

# *CARCINOGENICIDAD*

## *de las Sustancias Químicas*



*Eduardo de la Peña de Torres*

*CSIC*

*Centro de Ciencias Medioambientales*

*[epena@ccma.csic.es](mailto:epena@ccma.csic.es)*

**Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de los Productos Químicos REACH**

Curso de Verano. Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá de Henares. 1 – 4 de julio de 2008

Laboratorio de

# Mutagénesis Ambiental

Centro de Ciencias Medioambientales  
Consejo Superior de Investigaciones Científicas



# **CARCINOGENICIDAD/MUTAGENICIDAD**

**1775. Percival Pott**

**describe epidemiológicamente la causa ambiental del cáncer en los niños deshollinadores de Londres**

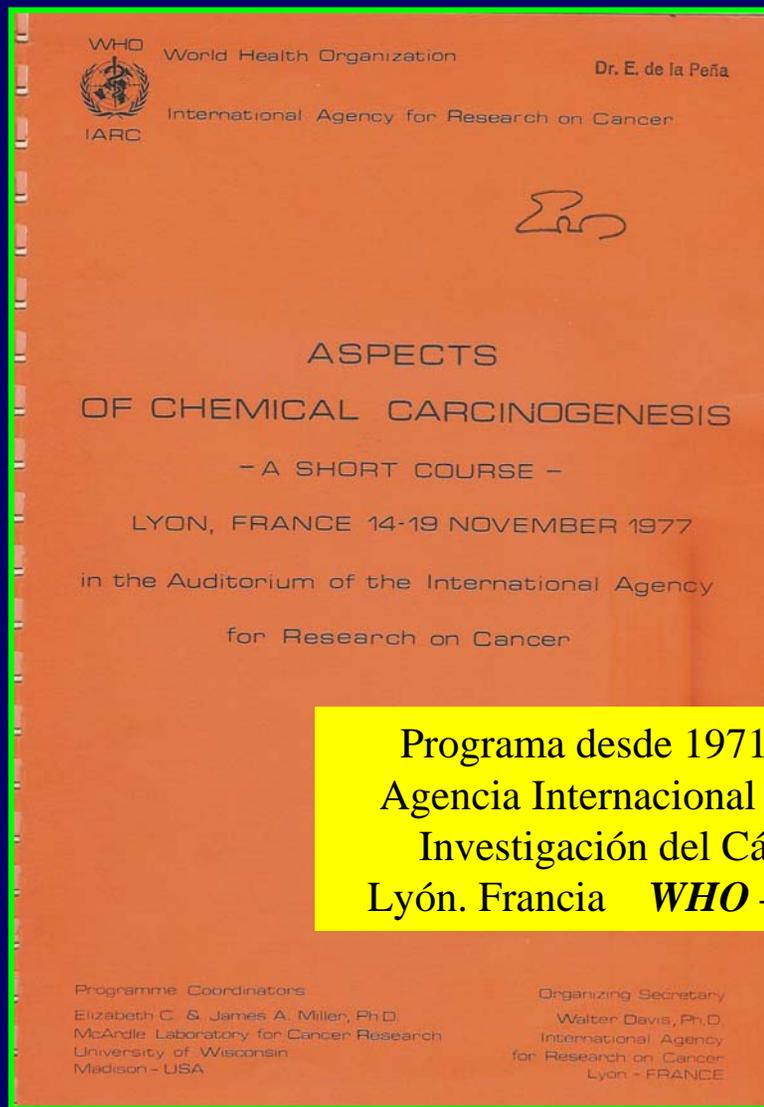
**1915. Yamahawa y Yosikawa**

**causan experimentalmente tumores en el pabellón auditivo de conejos por pincelación reiterada de alquitrán de hulla**

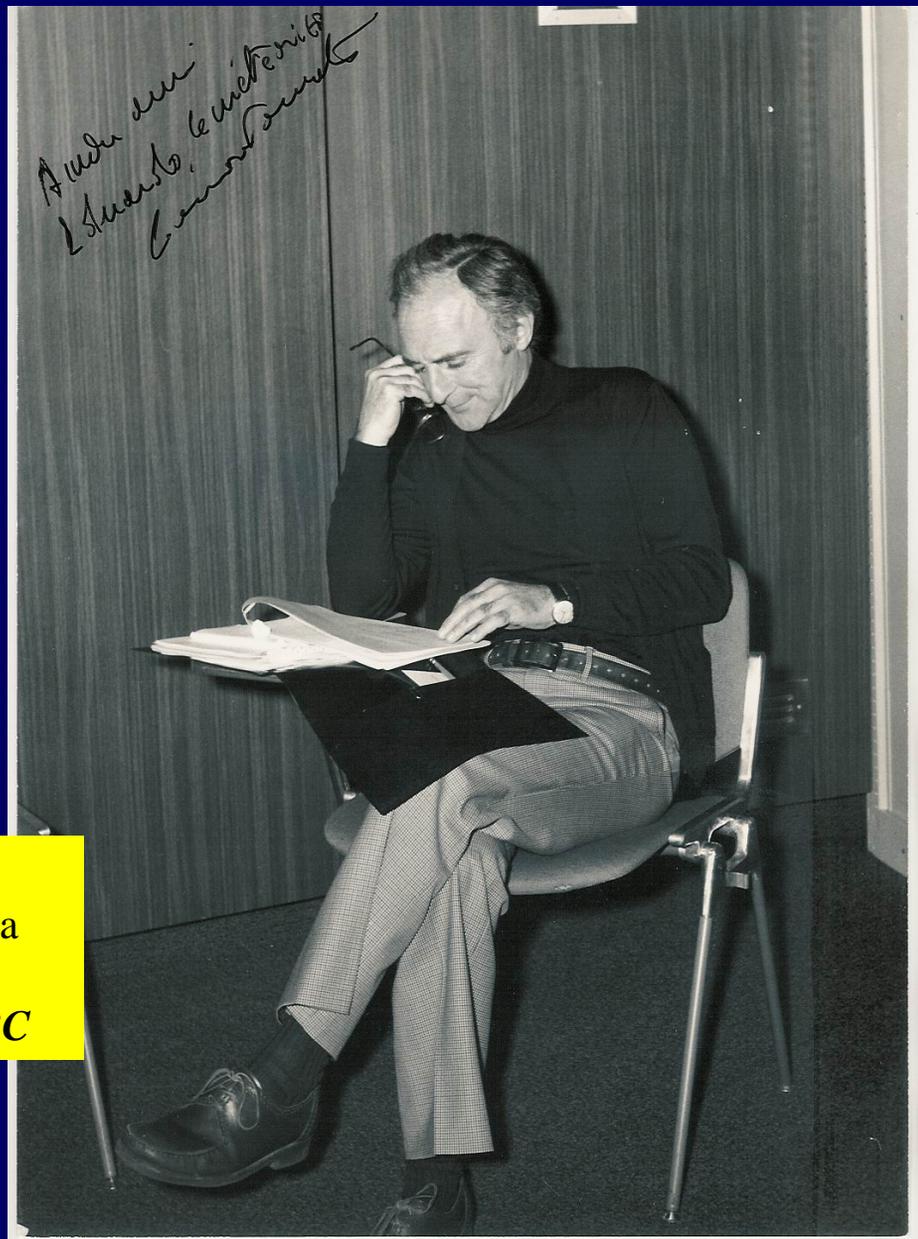
**1975. Bruce N. Ames et al.**

**correlaciona la actividad cancerígena y la mutagénica de 300 productos químicos**

1977



Programa desde 1971 de la  
Agencia Internacional para la  
Investigación del Cáncer  
Lyon. Francia **WHO - IARC**



**Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de los Productos Químicos REACH**  
Curso de Verano. Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá de Henares. 1 - 4 de julio de 2008

1977

WORLD HEALTH  
ORGANIZATION



ORGANISATION MONDIALE  
DE LA SANTE

CENTRE INTERNATIONAL DE RECHERCHE SUR LE CANCER  
INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER

150, COURS ALBERT-THOMAS - 69372, LYON Cédex 2 - FRANCE  
Tel. (78) 75 81 81 - Télégr. Unicancer Lyon - Télex 380023 -

In reply please refer to: CHEMCA/TST

Prétre de rappeler la référence :

TO WHOM IT MAY CONCERN

Dr E. de la Peña de Torres spent a four month fellowship period in the Unit of Chemical Carcinogenesis of the IARC in 1977. During this period he carried out experimental work in the field of mutagenesis and chemical carcinogenesis with the specific aim of acquiring experience in methods related to the identification of environmental carcinogens.

