

Heksachlorocyklopentadien

Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego¹

*prof. dr hab. JADWIGA A. SZYMAŃSKA
dr BARBARA FRYDRYCH
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
90-151 Łódź
ul. J. Muszyńskiego 1*

NDS: 0,1 mg/m³

NDSch: -

NDSP: -

DSB: -

Sk - substancja wchłania się przez skórę

C - substancja o działaniu żrącym

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 4.10.2011 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 21.12.2011 r.

Słowa kluczowe: heksachlorocyklopentadien, narażenie zawodowe, NDS.

Keywords: hexachlorocyclopentadiene, occupational exposure, MAC value.

Streszczenie

Heksachlorocyklopentadien (HCCP) jest oleistą cieczą o barwie jasnożółtej i ostrym, drażniącym zapachu. Substancja ta znalazła zastosowanie przede wszystkim jako półprodukt do produkcji: różnych barwników, żywic, farmaceutyków, środków zmniejszających palność, insektycydów i poliestrów. Ponadto jest stosowana do produkcji: ketonów, kwasów, estrów, fluorowęglowodorów i wstrząsoodpornych tworzyw (substancja HPV). Substancja ta znajduje się na liście priorytetowej SCOEL w celu opracowania dokumentacji i wartości wskaźnikowej.

Heksachlorocyklopentadien wchłania się do organizmu przez: skórę, układ oddechowy i pokarmowy, a także po podaniu dożylnym. Oznaczanie rozmięszczenia tkankowego heksachlorocyklopentadienu wykaza-

ło, że największe stężenia związku, niezależnie od drogi podania, oznaczono w wątrobie i nerkach. Głównymi drogami wydalania heksachlorocyklopentadienu z organizmu są mocz i kał.

Heksachlorocyklopentadien działa drażniąco na: błony śluzowe oczu i górnych dróg oddechowych oraz skórę. Na podstawie wyników badań toksyczności ostrej na zwierzętach wykazano dużą rozpiętość w wartościach medialnych dawek śmiertelnych. Na podstawie tych danych heksachlorocyklopentadien jest uważany za substancję bardzo toksyczną po narażeniu inhalacyjnym, toksyczną po narażeniu dermalnym i szkodliwą po narażeniu dożołądkowym. Wielokrotne narażenie zwierząt różnych gatunków na heksachlorocyklopentadien podawany różnymi drogami spowodowało

¹ Przyjęta przez Międzyresortową Komisję ds. NDS i NDN Czynniki Szkodliwych w Środowisku Pracy wartość NDS heksachlorocyklopentadienu została przedłożona w 2011 r. ministrowi pracy i polityki socjalnej (wniosek nr 84) w celu jej wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 części A wykazu wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy.

Metoda oznaczania stężenia heksachlorocyklopentadienu w powietrzu na stanowiskach pracy będzie opublikowana w kwartalniku „Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy” 2013 nr 1(75).

zwiększoną liczbę padnięć zwierząt obserwowaną w grupach narażanych oraz wystąpienie wielu objawów klinicznych i zmian histopatologicznych.

Na podstawie wyników testów przeprowadzonych w warunkach *in vitro* i *in vivo* stwierdzono, że heksachlorocyklopentadien nie wykazuje działania mutagennego ani genotoksycznego. Również na podstawie wyników uzyskanych w doświadczeniach dotyczących działania rakotwórczego heksachlorocyklopentadien nie jest uważany za substancję o działaniu kancerogennym.

Do wyliczenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) przyjęto wartość NOAEL równą 1,7 mg/m³ wyznaczoną dla heksachlorocyklopentadienu w dwóch inhalacyjnych eksperymentach przeprowadzonych na szczurach. Wyliczona na tej podstawie wartość NDS wynosi 0,1 mg/m³. Nie ma podstaw do ustalenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) oraz dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) heksachlorocyklopentadienu.

Summary

Hexachlorocyclopentadiene (HCCP) is an oily liquid with a light yellow color and a pungent odor. This compound is used primarily as an intermediate for the manufacture of various dyes, resins, pharmaceuticals, flame retardants, insecticides, and polyesters. It is also used to produce ketones, acids, esters, fluorocarbons, and shockproof plastics.

HCCP is absorbed into the body through the skin, respiratory and digestive tract as well as after intravenous administration. Determination of tissue HCCP deployment showed that the highest concentrations were related to liver and kidney, regardless of route of administration. The main routes of excretion are the urine and feces.

HCCP is irritating to mucous membranes of the eyes and upper respiratory tract and skin. Acute toxicity studies in animals have shown a large span media in the values of the lethal dose. From the available

data, it can be concluded that HCCP is harmful after acute oral exposure, toxic after acute dermal exposure and very toxic after inhalatory exposure.

Repeated exposure of animals of different species to HCCP administered by various routes resulted in increased mortality observed in the exposed groups and the occurrence of a number of clinical signs and histopathological changes. The results of tests carried out *in vitro* and *in vivo* indicate that the HCCP is not mutagenic or genotoxic. Moreover, because of the results obtained in experiments on the carcinogenicity, HCCP is not regarded as a substance with carcinogenic activity.

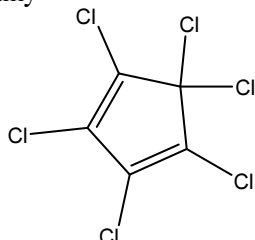
The MAC (TWA) value for HCCP was calculated on the basis of NOAEL value 1.7 mg/m³ obtained as a result of an inhalation experiment. The recommended 8-hour TWA is 0.1 mg/m³.

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

Ogólna charakterystyka heksachlorocyklopentadienu (HCCP):

- wzór sumaryczny C₅Cl₆
- wzór strukturalny



- nazwa CAS 1,2,3,4,5,5'-heksachloro-1,3-cyklopentadien
- nazwa IUPAC heksachlorocyklopentadien

- numer CAS 77-47-4
- numer RTECS GY 1225000
- numer EINECS 2010293
- numer indeksowy 602-078-00-7
- synonimy: perchlorocyklopentadien; heksachloro-1,3-cyklopentadien; HEX; HCCP; HCCPD; C-56; HRS 1655; Graphlox; NCI-C55607 i PCL.

Zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12. 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (tzw. rozporządzenie CLP)

heksachlorocyklopentadien ma zharmonizowaną na poziomie unijnym klasyfikację i oznakowanie zgodnie z tabelą 3.1. załącznika VI do wymienionego rozporządzenia.

Klasyfikację i oznakowanie heksachlorocyklopentadienu zamieszczono w tabeli 1. i przedstawiono na rysunku 1.

Tabela 1.

Zharmonizowana klasyfikacja oraz oznakowanie heksachlorocyklopentadienu (HCCP) zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/208

Numer indeksowy	Międzynarodowa terminologia chemiczna	Numer WE	Numer CAS	Klasyfikacja		Oznakowanie		Specyficzne stężenia graniczne i współczynniki „M”	Uwagi
				klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody hasel ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia		
602-078-00-7	hexachlorocyclopentadiene	201-029-3	77-47--4	Acute Tox. 2 (*) Acute Tox. 3 (*) Acute Tox. 4 (*) Skin Corr. 1B Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H330 H311 H302 H314 H400 H410	GHS06 GHS05 GHS09 Dgr	H330 H311 H302 H314 H410		

Objaśnienia:

- Acute Tox. 2 – toksyczność ostra (po narażeniu inhalacyjnym), kategoria zagrożenia 2.
- H330 – wdychanie grozi śmiercią
- Acute Tox. 3 – toksyczność ostra (po naniesieniu na skórę), kategoria zagrożenia 3.
- H311 – działa szkodliwie w kontakcie ze skórą
- Acute Tox. 4 – toksyczność ostra (po połknięciu), kategoria zagrożenia 4.
- H302 – działa szkodliwie po połknięciu
- Skin Corr. 1.B – działanie żrące/drażniące na skórę, kategoria 1.B
- H314 – powoduje poważne oparzenia skóry i uszkodzenia oczu
- Aquatic acute 1 – stwarza zagrożenie dla środowiska wodnego – zagrożenie ostre, kategoria 1.
- H400 – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne
- Aquatic Chronic 1 – stwarza zagrożenie dla środowiska wodnego – zagrożenie przewlekłe, kategoria 1.
- H410 – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.



Rys. 1. Kody hasła ostrzegawczego: Dgr („Danger” – „Niebezpieczeństwo”). Piktogramy określone w rozporządzeniu WE nr 1272/2008 (CLP) mają czarny symbol na białym tle z czerwonym obramowaniem, na tyle szerokim, aby było wyraźnie widoczne

Ponieważ do dnia 1.06.2015 r. istnieje prawny obowiązek podawania także klasyfikacji substancji wg dotychczasowych zasad i kryteriów, dlatego poniżej podano klasyfikację heksachlorocyklopentadienu zamieszczoną w tabeli 3.2. załącznika VI do rozporządzenia CLP:

- T+ – produkt bardzo toksyczny z przypisanym zwrotem zagrożenia: działa bardzo toksycznie przez drogi oddechowe (R26)

- T – produkt bardzo toksyczny z przypisanym zwrotem zagrożenia: działa toksycznie w kontakcie ze skórą (R24)
- C – produkt żrący z przypisanym zwrotem zagrożenia: powoduje oparzenia (R34)
- Xn – produkt szkodliwy z przypisanym zwrotem zagrożenia: działa szkodliwie po połknięciu (R22).

Właściwości fizykochemiczne substancji

Właściwości fizykochemiczne heksachlorocyklopentadienu (HCCP), (ACGIH 2001; EPA 2001; EHC 1991; HSDB 2011; NTP 1994; ChemID... 2011):

- postać gęsta, oleista ciecz o barwie od jasnożółtej do bursztynowej i gryzącym, nieprzyjemnym zapachu
- masa cząsteczkowa 272,77
- temperatura wrzenia 239 °C
- temperatura topnienia -9 °C
- gęstość właściwa 1,702 (w temp. 25 °C)
- gęstość par 9,42 (powietrze = 1)
- prężność par 10,7 Pa; 0,08 mmHg (w temp. 25 °C)
131 Pa; 0,98 mmHg (w temp. 62 °C)
- współczynnik podziału oktanol/woda $\log P_{ow}$ 5,04
- współczynnik adsorpcji K_{oc} 4,265
- stała Henryego (w temp. 25 °C) $2,7 \cdot 10^{-2}$ atm m³/mol
- rozpuszczalność w wodzie 1,8 mg/l (w temp. 25 °C);
1,03 ÷ 1,25 mg/l (w temp. 22 °C)
- rozpuszcza się w rozpuszczalnikach organicznych: acetonie, tetrachlorku węgla, metanolu, heksanie
- współczynniki przeliczeniowe w warunkach normalnych (w temp. 25 °C i pod ciśn. 101,3 kPa) 1 ppm = 11,3 mg/m³ i
1 mg/m³ = 0,088 ppm (EHC 1991; ACGIH 2001).

Otrzymywanie, zastosowanie, narażenie zawodowe

Heksachlorocyklopentadien (HCCP) nie występuje naturalnie w środowisku. Wytwarza się go

podczas syntezy chemicznej przez:

- chlorowanie cyklopentadienu przez alkaaliczny podchloryn w temperaturze 40 °C, a następnie frakcyjną destylację. Tą drogą otrzymuje się związek o 75-procentowej czystości
- termiczne odchlorowywanie oktachlorocyklopentadienu w temperaturze 470 ÷ 480 °C. Tą drogą otrzymuje się związek o 90-procentowej czystości.

Najwięcej zanieczyszczeń w komercyjnym związku stanowią:

- oktachlorocyklopenten (0,68 ÷ 1,5%)
- heksachloro-1,3-butadien (0,2 ÷ 1,11%)
- tetrachloroetan (0,09%)
- heksachlorobenzen (0,04%)
- pentachlorobenzen (0,02%).

Główne zastosowanie heksachlorocyklopentadienu dotyczy produkcji pestycydów z grupy polichlorowanych cyklodienów, tj.: aldryny, diel-dryny, endriny, endosulfanu, chlordanu, mirexu, pentaku.

Związek jest stosowany również jako półprodukt do produkcji kwasu chlorendykowego (*chlorendic acid*), który jest używany jako kopolimer do wytwarzania związków zmniejszających palność oraz poliestrów i żywic alkilowych odpornych na korozję. Mniejsze znaczenie ma zastosowanie heksachlorocyklopentadienu w przemyśle barwników i farmaceutyków oraz do produkcji plastiku, nylonu, poliuretanów i innych polimerów. Heksachlorocyklopentadien został zaklasyfikowany do substancji HPV, czyli substancji wytwarzanych w ilościach przekraczających 1000 t/r. Nie ma danych dotyczących produkcji heksachlorocyklopentadienu w Polsce.

Zawodowe narażenie na heksachlorocyklopentadien dotyczy:

- użycia go jako półproduktu w przemyśle chemicznym
- użycia związków niepalniących, farb i tworzyw termoplastycznych zawierających heksachlorocyklopentadien
- występowania heksachlorocyklopentadienu jako produktu degradacji związków niepalniących (np. podczas pożaru).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne

W NIOSH (1980; cyt. za EHC 1991; *Morse* i in. 1979) na podstawie wyników badań przeprowadzonych na 193 robotnikach narażanych na heksachlorocyklopentadien (HCCP) przez okres 2 lub więcej dni przedstawiono najczęstsze objawy zatrucia. Objawy kliniczne występujące u tych pacjentów obejmowały: podrażnienie oczu (manifestujące się łzawieniem i zaczerwienieniem), gardła oraz skóry, a także ból i zawroty głowy, nudności, skurcze jelit, kaszel, ból w klatce piersiowej, trudności w oddychaniu, nerwowość, ślinotok, obniżone łaknienie oraz problemy z pamięcią. W moczu badanych stwierdzono zwiększoną aktywność dehydrogenazy mleczanowej (27% przypadków), a także proteinurię (15% przypadków). W testach laboratoryjnych dotyczących czynności nerek nie stwierdzono znaczących nieprawidłowości, natomiast badanie czynności wątroby wykazało zmiany (określane przez autorów jako niewielkie), o czym świadczy wzrost aktywności w surowicy 2 enzymów: fosfatazy alkalicznej i dehydrogenazy mleczanowej. Stężenie heksachlorocyklopentadienu w powietrzu w trakcie trwania narażenia było nieznanne, natomiast 4 dni po narażeniu wynosiło $3 \div 10 \text{ mg/m}^3$.

Badania epidemiologiczne

Dostępne w piśmiennictwie informacje epidemiologiczne dotyczą głównie współczynnika śmiertelności w grupach ludzi narażanych zawodowo na heksachlorocyklopentadien (HCCP).

