

Fenoloftaleina – frakcja wdychalna

Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego^{1, 2, 3}

Phenolphthalein – inhalable fraction

Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

mgr inż. KATARZYNA KONIECZKO
e-mail: katarzyna.konieczko@imp.lodz.pl
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

NDS	8 mg/m ³
NDSCh	nie ustalono
NDSP	nie ustalono
DSB	nie ustalono
Carc. 1B	substancja rakotwórcza kategorii 1B
Ft	substancja działająca szkodliwie na rozrodczość.

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 24-26.10.2017 r.
Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 04.07.2018 r.

Słowa kluczowe: fenoloftaleina, toksyczność, środowisko pracy, narażenie zawodowe, NDS.

Keywords: phenolphthalein, toxicity, working environment, occupational exposure, OEL, MAC.

¹ Wartość NDS fenoloftaleiny została w dniu 4.07.2018 r. przyjęta na 89. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i przedłożona ministrowi właściwemu do spraw pracy (wniosek nr 105) w celu ich wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych w środowisku pracy.

² Opracowano na podstawie wyników IV etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2017-2019 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.

Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

³ Metoda oznaczania fenoloftaleiny w powietrzu na stanowiskach pracy została opublikowana w kwartalniku Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy w nr. 3(97)/2018.

Streszczenie

Fenoloftaleina jest bezbarwnym i bezwonnym ciałem stałym o budowie krystalicznej. W formie sproszkowanej ma kolor biały lub bladożółty. Jest nielotna, praktycznie nierozpuszczalna w wodzie, natomiast dobrze rozpuszcza się w etanolu.

Nie występuje jako produkt naturalny. Syntetyczna substancja jest stosowana jako wskaźnik pH w laboratoriach, podczas prac związanych z obróbką powierzchni metali w galwanizerniach i w lakierniach oraz do pomiaru nasycenia betonu ditlenkiem węgla. Do końca ubiegłego wieku była powszechnie stosowana jako składnik środków przeczyszczających dostępnych bez recepty – dopiero w 1999 r. w agencji Żywności i Leków w USA (FDA, ang. *Food and Drug Administration*) usunięto fenoloftaleinę z listy substancji uznanych za bezpieczne. W Polsce w 2016 r. prace z fenoloftaleiną zgłosiło 255 zakładów pracy, z czego większość stanowiły laboratoria, a liczba narażonych osób wynosiła 2,5 tysiąca.

Fenoloftaleina stosowana w dawkach terapeutycznych była dobrze tolerowana, rzadko zgłaszanymi skutkami ubocznymi były: uczucie dyskomfortu w jamie brzusznej, nudności, zmniejszone ciśnienie tętnicze i osłabienie. Przewlekłe stosowanie fenoloftaleiny powodowało: rozszerzenie okrężnicy, zmniejszenie grubości wyścielającej jelito błony śluzowej, zaburzenia gastryczne, odwodnienie i zaburzenie równowagi elektrolitów.

W badaniu 13-tygodniowym, w którym fenoloftaleinę podawano zwierzętom doświadczalnym z paszą, myszy były bardziej wrażliwym gatunkiem od szczurów. W przypadku samców obserwowano zmiany w jądrach i najądrzach, a u zwierząt obu płci hipoplazję i martwicę komórek szpiku kostnego.

Na podstawie wyników badań genotoksyczności wykazano, że fenoloftaleina działa jako promutagen i wywiera efekt klastogenny po aktywacji metabolicznej. W badaniach działania fenoloftaleiny na rozrodczość zwierząt wykazano jej szkodliwy wpływ na funkcje rozrodcze samców. W Unii Europejskiej (UE) fenoloftaleina jest zaklasyfikowana jako substancja mutagenna kategorii 2 oraz działająca szkodliwie na rozrodczość kategorii 2 (ze względu na wpływ na płodność).

U osób stosujących leki przeczyszczające oparte na fenoloftaleinie w badaniach kliniczno-kontrolnych obserwowano niewielki wzrost ryzyka raka jelita grubego i raka

jajnika, zwłaszcza przy intensywnym stosowaniu tych środków, ale zależność nie była istotna statystycznie.

W 2-letnim badaniu rakotwórczości przeprowadzonym w ramach Narodowego Programu Toksykologicznego w USA (NTP, ang. *National Toxicology Program*) u samców szczurów zaobserwowano istotny wzrost liczby przypadków łagodnego guza chromochłonnego rdzenia nadnerczy oraz gruczolaka i raka z nabłonka kanalików nerkowych, a u myszy obu płci odnotowano istotny wzrost liczby przypadków mięsaka histiocytarnego. Ponadto u samic wykazano wzrost liczby przypadków złośliwego chłoniaka (wszystkich typów) oraz chłoniaka grasicy i łagodnych nowotworów jajnika, w związku z czym fenoloftaleina została uznana za substancję o przewidywanym działaniu rakotwórczym na ludzi (NTP R). W eksperymencie przeprowadzonym na heterozygotycznych myszach p53(+/-) obu płci potwierdzono wzrost liczby przypadków chłoniaka. Eksperti Unii Europejskiej zaklasyfikowali fenoloftaleinę do kategorii 1B substancji rakotwórczych, czyli do substancji co do których wiadomo lub istnieje domniemanie, że są rakotwórcze dla człowieka, przy czym klasyfikacja opiera się na wynikach badań przeprowadzonych na zwierzętach. W Europejskiej Agencji Chemikaliów (ECHA, ang. *European Chemicals Agency*) uznano fenoloftaleinę za substancję wzbudzającą szczególnie duże obawy (SVHC).

Obliczone na podstawie wyników badań NTP dodatkowe ryzyko chłoniaka złośliwego przy narażeniu zawodowym na fenoloftaleinę o stężeniu 8,25 mg/m³ przez 40 lat wynosi 10⁻⁴. Zaproponowano przyjęcie jako wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) fenoloftaleiny stężenia 8 mg/m³. Ponieważ fenoloftaleina jest słabo rozpuszczalnym w wodzie ciałem stałym, w środowisku pracy będzie występować jedynie narażenie na pyły tej substancji, stąd zaproponowana wartość NDS powinna dotyczyć frakcji wdychalnej substancji. Proponuje się oznakowanie fenoloftaleiny jako „Carc. 1B” informujące, że jest to substancja rakotwórcza kategorii 1B oraz „Ft” informujące, że jest to substancja działająca szkodliwie na rozrodczość. Brak jest podstaw do ustalenia najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) fenoloftaleiny oraz wartości dopuszczalnej w materiale biologicznym (DSB).

Summary

Phenolphthalein is a colorless and odorless crystalline solid; in a powdered form white or pale yellow. It is non-volatile, practically insoluble in water, but it dissolves in ethanol. Phenolphthalein is not known to occur as a natural product. The synthetic substance is used as a pH indicator in laboratories, during work on metal surfaces in galvanizing plants as well as for measuring the saturation of concrete with carbon dioxide. Until the end of the 20th century, it was widely used as

a component of non-prescription laxatives – in 1999 FDA removed phenolphthalein from the list of substances considered safe. In 2016 in Poland 255 enterprises were reported to work with phenolphthalein (mainly laboratories) and there were 2500 occupationally exposed people.