I am pleased to acknowledge that Dr de la Peña de Torres has proved to possess a good theoretical background, an excellent technical ability and the capacity of rapidly understanding and mastering new laboratory techniques.

Furthermore, with the assistance of several members of our staff, he developed a plan for the establishment of a programme on the study of chemical carcinogenesis in Spain. This programme, aimed at providing useful data on which to base the implementation of primary prevention of cancer in humans, is based on the collection, retrieval and dissemination of existing information, as well as on the initiation of experimental studies of importance to the specific situation in his country. The programme is well conceived and takes into consideration a multidisciplinary approach to the prevention of cancer. As outlined, the project may have to be started on a limited scale, but should be expanded considerably in the future.

L. Tomatis, M.D.  
Chief  
Unit of Chemical Carcinogenesis

18 November 1977



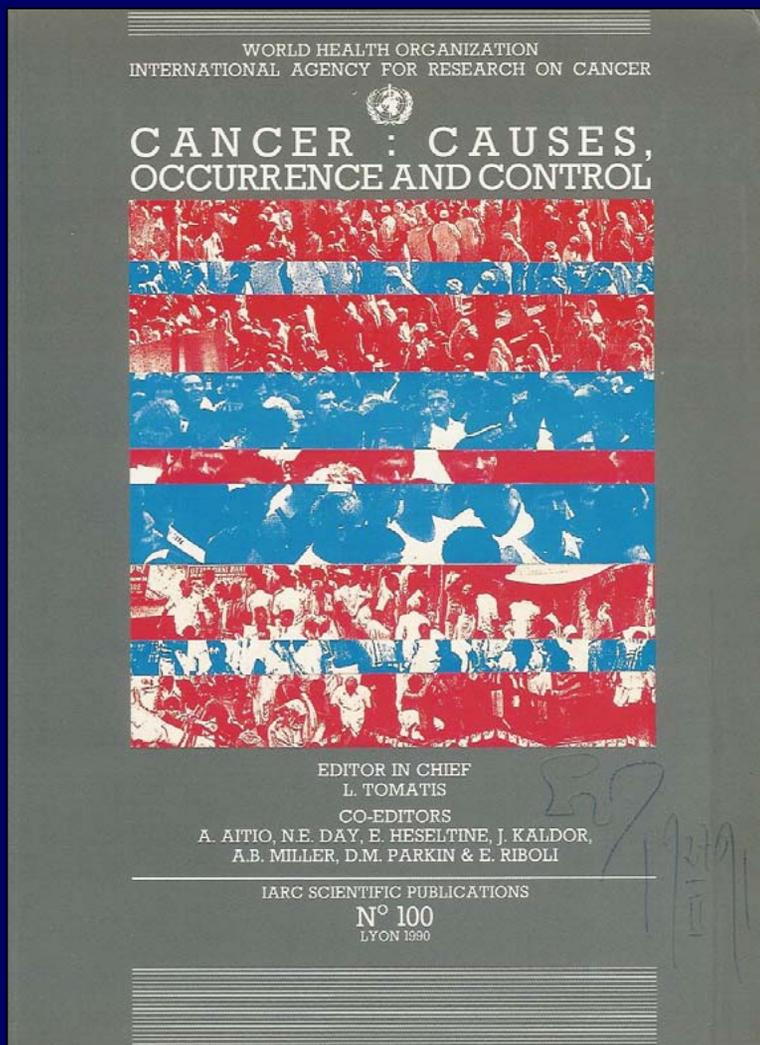
2007

Programa desde 1971 de la

**Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer**

Lyón, Francia

**WHO - IARC**



WORLD HEALTH ORGANIZATION  
INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER



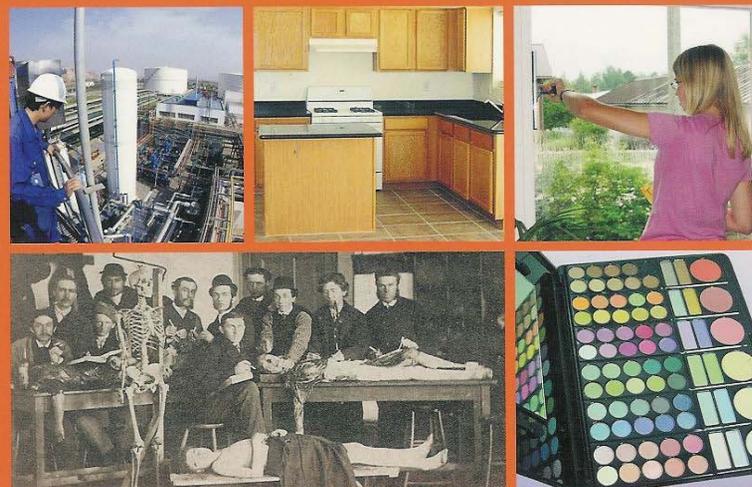
20

221  
2117

***IARC Monographs on the Evaluation of  
Carcinogenic Risks to Humans***

**VOLUME 88**

**Formaldehyde, 2-Butoxyethanol  
and 1-tert-Butoxypropan-2-ol**



LYON, FRANCE  
2006

**Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de los Productos Químicos REACH**

**Curso de Verano. Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá de Henares. 1 – 4 de julio de 2008**

# EVALUCION DEL RIESGO DE UN PRODUCTO QUÍMICO

Propiedades Físico Químicas

TOXICIDAD  
para la Salud Humana

Medio Ambiente  
Ecotoxicología

Punto de Fusión

Carcinogenicidad

Toxicidad para Peces

Densidad

Mutagenicidad

Toxicidad para Daphnia

Estructura Química

Toxicidad para la Reproducción

DBO/DQO

Otros datos Físico-Químicos

**Tabla 1. ESTUDIOS TOXICOLÓGICOS (Directiva 2001/59/CEE, 28a adapt. de la 67/548/CEE)**

**Nivel Básico**

**1. Toxicidad Aguda**

**1.2 Inhalatoria**

**1.3 Cutánea**

**1.4 Irritación dérmica**

**1.5 Irritación ocular**

**1.6 Sensibilización**

**2. Toxicidad Subaguda**

**2.1 Subaguda (28 días)**

**2.2 Dosis sin efecto**

**3. Otros efectos**

**3.1 Mutagenicidad**

**3.2 Detección de la Toxicidad para el proceso reproductor**

**3.3 Valoración del Comportamiento toxicocinético**

**Nivel 1**

**4. Estudios de Fertilidad: 1 especie, 1 generación**

**5. Estudio Teratológico: 1 especie, administración apropiada**

**6. Estudio de Toxicidad Subcrónica y/o Crónica**

**7. Estudios Adicionales de Mutagénesis**

**8. Datos Toxicocinéticos Básicos**

**Nivel 2**

**9. Estudios de Toxicidad Crónica**

**10. Estudios Carcinogenicidad**

**11. Estudios de Fertilidad de 3 generaciones**

**12. Estudios de Toxicidad relativos a los Efectos sobre el Desarrollo Perinatal y Postnatal**

**13. Estudios del Potencial Teratogénico**

**14. Estudios Toxicocinéticos adicionales**

**15. Ensayos suplementarios para investigar la Toxicidad para los Órganos o Sistemas**

# Ensayos Básicos requeridos para la Salud Humana

Objetivos	Métodos de Ensayo en la Unión Europea
Toxicidad aguda	[B.1: toxicidad aguda (oral) – SUPRIMIDA 25/01/01 B.1bis: toxicidad aguda (oral) método de dosis fija B.1tris: toxicidad aguda (oral) - la toxicidad aguda determina el método B.2: toxicidad aguda (inhalación) B.3: toxicidad aguda (dérmica)
Irritación	B.4: toxicidad aguda (irritación de la piel) B.5: toxicidad aguda (irritación de los ojos)
Corrosión	B.40: corrosión de la piel
Sensibilización de la piel y la respiración	B.6: Sensibilización de la piel no hay método para la sensibilización respiratoria en el Anexo V
Toxicidad de la dosis repetida	B.7: repetición de la dosis a los 28 días. Toxicidad oral B.8: repetición de la dosis a los 28 días. Toxicidad por inhalación B.9: repetición de la dosis a los 28 días. Toxicidad dérmica
Mutagenicidad y genotoxicidad	