Shindell i in. (1980, cyt. za EHC 1991) badali grupę 783 robotników mających kontakt z tą substancją w latach 1946-1979. Celem było określenie ogólnego statusu zdrowotnego wszystkich pracowników, którzy byli obecni przy produkcji

chlordanu przez trzy miesiące lub więcej miesięcy. Autorzy pracy nie stwierdzili znaczących różnic we współczynniku śmiertelności między grupą narażaną a ogólną populacją USA (EHC 1991).

Podobne badania zostały przeprowadzone wśród robotników zatrudnionych w zakładzie chemicznym produkującym heptachlor (pestycyd, do którego produkcji używa się heksachlorocyklopentadienu) w latach 1952-1979 (*Shindell* i in. 1981, cyt. za EHC 1991). Badaniem objęto 1115 robotników, którzy pracowali w narażeniu przez trzy miesiące lub więcej miesięcy. Wyniki badań były podobne – nie stwierdzono różnic w śmiertelności między grupą narażaną a kontrolną.

W latach 1946-1976 przeprowadzono badanie śmiertelności wśród pracowników zatrudnionych przy produkcji chlordanu i heptachloru (*Wang, MacMahon* 1979). Grupa badana liczyła 1403 mężczyzn pracujących w narażeniu dłużej niż 3 miesiące. Autorzy pracy zaobserwowali 113 przypadków zgonu (SMR 72). Wśród różnych przyczyn zgonu wymienili oni raka płuc (SMR 134) i uszkodzenie naczyniowo-mózgowe (SMR 183). Przypadki zgonów w wyniku uszkodzeń naczyniowo-mózgowych nie były związane z czasem narażenia czy okresem utajenia i wystąpiły tylko po zakończeniu zatrudnienia (brak informacji o grupie kontrolnej).

Buncher i in. (1980, cyt. za EHC 1991) badali śmiertelność wśród 341 pracowników (287 mężczyzn i 54 kobiety) zakładu chemicznego produkującego heksachlorocyklopentadien, zatrudnionych co najmniej 90 dni w latach 1953-1974. Wyliczony współczynnik SMR dla wszystkich przypadków zgonów wynosił 69. Liczba zgonów będących wynikiem nowotworów, uszkodzeń naczyniowo-mózgowych czy układu trawiennego była mniejsza niż oczekiwano.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność po podaniu jednorazowym

Mediany dawek śmiertelnych heksachlorocyklo-

pentadienu (HCCP) dla zwierząt laboratoryjnych uzyskane w doświadczeniach opisanych w dalszej części dokumentacji zamieszczono w tabeli 2.

Tabela 2.

Mediana dawki (LD₅₀) i stężenia śmiertelnego (LC₅₀) heksachlorocyklopentadienu (HCCP) dla zwierząt

Gatunek zwierząt, czas narażenia	Droga podania	DL ₅₀ /CL ₅₀	Piśmiennictwo
Szczur	dożołądkowa	♂ 505 mg/kg ♀ 690 mg/kg	RAR 2007 EHC 1991
Szczur (Spartan)		♂;♀ 584 mg/kg ♂ 630 mg/kg ♀ 530 mg/kg	
Szczur (Wistar)		♂;♀ > 50 mg/kg	
Szczur (CFY)		♂;♀ 1400 mg/kg ♂ 1500 mg/kg ♀ 1300 mg/kg	
Szczur (F 344)		♂ 425 mg/kg ♀ 315 mg/kg	
Szczur (Sprague-Dawley)		♂;♀ 651 mg/kg	
Szczur		300 ÷ 630 mg/kg 1300 mg/kg	HSDB 2011
Szczur		♂ 510 mg/kg ♀ 690 mg/kg	EHC 1991
Szczur (Charles River CD)		♂;♀ 926 mg/kg	
Szczur		315 mg/kg 425 mg/kg 505 mg/kg 651 mg/kg 825 mg/kg 926 mg/kg	IUCLID 2000
Mysz		505 mg/kg	HSDB ChemIDplus IUCLID 2000
Mysz		> 600 mg/kg	IUCLID 2000
Mysz (B6C3F1)		♂;♀ 680 mg/kg	RAR 2007 EHC 1991
Szczur (Carworth), 4 h	inhalacyjna	♂ < 200 mg/m ³	RAR 2007
Szczur 1h		< 2120 mg/m ³	EHC 1991
Szczur (Sprague-Dawley), 4 h		♂ 18 mg/m ³ ♀ 40 mg/m ³	IUCLID 2000 HSDB 2011
Szczur (Wistar), 4 h; 14 dni p.o.		41 mg/m ³	<i>Treon</i> i in. 1955
Szczur (Wistar), 4 h; 28 dni p.o.		33 mg/m ³	
Szczur (Carworth), 3,5 h		♂;♀ 35 mg/m ³	
Mysz, 3,5 h		24 mg/m ³	RAR 2007 WHO 1991 <i>Treon</i> i in. 1955
Świnka morska, 3,5 h		♂;♀ 80 mg/m ³	IUCLID 2000 HSDB WHO 1991 RAR 2007 <i>Treon</i> i in. 1955
Królik, 3,5 h		♀ 158 mg/m ³	RAR 2007 WHO 1991 <i>Treon</i> i in. 1955

cd. tab. 2.

Gatunek zwierząt, czas narażenia	Droga podania	DL ₅₀ /CL ₅₀	Piśmiennictwo
Królik	dermalna	♂ < 200 mg/kg m.c. ♀ 340 mg/kg m.c. ♀ 780 mg/kg m.c.	RAR 2007 HSDB WHO 1991 ChemIDplus <i>Treon</i> i in. 1955
Szczur (Sprague-Dawley)		♂;♀ 2000 ÷ 3200 mg/kg	RAR 2007

Narażenie drogą inhalacyjną

Badanie toksyczności ostrej heksachlorocyklopentadienu przeprowadzono na samcach szczurów (Carworth CFE) narażanych na związek o stężeniu w powietrzu 2 lub 200 mg/l ($n = 10$ /dawkę) przez 4 h. W obu grupach zwierząt narażanych zaobserwowano: łzawienie i zezowanie oczu, duszność, sinicę, wzmożone ślinienie, obecność wydzieliny z nosa i oczu o charakterze porfiryńowym oraz rumień poprzedzony blednięciem. W badaniu mikroskopowym u wszystkich zwierząt narażanych na heksachlorocyklopentadien o małym stężeniu stwierdzono przekrwienie płuc, natomiast po narażeniu na związek o większym stężeniu u wszystkich zwierząt stwierdzono szare zabarwienie skóry i wystąpienie krwotoków w płucach, a także u 7/10 zwierząt obserwowano wysięk opłucnowy. Wszystkie zwierzęta padły w ciągu 48 h po narażeniu. Wartość LC₅₀ związku wyznaczono poniżej 2120 mg/m³ (EU RAR 2007).

Inhalacyjnemu narażeniu na heksachlorocyklopentadien o stężeniu 2,12 mg/l (pary) przez 4 h poddano 10 szczurów (brak dokładnych informacji o płci i szczepie). Podczas trwania narażenia u 3/10 osobników zaobserwowano: łzawienie oczu, ślinienie, nadmierną ruchliwość, oddech Kussmaula, błądność przechodzącą w przekrwienie, a następnie sinicę i padnięcia zwierząt w ciągu 1 h. Po zakończeniu narażenia 7/10 osobników miało oddech Kussmaula. Wszystkie zwierzęta padły w ciągu 18 h. Wartość LC₅₀ wyznaczono poniżej 2,12 mg/l (EU RAR 2007).

Rand i in. (1982) opisali doświadczenie przeprowadzone na szczurach Sprague-Dawley ($n = 10$ /płeć/dawkę), które poddano narażeniu na parę heksachlorocyklopentadienu przez 4 h. W doświadczeniu stosowano heksachlorocyklopentadien o następujących stężeniach: 0,0032; 0,016; 0,029; 0,035; 0,038; 0,039; 0,046 i 0,066 mg/l (0,28; 1,4; 2,5; 3,1; 3,3; 3,4; 4,0; 5,8 ppm). W grupie zwierząt narażanych na związek o najmniejszym stężeniu nie stwierdzono zaburzeń w przyroście masy ciała ani padnięć zwierząt, natomiast w pozostałych grupach zaobserwowano

spadek masy ciała i zwiększoną liczbę zwierząt, które padły. Zwierzęta, które przeżyły narażenie na związek o stężeniu 1,4 ppm, miały znaczące zmiany w płucach (miejscowe lub rozlane zagęszczenie tkanki prowadzące do krwotoków i zwątrobiania). W grupie narażanej na związek o największym stężeniu u większości zwierząt wystąpiło: łzawienie, ślinienie i bezwład, a także stwierdzono u nich obecność wodnistego wycieku z nosa i plamistość wątroby. Wartość LC₅₀ wynosiła dla samic i samców odpowiednio 40 mg/m³ (3,5 ppm) i 18 mg/m³ (1,6 ppm), (EU RAR 2007).

W kolejnym doświadczeniu inhalacyjnym 50 szczurów Wistar ($n = 5$ /dawkę/płeć) poddano 4-godzinnemu narażeniu na heksachlorocyklopentadien o stężeniach: 19; 20; 37 lub 40 mg/m³ (1,7; 1,8; 3,3 lub 3,5 ppm). Zwierzęta w grupie kontrolnej oddychały czystym powietrzem. Kliniczne objawy występujące u zwierząt w trakcie narażenia dotyczyły: częściowego zamknięcia oczu, nieprawidłowego oddechu oraz nieprawidłowej postawy ciała. Zmiany te były niezwykle wyraźne już po 1 h narażenia. Oddech Kussmaula wystąpił w grupie narażanej na heksachlorocyklopentadien o stężeniu 37 mg/m³, natomiast zwierzęta narażane na związek o stężeniu 40 mg/m³ miały zmniejszoną aktywność w ciągu ostatnich 2 h narażenia. Wraz ze wzrostem poziomu narażenia obserwowano u zwierząt nasilenie zmian dotyczących uszkodzenia układu oddechowego oraz oczu. Zwierzęta zapadały w letarg. U większości zwierząt narażanych na heksachlorocyklopentadien o stężeniu 19 lub 20 mg/m³ zmiany ustąpiły po 2 ÷ 3 dniach, natomiast w grupie narażanej na związek o największym stężeniu zmiany utrzymywały się przez cały okres obserwacji. Objawy kliniczne u tych szczurów obejmowały: uszkodzenie układu oddechowego (wzmoczony szmer oddechowy, rżenie), ciemnienie oczu, zmiany sinicze na skórze, pilorekację (jeżenie włosów), wychudzenie, letarg i hipotermię. Zwierzęta, które przeżyły narażenie, przez cały okres obserwacji miały stałą masę ciała, natomiast zwierzęta, które padły podczas eksperymentu, traciły na

wadze. U większości zwierząt stwierdzono dużą bezwzględna i względną masę płuc, a zmiany w tym narządzie były widoczne podczas każdego poziomu narażenia. Wartość LC_{50} heksachlorocyklopentadienu ustalono na poziomie 41 mg/m^3 (po 14 dniach) i 33 mg/m^3 (po 28 dniach), (EU RAR 2007).

Treon i in. (1955) przeprowadzili doświadczenie oceniające toksyczność ostrą heksachlorocyklopentadienu podawanego drogą inhalacyjną szczurom ($n = 4/\text{dawkę}$), myszom ($n = 5/\text{dawkę}$), królikom ($n = 3/\text{dawkę}$) i świnkom morskim ($n = 2/\text{dawkę}$). Zwierzęta narażano na związek o różnych stężeniach heksachlorocyklopentadienu ($1,7 \div 878 \text{ mg/m}^3$) i w różnym czasie (1; 3,5 lub 7 h). Najbardziej wrażliwe na działanie heksachlorocyklopentadienu okazały się króliki. Wartości LC_{50} po 3,5-godzinym narażeniu wynosiły: $< 15,8 \text{ mg/m}^3$ dla królików, 24 mg/m^3 dla myszy, 35 mg/m^3 dla szczurów i 80 mg/m^3 dla świnek morskich. Pary związku powodowały podrażnienie błon śluzowych, co skutkowało: zamknięciem powiek, wydzieliną z oczu i nosa oraz ślinieniem. Ponadto zwierzęta cierpiały z powodu trudności w oddychaniu, natomiast u myszy zaobserwowano również drżenia mięśniowe. Związek o małych stężeniach powodował u zwierząt podrażnienie oczu i zaburzenia oddychania obserwowane tylko przy wydłużonym czasie narażenia. U zwierząt, które padły po krótkim czasie narażenia, stwierdzono martwicę nabłonka I-, II- i III-rzędowych oskrzeli, podczas gdy u zwierząt, które przeżyły, stwierdzono martwicę tkanek z nacieczeniem neutrofilowym i erytrocytarnym oraz włóknieniem. Następstwem tych zmian było zapalenie oskrzeli i oskrzelików prowadzące do proliferacji tkanki łącznej.

Narażenie drogą dożołądkową

W doświadczeniu przeprowadzonym przez *Treona* i in. (1955) szczury ($n = 9 \div 11/\text{płeć/dawkę}$, szczep nieznan) i samice królików ($n = 3/\text{dawkę}$) były narażane dożołądkowo na dawki heksachlorocyklopentadienu (HCCP) od 180 do 2100 mg/kg m.c. (rozpuszczonego w oleju arachidowym, $0,25 \div 3,6 \text{ ml/kg}$). Wartość LD_{50} dla szczurów wynosiła 505 mg/kg (samce) i 690 mg/kg (samice) oraz dla królików (samice) 640 mg/kg m.c. Narażenie tą drogą spowodowało wystąpienie: zaburzeń oddychania, biegunki i letargu. U królików, które padły, stwierdzono rozlane zwyrodnienie: mięśnia sercowego, mózgu, wątroby i nadnerczy oraz rozlane zwyrodnienie i martwicę canali-

ków nerkowych. Natomiast w płucach stwierdzono przekrwienie i obrzęk. Skutkiem narażenia szczurów było wystąpienie rozległego uszkodzenia: komórek ośrodkowego układu nerwowego, serca i nadnerczy, martwicy wątroby i kanalików nerkowych oraz przekrwienia i obrzęku płuc. U niektórych szczurów stwierdzono ponadto ostre zapalenie i martwicę przedłożądka.

Szczury Spartan ($n = 5/\text{płeć/dawkę}$) narażano na dawki: 315; 500; 794; 1250 lub 1984 mg/kg m.c. heksachlorocyklopentadienu podawanego dożołądkowo, po rozpuszczeniu w oleju kukurydzianym (10 ml/kg m.c.). Wyznaczona wartość LD_{50} wynosiła 584 mg/kg m.c. Szczury, które przeżyły narażenie, nie wykazywały zmian w masie ciała. W opisie doświadczenia nie podano natomiast informacji o zmianach klinicznych czy histopatologicznych u zwierząt (EU RAR 2007).