Phenolphthalein used in therapeutic doses was well tolerated. Only a few side effects were reported: abdominal discomfort, nausea, reduced blood pressure

and weakness. Chronic use of phenolphthalein resulted in widening of the colon, reduced thickness of the lining of the mucosa, gastric disorders, dehydration and electrolyte imbalance. In a 13-week study in which phenolphthalein was administered to laboratory animals with diets, mice turned out to be a more sensitive species from rats. Changes in testes and epididymides were observed in males and hypoplasia and bone marrow necrosis in males and females. The results of genotoxicity studies indicated that phenolphthalein acts as a promutagen and exerts a clastogenic effect after metabolic activation. Studies on the effect of phenolphthalein on the reproduction of animals indicated its harmful effect on reproductive functions of males. In the EU, phenolphthalein is classified as a category-2 mutagen and category-2 reproductive toxicant (due to its effect on fertility).

A small increase in the risk of colorectal cancer and ovarian cancer was observed in case-control studies in patients using phenolphthalein-based laxatives (especially with intensive use of these agents), but the relationship was not statistically significant. In a 2-year NTP carcinogenicity study a significant increase in the number of benign pheochromocytomas and adenomas of renal tubular epithelium was observed in male rats. There was also a significant increase in histiocytic sarcomas in mice of both sexes and in malignant lymphomas (of all types)

and thymic lymphomas and benign ovarian tumors in females. Based on these experiments phenolphthalein has been identified as a substance reasonably anticipated as human carcinogen (NTP R). The experiment on heterozygous p53 (+/-) mice of both sexes confirmed an increase in lymphoma cases. Phenolphthalein is classified by European Union experts as a category-1B of carcinogenic substances, i.e. known or presumed human carcinogens, however the classification is largely based on animal evidence. The European Chemicals Agency (ECHA) identified phenolphthalein as a substance of very high concern (SVHC).

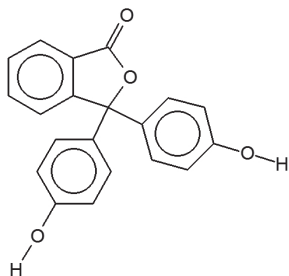
Based on the NTP test results, the additional risk of malignant lymphoma at 8.25 mg/m³ occupational exposure to phenolphthalein for 40 years is 10⁻⁴. A concentration of 8 mg/m³ was proposed as the MAC-TWA value for phenolphthalein. Since phenolphthalein is a poorly water-soluble solid, only dust exposure of the substance will occur in the work environment, hence the proposed MAC value should concern the inhalable fraction of the substance. It is proposed to label phenolphthalein as „Carc. 1B” indicating that phenolphthalein is a category-1B carcinogen and „Fr” due to reprotoxicity. There are no bases for establishing the short-term exposure limit value (STEL) and the limit value in biological material (BEI).

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

Ogólna charakterystyka fenoloftaleiny (ChemIDplus... 2017; HSDB 2017):

- wzór sumaryczny C₂₀H₁₄O₄
- wzór strukturalny



- nazwa chemiczna fenoloftaleina
- numer w rejestrze CAS 77-09-8
- numer indeksowy 604-076-00-1
- numer WE 201-004-7
- synonimy: 3,3-bis(4-hydroksyfenylo)-2-benzofuran-1(3H)-on; 3,3-bis(4-hydroksyfenylo)izobenzofuran-1(3H)-on; 3,3-bis(4-hydroksyfenylo)ftalid; 3,3-bis(p-hydroksyfenylo)ftalid.

Fenoloftaleina znajduje się w wykazie zharmonizowanej klasyfikacji i oznakowania substancji stwarzających zagrożenie w załączniku VI do tzw. rozporządzenia CLP (Rozporządzenie CLP... 2008). Została zaklasyfikowana jako substancja rakotwórcza kategorii 1B z przypisanym zwrotem wskazującym rodzaj zagrożenia H350 „Może powodować raka”, mutagenna kategorii 2 z przypisanym zwrotem H341 „Podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne” oraz działająca szkodliwie na rozrodczość kategorii 2 z przypisanym zwrotem H361f „Podejrzewa się, że działa szkodliwie na płodność”. Ustalono specyficzne stężenie graniczne dla działania rakotwórczego fenoloftaleiny wynoszące 1%, co oznacza, że nie jest wymagana klasyfikacja mieszanin zawierających poniżej 1% tej substancji jako mieszanin rakotwórczych. Zharmonizowaną klasyfikację i oznakowanie fenoloftaleiny, obowiązujące od 1 grudnia 2010 r., zamieszczono w tabeli 1. Ze względu na działanie rakotwórcze w 2012 r. fenoloftaleina została uznana za substancję wzbudzającą szczególnie duże obawy (SVHC) i jest umieszczona na liście kandydackiej znajdującej się na stronie internetowej ECHA (ECHA 2017a).

Tabela 1.
Klasyfikacja i oznakowanie fenoloftaleiny wg kryteriów rozporządzenia CLP (Rozporządzenie CLP... 2008), (tabela 3.1 załącznika VI do rozporządzenia CLP)

Numer indeksowy	Klasyfikacja						Oznakowanie			
	Międzynarodowa terminologia chemiczna oraz nazwy polskie ^a	Numer WE	Numer CAS	Klasa zagrożenia i kody kategorii	Kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	Piktogram, kody hasł ostrzegawczych	Kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	Dodatkowe kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	Specyficzne stężenia graniczne i współczynniki „M”	Uwagi
604-076-00-1	phenolphthalein fenoloftaleina	201-004-7	77-09-8	Carc. 1B Muta. 2 Repr. 2	H350 H341 H361f	GHS08 Dgr	H341 H350 H361f		Carc. 1B; H350: C ≥ 1%	

Objaśnienia:

^a – dodatkowo podano nazwę chemiczną w języku polskim – w rozporządzeniu jest zamieszczona wyłącznie nazwa w języku angielskim.

Klasa i kategoria zagrożenia:

Muta. 2 – działanie mutagenne na komórki rozrodcze, kategoria 2.

Carc. 1B – rakotwórczość, kategoria 1B.

Repr. 2 – działanie szkodliwe na rozrodczość, kategoria 2.

Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia:

H341 – podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne.

H350 – może powodować raka.

H361f – podejrzewa się, że działa szkodliwie na płodność.

Piktogramy:



GHS08

Hasło ostrzegawcze: Dgr – niebezpieczeństwo.

Właściwości fizykochemiczne

Fenoloftaleina jest bezbarwnym i bezwonnym ciałem stałym o budowie krystalicznej. W formie sproszkowanej ma kolor biały lub bladożółty. Podobnie jak większość substancji organicznych jest palna w wysokiej temperaturze (brak jest danych liczbowych dotyczących palności). Jest praktycznie nierozpuszczalna w: wodzie (0,4 g/dm³ w temperaturze pokojowej), benzenie i eterze naftowym, słabo rozpuszcza się w disiarczku węgla. Rozpuszcza się w: acetonie, pirenie oraz etanolu (83 g/dm³), w mniejszym stopniu w: eterze dietylowym (10 g/dm³), chloroformie i toluenie oraz w rozcieńczonych roztworach wodorotlenków alkalicznych i w gorących roztworach alkalicznych węglanów. Zabarwienie fenoloftaleiny w roztworach zmienia się w zależności od odczynu. W środowisku kwasowym lub zbliżonym do obojętnego jest bezbarwna (do pH około 8,2), w zasadowym przyjmuje zabarwienie różowe do ciemnoczerwonego, a przy pH > 12 ponownie staje się bezbarwna. Z kolei w silnie kwasowym środowisku (pH < 0) tworzy się karbokation trytylowy, który powoduje pomarańczowe zabarwienie roztworu (ChemIDplus... 2017; GESTIS Substance... 2017; HSDB 2017; IARC 2000).