# Ensayos Básicos requeridos para Salud Humana-Mutagenicidad

## Objetivos

## Métodos de Ensayo en la Unión Europea

### Mutagenicidad y genotoxicidad

- B.10: mutagenicidad (metodo *in vitro* de aberraciones cromosómicas en células de mamífero )
- B.11: mutagenicidad (metodo *in vivo* de aberraciones cromosómicas en médula ósea de mamífero)
- B.12: mutagenicidad en mamíferos por el método de micronucleos
- B.13/14: mutagenidad - ensayo de mutación reversa utilizando bacteria
- B.15: mutación génica – *Saccharomyces cerevisiae*
- B.16: recombinación mitótica – *Saccharomyces cerevisiae*
- B.17: mutagenicidad – ensayo *in vitro* de mutación genética en células de mamífero
- B.18: Daño y reparación del DNA – síntesis no secuencial de DNA – células de mamífero *in vitro*
- B.19: ensayo *in vitro* de intercambio de cromátidas hermanas
- B.20: ensayo del letal recesivo ligado al sexo en *Drosophila melanogaster*
- B.21: ensayo *in vitro* de transformación de células de mamífero
- B.22: ensayo de letal dominante en roedores
- B.23: ensayo de aberraciones cromosómicas en el esperma de mamíferos
- B.24: *spot test* en ratones
- B.25: translocación heredable en ratón
- B.39: ensayo *in vivo* de síntesis desordenada de DNA en células hígado mamífero

# Nivel 1. Ensayos requeridos para a Salud Humana

Objetivos	Métodos de Ensayo en la Unión Europea
Toxicidad subcrónica y/o crónica	<p><b>B.26:</b> ensayo de toxicidad oral subcrónica: cada 90 días se repite la dosis oral en otra especie roedora.</p> <p><b>B.27:</b> ensayo de toxicidad oral subcrónica: cada 90 días se repite la dosis oral en otra especie no roedora.</p> <p><b>B.28:</b> ensayo de toxicidad dérmica subcrónica: cada 90 días se repite la dosis dermal en especie roedora.</p> <p><b>B.29:</b> ensayo de toxicidad subcrónica por inhalación: cada 90 días se repite la dosis por inhalación en especie roedora</p> <p><b>B.30:</b> ensayo de toxicidad crónica</p>
Toxicidad del desarrollo	<p><b>B.31:</b> ensayo de teratogenicidad – roedores y no roedores</p>
Estudios de fertilidad	<p><b>B.31:</b> ensayo de toxicidad en la reproducción, en la primera generación</p> <p><b>B.32:</b> ensayo de toxicidad en la reproducción, en la segunda generación</p>
Estudios de mutagenicidad adicional	<p><b>Un ensayo adicional con células somáticas o germinales no utilizado.</b></p>
Toxicocinéticas	<p><b>Toxicocinéticas</b></p>

## Nivel 2. Ensayos requeridos para los objetivos Salud Humana

Objetivos	Métodos de Ensayo en la Unión Europea
Toxicidad crónica	<b>B.30: ensayo de toxicidad crónica</b>
<b>Carcinogenicidad</b>	<b>B.21: ensayo <i>in vitro</i> de transformación de células de mamífero</b> <b>B.32: ensayo de carcinogenicidad</b> <b>B.33: ensayo combinado de toxicidad crónica/carcinogenicidad</b>
Toxicidad del desarrollo	Estudios en especies no utilizadas en el nivel 1
Toxicidad del desarrollo	Para efectos peri y post-natal
Estudios de fertilidad	Extendiéndose al B.35: ensayo de toxicidad en la reproducción, en la tercera generación
<b>Estudios de mutagenicidad adicional</b>	Para cubrir, por ejemplo, la biotransformación
Toxicidad de órganos adicionales o sistémicos	B.7 : incluye la neurotoxicidad e inmunotoxicidad B.37: retraso de neurotoxicidad de organofosforados siguiendo una exposición aguda B.38: estudio en el retraso de neurotoxicidad de organofosforados repitiendo la dosis cada 28 días

**Table 3.** Overview of toxicological in vivo and in vitro testing methods accepted for regulatory purposes

<i>Toxicological endpoint</i>	<i>In vivo methods (no. of OECD test guideline in brackets)</i>	<i>In vitro methods (no. of OECD test guideline in brackets, if applicable)</i>
<b>6. Sensitation</b>	<i>Skin Sensitation (406)<sup>f</sup></i> <i>Local lymph node assay (LLNA) (429)<sup>f</sup></i>	
<b>7. Hepatotoxicity</b>	<i>Repeated dose toxicity study in rodents oral (28 day) (407)<sup>f</sup></i> <i>dermal (21/28 day) (410)<sup>f</sup> or inhalation</i>	
<b>8. Nephrotoxicity</b>	<i>(28-day or 14-day study) (412)<sup>f</sup></i> <i>Combined repeated dose toxicity study with the</i>	
<b>9. Hematotoxicity</b>	<i>reproduction/developmental toxicity screening test (422)<sup>f</sup></i> <i>Repeated dose 90-day toxicity study oral in rodents (408)<sup>f</sup></i>	
<b>10. Cardiotoxicity</b>	<i>or no rodents (409)<sup>f</sup>, dermal (411)<sup>f</sup> or inhalation (413)<sup>f</sup></i> <i>Chronic toxicity studies (452)<sup>f</sup></i>	
<b>11. Endocrine effects</b>	<i>Two generation reproduction toxicity study (408)<sup>f</sup></i> <i>Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents;</i> <i>updated with parameters for endocrine effects</i> <i>(May 2007 version) (407<sup>d</sup>)<sup>f</sup></i>	
<b>12. Neurotoxicity</b>	<i>Delayed neurotoxicity of organophosphorus substances following</i> <i>acute exposure (418)<sup>f</sup></i> <i>Delayed neurotoxicity of organophosphorus substances</i> <i>28-day repeated dose study (419)<sup>f</sup></i> <i>Neurotoxicity study in rodents (424)<sup>f</sup></i>	

**Table 3.** Overview of toxicological in vivo and in vitro testing methods accepted for regulatory purposes

<i>Toxicological endpoint</i>	<i>In vivo methods (no. of OECD test guideline in brackets)</i>	<i>In vitro methods (no. of OECD test guideline in brackets, if applicable)</i>
<b>13. Immunotoxicity</b>		
<b>14. Prenatal development</b>	<i>Prenatal developmental toxicity study (414)<sup>f</sup></i>	<i>Whole embryo culture (WEC)<sup>g</sup> Micromass Test (MM)<sup>g</sup> Embryonic stem cell (EST)<sup>g</sup></i>
<b>Pre- and postnatal development</b>	<i>Two generation reproduction toxicity study (416)<sup>f</sup> Developmental neurotoxicity study (426)<sup>f</sup></i>	
<b>15. Fertility</b>	<i>Combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (422)<sup>f</sup> Reproduction/developmental toxicity screening test (421)<sup>f</sup> Repeated dose 28-day toxicity study (407, 410, 412)<sup>f</sup> Repeated dose 90-day toxicity study (408, 409, 411, 413)<sup>f</sup> One-generation reproduction toxicity study (415)<sup>f</sup> Two generation reproduction toxicity study (416)<sup>f</sup></i>	

**Table 3.** Overview of toxicological in vivo and in vitro testing methods accepted for regulatory purposes

<i>Toxicological endpoint</i>	<i>In vivo methods (no. of OECD test guideline in brackets)</i>	<i>In vitro methods (no. of OECD test guideline in brackets, if applicable)</i>
<b>16. Genotoxicity, mutagenicity</b>	<i>Mammalian erythrocyte micronucleus test (474)<sup>f</sup></i> <i>Mammalian bone marrow chromosomal aberration test (475)<sup>f</sup></i> <i>Sex-linked recessive lethal test in Drosophila melanogaster (477)<sup>f</sup></i> <i>Rodent dominant lethal test (478)<sup>f</sup></i>  <i>Mammalian spermatogonial chromosome aberration test (483)<sup>f</sup></i> <i>Mouse spot test (484)<sup>f</sup></i> <i>Mouse heritable translocation assay (485)<sup>f</sup></i>  <i>Unscheduled DNA synthesis (UDS) test with mammalian liver cells (486)<sup>f</sup></i>	<i>Bacterial reverse mutation test (471)<sup>f</sup></i> <i>Saccharomyces cerevisiae, gene mutation assay (480)<sup>f</sup></i> <i>Saccharomyces cerevisiae, mitotic recombination assay (481)<sup>f</sup></i> <i>Mammalian chromosome aberration test (473)<sup>f</sup></i> <i>Mammalian cell gene mutation test (476)<sup>f</sup></i>  <i>Micronucleus test (487<sup>e</sup>)<sup>f</sup></i> <i>Sister chromatid exchange assay in mammalian cells (479)<sup>f</sup></i> <i>DNA damage and repair, UDS in mammalian cells (482)<sup>f</sup></i>
<b>16. Carcinogenicity</b>	<i>Carcinogenicity studies (451)<sup>f</sup></i> <i>Combined chronic toxicity/carcinogenicity studies (453)<sup>f</sup></i>	<i>Cell transformation assays (SHE, Balb/c 3T3, C3H10T)<sup>g</sup></i>