Jednorazowe podanie heksachlorocyklopentadienu grupie szczurów szczepu Wistar ($n = 5/\text{płeć}$) dawki 50 mg/kg m.c. (po podaniu w wodzie destylowanej) zmniejszyło u zwierząt aktywność lokomotoryczną, natomiast nie zanotowano padnięć zwierząt w ciągu 48-godzinnego czasu obserwacji (EU RAR 2007).

W doświadczeniu przeprowadzonym przez *Gardnera* (1986) szczury szczepu CFY ($n = 5/\text{płeć/dawkę}$) były narażane dożołądkowo na dawki: 1260; 1600 lub 2000 mg/kg m.c. heksachlorocyklopentadienu (rozpuszczonego w oleju kukurydzianym). Oznaczona wartość LD_{50} wynosiła 1400 mg/kg m.c. Padnięcie zwierzęcia następowało zwykle 2. lub 3. dnia po narażeniu. W grupie zwierząt, które przeżyły narażenie, najmniejsza masa ciała została zanotowana w 8. dniu, ale w ciągu 2 tygodni obserwacji masa ciała zwierząt powróciła do wartości wyjściowych. Autopsja zwierząt, które padły podczas eksperymentu, nie wykazała zmian makroskopowych. U pozostałych zwierząt narażenie spowodowało: piloreksję, zgarbioną postawę, nieprawidłowy sposób poruszania się, letarg, zmniejszenie częstości oddechów, opadanie powiek, błądź kończyn i biegunkę (cyt. za EU RAR 2007).

Dorough (1979) wykazał, że wartość LD_{50} dla szczurów Sprague-Dawley wynosi 651 mg/kg m.c. oraz ponad 600 mg/kg m.c. dla myszy (szczep nieznan). Wartość LD_{50} dla młodych szczurów F-344 wynosiła 425 mg/kg m.c. (samce) oraz 315 mg/kg m.c. (samice), natomiast wartość LD_{50} dla młodych myszy (B6C3F1) wynosiła 680 mg/kg m.c. (EU RAR 2007; NTP 1994).

Toksyczność ostrą heksachlorocyklopentadienu badano również podczas badań myszy Charles River, które narażano dożołądkowo na dawki: 21,5; 46,4; 100; 215; 464; 1000 lub 2150 mg/kg ($n = 5$ /pleć/dawkę) związku rozpuszczonego w oleju kukurydzianym. Wartość LD_{50} w tym eksperymencie wynosiła 679 mg/kg m.c. U samców narażanych na dawkę 215 mg/kg heksachlorocyklopentadienu wystąpiła tylko biegunka, po dawce 464 mg/kg obserwowano hypoaktywność, a po dawce 1000 mg/kg: zmniejszenie napięcia kończyn, opadanie powiek, ataksję i padnięcie zwierzęcia, natomiast po dawce 2150 mg/kg do wymienionych objawów dołączyło jeszcze zaburzenie oddychania (brak danych o okresie obserwacji), (EU RAR 2007).

W The Southern Research Institute (SRI) przeprowadzono (1980, cyt. za EU RAR 2007) badanie toksyczności ostrej po podaniu dożołądkowym heksachlorocyklopentadienu szczurom F-344 i myszom B6C3F1. Związek po rozpuszczeniu w oleju kukurydzianym podano obu gatunkom w dawkach: 0; 75; 150; 300; 600 lub 1200 mg/kg ($n = 5$ /dawkę/pleć). Objawy kliniczne, które pojawiły się już po najmniejszej dawce, zanotowano zarówno u szczurów, jak i u myszy. Zmiany te obejmowały: zmniejszoną aktywność, biegunkę i piloreksję. Pojawiły się one w ciągu 6 ÷ 24 h od podania związku, a ich siła i czas trwania były skorelowane z wielkością dawki. Eksperymentu nie przeżyły wszystkie szczury narażane na dawki 600 i 1200 mg/kg oraz 2 samice narażane na dawkę 300 mg/kg (EU RAR 2007). W grupie myszy narażanych na dawkę 1200 mg/kg padły wszystkie zwierzęta, natomiast w grupie narażonych na dawkę 600 mg/kg padła tylko 1 samica i 1 samiec. Na podstawie tego doświadczenia przyjęto wartość NOAEL dla szczurów równą 150 mg/kg, a dla myszy – 300 mg/kg.

Narażenie po podaniu na skórę

W doświadczeniu przeprowadzonym przez *Hoechst* (1969, cyt. za EU RAR 2007) szczury Wistar ($n = 10$ /dawkę) narażano przez skórę na dawki: 200; 320; 500; 800; 1200 lub 2000 mg/kg m.c. heksachlorocyklopentadienu (HCCP). Wartość LD_{50} określono na poziomie 825 mg/kg. Padnięcia zwierząt obserwowano od 1. ÷ 9. dnia.

Na skórę grzbietu królików New Zealand nanoszono jednorazowo dawki 200 lub 2000 mg/kg m.c. heksachlorocyklopentadienu. Doświadczeniu poddano dwoje zwierząt/pleć/ dawkę, natomiast nie ma

informacji o stanie substancji. Po zdjęciu opatrunku po 24 h stwierdzono: zmiany skórne u 1 samca i 1 samicy w każdej badanej grupie, padnięcie 2/2 samców w grupie otrzymującej dawkę większą (brak danych o czasie obserwacji). U zwierząt tych stwierdzono: zmniejszenie masy ciała, kacheksję (wyniszczenie), cechy podrażnienia i martwicy skóry (skóra w miejscu aplikacji była purpurowa) oraz zmniejszenie aktywności ruchowej. W grupie narażanej na większą dawkę padły wszystkie zwierzęta. Wartość LD_{50} ustalono na poziomie < 200 mg/kg dla samców i 340 mg/kg dla samic (EU RAR 2007).

Kiedy heksachlorocyklopentadien podawano (200 mg/kg m.c.; 24 h pod opatrunkiem) na skórę królików New Zealand (pleć nieznana) 4/12 zwierząt padło w ciągu pierwszych 24 h, a 4/8 po 48 h. Wartość LD_{50} związku wynosiła < 200 mg/kg m.c. (EU RAR 2007).

W doświadczeniu prowadzonym przez *Treona* i in. (1955) samice królików ($n = 3$, szczep nieznany) narażano na dawki od 430 do 6130 mg/kg m.c. heksachlorocyklopentadienu. Wartość LD_{50} związku wynosiła 780 mg/kg. Związek okazał się substancją silnie drażniącą skórę. Nawet najmniejsze stosowane dawki indukowały powstanie podskórnych obrzęków i pojawienie się intensywnie czerwonego zabarwienia skóry.

Gardner (1986) nanosił na skórę szczurów Sprague-Dawley dawki: 1600; 2000 lub 3200 mg/kg m.c. ($n = 5$ /pleć/dawkę) heksachlorocyklopentadienu (po rozpuszczeniu w oleju kukurydzianym). Wartość LD_{50} związku ustalono na poziomie > 2000 mg/kg m.c. W grupie narażanej na dawkę 2000 mg/kg m.c. padł 1 samiec i 1 samica, po dawce 3200 mg/kg w ciągu 2 ÷ 4 dni padły 4 samce i 2 samice. Autopsja zwierząt, które padły, wykazała: niedokrwienie nerek (u samic otrzymujących największą dawkę) oraz niedokrwienie: wątroby, śledziony i nerek, a także przekrwienie strefy gruczołowej żołądka i jelit u 2 samców otrzymujących dawkę 2000 mg/kg m.c. Najczęstsze zmiany kliniczne obserwowane u tych zwierząt to: łukowate wygięcie grzbietu, letarg, a u 2 zwierząt otrzymujących największą dawkę heksachlorocyklopentadienu stwierdzono ponadto: opadanie powiek, upośledzenie oddychania i bladeść kończyn. U wszystkich zwierząt w miejscu aplikacji podczas 1. tygodnia występowało zaciemnienie skóry oraz obrzęk o różnym nasileniu, a u większości zwierząt narażanych na największą dawkę w czasie 2 tygodni doszło do stwardnienia narażanej skóry (EU RAR 2007).

Obserwowana w opisanych eksperymentach duża rozpiętość w wartościach LD₅₀ i LC₅₀ może być wynikiem zastosowania w nich nie tylko różnych gatunków czy szczepów zwierząt, lecz także wieku zwierząt oraz związku o różnej czystości.

Ostre inhalacyjne narażenie na heksachlorocyklopentadien trwające 3,5 ÷ 4 h wykazało, że wartość LC₅₀ związku mieści się w granicach 18,1 ÷ 35 mg/m³ (1,6 ÷ 3,1 ppm) dla samców szczurów i 35 ÷ 40 mg/m³ (3,1 ÷ 3,5 ppm) dla samic szczurów. U myszy, królików i świnek morskich zakres LC₅₀ wyniósł 23,7 ÷ 80,2 mg/m³ (2,1 ÷ 7,1 ppm).

Dla szczurów narażanych drogą dożołądkową wartości LD₅₀ mieściły się w granicach 425 ÷ 926 mg/kg (samce) i 315 ÷ 926 mg/kg (samice). Wartości LD₅₀ uzyskane w eksperymentach na myszach i królikach wskazują na ten sam zakres.

Na podstawie kilku danych na temat dermalnej toksyczności wykazano, że wartość LD₅₀ dla królików wynosiła < 200 mg/kg (samce) i 340 ÷ 80 mg/kg (samice), natomiast dla szczurów wartość LD₅₀ mieściła się w zakresie 2000 ÷ 3200 mg/kg m.c.

Na podstawie otrzymanych danych można stwierdzić, że heksachlorocyklopentadien jest szkodliwy po ostrym dożołądkowym narażeniu, toksyczny po ostrym dermalnym narażeniu i bardzo toksyczny po narażeniu inhalacyjnym.

Toksyczność po podaniu wielokrotnym

Biologiczne skutki powtarzanego narażenia na heksachlorocyklopentadien (HCCP) obserwowane u zwierząt przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3.

Biologiczne skutki wielokrotnego narażenia zwierząt na heksachlorocyklopentadien (HCCP)

Gatunek zwierząt	Czas trwania narażenia	Stężenie/dawka	Objawy	NOAEL	LOAEL	Piśmiennictwo
Narażenie inhalacyjne						
Szczury SD <i>n</i> = 10/płeć/ dawkę	6 h/dzień 5 dni/tydzień 14 dni	0,25 mg/m ³ 1,25 mg/m ³ 5,7 mg/m ³	- zaburzenia oddychania - ciemnoczerwone zabarwienie oczu - uszkodzenie wątroby i ↓ masa ciała w grupie ♀ narażanych na ≥ 1,25 mg/m ³	1,25 mg/m ³	5,7 mg/m ³	<i>Rand</i> i in. 1982; cyt. za EHC 1991 EU 2007
Króliki <i>n</i> = 6 Świnki morskie <i>n</i> = 2 Szczury <i>n</i> = 4 Myszy <i>n</i> = 5	7 h/dzień 5 dni/tydzień 6 tygodni 30 tygodni	3,73 mg/m ³ 1,7 mg/m ³	- 4/6 królików padło po 25 dniach - 4/5 myszy padło	1,7 mg/m ³	3,73 mg/m ³	<i>Treon</i> i in. 1955
Myszy B6C3F1 <i>n</i> = 10/płeć/ dawkę	6 h/dzień 5 dni/tydzień 13 tygodni	0,45 mg/m ³ 1,67 mg/m ³ 4,46 mg/m ³ 11,14 mg/m ³ 22,28 mg/m ³	- padnięcia narażanych zwierząt na związek ≥ 11,14 mg/m ³ - tylny niedowład, apatia u myszy po narażeniu na 4,46 i 11,14 mg/m ³ - zmiany histopatologiczne w układzie oddechowym myszy narażanych na ≥ 1,67 mg/m ³	1,67 mg/m ³	4,46 mg/m ³	NTP 1994
Szczury F344 <i>n</i> = 10/płeć/ dawkę			- tylny niedowład w grupie narażanej ≥ 1,67 mg/m ³ - apatia w grupie ≥ 4,46 mg/m ³ - podrażnienie oczu i zaburzenia w układzie oddechowym w grupie ≥ 11,14 mg/m ³ - ↓ wakuolizacja kory nadnerczy, zwyrodnienie przewodów nasieniowych po ≥ 11,14 mg/m ³			

cd. tab. 3.

Gatunek zwierząt	Czas trwania narażenia	Stężenie/dawka	Objawy	NOAEL	LOAEL	Piśmiennictwo
Małpy <i>Macaca fascicularis</i> <i>n</i> = 6/pleć/ dawkę Szczury SD <i>n</i> = 40/pleć/ dawkę	6 h/dzień 5 dni/tydzień 14 tygodni	0,11 mg/m ³ 0,56 mg/m ³ 2,28 mg/m ³	- ciemnoczerwone zabarwienie oczu w grupie ♂ ≥ 0,56 mg/m ³ - zmiana masy wątroby - zmiany w nerkach	2,28 mg/m ³		EU 2007
Szczury Wistar <i>n</i> = 18/pleć/ dawkę	6 h/dzień 5 dni/tydzień 30 tygodni	0,68 mg/m ³ 1,58 mg/m ³ 6,36 mg/m ³	- 4♂ i 2♀ padły po narażeniu na 6,35 mg/m ³ - ↓ masa ciała ♂ i ♀ - zmiany zwyrodnieniowe w płucach w grupach ♂ i ♀ po 6,35 mg/m ³ - zmiany zwyrodnieniowe w wątrobie i nerkach przy 6,35 mg/m ³ - zmiany hematologiczne w grupie ♀ narażanych na ≥ 1,58 mg/m ³	0,68 mg/m ³	1,58 mg/m ³	Clark i in. 1982; cyt. za EU 2007
Myszy B6C3F1 <i>n</i> = 18/pleć/ dawkę	6 h/dzień 5 dni/tydzień 30 tygodni 2 lata	0,11 mg/m ³ 0,56 mg/m ³ 2,28 mg/m ³	- pigmentacja nabłonka w układzie oddechowym - ropiejące zapalenie jajników u ♀ ≥ 0,56 mg/m ³ - ropne zapalenie nosa u ♂ i ♀ po stężeniu na 2,28 mg/m ³	0,11 mg/m ³		NTP 1994
Szczury F344 <i>n</i> = 10/pleć/ dawkę			- metaplazja nabłonka krtani u ♂ po stężeniu 0,11 i 2,28 mg/m ³ - ziarnistości w cytoplazmie w układzie oddechowym	2,28 mg/m ³		
Szczury F344 <i>n</i> = 5/pleć/ dawkę	12 dni	25 mg/kg 50 mg/kg 100 mg/kg 200 mg/kg 400 mg/kg	Narażenie dożołądkowe - 4/5 ♀ i 5/5 ♂ padło po dawce 400 mg/kg - 4/5 ♀ i 1/5 ♂ padło po dawce 200 mg/kg - ↓ masa ciała po dawce 100 mg/kg - zmiany w ścianie żołądka po dawce 50 mg/kg	25 mg/kg		EHC 1991
Myszy B6C3F1 <i>n</i> = 5/pleć/ dawkę		50 mg/kg 100 mg/kg 200 mg/kg 400 mg/kg 800 mg/kg	- 1/5 padło po dawce 50 mg/kg - 2/5 padło po dawce 200 mg/kg - 5/5 padło po dawce 880 mg/kg	100 mg/kg		
Szczury F344 <i>n</i> = 10/pleć/ dawkę	5 dni/tydzień 13 tygodni	10 mg/kg 19 mg/kg 38 mg/kg 75 mg/kg 150 mg/kg	- ↑ padnięć zwierząt, zespół nerczycowy ≥ 38 mg/kg - uszkodzenie przedżołądka ♀ po 19 mg/kg i ♂ po dawce 38 mg/kg - zahamowanie przyrostu masy ciała - ↑ masy wątroby i nerek u ♀ ≥ 38 mg/kg	>150 mg/kg		

cd. tab. 3.