Właściwości fizyczne fenoloftaleiny (ChemIDplus... 2017; GESTIS Substance... 2017; HSDB 2017; IARC 2000):

- masa cząsteczkowa 318,3
- temperatura topnienia 262,5 °C
- temperatura wrzenia nie wyznaczono (rozkład substancji)
- prężność par 8,9 · 10⁻¹¹ Pa w temp. 25 °C (6,7 · 10⁻¹³ mm Hg)
- gęstość 1,277 g/cm³
- rozpuszczalność w wodzie 0,4 g/dm³ (w temp. pokojowej)
- stała dysocjacji pKa 9,7 w temp. 25 °C
- współczynnik podziału oktanol-woda (log K_{ow}): 2,41 (przy pH = 7,4).

Otrzymywanie, zastosowanie i narażenie zawodowe

Otrzymywanie

Fenoloftaleina nie występuje jako produkt naturalny, jest otrzymywana w reakcji kondensacji fenolu

z bezwodnikiem ftalowym w obecności stężonego kwasu siarkowego(VI) w temperaturze 120 °C (HSDB 2017).

Zastosowanie

Fenoloftaleina jest stosowana jako wskaźnik pH w laboratoriach (około 1-procentowy roztwór w etanolu), podczas prac związanych z obróbką powierzchni metali w galwanizerniach i w lakierniach, np. trawienia powierzchni metali przed malowaniem proszkowym, oraz do pomiaru nasycenia betonu ditlenkiem węgla. Do końca ubiegłego wieku była powszechnie stosowana jako składnik środków czyszczących dostępnych bez recepty – dopiero w 1999 r. FDA usunęła fenoloftaleinę z listy substancji uznanych za bezpieczne do takiego zastosowania (HSDB 2017).

Narażenie zawodowe

Fenoloftaleina jako substancja rakotwórcza kategorii 1B znajduje się w wykazie substancji o działaniu rakotwórczym w środowisku pracy i podlega rygorom rozporządzenia Ministra Zdrowia, m.in. obowiązkowi prowadzenia rejestru prac z tą substancją i z jej mieszaninami zaklasyfikowanymi jako rakotwórcze oraz rejestru narażonych pracowników (Rozporządzenie... 2012). Do centralnego rejestru prowadzonego w Instytucie Medycyny Pracy (IMP) w Łodzi fenoloftaleina jest zgłaszana od 2012 r. – zarówno liczby zgłaszanych zakładów pracy, jak i narażonych pracowników systematycznie wzrastały w latach 2012-2016 (tab. 2.), (IMP 2017).

Fenoloftaleina jest stosowana głównie w laboratoriach, dlatego zdecydowaną większość narażonych stanowią kobiety (73 ÷ 88% w omawianych latach). Narażenie na fenoloftaleinę zgłaszają także zakłady pracy zajmujące się obróbką powierzchni (galwanizacją, przygotowaniem powierzchni do malowania proszkowego). Należy podkreślić, że ze względu na małą lotność fenoloftaleiny narażenie inhalacyjne jest możliwe w przypadku występowania w środowisku pracy pyłów tej substancji.

W ECHA do 30 czerwca 2017 r. substancję tę zarejestrowało dwóch producentów/importerów w zakresie tonażu 10 ÷ 100 ton rocznie (ECHA 2017b).

Zgodnie z raportem RIVM fenoloftaleina znajduje się na 20. miejscu rankingu TOP50 uwzględniającego substancje rakotwórcze o największej liczbie narażonych osób w Polsce (*Puts, ter Burg* 2015).

Tabela 2.**Występowanie fenoloftaleiny oraz narażenie zawodowe w zakładach pracy w Polsce w latach 2012-2015 (IMP 2017)**

Rok	Liczba województw	Liczba zakładów pracy	Liczba narażonych mężczyzn	Liczba narażonych kobiet		Łączna liczba osób narażonych
				razem	w wieku do 45 lat	
2012	12	49	101	279	148	380
2013	14	82	132	723	438	855
2014	15	134	168	1 072	622	1 240
2015	16	180	219	1 562	825	1 781
2016	16	255	469	2 019	1 181	2 488

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne

Działanie ostre

Do połowy lat 90. XX wieku fenoloftaleinę uznawano za substancję nietoksyczną i bezpieczną do stosowania w środkach przeczyszczających dostępnych bez recepty. Zalecane dawki fenoloftaleiny dla osób dorosłych mieściły się w zakresie $30 \div 200$ mg. Rzadko zgłaszanymi skutkami ubocznymi były: uczucie dyskomfortu w jamie brzusznej, nudności, zmniejszone ciśnienie tętnicze i osłabienie. Poważne działania niepożądane odnotowywano jedynie przy znacznym przekroczeniu zalecanych dawek (IARC 2000).

Opisano przypadek wystąpienia zaburzeń gastrocycznych i ostrego zapalenia trzustki u 34-letniego pacjenta po nieumyślnym spożyciu około 2 g fenoloftaleiny – pacjent został wyleczony i nie obserwowano u niego żadnych następstw zatrucia (*Lambrianides, Rosin* 1984). Na podstawie tego przypadku ustalono dawkę 29 mg/kg mc. jako najmniejszą dawkę toksyczną (TDLo) fenoloftaleiny po podaniu drogą pokarmową (ChemIDplus... 2017). U 32-letniej kobiety, która połknęła nieznaną ilość środków przeczyszczających zawierających fenoloftaleinę, wystąpiły: niewydolność wielonarządowa, obrzęk płuc, uszkodzenie mięśnia sercowego, śpiączka, zespół rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego i zgon (*Ellenhorn* i in. 1997). Opisywano śmiertelne przypadki zatrucia dzieci po spożyciu fenoloftaleiny, prawdopodobnie spowodowane nadwrażliwością na tę substancję. W sekcji zwłok 10-letniego chłopca wykazano zmiany krwotoczne w: jelitach, nerkach, wątrobie oraz w mózgu – nie podano dawki fenolo-

ftaleiny, a jedynie informację, że połknął zawartość całego opakowania środków przeczyszczających (*Ellenhorn* in. 1997; IARC 2000).

W piśmiennictwie istnieją doniesienia o reakcjach alergicznych na fenoloftaleinę (*Ellenhorn* in. 1997). Mogą występować następujące 3 typy różnych reakcji:

- skórny (wysypka, świąd, obrzęk naczyńioruchowy, gorączka, ból stawów)
- ogólny (ciężka biegunka, zmniejszenie ciśnienia tętniczego krwi, kolka)
- ze strony ośrodkowego układu nerwowego (napady drgawkowe, niedowład, śpiączka – ten typ może doprowadzić do śmierci pacjenta).

W piśmiennictwie opisywano przypadki występowania wysypki polekowej na skórze po spożyciu środków przeczyszczających zawierających fenoloftaleinę, szczególnie u dzieci i młodzieży (*Artymowicz* i in. 1997; *Stroud, Rossio* 1987; *Zanolli* i in. 1993). Bardzo rzadko spotykanym skutkiem spożycia fenoloftaleiny jest toksyczna martwica naskórka (TEN), opisano trzy takie przypadki (*Artymowicz* i in. 1997).

