambodia, Germany, Thailand, the USA, the URSS and Vietnam. *Chemosphere* 1991;23:1903-1912.

SCHINAS, V., LEOTSINIDIS, M., ALEXOPULOS, A., TSAPANOS, V., KONDAKIS, X.G. Organochlorine pesticide residues in human breast milk from southwest Greece: associations with weekly food consumption patterns of mothers. *Archives of Environmental Health* 2000;55:411-417.

SCHOULA, R., HAJSLOVA, J., BENCKO, V. *et al.* Occurence of persistent organochlorine contaminants in human milk collected in several regions of Czech Republic. *Chemosphere* 1996;33:1485-1494.

SCHRADER, T.J., COOKE, G.M. Examination of selected food additives and organochlorine food contaminants for androgenic activity in vitro. *Toxicological Sciences* 2000;53:278-288.

SHIVANANDAPPA, T., KRISHNAKUMARI, M.K. Hexachlorocyclohexane-induced testicular dysfunction in rats. *Acta Pharmacologica et Toxicologica* 1983;52:12-17.

SIDDIQUI, M.K., SAXENA, M.C., BHARGAVA, A.K., MURTI, C.R., KUTTY, D. Chlorinated hydrocarbon pesticides in blood of newborn babies in India. *Pesticides Monitoring Journal* 1981;15:77-79.

SIDDIQUI, M.K., SAXENA, M.C. Placenta and milk as excretory routes of lipophilic pesticides in women. *Human Toxicology* 1985;4:249-254.

SILVESTRONI, L., FIORINI, R., PALLESCHI S. Partition of the organochlorine insecticide lindane into the human sperm surface induces membrane depolarization and Ca^{2+} influx. *Biochemical Journal* 1997; 321:691-698.

SILVESTRONI, L., PALLESCHI, S. Effects of organochlorine xenobiotics on human spermatozoa. *Chemosphere* 1999a;39:1249-1252.

SILVESTRONI, L., ROSSI, F., MAGNANTI, M., LUBRANO, C., SANTIEMMA, V., PALLESCHI S. A novel aspect of lindane testicular toxicity: in vitro effects on peritubular myoid cells. *Reproductive Toxicology* 1999b;13:431-441.

SIMIC, B., KNIEWALD, Z., DAVIES, J.E., KNIEWALD, J. Reversibility of the inhibitory effects of atrazine and lindane on cytosol 5α-dihydrotestosterone receptor complex formation in rat prostate. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1991;46:92-99.

SIRCAR, S., LAHIRI, P. Lindane (γ-HCH) causes reproductive failure and fetotoxicity in mice. *Toxicology* 1989;59:171-177.

SIRCAR, S., LAHIRI, P. Effect of lindane on mitochondrial side-chain cleavage of cholesterol in mice. *Toxicology* 1990; 61:41-46.

SKAKKEBAEK, N.E., KEIDING, N. Changes in semen and the testis. *British Medical Journal* 1994; 309:1316-1317.

SOTO, A.M., SONNENSCHEIN, C., CHUNG, K.L., FERNANDEZ, M.F., OLEA, N., SERRANO, F.O. The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. *Environmental Health Perspectives* 1995;103 (S7):113-122.

SRINIVASAN, K., RAMESH, H.P., RADHAKRISHNAMURTY, R. Changes induced by hexachlorocyclohexane isomers in rat liver and testis. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1988;41:531-539.

SRIVASTAVA, S.C., KUMAR, R., PRASAD, A.K., SRIVASTAVA, S.P. Effect of hexachlorocyclohexane (HCH) on testicular plasma membrane of rat. *Toxicology Letters* 1995;75:153-157.

STACHEL, B., DOUGHERTY, R.C., LAHL,U., SCLOSSER, M. , ZESCHMAR, B. Toxic environmental chemicals in human semen: analytical method and case studies. *Andrologia* 1989;21:282-291.

SUMPTER, J.P. , JOBLING, S. Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. *Environmental Health Perspectives* 1995;103 (S7):173-178.