Gatunek zwierząt	Czas trwania narażenia	Stężenie/dawka	Objawy	NOAEL	LOAEL	Piśmiennictwo
Myszy B6C3F1 <i>n</i> = 10/pleć/ dawkę		19 mg/kg 38 mg/kg 75 mg/kg 150 mg/kg 300 mg/kg	- 10/10 ♂ i 3/10 ♀ padło w ciągu 14 dni po dawce 300 mg/kg - zespół nerczycowy u ♀ po \geq 75 mg/kg	> 300 mg/kg		

Narażenie drogą inhalacyjną

Rand i in. (1982; cyt za EHC 1991; EU RAR 2007) narażali szczury Sprague-Dawley obu płci (*n* = 10/pleć/dawkę) na heksachlorocyklopentadien (HCCP) podawany o stężeniu: 0,25; 1,25 lub 5,7 mg/m³ (0,022; 0,11 lub 0,5 ppm) przez 6 h dziennie przez 5 dni w tygodniu w ciągu 14 dni. W grupie narażanej na związek o największym stężeniu 9 samców i 1 samicę zabito po 5 ÷ 7 narażeniach. U zwierząt stwierdzono: trudności w oddychaniu, bladeść tylnych kończyn oraz ciemnoczerwone zabarwienie oczu. Ponadto samce narażane na związek o średnim i dużym stężeniu znacznie traciły na wadze i miały zmienioną wątrobę. Stężenie 1,25 mg/m³ heksachlorocyklopentadienu uznano za wartość NOAEL, natomiast stężenie 5,7 mg/m³ – za wartość LOAEL.

Treon i in. (1955) przeprowadzili eksperyment na królikach (*n* = 6), świnkach morskich (*n* = 2), szczurach (*n* = 4) i myszach (*n* = 5). Heksachlorocyklopentadien o stężeniu 3,73 mg/m³ (0,33 ppm) podawano zwierzętom 7 h dziennie, 5 dni w tygodniu przez 6 tygodni. Przeżyły świnki morskie, które poddano 30 narażeniom, podczas gdy szczury i myszy nie przeżyły 5 narażeń, a w grupie królików 4/6 nie przeżyło 25 narażeń. W doświadczeniu tym stężenie 3,7 mg/m³ heksachlorocyklopentadienu zostało uznane za wartość LOAEL związku.

Treon i in. (1955) przeprowadzili również eksperyment, stosując heksachlorocyklopentadien o mniejszym stężeniu wynoszącym 1,7 mg/m³ (0,15 ppm), a czas narażenia wydłużyli do 30 tygodni. Wszystkie świnki morskie, króliki i szczury przeżyły 150 narażeń i nie stwierdzono u nich żadnych zmian, natomiast dla myszy stężenie to okazało się za duże i 4/5 zwierząt padło. Stężenie 1,7 mg/m³ heksachlorocyklopentadienu uznano za wartość NOAEL dla szczurów, królików i świnek morskich.

W NTP (1994) przeprowadzono eksperyment na myszach B6C3F1 (*n* = 10/pleć /dawkę) i szczurach F 344 (*n* = 10/pleć/dawkę), które narażano inhalacyjnie na heksachlorocyklopentadien

o stężeniach: 0; 0,45; 1,67; 4,46; 11,14 lub 22,28 mg/m³ (0; 0,04; 0,15; 0,4; 1,0 lub 2,0 ppm), (6 h dziennie, 5 dni w tygodniu) przez 13 tygodni. Autorzy pracy podkreślili, że liczba padnięć zwierząt zarówno w grupie szczurów, jak i myszy była duża. Podanie heksachlorocyklopentadienu o największych 2 stężeniach wywołało padnięcie wszystkich narażanych zwierząt w ciągu pierwszych 5 tygodni trwania eksperymentu. Niedowład tylnych kończyn i apatia obserwowano u myszy narażanych na związek o stężeniach 4,46 lub 11,14 mg/m³. Histopatologiczne zmiany zaobserwowano w układzie oddechowym u myszy obu płci, począwszy od narażenia na związek o stężeniu 4,46 mg/m³ (LOAEL). Zmiany te obejmowały: martwicę, ostre i przewlekłe zapalenie, hyperplazję lub płaskokomórkową metaplazję nabłonka nosa, krtani, tchawicy i oskrzeli. U myszy skutków tych nie zaobserwowano po narażeniu na związek o mniejszym stężeniu i ten poziom uznano za wartość NOAEL dla myszy (1,67 mg/m³).

Kliniczne objawy będące wynikiem narażenia na heksachlorocyklopentadien, to: niedowład tylnych kończyn u wszystkich szczurów narażanych na związek o stężeniu 1,67 mg/m³ i o wszystkich stężeniach większych, apatia u wszystkich szczurów narażanych na związek o stężeniu 4,46 mg/m³ i o wszystkich stężeniach większych oraz podrażnienie oczu i zespół ostrego wyczerpania oddechowego u wszystkich szczurów narażanych na związek o stężeniu 11,14 mg/m³ lub o stężeniach większych. Histopatologiczne zmiany w układzie oddechowym, określane mianem znaczących, stwierdzono u szczurów narażanych na związek o dwóch największych stężeniach. Zmiany o małym stopniu obserwowano w grupie zwierząt narażanych na heksachlorocyklopentadien o stężeniu 4,46 mg/m³ (LOAEL). Zmian takich nie odnotowano po narażeniu na związek o mniejszym stężeniu, więc stężenie 1,67 mg/m³ heksachlorocyklopentadienu przyjęto za wartość NOAEL (szczury). Ponadto u szczurów obu płci narażanych na heksachlorocyklopentadien o dwóch największych stę-

żeńiach stwierdzono zmniejszoną wakualizację kory nadnerczy oraz zwyrodnienie przewodów nasiennych u samców. Nie stwierdzono natomiast działania nefrotoksycznego heksachlorocyklopentadienu ani też działania toksycznego na szpik kostny.

Na małpach *Macaca fascicularis* przeprowadzono 14-tygodniowy eksperyment inhalacyjny ($n = 6/\text{płeć}/\text{dawkę}$) i szczurach Sprague-Dawley ($n = 40/\text{płeć}/\text{dawkę}$), które poddano w ciągu 5 dni w tygodniu narażeniu na heksachlorocyklopentadien o stężeniach: 0; 0,11; 0,56; 2,28 mg/m^3 przez 6 h dziennie. W grupie narażanych małp nie stwierdzono: zwiększonej liczby padnięć zwierząt, szkodliwych skutków klinicznych, zaburzeń przyrostu masy ciała, funkcjonowania płuc, uszkodzenia oczu czy nieprawidłowości histopatologicznych. Na tej podstawie przyjęto stężenie 2,28 mg/m^3 heksachlorocyklopentadienu za wartość NOAEL. Natomiast w grupie samców szczurów narażanych na związek o stężeniu 0,56 lub 2,28 mg/m^3 stwierdzono przejściowy ciemnoczerwony kolor oczu. W dwunastym tygodniu trwania narażenia stwierdzono: wzrost (statystycznie nieznamienne) stężenia hemoglobiny i liczby erytrocytów we krwi narażanych na heksachlorocyklopentadien o stężeniu 0,11 mg/m^3 , samic narażanych na związek o stężeniu 0,56 mg/m^3 oraz samców i samic narażanych na związek o stężeniu 2,28 mg/m^3 . We wszystkich narażanych grupach stwierdzono ponadto niewielkie zmiany w masie wątroby (zmniejszenie o 3 ÷ 14%) i nerek (zmniejszenie o 10 ÷ 11%) we wszystkich grupach narażanych samców szczurów. Badania makro- i mikroskopowe nie wykazały znaczących zaburzeń funkcji tych narządów. Na tej podstawie przyjęto stężenie 2,28 mg/m^3 za wartość NOAEL heksachlorocyklopentadienu (EU RAR 2007).

Clark i in. (1982, cyt. za EU RAR 2007) opisał doświadczenie, w którym szczury Wistar narażano inhalacyjnie na heksachlorocyklopentadien przez 30 tygodni. W eksperymencie tym liczebność grup wynosiła $n = 18/\text{płeć}/\text{dawkę}$. Szczury narażano 6 h dziennie przez 5 dni w tygodniu na związek o stężeniach: 0,68; 1,58 lub 6,35 mg/m^3 (0,06; 0,14 lub 0,56 ppm). Po zakończeniu narażenia obserwacje zwierząt prowadzono jeszcze przez 14 tygodni. W grupie narażanej na heksachlorocyklopentadien o największym stężeniu w trakcie eksperymentu padły, prawdopodobnie w wyniku odoskrzelowego zapalenia płuc, 4 samce i 2 samice. Zahamowanie przyrostu

masy ciała, w porównaniu ze zwierzętami w grupie kontrolnej, odnotowano już w 7. tygodniu trwania eksperymentu w grupie samców narażanych na związek o największym stężeniu. Podobny skutek, lecz słabiej zaznaczony, obserwowano w grupie samic narażanych na związek o dwóch największych stężeniach. W grupie zarówno samic, jak i samców narażanych na związek o największym stężeniu stwierdzono zmiany degeneracyjne w płucach, poczynając od hiperplazji nabłonka do owrzodzenia i martwicy. Autorzy podkreślali jednak, że zmiany te były większe w grupie samców. Nie obserwowano zmian zwyrodnieniowych w płucach w grupach narażanych na heksachlorocyklopentadien o stężeniach 0,68 lub 1,58 mg/m^3 . Narażenie na związek o największym stężeniu wywołało również zmiany zwyrodnieniowe w wątrobie (rozrost przewodników wątrobowych w mięszu wątroby) i nerkach (wałeczki szkliste) u kilku szczurów. Inne zmiany odnotowane w grupie samic narażonych na związek o stężeniach 1,58 lub 6,34 mg/m^3 , to: znaczący wzrost średniej liczby erytrocytów, stężenia hemoglobiny i bezwzględnej liczby neutrofilii oraz znaczące zmniejszenie liczby limfocytów. Nie stwierdzono różnic w: zużyciu paszy, klinicznych parametrach krwi czy parametrach moczu. Wartość NOAEL wyniosła 0,68 mg/m^3 , zaś wartość LOAEL – 1,58 mg/m^3 (EU RAR 2007).

Z badań NTP (1994) pochodzi opis 2-letniego eksperymentu przeprowadzonego na myszach B6C3F1 ($n = 10/\text{płeć}/\text{dawkę}$) i szczurach F-344 ($n = 10/\text{płeć}/\text{dawkę}$). Zwierzęta narażano inhalacyjnie 6 h dziennie przez 5 dni w tygodniu na heksachlorocyklopentadien o stężeniach: 0; 0,11; 0,56; 2,28 mg/m^3 (0; 0,01; 0,05 lub 0,2 ppm). W grupie samic szczurów narażanych na związek o stężeniach: 0,11 lub 2,28 mg/m^3 stwierdzono znaczący wzrost przypadków płaskonabłonkowej metaplastji nabłonka w krtani. Ponadto u obu płci zwierząt stwierdzono, zależny od wielkości narażenia, wzrost żółtobrazowych ziarnistości w cytoplazmie komórek nabłonka nosa, tchawicy i płuc. Stężenie 2,28 mg/m^3 heksachlorocyklopentadienu przyjęto za wartość NOAEL dla szczurów. Również w grupie narażanych myszy (obu płci) zaobserwowano skorelowany z wielkością stężenia heksachlorocyklopentadienu wzrost pigmentacji nabłonka oddechowego: nosa, tchawicy i płuc. W grupie samic stwierdzono ponadto, zależny od wielkości dawki, wzrost przypadków ropiejącego zapalenia jajników, statystycznie zna-

mienny po narażeniu na związek o stężeniu 0,56 lub 2,28 mg/m³. Narażenie na związek o największym stężeniu heksachlorocyklopentadienu wywołało u samic i samców myszy ropne zapalenie nosa. Na tej podstawie przyjęto stężenie 0,11 mg/m³ heksachlorocyklopentadienu za wartość NOAEL dla myszy, a stężenie 2,28 mg/m³ za wartość LOAEL. Pigmentację obserwowano we wszystkich obszarach układu oddechowego po narażeniu na związek o największym stężeniu, natomiast w grupach narażanych na związek o mniejszych stężeniach tylko w proksymalnej części układu oddechowego.

Narażenie drogą dożołądkową

W The Southern Research Institute (SRI 1980; cyt. za EHC 1991) przeprowadzono eksperyment na szczurach F-344 i myszach B6C3F1 ($n = 5/\text{płeć}/\text{dawkę}$), którym podawano dożołądkowo dawki: 0; 25; 50; 100; 200 lub 400 mg/kg (szczury) oraz 0; 50; 100; 200; 400 lub 800 mg/kg (myszy) heksachlorocyklopentadienu (HCCP) rozpuszczonego w oleju kukurydzianym. Związek podawano przez 12 dni, ale w interwałach, między 1. ÷ 5. i 8. ÷ 12. dniem oraz 15. i 16. dnia. W grupie szczurów po narażeniu na dawkę 400 mg/kg padły wszystkie samce i 4/5 samic, natomiast po narażeniu na dawkę 200 mg/kg padł 1 samiec na 5 samców i padły 4 samice na 5 samic. Autorzy pracy zanotowali znaczące zmniejszenie masy ciała po dawce 100 mg/kg, któremu nie towarzyszyły zagrażające życiu objawy kliniczne, a po dawce 50 mg/kg stwierdzono ostre zmiany w ścianie żołądka (brak informacji o rodzaju zmian) przy braku objawów klinicznych. Wartość NOAEL dla szczurów wyznaczono na poziomie 25 mg/kg. W grupie myszy narażanych na dawkę 800 mg/kg padły wszystkie osobniki, natomiast po narażeniu na

dawki 200 lub 50 mg/kg padły odpowiednio 2 zwierzęta i 1 zwierzę. Wartość NOAEL dla myszy wyniosła 100 mg/kg.