Działanie drażniące na skórę

Na podstawie wyników uzyskanych w badaniach przeprowadzonych w warunkach in vitro na modelu skóry ludzkiej (metoda OECD 431 oraz B.40.BIS i B.46 wg tzw. rozporządzenia REACH, badania przeprowadzone zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej (GLP, ang. *good laboratory practice*) wykazano działanie drażniące fenoloftaleiny na skórę, natomiast nie stwierdzono działania żrącego (ECHA 2017b; Rozporządzenie REACH... 2008).

Działanie przewlekłe

W piśmiennictwie i bazach danych znajdują się informacje o skutkach przewlekłego przyjmowania leków zawierających fenoloftaleinę drogą pokarmową. Narządem docelowym przewlekłego działania fenoloftaleiny jest jelito. Nadużywanie środków przeczyszczających powoduje: przewlekłe zaparcia i uzależnienie, dysfunkcję oraz podrażnienia błony śluzowej jelit. Przewlekłe stosowanie fenoloftaleiny może spowodować: rozszerzenie okrężnicy, dysfunkcję powodującą zwiększone zaleganie treści je-

lita, zmniejszenie grubości wyściełającej jelito błony śluzowej oraz wystąpienie objawów klinicznych zbliżonych do objawów przewlekłego wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Opisywano również przypadki: zaburzeń gastrycznych, odwodnienia i zaburzeń równowagi elektrolitów (hipokaliemii, hipokalcemii, kwasicy metabolicznej, alkalozji), zaburzeń wchłaniania pokarmu (IARC 2000; Jankowska, Szymczak 2011).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra i krótkoterminowa

Wartości median dawek śmiertelnych fenoloftaleiny nie zostały wyznaczone. Na podstawie dawek stosowanych w eksperymentach krótkoterminowych (NTP 1996) można stwierdzić, że fenoloftaleina wykazuje niewielką toksyczność ostrą u zwierząt i zgodnie z kryteriami CLP nie wymaga klasyfikacji ze względu na ten kierunek działania (Rozporządzenie CLP... 2008).

Szczurom F344/N oraz myszom B6C3F1 (po 5 samic i samców w grupie) podawano fenoloftaleinę w paszy o stężeniach: 0 (grupa kontrolna); 6 250; 12 500; 25 000; 50 000 lub 100 000 ppm przez 14 dni, co w przypadku szczurów odpowiadało średnim dawkom:

- szczury samice: 0; 500; 1 000; 2 000; 4 000 lub 11 000 mg/kg mc.
- szczury samce: 0; 500; 1 000; 2 000; 4 500 lub 10 500 mg/kg mc.

W przypadku myszy nie przeprowadzono dokładnych pomiarów ilości spożywanej paszy, przybliżone dawki dobowe wynosiły odpowiednio: 0; 810; 1 625; 3 250; 6 500 lub 13 000 mg/kg mc.

Wszystkie zwierzęta przeżyły doświadczenie. Zmniejszenie średniej masy ciała w grupach narażonych w porównaniu z kontrolnymi było nieznaczne. Jedynym skutkiem narażenia w trakcie eksperymentu było odbarwienie kału od 3. dnia narażenia. Ani w badaniach sekcyjnych, ani w badaniach histopatologicznych tkanek nie wykazano żadnych zmian spowodowanych narażeniem na fenoloftaleinę (NTP 1996).

Najmniejsza dawka śmiertelna fenoloftaleiny dla szczurów po podaniu dootrzewnowym wynosi 500 mg/kg mc. (ChemIDplus... 2017).

Działanie drażniące na oczy

W badaniu zmętnienia i przepuszczalności rogówki u bydła (metoda OECD 437 oraz B.47 wg rozporządzenia WE nr 440/2008, badania przeprowadzone zgodnie z GLP) wykazano jedynie słabe działanie drażniące fenoloftaleiny na oczy (ECHA 2017b; Rozporządzenie... 2008).

Działanie uczulające na skórę

Działanie uczulające fenoloftaleiny na skórę oceniono testem miejscowych węzłów chłonnych (LLNA) na myszach CBA/CaOlaHsd samicach (metoda OECD 429 oraz B.42 wg rozporządzenia WE nr 440/2008, badania przeprowadzone zgodnie z GLP). Wyniki badania świadczą o braku działania uczulającego fenoloftaleiny (ECHA 2017b; Rozporządzenie... 2008).

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Narażenie 13-tygodniowe

Szczurom F344/N oraz myszom B6C3F1 (po 10 samic i samców w grupie) podawano fenoloftaleinę w paszy o stężeniach: 0 (grupa kontrolna); 3 000; 6 000; 12 000; 25 000 lub 50 000 ppm przez 13 tygodni, co w grupach narażonych odpowiadało średnim dawkom:

- szczury samice: 200; 400; 800; 1 700 lub 3 600 mg/kg mc./dzień
- szczury samce: 200; 400; 800; 1 600 lub 3 500 mg/kg mc./dzień
- myszy samice: 600; 1 200; 2 400; 5 000 lub 10 500 mg/kg mc./dzień
- myszy samce: 500; 1 000; 2 000; 4 100 lub 9 000 mg/kg mc./dzień.

Wszystkie zwierzęta przeżyły doświadczenie. W trakcie badania nie obserwowano objawów związanych z działaniem przeczyszczającym fenoloftaleiny (NTP 1996). U narażanych szczurów obserwowane skutki narażenia były ograniczone do zmniejszenia średniej masy ciała i przyrostu masy ciała u samic oraz wzrostu względnej i bezwzględnej masy wątroby u zwierząt obu płci (tab. 3.). U samców, którym podawano 800 mg fenoloftaleiny/kg mc./dzień, odnotowano istotny wzrost odsetka ruchliwych plemników w porównaniu z grupą kontrolną, ale w pozostałych grupach badanych różnice nie były statystycznie istotne, również liczba plemników w najądrzach i odsetek plemników o nieprawidłowej budowie w grupach badanych nie różniły się istotnie w stosunku do grupy kontrolnej. Na podstawie wyników badań hematologicznych i biochemicznych krwi przeprowadzonych 3-krotnie w trakcie eksperymentu (w jego 5. i 21. dniu oraz w 13. tygodniu) oraz wyników badań makroskopowych narządów i histopatologicznych nie wykazano zmian spowodowanych narażeniem na fenoloftaleinę (NTP 1996).

U myszy obu płci w grupach, w których podawano fenoloftaleinę w dawkach 2 000 mg/kg mc./dzień lub więcej, istotnie zwiększyła się liczba przypadków hipoplazji i zmian martwiczych szpiku kostnego, chociaż stopień nasilenia tych zmian oceniono jako niewielki. U myszy samców obserwowano ponadto: istotny wzrost liczby przypadków hematopoezy w śledzionie o niedużym nasileniu, wzrost masy prawego najądrza oraz wzrost odsetka plemników o nieprawidłowej budowie. Liczba plemników w przeliczeniu na gram ogona najądrza u samców myszy, którym podawano 4 100 lub 9 000 mg fenoloftaleiny/kg mc./dzień była istotnie mniejsza niż w grupie kontrolnej (NTP 1996).