**Table 4.** Current developments of alternative methods according to an expert group on behalf of the EU Commission: Status at the end of 2003 (according to Eskes and Zuang 2005)

<i>Health effect or test area</i>	<i>Current status of test development</i>	<i>Estimated time to achieve</i>	
		<i>Scientific acceptance by ECVAM</i>	<i>Full replacement of animal tests<sup>a</sup></i>
<i>Genotoxicity and mutagenicity</i>	<i>Seven in vitro tests accepted at the EU and OECD level<sup>b</sup>, several tests under R&amp;D or optimised</i>	<i>1-6 years for optimised tests, &gt; 6 years for tests under R&amp;D,</i>	<i>&gt; 12 years</i>
<i>Toxicokinetics and metabolism</i>	<i>In vitro tests under R&amp;D, partly optimised, In silico methods under R&amp;D, test batteries and test strategies required</i>	<i>3-8 years &gt; 12 years including excretion</i>	<i>≥ 10 years</i>
<i>Carcinogenicity</i>	<i>Three optimised tests accepted at the EU level<sup>b</sup>, One tests under R&amp;D, test batteries and test strategies required</i>	<i>5 years for optimised tests, &gt; 10 years for test under R&amp;D,</i>	<i>Not estimated<sup>c</sup></i>
<i>Reproductive and developmental toxicity</i>	<i>Three validated tests accepted at the EU level<sup>b</sup>, Several tests under (pre) validation or R&amp;D, test batteries and test strategies required</i>	<i>0 years 6 and &gt;10 years for tests under (pre) validation and R&amp;D, respectively</i>	<i>Not estimated<sup>c</sup></i>

Lilienblum *et al.* *Arch. Toxicol.*, 2008

# REQUISITOS DE INFORMACIÓN ESTÁNDAR APLICABLES A LAS SUSTANCIAS FABRICADAS O IMPORTADAS EN CANTIDADES IGUALES O SUPERIORES A 1 TONELADA <sup>(1)</sup>

## 8. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

<i>COLUMNA 1 REQUISITOS DE INFORMACIÓN ESTÁNDAR</i>	<i>COLUMNA 2 NORMAS ESPECÍFICAS PARA LA ADAPTACIÓN DE LA COLUMNA 1</i>
<p>8.3. <i>Sensibilización cutánea</i></p> <p><i>La evaluación de este efecto constara de las etapas consecutivas siguientes:</i></p> <p><i>1) evaluación de los datos disponibles humanos, a animales y otros;</i></p> <p><i>2) ensayo in vivo.</i></p>	<p>8.3. <i>No es necesario realizar la etapa 2 si:</i></p> <p><i>la información disponible indica que la sustancia debería ser clasificada por su sensibilización o corrosividad cutánea, o</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li><i>- la sustancia es un ácido fuerte (pH &lt; 2,0) o una base fuerte (pH &gt; 11,5), o</i></li><li><i>- la sustancia es inflamable en el aire a temperatura ambiente.</i></li></ul> <p><i>El ensayo local en nódulos linfáticos de ratón (LLNA) es el método de primera elección en los ensayos in vivo. Solo en circunstancias excepcionales debería recurrirse a otro. Debería motivarse la utilización de otro tipo de ensayo.</i></p>
<p>8.4. <i>Mutagenicidad</i></p> <p>8.4.1. <i>Estudio in vitro de la mutación génica en bacterias</i></p>	<p>8.4. <i>Cuando se obtenga un resultado positivo, se tendrán en cuenta nuevos estudios de mutagenicidad.</i></p>
<p>8.5. <i>Toxicidad aguda</i></p> <p>8.5.1. <i>Por vía oral</i></p>	<p>8.5. <i>No es necesario realizar en general el estudio o los estudios si:</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li><i>- la sustancia es clasificada como corrosiva para la piel.</i></li></ul> <p><i>No es necesario realizar el estudio si se dispone de un estudio sobre toxicidad aguda por vía de inhalación (8.5.2).</i></p>

# Ensayos requeridos del REACH por tonelaje

Volumen (toneladas por año)	Ensayos requeridos
1-10	Los ensayos deberían limitarse a métodos <i>in vitro</i> (17-11-05) <b>Eliminados del REACH / Parlamento Europeo</b>
10-100	Ensayos Básicos
100-1000	Ensayos Básicos + ensayo nivel 1. por ejemplo: ensayo a medida de larga duración para una determinada sustancia
>1000	Ensayo Básicos + ensayo nivel 2. por ejemplo: ensayo adicional a medida de larga duración para una determinada sustancia