Autorzy tych badań przeprowadzili również eksperyment, w którym szczurom F-344 i myszom B6C3F1 ($n = 10/\text{płeć}/\text{dawkę}$) podawano dożołądkowo (sondą) przez 5 dni w tygodniu dawki: 19; 38; 75; 150 lub 300 mg/kg (myszy) i 10; 19; 38; 75 lub 150 mg/kg (szczury) heksachlorocyklopentadienu przez 13 tygodni (91 dni). W grupie myszy największa dawka heksachlorocyklopentadienu spowodowała padnięcie wszystkich samców w ciągu 8 dni oraz 3 samic w ciągu 14 dni. W grupach samic narażanych na dawkę 75 mg/kg i większe dawki związku stwierdzono wystąpienie zespołu nerczycowego, który charakteryzował się rozszerzeniem kanalików proksymalnych z bazofilią w strefie korowej i wakuolizacją cytoplazmy. Zmian takich nie zanotowano u samców narażanych na takie same dawki. Narażenie na dawkę 38 mg/kg lub dawki większe związku wywołało u myszy obu płci uszkodzenie przedżołądka oraz zwiększenie masy wątroby i nerek. Wartość NOAEL ustalono na 19 mg/kg, a wartość LOAEL – 38 mg/kg. W grupie szczurów obu płci zwiększona liczba padnięć zwierząt oraz zespół nerczycowy obserwowano po narażeniu na dawki 38 mg/kg i większe. Uszkodzenie przedżołądka zanotowano w grupie samic po narażeniu na dawkę 19 mg/kg heksachlorocyklopentadienu, a w grupie samców po narażeniu na dawkę 38 mg/kg. W badaniu tym wykazano ponadto zależne od wielkości dawki zahamowanie przyrostu masy ciała, a u samic – wzrost masy wątroby i nerek. Wartość NOAEL heksachlorocyklopentadienu dla szczurów wynosiła 10 mg/kg, a wartość LOAEL – 19 mg/kg (EHC 1991).

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Wyniki badań nad mutagennym i genotoksycz-

nym działaniem heksachlorocyklopentadienu (HCCP), (EU RAR 2007; NTP 1994; EHC 1991) przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4.

Badanie działania mutagennego i genotoksycznego heksachlorocyklopentadienu (HCCP)

Rodzaj testu	Rodzaj komórek	Wielkość dawki	Rozpuszczalnik	Wynik	
				aktywacja	bez aktywacji
W warunkach in vitro					
Mutacje genowe (test Ames)	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 1535; TA 1538; <i>Escherichia coli</i> K12	$2,7 \cdot 10^{-3}$ i $2,7 \cdot 10^{-4}$ M	bd	–	–
	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98; TA 100; TA 1535; TA 1537	0,00004 ÷ 0,004 µl/płytkę i 0,00004 ÷ 0,010 µl/płytkę	etanol	–	–
	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98; TA 100; TA 1535; TA 1537	0,03 ÷ 100 µg/płytkę	DMSO	–	–
Mutacje genowe (test TK)	komórki mysie L5178Y	do 1,25 µl/l	DMSO	–	–
Wymiana chromatyd siostrzanych	komórki chomika chińskiego	0,016 ÷ 0,50 µg/ml i 0,16 ÷ 5,0 µg/ml	DMSO	+ (słabo)	+ (słabo)
Aberracje chromosomowe	komórki chomika chińskiego	0,5 ÷ 3,0 µg/ml	DMSO	+ (słabo)	+ (słabo)
W warunkach in vivo					
Test recesywnych mutacji letalnych (SLRL)	<i>Drosophila melanogaster</i>	40 ppm	etanol	–	–
Test mikrojądrowy	erytrocyty myszy B6C3F ₁	inhalacyjnie 0,11 ÷ 2,28 mg/m ³ ; 6 h/dzień; 5 dni/tydzień; 13 tygodni	bd	–	–

Badanie mutacji genowych przeprowadzono na szczepach *Salmonella* Typhimurium TA1535 i 1538 oraz *Escherichia coli* K12. W eksperymencie stosowano HCCP/płytkę w ilości $2,7 \cdot 10^{-3}$ i $2,7 \cdot 10^{-4}$ zarówno w obecności, jak i przy braku systemu aktywacyjnego (frakcja S9). W każdym przypadku odnotowano wynik ujemny.

Heksachlorocyklopentadien po rozpuszczeniu w etanolu badano w teście Ames z użyciem szczepów *Salmonella* Typhimurium: TA98, TA100, TA1535 i TA1537. Zastosowane w doświadczeniu stężenia związku mieściły się w granicach 0,00004 ÷ 0,004 µl/płytkę (z dodatkiem frakcji S9) oraz 0,00004 ÷ 0,010 µl/płytkę (bez dodatku frakcji S9). Pomimo niewielkiego wzrostu liczby rewertantów po aktywacji metabolicznej heksachlorocyklopentadien został uznany za związek niepowodujący mutacji genowych.

Heksachlorocyklopentadien rozpuszczony w DMSO stosowano na szczepach *Salmonella* Ty-

phimurium: TA98, TA100, TA1535 i TA1537 z dodatkiem frakcji S9 i bez dodatku frakcji S9. Testowano związek o 5 stężeniach w zakresie 0,03 ÷ 100 µl/płytkę i nie stwierdzono jego działania mutagennego.

Działanie genotoksyczne heksachlorocyklopentadienu (po rozpuszczeniu w DMSO) badano w teście wymiany chromatyd siostrzanych (SCE) na komórkach chomika chińskiego (CHO). Zakres stosowanych stężeń wynosił 0,016 ÷ 0,50 µl/ml (bez frakcji S9) oraz 0,16 ÷ 5,0 µl/ml (z dodatkiem frakcji S9). W obu przypadkach uzyskano wyniki określane jako słabo dodatnie.

Zdolność do indukowania aberracji chromosomowych badano na komórkach jajnika chomika chińskiego. W teście badano 3 warianty:

- stężenie HCCP 0,5 ÷ 3,0 µl/ml DMSO (-S9)
- stężenie HCCP 1,6 ÷ 10,0 µl/ml DMSO (+S9)

- stężenie HCCP $3,0 \div 7,5$ $\mu\text{l/ml}$ DMSO (+S9).

Wyniki uzyskane we wszystkich przypadkach określono jako słabo pozytywne.

Drosophila melanogaster (samce) narażano na podawany z dietą heksachlorocyklopentadien o stężeniach 40 ppm (w 10-procentowym etanolu i 5-procentowej sacharozie) oraz w postaci iniekcji o stężeniu 900 ppm (w 0,9-procentowym NaCl). W żadnym przypadku nie wykazano działania genotoksycznego związku.

Test mikrojądrowy wykonano na erytrocytach krwi obwodowej myszy B6C3F1. Zwierzęta (10/pleć/grupę) narażano inhalacyjnie na heksachlorocyklopentadien o stężeniach: 0; 0,11; 0,56; 2,28 mg/m^3 (co odpowiadało: 0; 0,01; 0,05; 0,2 ppm). Narażenie trwało 6 h dziennie, 5 dni w tygodniu przez 13 tygodni. W uzyskanych w tych warunkach wynikach nie zanotowano statystycznie znamiennych różnic między zwierzętami z grupy kontrolnej a narażanymi.

Działanie rakotwórcze

Dane dotyczące rakotwórczego działania heksachlorocyklopentadienu (HCCP) po podaniu dożładowym lub na skórę są niedostateczne.

Wyniki kilku badań epidemiologicznych przeprowadzonych na ludziach, pracownikach zakładów chemicznych, w których heksachlorocyklopentadien jest używany bezpośrednio i/lub jako półprodukt, nie wskazują na działanie rakotwórcze tego związku.

Badanie działania rakotwórczego heksachlorocyklopentadienu przeprowadzono w ramach projektu NTP (1994) na myszach i szczurach w warunkach dwuletniego narażenia (badanie opisane w rozdziale „Działanie toksyczne na zwierzęta”). W tym eksperymencie nie stwierdzono wzrostu przypadków nowotworów zarówno u narażanych myszy, jak i szczurów, które mogłyby być związane z narażeniem na heksachlorocyklopentadien. Odnotowane przypadki (5/50) pęcherzykowego/oskrzelikowego raka u samców myszy narażanych na heksachlorocyklopentadien o stężeniu $0,56 \text{ mg/m}^3$ (0,5 ppm) przez 26 tygodni lub przez 42 tygodnie (6/50) były znacząco częstsze niż w grupie kontrolnej (0/49). Jednak według autorów pracy wzrost ten nie był wyraźnie związany z narażeniem na heksachlorocyklopentadien. W grupach o różnym czasie (42 i 104 tygodnie) i

wielkości narażenia ($0,56$ lub $2,26 \text{ mg/m}^3$) stwierdzono podobną liczbę przypadków wystąpienia mieszanych (pęcherzykowo/oskrzelikowych) gruczolaków lub raków (14/50 i 16/50).

Na podstawie wyników tego badania heksachlorocyklopentadien nie jest uważany za związek rakotwórczy. W ACGIH (2001) zaklasyfikowano heksachlorocyklopentadien do grupy A4 – związek nieklasyfikowany jako rakotwórczy dla ludzi. Tezę tę potwierdzają wyniki badań dotyczących działania genotoksycznego związku oraz badań epidemiologicznych (NTP 1994; EU RAR 2007; EHC 1991).

Działanie embriotoksyczne, teratogenne i wpływ na rozrodczość

W dwu 13-tygodniowych inhalacyjnych eksperymentach przeprowadzonych przez NTP (1994) na szczurach F-344/N i myszach B6C3F1 (warunki eksperymentu opisane w rozdziale „Działanie toksyczne na zwierzęta”) przeprowadzono badanie histopatologiczne narządów płciowych: jąder, najądrzy, prostaty, jajników, macicy oraz gruczołów sutkowych. W żadnym narządzie nie stwierdzono zmian, jednak autorzy sądzą, iż być może zbyt szybkie padnięcia zwierząt narażanych na heksachlorocyklopentadien o największym stężeniu uniemożliwiło pojawienie się zmian chorobowych w badanych narządach.

Rand i in. (1982, cyt. za EU RAR 2007) narażali inhalacyjnie przez 14 tygodni szczury Sprague-Dawley i małpy *Cynomolgus* na heksachlorocyklopentadien (warunki eksperymentu opisane w rozdziale „Działanie toksyczne na zwierzęta”). Badaniem histopatologicznym objęto: jądra, prostatę, pęcherzyki nasienne, jajniki i macicę. W żadnym narządzie nie odnotowano znacząco istotnych zmian.

Szczury Wistar narażano na heksachlorocyklopentadien podawany inhalacyjnie przez 30 tygodni (warunki eksperymentu opisane w rozdziale „Działanie toksyczne na zwierzęta”). W badaniu histopatologicznym narządów płciowych nie wykazano istotnych zmian (EU RAR 2007).

W 2-letnim eksperymencie przeprowadzonym przez NTP (1994) szczury F-344/N i myszy B6C3F1 narażano inhalacyjnie na heksachlorocyklopentadien (warunki eksperymentu opisane w rozdziale „Działanie toksyczne na zwierzęta”). Badanie histopatologiczne: jąder, najądrzy, prostaty, pęcherzyków nasiennych, jajników, macicy

i gruczołów sutkowych ujawniło brak skutków związanych z narażeniem na heksachlorocyklopentadien. Zaobserwowano natomiast zależny od wielkości stężenia wzrost częstości występowania ropnego zapalenia jajników u samic myszy. Statystycznie znamiennej wzrost występowania zapalenia dotyczył grup narażanych na związki o stężeniu 0,56 lub 2,28 mg/m³. Według autorów opracowania uszkodzenie to u wielu samic było na tyle poważne, że doprowadziło do wcześniejszego padnięcia zwierzęcia.

Badanie histopatologiczne narządów płciowych (pęcherzyków nasiennych, prostaty, jąder, gruczołów sutkowych, jajników i macicy) wykonano u zwierząt, szczurów F-344 i myszy B6C3F1, narażanych na heksachlorocyklopentadien podawany dożołądkowo przez 13 tygodni (warunki eksperymentu opisane w rozdziale „Działanie toksyczne na zwierzęta”). Nie stwierdzono znaczących, istotnych zmian w badanych narządach.

Chernoff i *Kavlock* (1982; 1983, cyt. za EU RAR 2007) podawali dożołądkowo heksachlorocyklopentadien 16 ciężarnym myszom CD-1 (Charles River) w dawkach 0 lub 45 mg/kg/dzień przez okres od 8. do 12. dnia ciąży. Na podstawie takich parametrów, jak: przyrost masy ciała matki, liczebność płodów oraz średnia masa ciała płodów nie stwierdzili oni różnic między zwierzętami z grupy kontrolnej a z grupy narażanej.

W podobnym doświadczeniu *Gray* i in. (1983, cyt. za EU RAR 2007) nie stwierdzili skutków działania heksachlorocyklopentadienu na pourodzeniowy wzrost i zachowanie myszy.

Gray i in. (1986, cyt. za EU RAR 2007) badali aktywność lokomotoryczną potomstwa po prenatalnym narażeniu na heksachlorocyklopentadien. Nie stwierdzili oni żadnych negatywnych skutków działania heksachlorocyklopentadienu. Na podstawie wyników tych doświadczeń ustalono wartość NOAEL (toksyczność maczyna i rozwojowa) na poziomie 45 mg/kg m.c./dzień.

Badanie działania teratogennego heksachlorocyklopentadienu przeprowadzono na ciężarnych samicach szczurów Charles River CD-1. Heksachlorocyklopentadien, po rozpuszczeniu związku w oleju kukurydzianym, podawano sondą dożołądkowo w dawkach: 3; 10 lub 30 mg/kg m.c./dzień przez okres od 6. do 15. dnia ciąży ($n = 25$ /dawkę). Grupę kontrolną stanowiły zwierzęta

otrzymujące dawkę 10 ml/kg m.c./dzień oleju. W trakcie trwania ciąży obserwowano samice pod kątem: zmian klinicznych, padnięć zwierząt oraz zmian masy ciała. W drugim dniu trwania ciąży wykonano cesarskie cięcie. Wszystkie zwierzęta przeżyły eksperyment. Nie stwierdzono różnic w przyroście masy ciała między zwierzętami z grupy badanej a z grupy kontrolnej. Nie stwierdzono również zmian: średniej liczebności implantów, żywotności płodów, średniej masy ciała płodów, wad rozwojowych, jak i współczynnika płci w porównaniu z grupą kontrolną. Wartość NOAEL ustalono na poziomie 30 mg/kg m.c./dzień (EHC 1991; RAR 2007).