W tabeli 3. zestawiono istotne statystycznie skutki narażenia w tym eksperymencie w zależności od dawki. Ze względu na charakter obserwowanych zmian należy uznać, że myszy są bardziej wrażliwym gatunkiem od szczurów. W przypadku samców myszy wartość NOAEL wynosi 1 000 mg/kg mc./dzień.

Tabela 3.

Skutki 13-tygodniowego narażenia na fenoloftaleinę w zależności od dawki na podstawie wyników badania NTP (NTP 1996)

Gatunek, płeć	Dawka, mg/kg mc./dzień	Skutki narażenia
Szczur F344/N, samice, po 10 w grupie	200	nie obserwowano skutków narażenia
	400	
	800	
	1 700	– zmniejszenie przyrostu masy ciała ($p \leq 0,05$) – zwiększenie względnej masy wątroby ($p \leq 0,05$)
	3 600	– zmniejszenie średniej masy ciała ($p \leq 0,05$) – zmniejszenie przyrostu masy ciała ($p \leq 0,05$) – zwiększenie względnej masy wątroby ($p \leq 0,05$) – zwiększenie bezwzględnej masy grasicy ($p \leq 0,05$)
Szczur F344/N, samce, po 10 w grupie	200	nie obserwowano skutków narażenia
	400	
	800	– zwiększenie względnej masy wątroby i nerek ($p \leq 0,01$) – zwiększenie ruchliwości plemników ($p \leq 0,05$) – skutek nie wystąpił przy wyższych stężeniach
	1 600	– zwiększenie bezwzględnej i względnej masy wątroby (odpowiednio $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$)
	3 500	– zwiększenie bezwzględnej i względnej masy wątroby ($p \leq 0,01$)
Mysz B6C3F1, samice, po 10 w grupie	600	nie obserwowano skutków narażenia
	1 200	
	2 400	– u 8/10 zwierząt hipoplazja i uszkodzenie komórek szpiku kostnego ($p \leq 0,01$)
	5 000	– u 10/10 zwierząt hipoplazja i uszkodzenie komórek szpiku kostnego ($p \leq 0,01$)
	10 500	– u 10/10 zwierząt hipoplazja i uszkodzenie komórek szpiku kostnego ($p \leq 0,01$)

cd. tab. 3

Gatunek, płeć	Dawka, mg/kg mc./dzień	Skutki narażenia
Mysz B6C3F1, samce, po 10 w grupie	500	nie obserwowano skutków narażenia
	1 000	
	2 000	<ul style="list-style-type: none"> – u 10/10 zwierząt hipoplazja i uszkodzenie komórek szpiku kostnego ($p \leq 0,01$) – zwiększenie masy prawego jądra i prawego najądrza ($p \leq 0,01$) oraz ogona prawego najądrza ($p \leq 0,05$) – zwiększenie odsetka plemników o nieprawidłowej budowie ($p \leq 0,01$) – istotne zmniejszenie liczby plemników w przeliczeniu na gram tkanki ogona najądrza ($p \leq 0,05$)
	4 100	<ul style="list-style-type: none"> – u 10/10 zwierząt hipoplazja i uszkodzenie komórek szpiku kostnego ($p \leq 0,01$) – zwiększenie liczby zwierząt z hematopoezą w śledzionie (9/10), ($p \leq 0,01$) – zwiększenie masy prawego jądra i prawego najądrza ($p \leq 0,01$) – zwiększenie odsetka plemników o nieprawidłowej budowie ($p \leq 0,01$)
	9 000	<ul style="list-style-type: none"> – u 10/10 zwierząt hipoplazja i uszkodzenie komórek szpiku kostnego ($p \leq 0,01$) – zwiększenie liczby zwierząt z hematopoezą w śledzionie (10/10), ($p \leq 0,01$) – zwiększenie masy prawego jądra i prawego najądrza ($p \leq 0,01$) – zwiększenie odsetka plemników o nieprawidłowej budowie ($p \leq 0,01$) – istotne zmniejszenie liczby plemników w przeliczeniu na gram tkanki ogona najądrza ($p \leq 0,01$)

Narażenie 2-letnie

W badaniu 2-letnim przeprowadzonym w ramach NTP (1996) szczurom F344/N (po 50 samic i samców w grupie) podawano fenoloftaleinę w paszy o stężeniach: 0; (grupa kontrolna); 12 000; 25 000 lub 50 000 ppm, co w grupach narażanych zwierząt odpowiadało następującym średnim dawkom fenoloftaleiny:

- szczury samice: 500; 1 000 lub 2 500 mg/kg mc./dzień
- szczury samce: 500; 1 000 lub 2 000 mg/kg mc./dzień.

Narażenie na fenoloftaleinę nie miało wpływu na przeżywalność zwierząt. U narażanych zwierząt obserwowano zmniejszenie masy ciała w stosunku do grupy kontrolnej – w przypadku samic od około 16 tygodni do końca doświadczenia, w przypadku samców w 2. roku eksperymentu. Widocznymi klinicznymi objawami narażenia były wychudzenie i nastroszona sierść u narażonych samców. Nie odnotowano istotnych różnic stężenia fenoloftaleiny w osoczu narażanych zwierząt w zależności od dawki lub płci (NTP 1996).

Liczba przypadków przewlekłej nefropatii była istotnie większa we wszystkich grupach narażanych samic ($p \leq 0,05$) i wynosiła 34/50 w grupie kontrolnej oraz odpowiednio: 45/50; 43/50 i 44/50 w grupach narażanych, a nasilenie objawów nefropatii było istotnie większe u samic z 2 grup otrzy-

mujących większe dawki fenoloftaleiny ($p \leq 0,05$). U samców większe nasilenie objawów nefropatii odnotowano we wszystkich grupach narażanych ($p \leq 0,01$), pomimo braku istotnych różnic liczby zwierząt z nefropatią w stosunku do grupy kontrolnej (47/50 w grupie kontrolnej oraz 49/50; 50/50 i 50/50 w kolejnych grupach narażanych). Objawy nefropatii obejmowały:

- poszerzenie i deformację kanalików nerkowych z tworzeniem torbieli
- obecność wałeczków białkowych w kanalikach nerkowych
- rozsiane ropne ogniska zapalne, głównie w kanalikach nerkowych ze zwyrodnieniami
- zmiany zanikowe, regeneracyjne i hipertrofię nabłonka kanalików nerkowych
- pogrubienie kanalików i błony podstawnej kłębuszków nerkowych
- zwłóknienia śródmiąższowe
- skupienia komórek zapalnych jednojądrzastych w śródmiąższu.

Znaczące poszerzenie kanalików nerkowych z tworzeniem torbieli oraz rozrost nabłonka przejściowego miedniczek nerkowych występowały w przypadkach ciężkiej nefropatii obserwowanej u narażanych samców (NTP 1996).

U samców wystąpił również wzrost liczby przypadków: rozrostu przytarczycy, osteodystrofii kości, mineralizacji i zwyrodnienia gruczołów żołądka,

natomiast liczba przypadków rozrostu komórek C tarczycy była mniejsza niż w grupie kontrolnej. Autorzy badania podkreślają, że wymienione zmiany zwykle obserwuje się u samców z zaawansowaną nefropatią, ponieważ są one związane z zaburze-

niami równowagi wapniowo-fosforowej powstającymi w wyniku nieprawidłowej pracy nerek (NTP 1996). Szczegółowe zestawienie skutków narażenia w zależności od dawki fenoloftaleiny zamieszczono w tabeli 4.