## 5. VALORACIÓN DEL PELIGRO PARA LA SALUD HUMANA

5.1. Toxicocinética (absorción, metabolismo, distribución y eliminación)

5.2. Toxicidad aguda

5.3. Irritación

5.3.1. Piel

5.3.2. Ojos

5.3.3. Vías respiratorias

5.4. Corrosividad

5.5. Sensibilización

5.5.1. Piel

5.5.2. Sistema respiratorio

5.6. Toxicidad por dosis repetidas

5.7. Mutagenicidad

5.8. Carcinogenicidad

5.9. Toxicidad para la reproducción

5.9.1. Efectos en la fertilidad

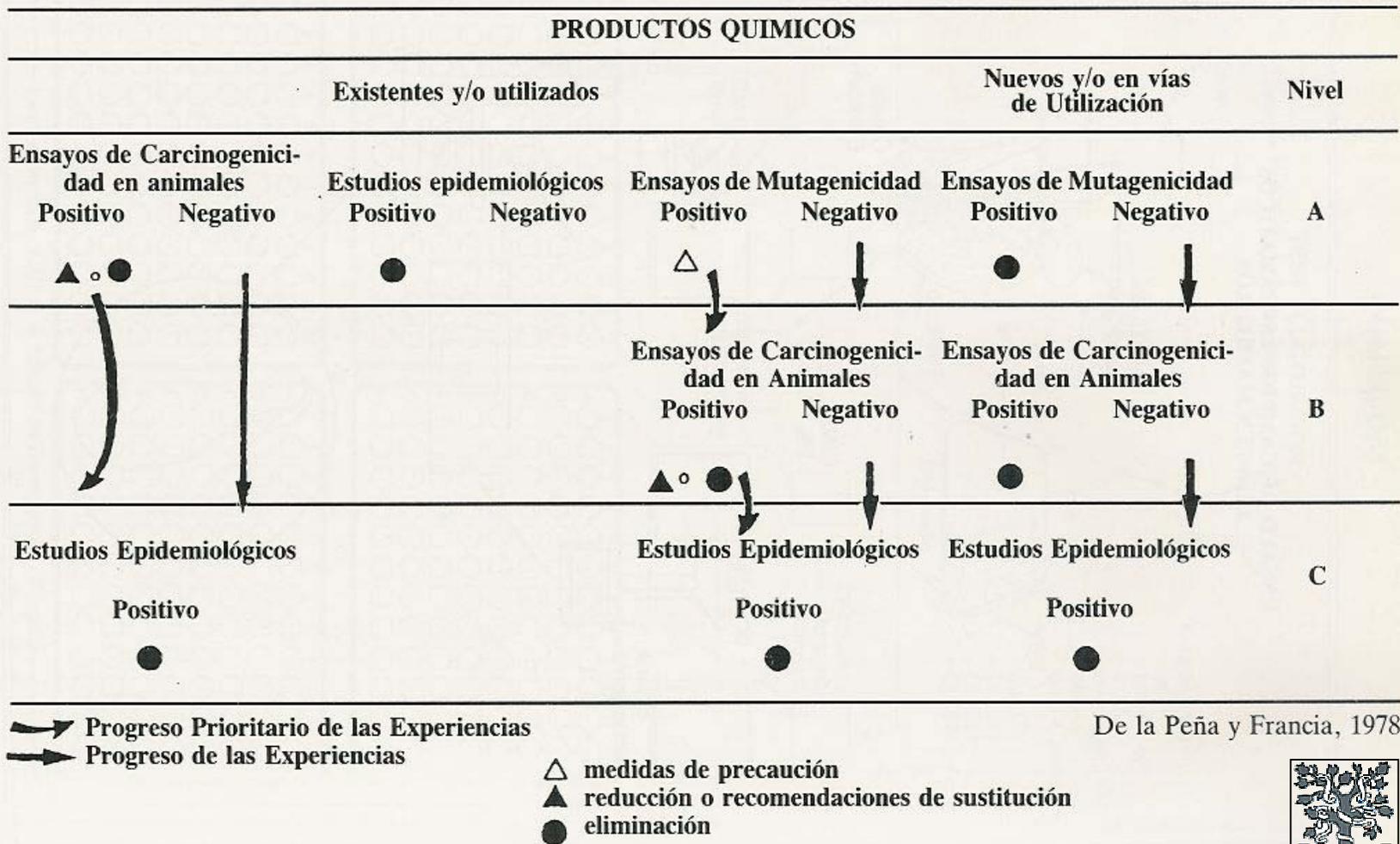
5.9.2. Toxicidad para el desarrollo

5.10. Otros efectos

5.11. Obtención del o de los DNEL

## PARTE B

FIGURA 6. MEDIDAS A CONSIDERAR DE ACUERDO CON LAS EVIDENCIAS DEL RIESGO CARCINOGENICO DE LOS PRODUCTOS QUIMICOS PARA EL HOMBRE



De la Peña y Francia, 1978



FIGURA 4

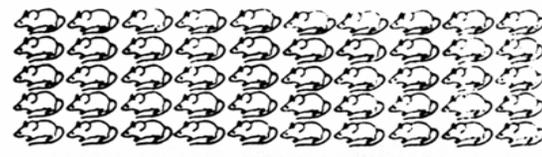
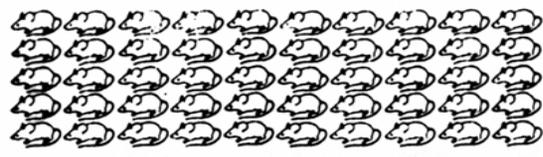
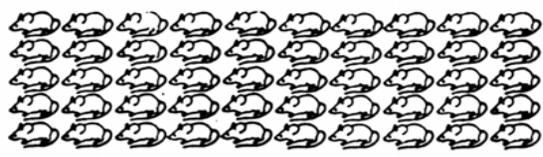
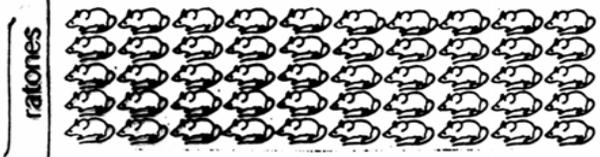
# Diseño estándar para ensayo de carcinogénesis química con animales



Dosis máxima tolerada

Dosis media

Control



200 animales

200 animales

200 animales

Date .....



Name of substance, synonyms, trade names CAS Reg. No. (9th ed.)	Purity of Substance	Use Category	Species & Strain	Sex & No. of animals per treated & control groups



Route of exposure	a) Dose, vehicle, frequency of application b) Controls: negative, positive & vehicle	Starting date & expected duration	Stage of experiment	Principal Investigator (s)

Table 3.1 Summary of selected recent guidelines on experimental design for carcinogenicity bioassays

Source	No. of dose levels (excluding untreated controls)	No. of animals of each sex per dose	High dose	Low dose	Intermediate doses
EPA <sup>a</sup> (1979)	3+	50	Induces slight toxicity but no substantial reduction in longevity due to effects other than tumours	Less than $\frac{1}{2}$ of intermediate doses but not less than $\frac{1}{10}$ of high dose	$\frac{1}{4}$ to $\frac{1}{2}$ of high dose
IRLG <sup>b</sup> (1979)	2+	No. of animals required to provide adequate assurance of safety if the test failed to detect carcinogenicity	Can be administered for the lifetime of the test animal and not (i) produce clinical signs of toxicity or pathological lesions other than those related to a neoplastic response, (ii) alter the normal longevity of the animals from toxic effects other than carcinogenesis, and (iii) appreciably inhibit normal weight gain		
IARC <sup>c</sup> (1980)	2	50	Elicits some toxicity when administered for the duration of the test period, but does not induce (i) overt toxicity, (ii) toxic manifestations which are predicted materially to reduce the life span of the animals except as the result of neoplastic development, or (iii) 10% or greater retardation of body weight gain as compared with control animals	$\frac{1}{4}$ or $\frac{1}{2}$ of high dose	
OECD <sup>d</sup> (1981)	3	50	Elicits signs of toxicity without substantially altering the normal lifespan due to effects other than tumours. For diet mixtures, the ingested concentration should not exceed 5%	Should not interfere with normal growth, development or longevity of the animal or result in any indication of toxicity. In general, not less than 10% of high dose	Mid-range between high and low doses depending upon the toxicokinetics of the chemical!

<sup>a</sup> Environmental Protection Agency

<sup>b</sup> Interagency Regulatory Liaison Group

<sup>c</sup> International Agency for Research on Cancer

<sup>d</sup> Organization for Economic and Cooperative Development



Country: **SPAIN**

City: **6 Madrid**

Name and address of Institute: **Department of Plant Protection, Laboratory of Toxicology, Consejo Superior de Investigaciones Cientificas, Serrano 115 dpdo**

Name of Substance	Use Category	Species (Strain) No. of Animals	Exposure Route Dose Levels	Stage of Experiments	Principal Investigator(s)
<b>Saccharin sodium</b> (CAS Reg. No. 128-44-9) 1,2-Benzisothiazolin-3-one-1,1-dioxide sodium salt ; Dagutan ; Kristalloce ; Saccharin soluble	8, 11	Mouse (NMRI) M:14; F:14	p.o. in the diet 800 mg/kg	completed	Laborda, E.
		Control M:10; F:10	basal diet		
		Mouse (NMRI) M:13; F:13	p.o. in drinking water 500 mg/kg	completed	Laborda, E.
		Control M:10; F:10	water		
<b>1,1,1-Trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane</b> (CAS Reg. No. 50-29-3) DDT technical grade ; Gezarol ; Neocid	7	Mouse (NMRI) M:34; F:33	p.o. in the diet 50; 100; 200 mg/kg in olive oil	completed in press	Laborda, E. de la Peña, E.
		Control M:30; F:32	olive oil		

Name of Substance	Use Category	Species(Strain) No. of Animals	Exposure Route Dose Levels and Purity	Starting Date and Stage of Experiments	Principal Investigator(s)
<i>CONT'D</i>					
		Mouse (B6C3F <sub>1</sub> ) M:60; F:60	p.o. 750; 1500; 3000 mg/kg diet (ppm) for 104 wks	Mar 1989 completed paper in preparation	Dunnick, J.K.
		Control M:60; F:60	untreated		
<b>Cresol</b> [mixed isomers] (CAS Reg. No. 1319-77-3) Methylphenol	1, 2, 3, 11	Rat (Fischer 344);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	p.o. in the diet	chronic planned	Chhabra, R.S.
<b>Cyclohexanone oxime</b> (CAS Reg. No. 100-64-1) (Hydroxyimino)cyclohexane; Antioxidant D	2, 3	Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	p.o. in drinking water	prechronic completed paper in preparation	Burka, L.
<b>Cyclohexene oxide</b> (CAS Reg. No. 286-20-4)	1	Rat (Fischer 344);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	skin appl.	prechronic in progress	Cunningham, M.
		Rat (Fischer 344);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	p.o. by gavage	prechronic in progress	Cunningham, M.
<b>2,4-D</b> (CAS Reg. No. 94-75-7) 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid; Dichlorophenoxyacetic acid; Red Devil Dry Weed Killer; Weedone 638; Weed-Rhap A-4	2, 7	Rat (Sprague- Dawley);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> );Hams- ter (Syrian Golden)	p.o. in the diet	May 1994 prechronic in progress	Vallant, M.
<b>D and C Yellow No. 11</b> (CAS Reg. No. 8003-22-3) C.I. Solvent Yellow 33; C.I. 47000; Oil Yellow SIS; Quinoline Yellow A Spirit Soluble; Quinoline Yellow Base; Solvent Yellow 33; Waxoline Yellow T	4	Rat (Fischer 344) M:60; F:60	p.o. 500; 1700; 5000 mg/kg diet (ppm)	Apr 1990 completed paper in preparation	Eastin, W.C.
		Control M:60; F:60	untreated		
<b>2,4-Decadienal</b> (CAS Reg. No. 25152-84-5)	8	Rat (Fischer 344);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	p.o. by gavage	prechronic in progress	Chan, P.C.
<b>Decalin</b> (CAS Reg. No. 91-17-8) Decahydronaphthalene; Naphthane	6	Rat (Fischer 344);Rat (NBR);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	inhal.	prechronic planned	Chan, P.C.
<b>1,2-Dichloro-1,1-difluoroethane</b> (CAS Reg. No. 1649-08-7) 1,1-Difluoro-1,2-dichloroethane; 1,2- Dichloro-2,2-difluoroethane; Fron 132b; HCFC 132b	1	Rat (Fischer 344)	p.o. by gavage	prechronic completed paper in preparation	Bucher, J.R.
<b>p-p'-Dichlorodiphenyl sulfone</b> (CAS Reg. No. 80-07-9)	3	Rat (Fischer 344);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	p.o. in the diet	prechronic completed	Matthews, H.B.
		Rat (Fischer 344);Mouse (B6C3F <sub>1</sub> )	p.o. in the diet	Dec 1995 chronic planned	Matthews, H.B.