SUWALSKY, M., VILLENA, F., MARCUS, D., RONCO, A.M. Plasma absorption and ultrastructural chanes of rat testicular cells induced by lindane. *Human and Experimental Toxicology* 2000;19:529-533.

SZYMCZYNSKI., G.A., WALISZEWKI, S.M. Content of chlorinated pesticides in human semen of a random population. *International Journal of Andrology* 1981;4:669-674.

SZYMCZYNSKI., G.A., WALISZEWKI, S.M. Chlorinated pesticide residues in testicular tissue samples. Pesticides in human testicles. *Andrologia* 1983;15: 696-698.

SZYMCZYNSKI, G.A., WALISZEWSKI, S.M., TUSZEWSKI, M., PYDA, P. Chlorinated pesticides levels in human adipose tissue in the district of Poznam. *Journal of Environmental Science and Health* 1986;A21:5-14.

TEZAK, Z., SIMIC, B., KNIEWALD, J. Effect of pesticides on oestradiol-receptor complex formation in rat uterus cytosol. *Food and Chemical Toxicology* 1992;30:879-885.

THOMAS, J.A. Drugs and chemicals that affect the endocrine system. *International Journal of Toxicology* 1998;17:129-138.

TIEMANN, U., SCHNEIDER, F., TUCHSCHERER, A. Effects of organochlorine pesticides on DNA synthesis of cultured oviductal and uterine cells and on estrogen receptor of uterine tissue from heifers. *Archives of Toxicology* 1996;70:490-496.

TIEMANN, U., POLHAND, R., KUCHENMEISTER, U., VIERGUTZ, T. Influence of organochlorine pesticides on transmembrane potential, oxidative activity and ATP-induced calcium release in cultural bovine oviductal cells. *Reproductive Toxicology* 1998;12:551-557.

TIEMANN, U., KUCHENMEISTER, U. Influence of organochlorine pesticides on ATPase activities of microsomal fractions of bovine oviductal and endometrial cells. *Toxicology Letters* 1999a;104:75-81.

TIEMANN, U., POLHAND, R. Inibithory effects of organochlorine pesticides on intercellular transfer of Lucifer Yellow in cultured bovine oviductal cells. *Reproductive Toxicology* 1999b;13:123-130.

TOMCZAK, S., BAUMANN, K., LEHNERT, G. Occupational exposure to hexachlorocyclohexane. IV. Sex hormone alterations in HCH-exposed workers. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1981;48:283-287.

TOPPARI, J., LARSEN, J.C, CHRISTIANSEN, P. *et al. Male reproductive health and environmental chemicals with estrogenic effects.* (Miljoprojekt nr.290,1995). Ministry of Environment and Energy, Denmark, Danish Environmental Protection Agency; 1995.

TRAINA, M.E., MACRI', C., MANTOVANI, A., RESCIA, M., RICCIARDI, C., STAZI, A.V., URBANI, E., CORDELLI, E., LETER, G., SPANO', M. Prenatal exposure to lindane impairs spermatogenesis in adult mice. Preliminary results. *Molecular and Cellular Endocrinology* 1999; 155: 200-201.

TRAPP, M. BAUKLOH, V., BOHNET, H.G., EESCHEN, W. Pollutants in human follicular fluid. *Fertility and Sterility* 1984;42:146-148.

TRIFONOVA, T.K., GLADENKO, I.N., SCHUKLA, W.D. Effect of γ-BHC and Sevin on reproduction. *Veterinarja* 1970;47:91-93.

TYLER, C.R., JOBLING, S., SUMPTER, J.P. Endocrine disruption in wildlife: a critical review of the evidence. *Critical Reviews in Toxicology* 1998;28:319-361.

UPHOUSE, L. Decreased rodent sexual receptivity after lindane. *Toxicology Letters* 1987;39:7-14.

UPHOUSE, L., WILLIAMS, J. Diestrous treatment with lindane disrupts the female rat reproductive cycle. *Toxicology Letters* 1989;48:21-28.

URIETA., I., JALON, M., EGUILERO, I. Food surveillance in the Basque Country (Spain). II Estimation of the dietary intake of organochlorine pesticides, heavy metals, arsenic, aflatoxin M1, iron and zinc through the Total Diet Study, 1990/91. *Food Additives & Contaminants* 1996;13:29-52.