Tabela 4.

Skutki 2-letniego narażenia na fenoloftaleinę (z wyjątkiem nowotworów) w zależności od dawki na podstawie wyników badania NTP (NTP 1996)

Gatunek, płeć	Dawka, mg/kg mc./dzień	Skutki narażenia
Szczur F344/N, samice, po 50 w grupie	500	– zwiększenie liczby przypadków nefropatii – 45/50 vs. 34/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,05$)
	1 000	– zwiększenie liczby przypadków nefropatii – 43/50 vs. 34/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,05$) – istotnie większe nasilenie objawów nefropatii w stosunku do grupy kontrolnej ($p \leq 0,05$)
	2 500	– zwiększenie liczby przypadków nefropatii – 44/50 vs. 34/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,05$) – istotnie większe nasilenie objawów nefropatii w stosunku do grupy kontrolnej ($p \leq 0,05$)
Szczur F344/N, samce, po 50 w grupie	500	– zwiększenie liczby zwierząt z torbielami nerek – 19/50 vs. 1/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$) – istotne zwiększenie nasilenia objawów nefropatii w stosunku do grupy kontrolnej ($p \leq 0,01$) – zwiększenie liczby przypadków rozrostu komórek przejściowych nabłonka miedniczek nerkowych – 31/50 vs. 4/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$) – zwiększenie liczby przypadków rozrostu komórek nabłonka kanałków nerkowych – 6/50 vs. 0/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$) – zwiększenie liczby zwierząt z ogniskowym rozrostem komórek nadnerczy – 22/50 vs. 13/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,05$)
	1 000	– zwiększenie liczby zwierząt z torbielami nerek – 21/50 vs. 1/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$) – istotne zwiększenie nasilenia objawów nefropatii w stosunku do grupy kontrolnej ($p \leq 0,01$) – zwiększenie liczby przypadków rozrostu komórek przejściowych nabłonka miedniczek nerkowych – 34/50 vs. 4/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$) – zwiększenie liczby przypadków rozrostu komórek nabłonka kanałków nerkowych – 7/50 vs. 0/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$)
	2 000	– zwiększenie liczby zwierząt z torbielami nerek – 22/50 vs. 1/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$) – istotne zwiększenie nasilenia objawów nefropatii w stosunku do grupy kontrolnej ($p \leq 0,01$) – zwiększenie liczby przypadków rozrostu komórek przejściowych nabłonka miedniczek nerkowych – 29/50 vs. 4/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$) – zwiększenie liczby zwierząt z ogniskowym rozrostem komórek nadnerczy – 23/50 vs. 13/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$)
Mysz B6C3F1, samice, po 50 w grupie	400	– rozrost komórek zrębu jajnika – u 11/50 samic vs. 4/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,05$)
	800	– zwiększenie liczby przypadków pigmentacji szpiku kostnego (złogi hemosyderyny) – 11/50 vs. 2/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$)
	1 500	– rozrost komórek zrębu jajnika – u 17/50 samic vs. 4/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$) – zwiększenie liczby przypadków pigmentacji szpiku kostnego (złogi hemosyderyny) – 11/50 vs. 2/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$) – kumulacja kropli hialinowych w kanałkach nerkowych – 8/50 vs. 0/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$)

cd. tab. 4

Gatunek, płeć	Dawka, mg/kg mc./dzień	Skutki narażenia
Mysz B6C3F1, samce, po 50 w grupie	300	– zwiększenie liczby zwierząt ze zwyrodnieniem nabłonka rozrodczego jąder – u 49/50 samców vs. 1/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$) – zwiększenie liczby przypadków rozrostu komórek hematopoetycznych w śledzionie – 22/50 vs. 10/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,05$)
	600	– zwiększenie liczby zwierząt ze zwyrodnieniem nabłonka rozrodczego jąder – u 50/50 samców vs. 1/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$) – zwiększenie liczby przypadków rozrostu komórek hematopoetycznych w śledzionie – 28/50 vs. 10/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$) – kumulacja kropli hialinowych w kanalikach nerkowych – 5/50 vs. 0/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,05$) – wzrost liczby przypadków pigmentacji szpiku kostnego (złogi hemosyderyny) – 5/50 vs. 0/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,05$)
	1 200	– zwiększenie liczby zwierząt ze zwyrodnieniem nabłonka rozrodczego jąder – u 47/50 samców vs. 1/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$) – wzrost liczby przypadków rozrostu komórek hematopoetycznych w śledzionie – 21/50 vs. 10/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,05$) – kumulacja kropli hialinowych w kanalikach nerkowych – 5/50 vs. 0/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,05$) – wzrost liczby przypadków pigmentacji szpiku kostnego (złogi hemosyderyny) – 16/50 vs. 0/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$) – mielofibroza szpiku kostnego – 19/50 vs. 3/50 w grupie kontrolnej ($p \leq 0,01$)

W 2-letnim badaniu NTP (1996) myszom B6C3F1 (po 50 samic i samców w grupie) podawano fenoloftaleinę w paszy o stężeniach: 0 (grupa kontrolna); 3 000; 6 000 lub 12 000 ppm, co w grupach narażanych zwierząt odpowiadało następującym średnim dawkom fenoloftaleiny:

- myszy samice: 400; 800 lub 1 500 mg/kg mc./dzień
- myszy samce: 300; 600 lub 1 200 mg/kg mc./dzień.

Przeżywalność samic w grupie narażanej na największą dawkę fenoloftaleiny była istotnie mniejsza niż w grupie kontrolnej, w pozostałych grupach nie

odnotowano istotnych różnic. U narażanych zwierząt obserwowano zmniejszenie masy ciała w stosunku do grupy kontrolnej – w przypadku samic we wszystkich narażanych grupach w 2. roku eksperymentu, w przypadku samców niewielkie zmniejszenie masy ciała odnotowano jedynie w grupie narażonej na największą dawkę od 93. tygodnia eksperymentu. Nie obserwowano widocznych klinicznych objawów narażenia, a stężenie fenoloftaleiny w osoczu narażanych zwierząt nie różniło się istotnie pomiędzy grupami narażanymi (NTP 1996).

Szczegółowe zestawienie skutków narażenia (z wyjątkiem nowotworów) w zależności od dawki fenoloftaleiny zamieszczono w tabeli 4.

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne

Testy na bakteriach

W testach mutacji powrotnych na *Salmonella* Typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537 i TA1538, zarówno bez aktywacji metabolicznej, jak i z aktywacją frakcją S9, fenoloftaleina nie wykazywała działania mutagennego (Bonin i in. 1981; Mortelmans i in. 1986), a w testach na *Bacillus subtilis* nie obserwo-

wano indukcji uszkodzeń DNA (Fujita i in. 1976; Kada i in. 1972).