# **ESTUDIOS DE CARCINOGENESIS**

**Directiva 87/302/CEE - DOCE L133 (30.5.88)**

**Número de Animales y Sexo**

**Dosis y frecuencias de exposición**

**Controles**

**Vias de administración**

**Duración del estudio**

**Procedimiento**

---

**IARC Directory of Agents Being Tested for Carcinogenicity  
Number 16. IARC/WHO. Lyon 1994**





WORLD HEALTH ORGANIZATION

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER

**IARC MONOGRAPHS**  
ON THE  
**EVALUATION OF CARCINOGENIC**  
**RISKS TO HUMANS**

**Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating**  
*of IARC Monographs Volumes 1 to 42*

*SUPPLEMENT 7*

LYON, FRANCE

1987



WORLD HEALTH ORGANIZATION  
ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER  
CENTRE INTERNATIONAL DE RECHERCHE SUR LE CANCER

1929/5 82

**DIRECTORY OF AGENTS**  
**BEING TESTED FOR CARCINOGENICITY**

NUMBER 16

IARC, Lyon  
June 1994

# **TABLA 10. PARTES DE UNA MONOGRAFIA DEL IARC DE UN PRODUCTO QUIMICO. IARC (1971-2007)**

- **Sección 1**  
**DATOS FISICO-QUIMICOS**
- **Sección 2**  
**PRODUCCION, USO, PRESENCIA y ANALISIS**
- **Sección 3**  
**DATOS BIOLÓGICOS RELEVANTES PARA LA EVALUACIÓN DEL RIESGO CANCERÍGENO**
  - a. Carcinogenicidad en animales;
  - b. Toxicidad prenatal
  - c. Mutagenicidad/otros ensayos y c. Estudios epidemiológicos
- **Sección 4**  
**RESUMEN y EVALUACION DE LOS DATOS REPORTADOS**
  - a. Datos experimentales;
  - b. Datos Humanos
  - c. Evaluación ( Grupo de Trabajo *ad hoc*)

# Evaluación del Riesgo Cancerígeno de los Productos Químicos para el Hombre *IARC*

- **Grupo 1.** Cancerígenos para el Hombre
- **Grupo 2A.** Probablemente Cancerígenos para el Hombre
- **Grupo 2B.** Posiblemente Cancerígeno para el Hombre
- **Grupo 3.** Los datos existente no permiten clasificarlos como cancerígenos para el Hombre
- **Grupo 4.** Probablemente no cancerígenos para el Hombre

*IARC Monographs 1971-2007 último volumen:88/2007*

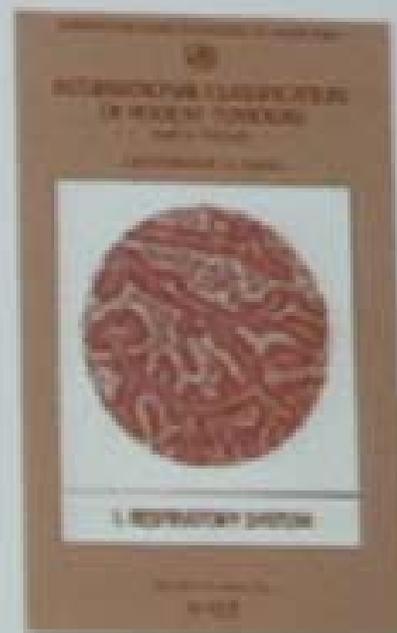
*http://193.51.164*

## Harmonization of nomenclature and diagnostic criteria in carcinogenicity studies

In 1988 the computerized pathology data base RITA (=Registry of Industrial Toxicology Animal-data) was set up in Germany

Diagnostic criteria of proliferative lesions in **Rat and Mouse** have been published:

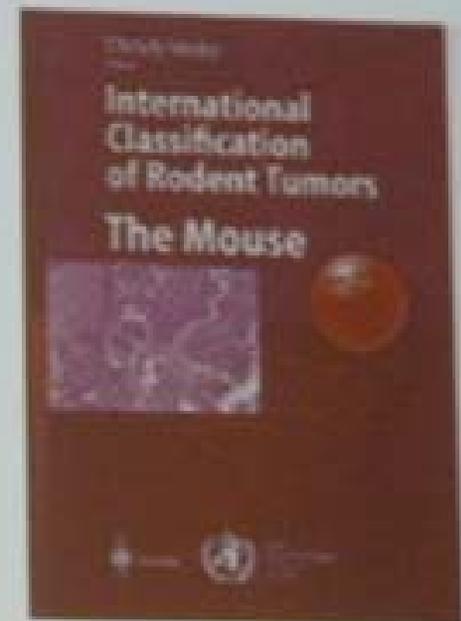
„International Classification of Rodent Tumours, Part I: The Rat“ (IARC Scientific Publications)



## Harmonization of nomenclature and diagnostic criteria in carcinogenicity studies

The corresponding publication on lesions in the mouse has been prepared in a joint initiative between the RITA group and members of other societies of toxicologic pathology:

„International Classification of Rodent Tumours,  
The Mouse“ (Springer Press)



# Harmonization of nomenclature and diagnostic criteria in carcinogenicity studies



You have reached the new version of the RENI Web site which is currently available only for members of the RITA data base project. The new version offers for our members a lot of additional and useful information, in particular 6,416 additional high resolution images and current information in the "RITA Notes" area.



ICLAS/CSIC Working Group  
on Complementary Methods

Grupo de Trabajo de ICLAS/CSIC  
sobre Métodos Complementarios

CSIC  
ICLAS

Editor-in-Chief:  
Eduardo de la Peña



Co-Editors:  
Ana Guadaño, Carmen Barrueco,  
Guillermo Repetto, Francisco Glez. Menció  
& Paulino García Partida

# GTEMA



## CURSO-TALLER DE REDUCCIÓN, REFINAMIENTO Y REEMPLAZO DE ANIMALES EN INVESTIGACIÓN, DESARROLLO Y DOCENCIA

*Curso-taller de orientación práctica destinado a miembros de comités éticos, responsables de animalarios e investigadores para facilitar la aplicación de los principios de las 3R en el cumplimiento de la nueva normativa sobre protección de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.*

### Organiza:

- REMA- Red Española de Métodos Alternativos a la Experimentación Animal (<http://www.remanet.net/>)
- con la colaboración del Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Autónoma de Madrid y el proyecto CONAM – ECOPA (<http://ecopa.vub.ac.be/>)

### Celebración:

Facultad de Medicina UAM  
Universidad Autónoma de Madrid  
c/ Arzobispo Morcillo s/n (junto al Hospital La Paz)  
28029 Madrid

23 de Noviembre de 2005: 09.00- 19.00 h

Plazas limitadas (40)

# 3ERRES



Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de los Productos Químicos REACH

Curso de Verano. Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá de Henares. 1 – 4 de julio de 2008

# *Las tres erres de Russell & Burch, 1959*

## *1ª Reemplazar = Sustituir*

- Uso de sistemas vivos: *in vitro*, otros animales y microorganismos.
- Uso de Sistemas no vivos ( QSAR y sistemas físicos y mecánicos)
- Uso de simulaciones por ordenador

## *2ª Reducir = Disminuir*

- Reparto de animales
- Reducción filogenética
- Mejorar la calidad de los animales

## *3ª Refinar = Perfeccionar*

- Disminuir el grado y la intensidad de la invasión al organismo
- Mejoramiento de la instrumentación
- Mejoramiento del control del dolor
- Mejoramiento del control de las técnicas

4ª erre 4ª Responsabilidad = *Ética* (Pérez-García 1991. Murcia'91)



# SUSTANCIAS CARCINOGENICAS

## Primera categoría

Sustancias que, se sabe, son carcinogénicas para el hombre.