Murray i in. (1980) przeprowadzili badanie teratogennego działania heksachlorocyklopentadienu na myszach CF-1 ($n = 5$ /dawkę) i królikach New Zealand ($n = 5$ /dawkę). Myszy otrzymywały dożołądkowo dawki: 0; 5; 25 lub 75 mg/kg/dzień heksachlorocyklopentadienu przez okres od 6. do 16. dnia ciąży. Króliki otrzymywały te same dawki w czasie od 6. do 18. dnia trwania ciąży. W trakcie trwania doświadczenia nie stwierdzono istotnych różnic w liczbie padnięć zwierząt między grupami badanymi a grupami kontrolnymi. U myszy nie stwierdzono toksycznego działania heksachlorocyklopentadienu na matkę, jak również działania embriotoksycznego ani teratogennego. W grupie narażanych królików działanie toksyczne heksachlorocyklopentadienu dla matek stwierdzono po dawce 75 mg/kg, co objawiało się: biegunką, zmniejszeniem masy ciała i zwiększoną liczbą padnięć zwierząt. Po mniejszych dawkach heksachlorocyklopentadienu nie stwierdzono ewidentnych skutków toksycznego działania związku na matki. W żadnej z badanych grup nie stwierdzono działania embriotoksycznego związku po żadnej ze stosowanych dawek heksachlorocyklopentadienu. Jednakże stwierdzono 2-krotny wzrost częstości występowania, w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej, zmian szkieletowych dotyczących 13. pary żeber w grupie narażanej na dawkę 75 mg/kg. Autorzy ocenili te zmiany jako niewielkie i uznali heksachlorocyklopentadien za substancję nie działającą teratogenicznie w żadnej badanej dawce. Na podstawie otrzymanych wyników ustalono wartość NOAEL (działanie embriotoksyczne i teratogenne) dla królików na poziomie 25 mg/kg, a dla myszy na poziomie 75 mg/kg (tab. 5).

Tabela 5.

Proponowane wartości NOAEL i LOAEL dla heksachlorocyklopentadienu (HCCP)

Gatunek zwierząt	Czas narażenia	Wartość NOAEL	LOAEL		Piśmiennictwo
			wartości	objawy	
Narażenie drogą inhalacyjną					
Szczury SD	2 tygodnie	1,25 mg/m ³	5,7 mg/m ³	↓ masy ciała, zaburzenia układu oddechowego	Rand i in. 1982 EHC 1991
Szczury Myszy Króliki Świnki morskie	6 tygodni	–	3,7 mg/m ³	↑ padnięcia zwierząt	Treon i in. 1955
Szczury F-344 Myszy B6C3F1	13 tygodni	1,67 mg/m ³ 1,67 mg/m ³	4,46 mg/m ³ 4,46 mg/m ³	↓ masy ciała, zaburzenia układu oddechowego	NTP 1994
Szczury SD Małpy <i>Macaca fascicularis</i>	14 tygodni	2,28 mg/m ³	–	–	Rand i in. 1982
Szczury Wistar	30 tygodni	0,68 mg/m ³	1,58 mg/m ³	↓ liczby erytrocytów, Hb, Ht, neutrofilii ↑ liczby limfocytów	Clark i in. 1982
Szczury Myszy Króliki Świnki morskie	30 tygodni	1,7 mg/m ³	> 1,7 mg/m ³	↑ padnięcia zmiany w wątrobie i nerkach	Treon i in. 1955
Szczury F-344 Myszy B6C3F1	2 lata	2,28 mg/m ³ 0,11 mg/m ³	– –	– ↑ częstość ropnego zapalenia jajników	NTP 1994
Narażenie drogą dożołądkową					
Szczury F-344 Myszy B6C3F1	12 dni	25 mg/kg 100 mg/kg	– –	uszkodzenie przedżołądka	EHC 1991 EU RAR 2007
Szczury F-344 Myszy B6C3F1	13 tygodni	10 mg/kg 19 mg/kg	19 mg/kg 38 mg/kg	↑ względnej masy nerek ↑ względnej masy nerek i wątroby	
Wpływ na rozrodczość					
Szczury F-344 Myszy B6C3F1	13 tygodni	>150 mg/kg > 300 mg/kg	– –	– –	NTP 1994
Działanie embriotoksyczne i teratogenne					
Myszy CD-1	organogeneza	45 mg/kg	–		Chernoff, Kavlock 1982 EU RAR 2007
Szczury Charles River CD-1	organogeneza	30 mg/kg	–		EHC 1991; EU RAR 2007
Myszy CF-1 Króliki New Zealand	organogeneza	75 mg/kg 25 mg/kg			

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie

Yu i Atallah (1981, cyt. za NTP 1994; EHC 1991; EU RAR 2007) wykazali, że heksachlorocyklopent-

tadien (HCCP) jest słabo absorbowany po podaniu drogą dożołądkową. Podawali oni jednorazową dawkę ¹⁴C-HCCP (o 99-procentowej czystości) szczurom Sprague-Dawley (6♂;21♀) dwoma dro-

gami: dożołądkową i dożylną. W pierwszym przypadku związek rozpuszczano w 0,5 ml oleju kukurydzianego i podawano sondą dawkę 25 mg/kg, natomiast drogą dożylną ^{14}C -HCCP podawano dawkę 0,73 mg/kg (po rozpuszczeniu w 0,3 ml 20-procentowego roztworu Emulphor EL0620). Po dożołądkowym podaniu heksachlorocyklopentadienu stężenie węgla ^{14}C we krwi rosło stopniowo, osiągając maksymalne stężenie w 4 h po podaniu, natomiast po 24 h wartość ta była już ponad 2-krotnie mniejsza. Podobną tendencję zmian stężenia węgla ^{14}C zaobserwowano po dożylnym podaniu związku.

Lawrence i Dorough (1981) sprawdzali retencję ^{14}C -HCCP podawanego drogą inhalacyjną (1-godzinne narażenie przez nos) samicom szczurów Sprague-Dawley. W eksperymencie zastosowali dawki: 1,4; 17,3 lub 37,4 μg ^{14}C -HCCP/kg. Autorzy wykazali, że retencja tego związku wynosiła 84% i nie zależała od wielkości dawki. Podobny eksperyment autorzy przeprowadzili w 1982 r. i wykazali 91-procentową retencję po 1,5 h i 95-procentową retencję po 2 h inhalacji zarówno na małe ($1 \div 5 \mu\text{g}/\text{kg}$), jak i duże ($30 \div 40 \mu\text{g}/\text{kg}$) dawki ^{14}C -HCCP. Lawrence i Dorough (1982) mierzyli we krwi stężenie węgla ^{14}C po podaniu 10 μg ^{14}C -HCCP/kg (rozpuszczonego w 0,5 ml oleju kukurydzianego) drogą dożołądkową, inhalacyjną (1 h) i dożylną (rozpuszczony w 0,2 ml DMSO). Wykazali oni, że największe stężenie węgla ^{14}C uzyskane we krwi po narażeniu dożołądkowym stanowiło 1/5 stężenia po narażeniu inhalacyjnym i około 1/50 po podaniu dożylnym. Wyniki te potwierdziły tezę Yu i Atallah (1981, cyt. za NTP 1994; EHC 1991; EU RAR 2007) o słabym wchłanianiu heksachlorocyklopentadienu po podaniu dożołądkowym.

Nie ma w dostępnym piśmiennictwie danych toksykokinetycznych dotyczących wchłaniania związku przez skórę, niemniej jednak na podstawie wyników badań nad toksycznością ostrą heksachlorocyklopentadienu wiadomo, że może on wchłaniać się przez skórę.

Rozmieszczanie i metabolizm

Mehendale (1977) podawał samcom szczurów Sprague-Dawley (225 \div 250g) dożołądkowo 5 μmol ^{14}C -HCCP rozpuszczonego w 0,2 ml oleju kukurydzianego (około 5,5 mg/kg). Całkowita aktywność węgla ^{14}C wynosiła około 1 μCi . Zwierzęta umieszczano w klatkach metabolicz-

nych umożliwiających zbiórkę moczu i kału (przez 7 dni). W trakcie sekcji zwierząt do badań pobierano: wątrobę, nerki, płuca, tkankę tłuszczową, tkankę mięśniową i krew. Po 7 dniach największe stężenia węgla ^{14}C odnotowano w nerkach (0,5% podanej dawki), w wątrobie (< 0,5% podanej dawki), natomiast w pozostałych narządach stwierdzono tylko jego śladowe ilości. W organicznych ekstraktach moczu metodą chromatografii cienkowarstwowej (TLC) stwierdzono obecność czterech metabolitów (niezidentyfikowanych chemicznie).

Yu i Atallah (1981, cyt. za NTP 1994; EHC 1991; EU RAR 2007) analizowali poziom radioaktywności węgla ^{14}C po dożołądkowym podaniu szczurom Sprague-Dawley ^{14}C -HCCP w dawce 25 mg/kg po: 8, 24, 48 lub 72 h od podania. Pomiar radioaktywności dotyczył następujących tkanek: mózgu, serca, płuc, tkanki tłuszczowej i mięśniowej, gonad, macicy, śledziony, nerek, wątroby, krwi, przewodu pokarmowego, skóry, pęcherza moczowego. Po 8 h największą radioaktywność stwierdzono w nerkach i w wątrobie, następnie we krwi oraz w: gonadach, tkance tłuszczowej i płucach. W 24 i 48 h po podaniu nerki i wątroba nadal miały najwyższy poziom radioaktywności.

Stężenie w tkankach po podaniu dożylnym mierzono po 24 i 48 h od podania. Również w tym przypadku największe stężenia dotyczyły nerek, a następnie: krwi, śledziony i wątroby. Po 48 h największe stężenie występowało w śledzionie i we krwi, następnie w nerkach. Dane te wskazują, że rozmieszczenie tkankowe heksachlorocyklopentadienu i jego metabolitów po podaniu dożołądkowym było podobne w czasie 8 \div 72 h z największymi stężeniami w nerkach i wątrobie. Po podaniu dożylnym heksachlorocyklopentadien i jego metabolity były rozmieszczane głównie w nerkach, ale także we krwi, w śledzionie i wątrobie stężenia były duże. Na podstawie uzyskanych wyników potwierdzono, że chociaż rozmieszczanie heksachlorocyklopentadienu i jego metabolitów zależało od drogi podania, to największe stężenia związku odnotowano w nerkach i wątrobie, zarówno po podaniu dożołądkowym, jak i dożylnym. Wykazano również, że heksachlorocyklopentadien i jego metabolity utrzymują się w tkankach dłużej po podaniu dożylnym niż po podaniu dożołądkowym. Autorzy pracy sugerują, że mniejsza retencja dożołądkowej dawki heksachlorocyklopentadienu jest wynikiem słabej absorpcji w jelitach. Na podstawie danych uzyskanych we krwi po podaniu do-

żylnym autorzy pracy zaproponowali model 2-przedziałowy otwarty. Zgodnie z tym modelem heksachlorocyklopentadien jest szybko metabolizowany i rozmieszczany w centralnym kompartmentcie (krwi, wątrobie, nerkach, płucach), a następnie stopniowo ulega redystrybucji do kompartmentu drugorzędowego (tkanki tłuszczowej). Używając tego modelu, ustalono wartość $t_{1/2} = 32$ h. Nie zaproponowano takiego modelu po dożołądkowym podaniu związku.

Lawrence i Dorough (1981) zbadali różnice w rozmieszczaniu ^{14}C -HCCP podawanego inhalacyjnie (24 $\mu\text{g}/\text{kg}$ przez 1 h) i dożołądkowo (6 mg/kg w 0,5 ml oleju kukurydzianego) samicom szczurów Sprague-Dawley. Po 72 h w pobranych od zwierząt tkankach (tchawica, płuca, wątroba, nerki, szkielet) oznaczano ilość ^{14}C . Po podaniu związku drogą inhalacyjną stwierdzono: 7,8% podanej dawki w szkielecie, 2% w płucach, 0,8% w nerkach i 0,4% w wątrobie. Po podaniu dożołądkowym szkielet zatrzymał 0,87% podanej dawki, nerki 0,47%, wątroba 0,39%, a inne tkanki < 1%.

W podobnym doświadczeniu Lawrence i Dorough (1982, cyt. za EPA 2001) oznaczali dystrybucję ^{14}C -HCCP u samic szczurów Sprague-Dawley po podaniu dożołądkowym (6 mg/kg), dożylnym (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) i inhalacyjnym (24 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Po 72 h od podania oznaczono poziom ^{14}C w: tarczycy, płucach, wątrobie, nerkach, tkance tłuszczowej i pozostałości szkieletu. Po narażeniu inhalacyjnym największą radioaktywność odnotowano w tarczycy, następnie w płucach i nerkach. Po podaniu dożołądkowym największe stężenia dotyczyły: nerek, wątroby i płuc. W wyniku dożylnego narażenia największe stężenia odnotowano w nerkach, a następnie w: płucach, wątrobie i tarczycy. Te dane są spójne z danymi uzyskanymi w doświadczeniu przeprowadzonym przez tych samych autorów rok wcześniej. Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że rozmieszczanie związku zależy od drogi podania i po narażeniu dożołądkowym i dożylnym największe stężenia znajdowały się w nerkach, a następnie w wątrobie i płucach, podczas gdy po narażeniu inhalacyjnym największe stężenia odnotowano w tarczycy, a następnie w płucach i nerkach. Znaczące stężenie w tkance tłuszczowej odnotowano tylko po narażeniu dożołądkowym.

Podobne wyniki uzyskano w doświadczeniu przeprowadzonym przez Dorough i Ranieri, którzy badali rozmieszczanie radioaktywnego heksachlorocyklopentadienu u szczurów i myszy (1984,

cyt. za EPA 2001). Szczury (samice i samce Sprague-Dawley) i myszy otrzymywały dożołądkowo ^{14}C -HCCP w dawkach 2,5 lub 25 mg/kg (w oleju kukurydzianym). Bez względu na podaną dawkę związku największą radioaktywność u szczurów odnotowano w nerkach, a u myszy w wątrobie w 1. i 7. dniu po narażeniu. Badanie rozmieszczenia autorzy pracy przeprowadzili po narażeniu zwierząt na heksachlorocyklopentadien podawany wraz z dietą w dawkach 1,5 lub 25 ppm. Po 15 dniach trwania narażenia pomiar radioaktywności w tkankach samic narażanych szczurów wykazał, że największe stężenie heksachlorocyklopentadienu, bez względu na wielkość dawki, stwierdzono w nerkach i tkance tłuszczowej, a następnie w gonadach i wątrobie. Podobne wyniki uzyskano, badając tkanki pobrane od samców narażanych szczurów, z tym, że wyższy poziom radioaktywności niż w gonadach odnotowano w wątrobie. Natomiast badanie tkanek pobranych od narażanych myszy wykazało, że zarówno u samic jak i samców, najwyższy poziom radioaktywności dotyczył tkanki tłuszczowej, a następnie: wątroby, gonad i nerek.