Testy w warunkach in vitro

Istotnie statystycznie zwiększenie częstości występowania aberracji chromosomowych odnotowano w badaniach na komórkach zarodków ludzkich uzyskanych z płynu owodniowego (23,2 µg fenoloftaleiny/ml) oraz na komórkach wątroby chomika chiń-

skiego (Biondi i in. 2000). W przypadku hodowli komórek jajnika chomika chińskiego zwiększenie częstości aberracji chromosomowych obserwowano tylko przy zastosowaniu aktywacji metabolicznej (40 µg fenoloftaleiny/ml), (Witt i in. 1995). Według Biondi i in. (2000) z danych tych wynika, że fenoloftaleina działa jako promutagen i musi być metabolicznie aktywowana, żeby wywierać efekt klastogenny. Zwiększenie częstotliwości aberracji chromosomowych stwierdzono także w badaniu na hodowli komórek zarodka chomika syryjskiego bez aktywacji metabolicznej (dawka fenoloftaleiny 12,8 µg/ml), (Tsutsui i in. 1997).

Nie stwierdzono zwiększenia częstości wymian chromatyd siostrzanych w badaniach na komórkach jajnika chomika chińskiego, zarówno bez aktywacji metabolicznej, jak i z aktywacją frakcją S9 przy dawce 50 µg/ml (NTP 1995). Nie obserwowano również tworzenia adduktów DNA ani aneuploidów (badania przeprowadzono bez aktywacji), (Tsutsui i in. 1997).

W badaniach na komórkach zarodka chomika syryjskiego uzyskano wyniki dodatnie w teście mutacji genowych, *locus Hprt* (Tsutsui i in. 1997) oraz w badaniach transformacji komórkowych (Kerckaert i in. 1996; Tsutsui i in. 1997), a wyniki ujemne w teście mutacji genowych odporności na strofantynę (Tsutsui i in. 1997) oraz w teście mikrojądrowym (Gibson i in. 1997).

W testach mikrojądrowych na liniach ludzkich komórek limfoblastycznych użykano wynik dodatni w przypadku MCL-5 (dawka fenoloftaleiny 0,5 µg/ml) i wynik ujemny dla AHH-1 *Tk*+/- przy dawce 10 µg/ml (Bishop i in. 1998).

Testy w warunkach *in vivo*

Powstawanie mikrojąder w erytrocytach krwi obwodowej stwierdzono u:

- samców myszy Swiss CD-1, którym podawano fenoloftaleinę z paszą przez 2 dni w dawce 2 000 mg/kg mc./dzień lub przez 14 tygodni w dawce 120 mg/kg mc./dzień (Witt i in. 1995)
- samic i samców myszy B6C3F1, którym przez 13 tygodni podawano fenoloftaleinę z paszą, średnia dawka wynosiła 1 000 mg/kg mc./dzień (Dietz i in. 1992)
- samic transgenicznych myszy TSG-*p53*, którym przez 6 miesięcy podawano fenoloftaleinę z paszą, w dawce 37 mg/kg mc./dzień (Tice i in. 1998)
- samic i samców heterozygotycznych myszy *p53* (+/-), którym przez 26 tygodni podawano

fenoloftaleinę zglębniakiem (800 lub 2 400 mg / kg mc./dzień) lub z paszą (2 400 mg/kg mc./dzień), (Stoll i in. 2006).

W badaniu pęknięć nici DNA w leukocytach krwi (w teście kometowym) u samic transgenicznych myszy TSG-*p53*, którym przez 6 miesięcy podawano z paszą 2 074 mg fenoloftaleiny/kg mc./dzień, uzyskano niejednoznaczne wyniki (Tice i in. 1998).

Eksperti UE zaklasyfikowali fenoloftaleinę w klasie zagrożenia „działanie mutagenne na komórki rozrodcze” do kategorii 2, czyli do substancji dających powody do niepokoju z uwagi na możliwość wywołania dziedzicznych mutacji w komórkach rozrodczych u ludzi z przypisanym zwrotem H341 „podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne”.

Działanie rakotwórcze

Działanie rakotwórcze na ludzi

U osób stosujących leki przeczyszczające oparte na fenoloftaleinie w badaniach kliniczno-kontrolnych obserwowano niewielki wzrost ryzyka raka jelita grubego i raka jajnika, zwłaszcza przy intensywnym stosowaniu tych środków, ale zależność nie była istotna statystycznie (Coogan i in. 2000; Cooper i in. 2000; 2004; Jacobs, White 1998; Kune 1993; Longnecker i in. 1997; Schottenfeld, Fraumeni 2006).

Pierwsze badanie zależności pomiędzy stosowaniem środków przeczyszczających a rakiem jelita grubego było przeprowadzone w Australii (Kune 1993). Przeanalizowano informacje dotyczące wcześniejszego stosowania środków przeczyszczających u 685 osób z rakiem jelita grubego rozpoznanym w latach 1980-1981 w Melbourne. Grupę kontrolną stanowiły 723 osoby dobrane pod względem wieku i płci. Ryzyko względne związane z użyciem środków przeczyszczających (bez względu na rodzaj stosowanych środków) wynosiło 1,0 (95% CI = 0,86 ÷ 1,4). 87 osób z grupy badanej (13%) i 70 osób z grupy kontrolnej (9,7%) stosowało leki zawierające fenoloftaleinę i w tej grupie odnotowano wzrost ryzyka względnego do 1,4, chociaż w dalszym ciągu nie był on statystycznie istotny (95% CI = 0,96 ÷ 1,9).

Jacobs i White (1998) przeprowadzili badanie kliniczno-kontrolne zależności ryzyka raka jelita grubego od występowania zaparć i stosowania środków przeczyszczających zawierających fenoloftaleinę. Grupę badaną stanowiły 424 osoby zamieszkałe w stanie Waszyngton, u których w latach 1985-1989

zdiagnozowano raka jelita grubego i którzy w momencie diagnozy byli w wieku 30 ÷ 62 lat. Grupę kontrolną stanowiło 414 osób dobranych pod względem wieku, płci oraz miejsca zamieszkania. Ryzyko względne zachorowania na raka jelita grubego u osób, które w ciągu całego życia stosowały środki przeczyszczające zawierające fenoloftaleinę maksymalnie 349 razy, nie było zwiększone i wynosiło 1,0 (95% CI = 0,3 ÷ 3,7), natomiast w przypadku 350 lub więcej zastosowań w ciągu życia wynosiło 3,9 (95% CI = 1,5 ÷ 10). W badaniu wykazano jednocześnie, że częste zaparcia występujące w okresie 2 ÷ 12 lat przed diagnozą wiązały się z istotnie zwiększonym ryzykiem raka jelita grubego. Zaparcia 12 ÷ 51 razy w roku występowały u 42 osób w grupie przypadków i u 23 osób w grupie kontrolnej (RR = 2,0; 95% CI = 1,2 ÷ 3,6), a 52 i więcej razy odpowiednio u 37 i 12 osób (RR = 4,4; 95%

CI = 2,1 ÷ 8,9). Ryzyko względne wynikające ze stosowania środków przeczyszczających zawierających fenoloftaleinę skorygowane o występowanie zaparć nie było istotne statystycznie – wynosiło 0,42 (95% CI = 0,10 ÷ 1,7) dla < 350 zastosowań w ciągu życia i 1,4 (95% CI = 0,47 ÷ 4,3) dla ≥ 350 zastosowań.