Se dispone de elementos suficientes para establecer la existencia de una relación causa/efecto entre la exposición del hombre a tales sustancias y la aparición del cáncer.

### Frases de riesgo

T; R 45 Puede causar cáncer

T; R 49 Puede causar cáncer por inhalación

### Observaciones

Las sustancias se clasifican dentro de la primera categoría a partir de datos epidemiológicos.



# SUSTANCIAS CARCINOGENICAS

## Segunda Categoría

Sustancias que pueden considerarse como carcinogénicas para el hombre. Se dispone de elementos suficientes para suponer que la la exposición del hombre a tales sustancias puede producir cáncer. Dicha presunción se fundamenta generalmente en:

- 1) estudios apropiados a largo plazo, y
- 2) otro tipo de información pertinente

**Frases de riesgo: T; R 45 Puede causar cáncer**

Observaciones: Para que la sustancia se clasifique en la segunda categoría, "carcinógena", será necesario obtener resultados positivos en dos especies animales, o pruebas positivas contundentes en una especie, junto con pruebas complementarias, tales como **datos de genotoxicidad**, estudios metabólicos obioquímicos, **inducción de tumores benignos**, relación estructural con otras sustancias carcinogénicas conocidas, o **datos de estudios epidemiológicos** que sugieran una relación.



# SUSTANCIAS CARCINOGENICAS

## Tercera Categoría

Sustancias cuyos posibles efectos carcinogénicos en el hombre son preocupantes, pero de las que no se dispone de información suficiente para realizar una evaluación satisfactoria. Hay algunas pruebas procedentes de análisis con animales, pero que resultan insuficientes para incluirlas en la segunda categoría.

**Frases de riesgo: Xn; R 40 Riesgo de efectos irreversibles**

**Observaciones:** La tercera categoría comprende dos subcategorías:

- a) Sustancias sobre las que se ha investigado pero de las que no hay suficientes pruebas sobre la **inducción de tumores** para incluirlas en la segunda categoría, y no es probable que con más experimentos se pueda obtener la información necesaria para su clasificación.
- b) Sustancias sobre las que no se ha investigado bastante. Los datos disponibles son inadecuados, pero preocupantes en relación con el hombre. La clasificación es provisional y se requieren más experimentos antes de adoptar una decisión definitiva.

# Criterios UE versus SGA - Clasificación de sustancias peligrosas

## 11. Carcinogenicidad

UE	Cat. 1 T R45 y R49	Cat. 2 T R45 y R49	Cat. 3 Xn R40
<b>Criterios</b>	Datos de estudios epidemiológicos en humanos que apoyan una relación causal.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Datos positivos en dos especies animales.</li> <li>2. Datos positivos en una especie animal, junto con pruebas complementarias (datos de genotoxicidad, estudios metabólicos o bioquímicos, inducción de tumores benignos, relación estructural con otras sustancias carcinogénicas conocidas).</li> <li>3. Datos de estudios epidemiológicos que sugieran una relación.</li> </ol>	Datos positivos, procedentes de ensayos con animales, que son insuficientes para incluir la sustancia en la categoría 2.
	La R49 se aplica a las sustancias que pueden causar cáncer por inhalación		
SGA	Categoría 1A	Categoría 1B	Categoría 2
<b>Criterios</b>	Datos de estudios epidemiológicos en humanos que apoyan una relación causal.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Datos, procedentes de estudios con animales, suficientemente convincentes.</li> <li>2. La existencia de datos limitados, para el hombre y los animales, podría justificar la clasificación de una sustancia en esta categoría.</li> </ol>	Sólo existen datos limitados, o para el hombre o para los animales.

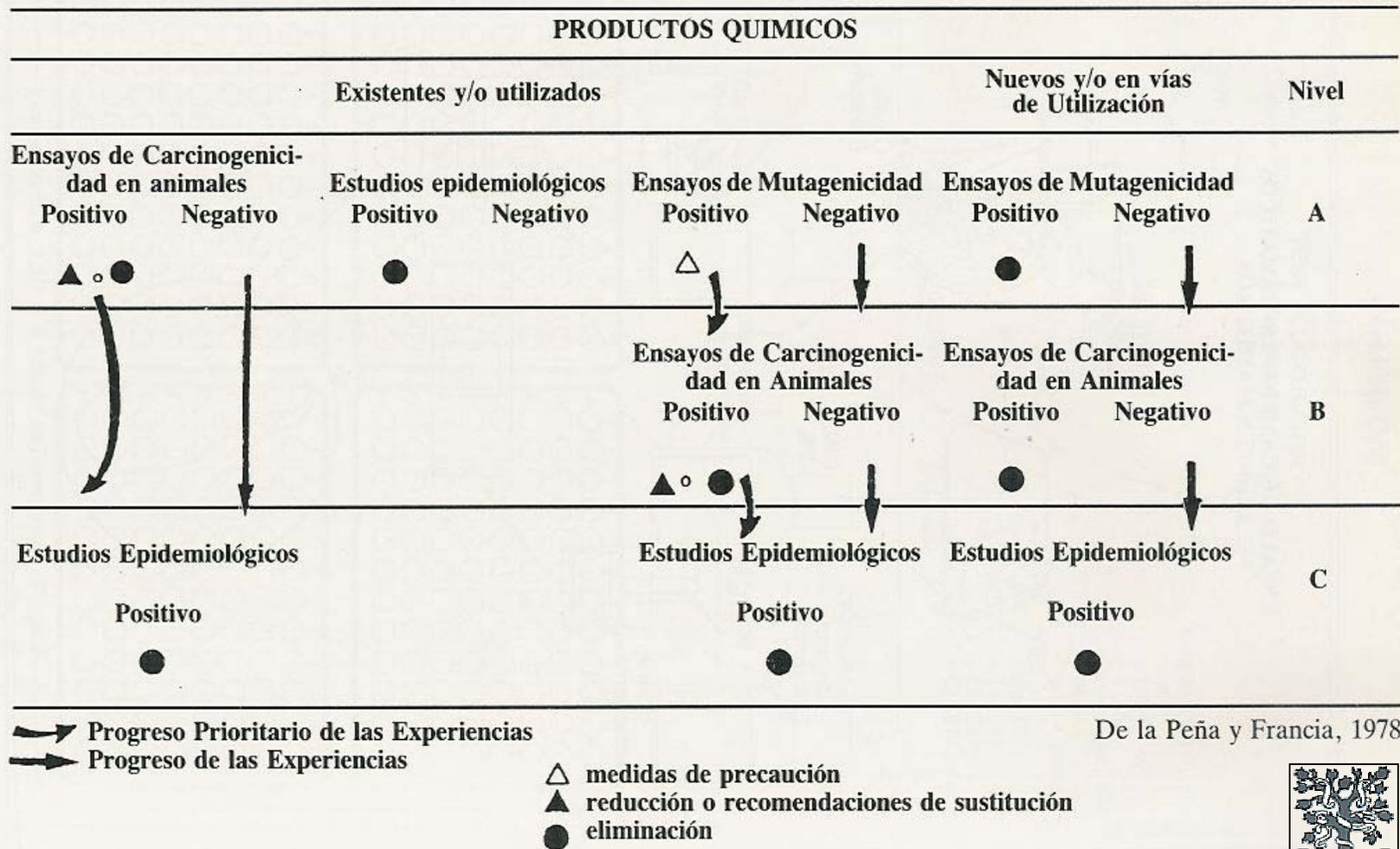
## CLASIFICACIÓN SEGÚN LOS EFECTOS ESPECÍFICOS SOBRE LA SALUD

CATEGORÍA DE PELIGRO	FRASES R ASOCIADAS	INDICACIÓN DE PELIGRO	SÍMBOLO	DEFINICIÓN GENERAL
<b>Carcinógeno</b>				
Categorías 1 y 2	R45, R49	Tóxico		<b>Carcinógenos:</b> las sustancias y preparados que por inhalación, ingestión o penetración cutánea pueden producir cáncer o aumentar su frecuencia.
Categoría 3	R40	Nocivo		
<b>Mutágeno</b>				
Categorías 1 y 2	R46	Tóxico		<b>Mutágenos:</b> las sustancias y preparados que por inhalación, ingestión o penetración cutánea pueden producir defectos genéticos hereditarios o aumentar su frecuencia.
Categoría 3	R68	Nocivo		
<b>Tóxico para la reproducción</b>				
Categorías 1 y 2	R60, R61	Tóxico		<b>Tóxicos para la reproducción:</b> las sustancias y preparados que por inhalación, ingestión o penetración cutánea pueden producir efectos nocivos no hereditarios en la descendencia, o aumentar la frecuencia de éstos, o afectar de forma negativa a la función o a la capacidad reproductora masculina o femenina.
Categoría 3	R62, R63	Nocivo		