Wydalenie

Doświadczenie z udziałem 2 ochotników, mężczyzn (28 lat, masa ciała 70 kg) narażanych inhalacyjnie na około 1,3 mg radioaktywnego heksachlorocyklopentadienu (^{14}C -HCCP), (brak danych o wielkości stężenia i czasie narażenia) wykazało obecność radioaktywności w moczu po pół godziny od zakończenia narażenia. Większość radioaktywności została wydalona z moczem w ciągu 5 dni, natomiast wolna faza wydalania wyniosła 22 dni. Identyfikacja metabolitów w moczu wykazała obecność niezmienionego heksachlorocyklopentadienu. Radioaktywność obejmowała polarne metabolity, które nie zostały zidentyfikowane (EU RAR 2007).

W przeprowadzonym przez Mehendale (1977) doświadczeniu, w którym szczurom podawano dożołądkowo około 6 mg/kg ^{14}C -HCCP, mocz i kał zbierano codziennie przez 7 dni. Po tym czasie około 33% całkowitej radioaktywności zostało wydalone z moczem, przy czym 87% tej ilości w ciągu 24 h. Z kałem zostało wydalone 10% podanej dawki, a w ciągu 24 h – 60% tej wartości. Po 3 dniach w kale stwierdzono jedynie śladową radioaktywność. Ponieważ w poszczególnych tkankach radioaktywność stanowiła mniej niż 0,5% podanej dawki, a wydalanie z moczem i kałem stanowiło

43% podanej dawki, autor pracy sugeruje, że heksachlorocyklopentadien może być eliminowany w znacznym stopniu z powietrzem wydychanym.

W innym doświadczeniu *Mehendale* (1977) podawał samcom szczurów około 6 mg/kg ^{14}C -HCCP przez żyłę udową, a następnie zbierał próbki krwi i żółci po 15, 30, 45 i 60 min. Radioaktywność we krwi rozkładała się wykładniczo z $t_{1/2} = 1$ h. Około 9% podanej dawki zostało wydalone z żółcią w ciągu 1 h.

W doświadczeniu *Yu i Attallah* (1981) próbki moczu i kału analizowali pod względem radioaktywności po 8, 24 i 48 h od jednorazowego dożołądkowego lub dożylnego podania ^{14}C -HCCP. Po podaniu dożołądkowym stwierdzono w kale po 48 h 70% podanej dawki, podczas gdy w moczu tylko 17%. Wydalanie z kałem po podaniu dożołądkowym było dużo większe niż obserwowane przez *Mehendale* (1977). Po podaniu związku dożylnie, poziom radioaktywności w kale (21%) i moczu (18%) mierzony w tym samym czasie był równy.

Lawrence i Dorough (1981) narażali samice szczurów (5 μg ^{14}C -HCCP) dożołądkowo lub inhalacyjnie (1 h), a następnie pobierali mocz i kał po 24, 48 i 72 h od podania. Po 24 h po podaniu dożołądkowym eliminacja zachodziła głównie z kałem (62,2%), z moczem zostało wydalone jedynie 22,8% podanej dawki. Podobne rezultaty uzyskali *Yu i Attallah* (1981). Po narażeniu inhalacyjnym wydalanie z moczem było większe (29,7%) niż z kałem (17%). Proporcje w wydalaniu związku z moczem i kałem nie zmieniły się także po 48 i po 72 h od podania. W innym inhalacyjnym eksperymencie przeprowadzonym przez *Lawrence i Dorough* (1981), w którym szczury otrzymywały dawkę $1,4 \div 37,4 \mu\text{g}$ ^{14}C -HCCP, wykazano, że wydalanie związku z powietrzem wydychanym jest niewielkie. W ciągu 24 h mniej niż 1% podanej dawki było eliminowane z powietrzem wydychanym.

W innym doświadczeniu *Lawrence i Dorough* (1982) porównywali poziom radioaktywności w kale uzyskanym od samic szczurów, narażanych na ^{14}C -HCCP drogą: inhalacyjną (24 $\mu\text{g}/\text{kg}$), dożołądkową (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) i dożylną (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Pomiar radioaktywności kału wykazał, że wydalanie tą drogą dominuje przy narażeniu dożołądkowym i dożylnym, natomiast po narażeniu inhalacyjnym związek jest wydalany głównie z moczem. Po 3 dniach procent dawki wydalonej z kałem był znacznie większy po podaniu dożołądkowym

(około 70%), podczas gdy po podaniu dożylnym czy inhalacyjnym wynosił odpowiednio 30 i 27%. Rezultaty pomiaru wydalania z moczem są podobne do wyników uzyskanych przez *Yu i Attallah* (1981) oraz *Lawrence i Dorough* (1981). *Lawrence i Dorough* (1982) wykazali, że pozostałość radioaktywnego węgla ^{14}C w całym organizmie była znacznie większa po narażeniu dożylnym (31%) w porównaniu z narażeniem dożołądkowym (2,8%) i inhalacyjnym (12,9%). Poziom radioaktywności w żółci w 24 h był najwyższy po narażeniu dożołądkowym i stanowił około 18% podanej dawki. Po narażeniu dożylnym poziom radioaktywności wynosił 13%, a po inhalacyjnym jedynie 9% podanej dawki.

W doświadczeniu *Dorough i Ranieri* (1984) samice szczurów i myszy narażano drogą pokarmową na dawkę 2,5 mg/kg heksachlorocyklopentadienu, a następnie oznaczano poziom radioaktywności w kale i moczu po 1. i po 7. dniu narażenia. Po 24 h szczury wydalily z kałem 65,2% dawki i 12,4% z moczem, podczas gdy myszy z kałem wydalily 42,1% dawki, a z moczem 13,8% podanej dawki. Po 7 dniach procent wydalonej dawki był większy przy zachowaniu proporcji między kałem i moczem. Po narażeniu na dawkę 25 mg/kg nie zanotowano różnic w poziomie radioaktywności w moczu i kale między narażanymi szczurami i myszami. Wyniki uzyskane u samców i samic szczurów otrzymujących dawkę 25 mg/kg świadczą o braku różnic w wielkości wydalania. Eliminacja z kałem po 3 dniach wynosiła 73,6% podanej dawki, a z moczem – 13,4% podanej dawki.

El Dareer i in. (1983) podawali szczurom jednorazowo ^{14}C -HCCP różnymi drogami:

- dożołądkowo (4,1 lub 61 mg/kg)
- dożylnie (0,59 mg/kg)
- inhalacyjnie (1,1 mg przez 2 h).

Po podaniu dożołądkowym ponad 90% radioaktywności zostało wydalone w ciągu 72 h, przy czym z kałem 2 razy więcej niż z moczem. W tym samym czasie tylko 34% dożylniej dawki zostało wydalone z kałem, z moczem 15,8%, a w tkankach pozostało 39%. W wyniku narażenia inhalacyjnego pomiar wykonany po 6 h wykazał, że główną drogą wydalania był mocz (41% dawki), w kale poziom radioaktywności (28,7% podanej dawki) był podobny do poziomowi pozostałości w tkankach (28,9%). Po 72 h po narażeniu inhalacyjnym poziom radioaktywności w moczu i kale był podobny

(40 ÷ 50%), a tylko niewielka ilość (11%) dotyczyła tkanek. Wyniki te są podobne do wyników uzyskanych przez *Lawrence* i *Dorough* (1982).

Logan i *Croucher* (1984, cyt. za EPA 2001) w doświadczeniu przeprowadzonym na szczurach, myszach i królikach, którym podawali dawkę 20 mg/kg radioaktywnego heksachlorocyklopentadienu, wykazali, że dominującą drogą wydalania jest kał. Po trzech dniach zostało wydalone 85 ÷ 92% podanej dawki, wydalanie z moczem stanowiło: 20; 23 i 35% odpowiednio dla: szczurów, myszy i królików. Wydalanie z kałem w tym samym czasie wynosiło odpowiednio: 68; 69 i 51%.

Podobnie jak *Lawrence* i *Dorough* (1981) w powietrzu wydychanym stwierdzono śladowe ilości lub brak $^{14}\text{CO}_2$. Po dożylnym podaniu 24 mg/kg ^{14}C -HCCP szczurom wydalanie wynosiło 10% z kałem i 9% z moczem; a po trzech dniach zostało wydalone mniej niż 19% podanej dawki. Proporcje między wydalaniem z kałem i moczem były podobne do wyników uzyskanych w innych doświadczeniach po narażeniu dożylnym, ale procent całkowitej dawki wydalonej był dużo mniejszy niż w innych badaniach (*Yu, Attallah* 1981; *Lawrence, Dorough* 1982; *El Dareer* i in. 1983).

Podsumowując wyniki badań, trzeba stwierdzić, że:

- heksachlorocyklopentadien jest wydalany z moczem i kałem w postaci niezmienionej i niezidentyfikowanych metabolitów. Wydalanie z kałem dominuje po podaniu dożołądkowym, jest to prawdopodobnie konsekwencją zwiększonego wydalania z żółcią i bakteryjnego metabolizmu do polarnych metabolitów w jelitach. Po podaniu inhalacyjnym dominuje wydalanie z moczem, odwrotnie niż po podaniu dożylnym
- wydalanie z żółcią występowało po narażeniu zwierząt na heksachlorocyklopentadien podawany wszystkimi trzema drogami. Po jednakowej dawce wielkość wydalania tą drogą zależała od drogi podania i przedstawiała się następująco: droga dożołądkowa > dożylna > inhalacyjna
- największe stężenia w tkankach stwierdzono w wątrobie i nerkach, natomiast płuca i tarczyca były tkankami o największych stężeniach heksachlorocyklopentadienu po narażeniu inhalacyjnym
- po padaniu inhalacyjnym i dożylnym w szczątkach zwierząt (pozostałości) zaobserwowano znacznie większą retencję węgla ^{14}C niż po podaniu dożołądkowym.

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

W dostępnym piśmiennictwie jest niewiele informacji dotyczących mechanizmu działania toksycznego heksachlorocyklopentadienu (HCCP). Uważa się jednak, że właściwości toksyczne są wynikiem reaktywności tego związku w reakcji Dielsa-Aldera, polegającej na cykloaddycji podstawionego alkenu do sprzężonego dienu. W tkankach biologicznych znajduje się stosunkowo dużo potencjalnych reagentów dla reakcji cykloaddycji (np. chinony, sterole, nienasycone kwasy tłuszczowe i ich pochodne). Heksachlorocyklopentadien może również ulegać reakcji addycji i substytucji lub utlenieniu pod wpływem oksydaz o mieszanej funkcji.

Działanie heksachlorocyklopentadienu na tkanki jest wypadkową dwufazowego zjawiska. Zmiany pierwotne powstają przez bezpośredni kontakt z narażanymi tkankami (nos, płuca, przedzółądek czy skóra) i są wynikiem działania heksachlorocyklopentadienu lub jego metabolitów z

komórkami nabłonkowymi, co skutkuje zaburzeniem funkcji i śmiercią komórek. Zmiany wtórne powstają w miejscach odległych, kiedy to niezmieniony heksachlorocyklopentadien lub jego metabolit trafi do: płuc, wątroby, nerek, serca, mózgu czy też nadnerczy. Narażenie tych tkanek wynika bądź z ich funkcji fizjologicznych (wątroba, nerki), bądź też z tendencji do reakcji heksachlorocyklopentadienu lub jego metabolitów ze składnikami błon komórkowych (płuca czy nadnerczy).

Skutki działania toksycznego heksachlorocyklopentadienu na nadnercza odzwierciedlają jego zdolność do łączenia się z nienasyconymi węglowodarami w sterolach produkowanych przez ten gruczoł. Obecność, oprócz podwójnego wiązania, grupy hydroksylowej w sterolach może aktywować reakcje cykloaddycji. Takie reakcje wymagają narażenia na duże dawki heksachlorocyklopentadienu (*HSDB* 2011; *Toxicological...* 1999).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie nie ma danych na temat działania łącznego heksachlorocyklopentadienu (HCCP) z innymi substancjami.

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Narażenie zawodowe ludzi na heksachlorocyklopentadien (HCCP) wywołało wystąpienie wyraźnych objawów wynikających z działania drażniącego związku na: oczy, skórę czy układ oddechowy.

Działanie drażniące heksachlorocyklopentadienu wysuwa się również na pierwszy plan wśród skutków toksycznych obserwowanych u zwierząt narażanych na ten związek. Narażenie

inhalacyjne zwierząt wywoływało: obrzęk płuc, zapalenie oskrzeli czy metaplastykę nabłonka oddechowego. Wielokrotne narażenie zwierząt wykazało również, że heksachlorocyklopentadien powoduje zahamowanie przyrostu masy ciała, a także negatywnie wpływa na narządy wewnętrzne (mózg, serce, nerki, nadnercza, wątrobę). W tabeli 6. porównano wartości NOAEL i LOAEL dla heksachlorocyklopentadienu.

Tabela 6.