USEPA (US Environmental Protection Agency). gamma-Hexachlorocyclohexane (gamma-HCH), Reference Dose for chronic oral exposure. 1988, in Integrated Risk Information System (IRIS). Disponibile all'indirizzo: http://epa.gov/iris/subst/0065.htm.; ultima consultazione 05/04/01.

VALMORI, I. *Nuovo repertorio dei fitofarmaci.* Bologna: Calderini Edagricole; 2000.

VIVOLI, G. Ricerche sulla presenza di residui di insetticidi cloro-organici di sintesi in campioni di burro del commercio. *Scienza dell'Alimentazione* 1970;218-224.

VIVOLI, G., MANICARDI, G. Residui di insetticidi cloro-organici di sintesi in vari tipi di formaggi italiani ed esteri. *Scienza dell'Alimentazione* 1971;17:207-220.

VOS, J.G., DYBING, E., GREIM, H.A., LADEFOGED, O., LAMBRE, C., TARAZONA, J.V., BRANDT, I., VETHAAK, A.D. Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situation. *Critical Reviews in Toxicology* 2000;30:71-133.

WAGNER, U. SCHLEBUSCH, H., VAN DER VEN, H., DIEDRICH, K., KREBS, D. Accumulation of pollutants in the genital tract of sterility patients. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry* 1990;28:683-688.

WALISZEWSKI, S.M., PARDIO, V.T.S., CHANTIRI, J.N.P., INFANZON, R.M.R., RIVERA, J. Organochlorine pesticides residues in adipose tissue of Mexicans. *The Science of the Total Environment* 1996;181:125-131.

WALISZEWSKI, S.M., AGUIRRE, A.A., INFANZON, R.M., BENITEZ, A., RIVERA, J. Comparison of organochlorine pesticide levels in adipose tissue and human milk of mothers living in Veracruz, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1999;62:685-690.

WALSH, L.P., STOCCO, D.M. Effects of lindane on steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory protein expression. *Biology of Reproduction* 2000;63:1024-1033.

WEISENBERG, E., ARAD, I., GRAUER, F., SAHM, Z. Polychlorinated biphenyls and organochlorine insecticides in human milk in Israel. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 1985;14: 517-521.

WELCH, R.M., LEVIN, W., KUNTZMAN, R., JACOBSON, M., CONNEY, A.H. Effect of halogenated hydrocarbon insecticides on the metabolism and uterotropic action of estrogens in rats and mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1971;19:234-246.

WESTIN, J.B. Carcinogens in Israeli milk: a study in regulatory failure. *International Journal of Health Services* 1993;23:497-517.

WILLETT, K.L., ULRICH, E.M., HITES, R.A. Differential toxicity and environmental fates of hexachlorocyclohexane isomers. *Environmental Science and Technology* 1998;32:2197-2207.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Lindane.* (Environmental Health Criteria 124); Geneva: WHO, 1991.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for drinking-water quality. In: *Health criteria and other supporting information.* Vol.2. p.704-712. Geneva: WHO, 1996.

YAMADA, T., SUGIYAMA, S., NODA, H., MITSUKUNI. Y., YOSHIMURA, M. Organochlorine pesticides in human organs and tissues. *Nippon Hoigaku Zusshi* 1976;30:416-426.

YOSHIMURA, M. Indices on accumulation of pollutants in human body from forensic autopsy materials . *Nippon Hoigaku Zusshi* 1985;39:440-468.

YOU, L., CASANOVA, M., ARCHIBEQUE-ENGLE, S., SAR, M., FAN, L., HECK, H. Impaired male sexual development in perinatal Sprague-Dawley and Long-Evans hooded rats exposed *in utero* and lactationally to p,p'-DDE. *Toxicological Sciences* 1998;45:162-173.

YOU, L., BRENNEMAN, K.A., HECK, H. *In utero* exposure to antiandrogens alters the responsiveness of the prostate to p,p'-DDE in adult rats and may induce prostatic inflammation. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1999;161:258-266.