## CLASIFICACIÓN SEGÚN LOS EFECTOS SOBRE EL MEDIO AMBIENTE

<b>Peligroso para el medio ambiente</b>	Medio ambiente acuático: R50, R50/53, R51/53 R52, R52/53, R53	<b>Peligroso para el medio ambiente</b>		<b>Peligrosos para el medio ambiente:</b> las sustancias y preparados que, en caso de contacto con el medio ambiente, constituirían o podrían constituir un peligro inmediato o futuro para uno o más componentes del medio ambiente.
	Medio ambiente no acuático: R54, R55, R56, R57, R58			
	Capa de ozono: R59			

FIGURA 6. MEDIDAS A CONSIDERAR DE ACUERDO CON LAS EVIDENCIAS DEL RIESGO CARCINOGENICO DE LOS PRODUCTOS QUIMICOS PARA EL HOMBRE



De la Peña y Francia, 1978



# Clasificación de las sustancias, respecto a su carcinogenicidad en el hombre, según diferentes instituciones

	Carcinógenas	Probables Carcinógenas	Posibles Carcinógenas	No clasificadas	Probables no carcinógenas	
<b>IARC</b>	<p><b><u>Grupo 1</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Suficiente hombre</li> <li>Limitada hombre/suficiente animales/mecanismo relevante para el hombre</li> </ul>	<p><b><u>Grupo 2A</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Limitada hombre/suficiente animales</li> <li>Inadecuada hombre/suficiente animales/ mecanismo relevante para el hombre</li> <li>Limitada hombre</li> </ul>	<p><b><u>Grupo 2B</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Limitada hombre/limitada animales</li> <li>Inadecuada hombre/suficiente animales</li> <li>Inadecuada hombre/limitada animales/datos de apoyo</li> </ul>	<p><b><u>Grupo 3</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Inadecuada hombre/inadecuada animales</li> <li>Inadecuada hombre/limitada animales</li> <li>Inadecuada hombre/suficiente animales/ mecanismo no relevante para el hombre</li> </ul>	<p><b><u>Grupo 4</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ausencia de carcinogenicidad sugerida en hombre y animales</li> <li>Inadecuada hombre/ausencia de carcinogenicidad sugerida en animales/datos de apoyo</li> </ul>	
<b>ACGIH</b>	<p><b><u>Grupo A1</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Suficiente hombre</li> </ul>	<p><b><u>Grupo A2</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Limitada hombre/suficiente animales</li> </ul>	<p><b><u>Grupo A3</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ausencia de carcinogenicidad sugerida en hombre/suficiente animales</li> </ul>	<p><b><u>Grupo A4</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Inadecuada hombre/inadecuada animales</li> </ul>	<p><b><u>Grupo A5</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ausencia de carcinogenicidad sugerida en hombre</li> </ul>	
<b>EPA</b>	<p><b><u>Grupo A</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Suficiente hombre</li> </ul>	<p><b><u>Grupo B1</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Limitada hombre</li> </ul>	<p><b><u>Grupo B2</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Inadecuada hombre/suficiente animales</li> </ul>	<p><b><u>Grupo C</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Inadecuada hombre/limitada animales</li> </ul>	<p><b><u>Grupo D</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Inadecuada hombre/inadecuada animales</li> </ul>	<p><b><u>Grupo E</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ausencia de carcinogenicidad sugerida en hombre y animales</li> <li>Ausencia de carcinogenicidad sugerida en animales</li> </ul>
<b>MAK</b>	<p><b><u>Grupo A1</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Suficiente hombre</li> </ul>	<p><b><u>Grupo A2</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Suficiente animales</li> </ul>	<p><b><u>Grupo B</u></b></p> <p>Evidencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Existen datos de algunos estudios que necesitan urgentemente mayor investigación</li> </ul>			

**JORNADAS TOXICOLOGÍA AMBIENTAL**



Preparándose para el REACH,  
desde el 1 de junio 2007  
AETOX-SESA  
Del 10 al 12 diciembre 2007  
CEMACAM Torre Guil

ae tox AENA CSIC  
Región de Murcia  
Comunidad de Santomera  
MUNICIPIO DE SANTOMERA  
Florencia  
CEMACAM  
Torre Guil  
OBRAS SOCIALES



**Preparándose para el REACH desde el 1 de junio de 2007**  
**CEMACAM. Torre Guil Santomera la Verde (Murcia) 10-12 diciembre 2007**



Preparándose para el REACH,  
desde el 1 de junio 2007  
AETOX-SESA

Del 10 al 12 diciembre 2007  
**CEMACAM Torre Guil**



Región de Murcia  
Consejería de Sanidad



**CEMACAM**  
Torre Guil  
CENTRO EDUCATIVO  
DEL MEDIO AMBIENTE  
Torre Guil - Murcia



**CAM**

Caja Mediterráneo

OBRAS SOCIALES

2. **Dra. Covadonga CABALLO DIEGUEZ**  
Departamento de Biocidas y Productos Químicos  
Subdirección Gral. de Sanidad Ambiental y Salud Laboral.  
Ministerio de Sanidad y Consumo.
3. **Dra. Matilde CARBALLO SANTAOLAYA**  
INIA. Centro de Investigación de Sanidad Animal
4. **Profa. Dra. Guillermina FONT PÉREZ**  
Presidenta de AETOX. Catedrática de Toxicología.  
Facultad de Farmacia Universidad de Valencia
5. **Master. Óscar HERRERO FELIPE**  
CSIC. Centro de Ciencias Medioambientales
6. **Dra. Esther MARTÍN de DIOS**  
Subdirección Gral. de Sanidad Ambiental y Salud Laboral.  
Ministerio de Sanidad y Consumo
7. **Dr. José Vicente MARTÍ BOSCA**  
Presidente de SESA. Unidad de Sanidad Ambiental.  
Dirección General de Salud Pública
8. **Prof. Dr. Nicolás OLEA SERRANO**  
CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP).  
Hospital Clínico. Universidad de Granada
9. **Dr. Guillermo REPETTO KUHN**  
Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses  
Coordinador de BUSCATOX (Sevilla)
10. **Prof. Dr. Eugenio VILANOVA GISBERT**  
Director del Instituto de Bioingeniería. Catedrático de  
Toxicología. Universidad Miguel Hernández. Elche
11. **Dra. Elisa GÓMEZ CAMPOY**  
Sanidad Ambiental. Consejería de Sanidad.  
Comunidad Autónoma de Murcia
12. **Dr. Eduardo de la PEÑA de TORRES**  
CSIC. Centro de Ciencias Medioambientales

# *Grupo de Mutagenesis Ambiental*

Centro de Ciencias Medioambientales

Consejo Superior de Investigaciones Científicas



**Evaluación genotóxica de productos químicos naturales y sintéticos, mediante ensayos de corta duración utilizando sistemas bacterianos (*Salmonella typhimurium*) y/o cultivos *in vitro* e *in vivo* de células de mamífero (linfocitos, CHO).**

**Ensayos *in vitro* e *in vivo* integrados en el desarrollo y validación de métodos complementarios alternativos a la experimentación animal.**

*Dr. Eduardo de la Peña de Torres (4)*

*Da. Antonia Martínez López (2)*

*Ms. Óscar Herrero Felipe (1)*

*Lda Araceli Pillco Tito (3)*

C/ Serrano 115 dpdo 28006 Madrid

Tlno. 91-7452500 ext. 219

- [epena@ccma.csic.es](mailto:epena@ccma.csic.es)

- [mutagenesisambiental@ccma.csic.es](mailto:mutagenesisambiental@ccma.csic.es)