Wartości normatywów higienicznych heksachlorocyklopentadienu (HCCP) w poszczególnych państwach (RTECS 2011)

Państwo/organizacja /instytucja	Wartość NDS, mg/m ³	Wartość NDSC _h , mg/m ³
Australia (2008)	0,11	–
Austria (2006)	0,2	–
Belgia (2002)	0,11	–
Dania (2002)	0,1	–
Finlandia (2009)	0,11	–
Francja (2006)	0,1	–
Korea (2006)	0,1	–
Meksyk (2004)	0,1	0,3
Nowa Zelandia (2002)	0,11	–
Norwegia (1999)	0,1	–
Szwajcaria (2006)	0,1	–
Holandia (2003)	0,11	–
Niemcy (2011)	brak danych do ustalenia MAK	–
USA:		
– ACGIH (2001)	0,11	–
– NIOSH	0,1	–
– OSHA	0,1	–

W warunkach narażenia inhalacyjnego zakres wartości NOAEL wynosił 0,11 ÷ 2,28 mg/m³. Najmniejszą wartość NOAEL (0,11 mg/m³) odnotowano po 2-letnim narażeniu. Stężenia heksachlorocyklopentadienu $\geq 0,11$ mg/m³ wywoływały uszkodzenie układu oddechowego, co objawiało się pigmentacją nabłonka oddechowego w: nosie, tchawicy, oskrzelach i oskrzelikach u narażanych myszy i szczurów. Zmiana ta jest charakterystyczną cechą narażenia zwierząt na heksachlorocyklopentadien. Autorzy prac sugerują, że

pojawienie się pigmentacji może być wynikiem bezpośredniej reakcji między heksachlorocyklopentadienem lub jego metabolitem a tkanką układu oddechowego. W grupie samic narażanych na związek o stężeniach $\geq 0,11$ mg/m³ zaobserwowano wzrost częstości płaskokomórkowej metaplastyki nabłonka krtani. Stężenie heksachlorocyklopentadienu 0,45 mg/m³ było jedynym bezpiecznym poziomem narażenia myszy obserwowanym podczas 13-tygodniowego narażenia. W grupach narażanych na związek o większym stę-

zeniu obserwowano zmniejszenie masy ciała i płaskokomórkową metaplastję nabłonka krtani i tchawicy oraz zapalenie płuc. Wydłużenie czasu narażenia do 30 tygodni ujawniło kolejne skutki toksycznego działania heksachlorocyklopentadienu (supresję limfocytów i zmniejszenie masy śledziony).

W wyniku 13-tygodniowego dożołądkowego narażenia szczurów na heksachlorocyklopentadien stwierdzono korelację między wielkością dawki a względną masą nerek narażanych samic i samców, począwszy od dawki 19 mg/kg (LOAEL). Biorąc pod uwagę ten parametr, uznano dawkę 10 mg/kg za wartość NOAEL heksachlorocyklopentadienu. W grupie narażanych myszy uwzględniono zmiany o charakterze zapalenia i proliferacji stwierdzone w nabłonku przedzołądka i przyjęto wartość NOAEL ustaloną na poziomie 19 mg/kg oraz wartość LOAEL na poziomie 38 mg/kg.

Nie stwierdzono szkodliwego działania heksachlorocyklopentadienu na rozrodczość. Na podstawie wyników badania histopatologicznego narządów rozrodczych wykonanych u zwierząt po dożołądkowym 13-tygodniowym narażeniu na heksachlorocyklopentadien wykazano brak zmian, co dało podstawę do uznania największych stosowanych dawek za wartości NOAEL (150 mg/kg dla szczurów i 300 mg/kg dla myszy). Działanie teratogenne heksachlorocyklopentadienu oceniano po dożołądkowym narażeniu: królików, myszy i szczurów. Gatunkiem najbardziej wrażliwym na działanie heksachlorocyklopentadienu okazały się króliki, dla których wartość NOAEL dla matek i toksyczności rozwojowej został wyznaczony na poziomie 25 mg/kg m.c.

NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIE (NDS) W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

Istniejące wartości NDS i ich podstawy

W Polsce nie ustalono wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla heksachlorocyklopentadienu (HCCP). Zestawienie normatywów higienicznych obowiązujących w innych państwach przedstawiono w tabeli 6.

W ACGIH (2001) ustalono wartość TLV na poziomie $0,11 \text{ mg/m}^3$ (0,01 ppm). Podstawą do ustalenia wartości TLV były wyniki uzyskane po przewlekłym narażeniu zwierząt na heksachlorocyklopentadien podawany drogą inhalacyjną, a także działanie drażniące związku obserwowane u narażanych ludzi. Po 30-tygodniowym inhalacyjnym narażeniu zwierząt na heksachlorocyklopentadien o stężeniu $1,7 \text{ mg/m}^3$ stwierdzono zmiany głównie w płucach, zdiagnozowane jako przekrwienie i obrzęk płuc. W doświadczeniu tym stężenie to uznano za wartość NOAEL związku (Treon i in. 1955). Ponadto heksachlorocyklopentadien działał silnie drażniąco w kontakcie ze skórą i błonami śluzowymi, powodując: łzawienie, ślinienie się i kichanie (Morse i in. 1979). W ACGIH uznano, że stężenie $0,11 \text{ mg/m}^3$ heksachlorocyklopentadienu minimalizuje jego potencjalne drażniące działanie na oczy i błony śluzowe układu oddechowego, a także zabezpiecza przed uszkodzeniem wątroby i nerek.

Podstawy proponowanej wartości NDS

W dostępnym piśmiennictwie za najmniejszą wartość NOAEL dla heksachlorocyklopentadienu (HCCP) przyjęto stężenie $0,11 \text{ mg/m}^3$ po 2-letnim narażeniu inhalacyjnym myszy. U samic po narażeniu na związek o tym stężeniu stwierdzono ropne zapalenie jajników (NTP 1994), zmiany te należy jednak uznać za nietypowe dla narażenia na heksachlorocyklopentadien.

Podstawą wyliczenia wartości NDS heksachlorocyklopentadienu jest wartość NOAEL ustalona dla szczurów na poziomie $1,7 \text{ mg/m}^3$ w dwu różnych eksperymentach. W pierwszym eksperymencie szczury, świnki morskie i króliki narażano na heksachlorocyklopentadien podawany drogą inhalacyjną przez 30 tygodni o stężeniu $1,7 \text{ mg/m}^3$ i nie stwierdzono żadnych zmian będących wynikiem takiego narażenia (Treon i in. 1955). W doświadczeniu przeprowadzonym przez NTP (1994) szczurom podawano inhalacyjnie heksachlorocyklopentadien przez 13 tygodni o stężeniach $0,45 \div 22,28 \text{ mg/m}^3$. Po narażeniu na związek o stężeniu $1,7 \text{ mg/m}^3$ nie stwierdzono u zwierząt zmian o charakterze zapalnym lub martwiczym w układzie oddechowym.

Przyjmując odpowiednie współczynniki niepewności, obliczono wartość NDS heksachloro-

cyklopentadienu na podstawie wzoru:

$$\text{NDS} = \frac{\text{NOAEL}}{A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E} = \frac{1,7 \text{ mg/m}^3}{2 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 3} = 0,14 \text{ mg/m}^3,$$

gdzie:

A = 2, współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej u ludzi,

B = 2, różnice międzygatunkowe i droga podania,

C = 1, przejście z badań krótkoterminowych do przewlekłych (narażenia trwało 30 tygodni),

D = 1, przyjęcie wartości NOAEL,

E = 3, współczynnik modyfikacyjny (dotyczy oceny kompletności danych oraz potencjalnych skutków odległych).

Proponuje się przyjęcie za wartość NDS heksachlorocyklopentadienu stężenia 0,1 mg/m³, czyli podobnie jak w większości państw Unii Europejskiej. Nie ma podstaw do ustalenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) oraz dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) heksachlorocyklopentadienu.

Ze względu na klasyfikacje zagrożenia (H311 – działa szkodliwie w kontakcie ze skórą; Skin Corr. 1B – działanie żrące/drażniące na skórę, kategoria 1B) proponujemy przyjąć także oznakowanie heksachlorocyklopentadienu literami „Sk” – substancja wchłania się przez skórę oraz „C” – substancja o działaniu żrącym.

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA

dr n. med. EWA WĄGROWSKA-KOSKI

Instytut Medycyny Pracy

im. prof. dr. med. Jerzego Nofera

91-348 Łódź

ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ oddechowy, wątrobę, błony śluzowe oczu i skórę.

Badania pomocnicze: badania czynności wątroby (ALT, fosfataza alkaliczna).

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ oddechowy, wątrobę, błony śluzowe oczu i skórę.

Badania pomocnicze: badania czynności wątroby (ALT, fosfataza alkaliczna).

Częstotliwość badań okresowych: co 2 ÷ 3 lata.

U w a g a

Lekarz przeprowadzający badanie profilaktyczne może poszerzyć jego zakres o dodatkowe specjalistyczne badania lekarskie oraz badania pomocnicze, a także wyznaczyć krótszy termin następnego badania, jeżeli stwierdzi, że jest to niezbęd-

ne do prawidłowej oceny stanu zdrowia pracownika lub osoby przyjmowanej do pracy.

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na układ oddechowy, wątrobę, błony śluzowe oczu i skórę.

Badania pomocnicze: badania czynności wątroby (ALT, fosfataza alkaliczna).

Narządy (układy) krytyczne

Wątroba, górne drogi oddechowe, błony śluzowe oczu i skóra.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przewlekłe choroby przebiegające z upośledzeniem funkcji wątroby, POCHP, przewlekłe stany

zapalne błon śluzowych oczu oraz przewlekłe stany zapalne skóry.

U w a g a

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy.

O przeciwwskazaniach w przebiegu zatrudnienia powinien decydować lekarz sprawujący opiekę profilaktyczną, biorąc pod uwagę wielkość i okres trwania narażenia zawodowego oraz ocenę stopnia zaawansowania i dynamikę zmian chorobowych.

PIŚMIENNICTWO

- ACGIH (2001) Hexachlorocyclopentadiene.
- ChemID plus (2011) Hexachlorocyclopentadiene.
- Chernoff N., Kavlock R.J. (1982) An *in vivo* teratology screen utilizing pregnant mice. *J. Toxicol. Environ. Health* 10, 541–550.
- Chernoff N., Kavlock R.J. (1983) A teratology test system which utilizes postnatal growth and viability in the mouse. [W:] Short-term bioassays in the analysis of complex mixtures III. New York, Plenum publishing Corporation, 417–427.
- Clark D.G., Blair D., Martin J., Hendy R., Pilcher A., Wiggins D. (1982) Thirty week chronic inhalation study of hexachlorocyclopentadiene (HEX) in rats. Tunstall, England, Shell Research Ltd., Sittingbourne Research Centre (project number 178/82) [cyt. za EU RAR 2007].
- Dorough H.W., Ranieri T.A. (1984) Distribution and elimination of hexachlorocyclopentadiene in rats and mice. *Drug. Chem. Toxicol.* 7, 73–89.
- EHC, Environmental Health Criteria (1991) Hexachlorocyclopentadiene.
- El Dareer S.M., Noker P.E., Tillery K.F., Hill D.L. (1983) Investigations on the basis for the differential toxicity of hexachlorocyclopentadiene administered to rats by various routes. *J. Toxicol. Environ. Health* 12, 203–211.
- EPA (2001) Toxicological review of hexachlorocyclopentadiene. In support of summary information on the integrated risk information system (IRIS), June 2001, U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC.
- EU RAR, European Union Risk Assessment Report (2007) Hexachlorocyclopentadiene. European Chemical Bureau.
- HSDB, Hazardous Substances Data Bank (2011) Bethesda, National Library of Medicine.
- Gardner J.R. (1986) Acute oral toxicity to rats of hexachlorocyclopentadiene. Huntingdon Research Centre LTD [Unpublished report, No. 861191D/VCL 112/AC to Velsicol Chem. Corp., Chicago. cyt. za EU RAR 2007].
- Gray L.E.Jr., Kavlock R.J., Ostby J., Ferrell J. (1983) Assessment of the utility of postnatal testing following prenatal exposure to forty chemicals. *Prog. Clin. Biol. Res.* 140, 33–62 [cyt. za EU RAR 2007].
- Gray L.E.Jr., Kavlock R.J., Ostby J., Ferrell J., Rogers J., Gray K. (1986) An evaluation of figure-eight maze activity and general behavioral development following prenatal exposure to forty chemicals: effects of citosine arabinoside, dinocap, nitrofen, and vitamin A. *Neuro Toxicology* 7, 449–462 [cyt. za EU RAR 2007].
- IUCLID (2000) International Uniform Chemical Information Database.
- Lawrence L.J., Dorough H.W. (1982) Fate of inhaled hexachlorocyclopentadiene in albino rats and comparison to the oral and iv routes of administration. *Fundam. Appl. Toxicol.* 2, 235–240.
- Lawrence L.J., Dorough H.W. (1981) Retention and fate of inhaled hexachlorocyclopentadiene in the rat. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 26, 663–668.
- Logan C.J., Croucher A. (1984) Hexachlorocyclopentadiene metabolism of a single oral dose by rat, rabbit and mouse. Shell Oil Company. Doc#878214191 NTIS/OTS84003A. Shell Research LTD., Group Research Report SBGR.83.200 [cyt. za EPA 2001].
- Mehendale H.M. (1977) Chemical reactivity-absorption, retention, metabolism and elimination of hexachlorocyclopentadiene. *Environ. Health Perspect.* 21, 275–278, 1977.
- Morse D.L., Kominsky J.R., Wisseman C.L., Landrigan P.J. (1979) Occupational exposure to hexachlorocyclopentadiene. How safe is sewage? *JAMA* 20, 2177–2179.
- Murray F.J., Schwetz B.A., Balmer M.C., Staples R.E. (1980) Teratogenic potential of hexachlorocyclopentadiene in mice and rabbits. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 53, 497–500.
- NTP (1994) NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of hexachlorocyclopentadiene (CAS No.5392-40-5) in F344/N rats and B6C3F₁ mice (inhalation studies). NTP TR 437, February.
- Rand G.M., Nees P.O., Calo C.J., Clark G.C., Edmondson N.A. (1982) Effects of inhalation exposure to hexachlorocyclopentadiene on rats and monkeys. *J. Toxicol. Environ. Health* 9, 743–760.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Dz. Urz. Unii Europejskiej z dnia 31.12.2008 r. (L 353).
- RTECS, Registry of Toxic Effects of Chemical Substances Cincinnati (2010) National Institutes for Occupational Safety and Health.
- Shindell and Associates (1980) Report of epidemiologic study of the employees of Velsicol Chemical Corporation plant. Marshall, Illinois, January 1946–December 1979, Milwaukee, Wisconsin, Shindell and Associates [Un-

published report prepared for Velsicol Chemical Corporation, Chicago, cyt. za EHC 1991].

Shindell and Associates (1981) Report of epidemiologic study of the employees of Velsicol Chemical Corporation plant. Memphis, Tennessee, January 1952-December 1979, Milwaukee, Wisconsin, Shindell and Associates [Unpublished report prepared for Velsicol Chemical Corporation, Chicago, cyt. za EHC 1991].

Toxicological profile for hexachlorocyclopentadiene (HCCP), (1999) U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry, July.

Treon J.F., Cleveland F.P., Cappel J. (1955) The toxicity of hexachlorocyclopentadiene. *Arch. Ind. Health* 11, 459–472.

Wang H.H., MacMahon B. (1979) Mortality of workers employed in the manufacture of chlordane and heptachlor. *J. Occup. Med.* 21, 745–748.

Yu C.C., Atallah Y.H. (1981) Pharmacokinetics and metabolism of hexachlorocyclopentadiene in rats. Chicago IL, USA: Velsicol Chemical Corporation [unpublished report, project nr 482428, report nr 10, cyt. za EU RAR 2007].