W żadnym z 3 badań kliniczno-kontrolnych przeprowadzonych przez Longnecker i in. (1997) nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy stosowaniem co najmniej raz w tygodniu środków przeczyszczających zawierających fenoloftaleinę a występowaniem gruczolakowatych polipów jelita grubego stwierdzonych na podstawie badania endoskopowego. Grupy badane stanowili pacjenci, u których w badaniach endoskopowych stwierdzono występowanie polipów, grupa kontrolna była dobrana pod względem wieku i płci. Wyniki badań zestawiono w tabeli 5.

Tabela 5.

Ryzyko względne występowania gruczolakowatych polipów jelita grubego od stosowania leków przeczyszczających zawierających fenoloftaleinę (Longnecker i in. 1997)

Przypadki – wiek oraz data badania endoskopowego	Liczba osób ogółem		Liczba osób stosujących fenoloftaleinę		Ryzyko względne (95% CI)
	przypadki	grupa kontrolna	przypadki	grupa kontrolna	
Mieszkańcy pñ. Karoliny w wieku 30 ÷ 89 lat (średnio 60 lat) 1988-1990	236	409	9	18	1,0 (0,4 ÷ 2,2)
Mieszkańcy Los Angeles w wieku 50 ÷ 74 lata (średnio 62 lata) 1991-1993	488	488	9	4	1,8 (0,5 ÷ 6,2)
Mieszkańcy pñ. Karoliny w wieku 30 ÷ 88 lat (średnio 59 lat) 1992-1995	142	169	4	3	1,1 (0,2 ÷ 5,7)

Na podstawie wyników wymienionych badań w 2000 r. Eksperti Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakim uznali, że dowody rakotwórczego działania fenoloftaleiny na ludzi są niewystarczające (IARC 2000).

Przeprowadzono badania wpływu stosowania środków przeczyszczających zawierających fenoloftaleinę na ryzyko wystąpienia raka jajnika (Cooper i in. 2000; 2004). Grupę badaną stanowiło 767 kobiet z nabłonkowym rakiem jajnika zdiagnozowanym w latach 1994-1998 w 39 szpitalach w USA, z czego 616 przypadków stanowiły nowotwory złośliwe inwazyjne, a 151 guzy jajnika o granicznej złośliwości (ang. *borderline*). Grupę kontrolną stanowiło 1 367 kobiet dobranych z uwzględnieniem wieku i miejsca zamieszkania. W obu grupach odsetek kobiet stosujących środki przeczyszczające

z fenoloftaleiną był zbliżony – 410 kobiet (53,5%) w grupie badanej oraz 713 (52,4%) w grupie kontrolnej. Autorzy stwierdzili, że stosowanie środków zawierających fenoloftaleinę nie zwiększa istotnie ryzyka raka nabłonkowego jajnika w porównaniu z grupą kobiet niestosujących środków przeczyszczających (iloraz szans OR = 1,1; 95% CI = 0,9 ÷ 1,4). Nieznacznie większy wzrost odnotowano w przypadku grupy stosującej środki przeczyszczające na bazie fenoloftaleiny z dużą częstotliwością, tj. przez co najmniej 75 dni/rok (OR = 1,2; 95% CI = 0,8 ÷ 1,7). Jeszcze większy wzrost ilorazu szans, chociaż w dalszym ciągu nieistotny statystycznie, uzyskano w przypadku przyjęcia jako grupy referencyjnej kobiet stosujących środki przeczyszczające niezawierające fenoloftaleiny – uzyskano iloraz szans OR = 1,4 (95% CI = 0,9 ÷ 2,4) w grupie kobiet

stosujących środki zawierające fenoloftaleinę (bez względu na częstotliwość stosowania) oraz OR = 1,5 (95% CI = 0,9 ÷ 2,4) w przypadku stosowania ich przez przynajmniej 75 dni (Cooper i in. 2000; 2004).

Coogan i in. (2000) przeanalizowali 18 163 przypadki nowotworów u pacjentów w wieku 21 ÷ 79 lat, zdiagnozowanych w latach 1976-1999 w szpitalach z 4 miast USA. Grupę kontrolną stanowiło 12 204 pacjentów tych samych szpitali hospitalizowanych z innych powodów (urazów, ostrych infekcji, problemów ortopedycznych). Na podstawie wywiadu ustalono, że 286 osób w grupie przypadków oraz 236 osób w grupie kontrolnej stosowało środki oczyszczające zawierające fenoloftaleinę przez przynajmniej 3 miesiące, co najmniej 2 lata przez przyjęciem do szpitala, przy czym 5% z nich stosowało te środki codziennie, 22% kilka razy w tygodniu, 18% 1 ÷ 4 razy w miesiącu, 40% sporadycznie, a 15% ze zmienną częstotliwością. Iloraz szans w grupie narażonej na fenoloftaleinę był nieznacznie zwiększony w przypadkach wystąpienia: nowotworów jelita grubego (liczba przypadków w grupie narażonej na fenoloftaleinę $n = 30$; iloraz szans OR = 1,2; 95% CI: 0,8 ÷ 1,8), białaczki ($n = 14$; OR = 1,1; 95% CI: 0,6 ÷ 2,0), raka pęcherza ($n = 7$; OR = 1,1; 95% CI: 0,5 ÷ 2,5) oraz raka przelyku ($n = 4$; OR = 1,4; 95% CI: 0,5 ÷ 3,9). W przypadku osób które przyjmowały fenoloftaleinę co najmniej raz w tygodniu przez przynajmniej 2 lata, odnotowano wzrost ryzyka wystąpienia nowotworów jelita grubego ($n = 11$; OR = 2,0; 95% CI: 0,9 ÷ 4,2) oraz jajnika ($n = 5$; OR = 1,1; 95% CI: 0,4 ÷ 2,9); jednak różnice te nie były statystycznie istotne (Coogan i in. 2000; Schottenfeld, Fraumeni 2006).

Działanie rakotwórcze na zwierzęta

Szczury

W badaniu 2-letnim przeprowadzonym w ramach NTP (1996) szczurom F344/N (po 50 samic i sam-

ców w grupie) podawano fenoloftaleinę w paszy o stężeniach: 0 (grupa kontrolna); 12 000; 25 000 lub 50 000 ppm, co w grupach narażonych odpowiadało dawkom fenoloftaleiny:

- szczury samice: 500; 1 000 lub 2 500 mg/kg mc./dzień
- szczury samce: 500, 1 000 lub 2 000 mg/kg mc./dzień.

U samic liczba przypadków łagodnego guza chromochłonnego rdzenia nadnerczy była istotnie większa tylko w grupie, w której podawano najmniejszą dawkę fenoloftaleiny (500 mg/kg mc./dzień). Suma guzów łagodnych i złośliwych była istotnie większa przy dawkach 500 oraz 1 000 mg/kg mc. (w tych 2 grupach odnotowano po 1 przypadku guza złośliwego). U samców we wszystkich narażonych grupach odnotowano istotny wzrost liczby przypadków łagodnego guza chromochłonnego rdzenia nadnerczy, w tym obustronnego, oraz sumy łagodnych i złośliwych guzów chromochłonnych rdzenia nadnerczy. Częstość występowania złośliwego guza chromochłonnego nie różniła się w stosunku do grupy kontrolnej (po 1/50 w każdej grupie), (NTP 1996).

Zwiększenie łącznej liczby przypadków gruczolaka i raka z nabłonka kanalików nerkowych u samców było istotne przy 2 największych dawkach. U samic liczba przypadków nowotworów nerek była zbliżona do ich liczby w grupie kontrolnej (NTP 1996).

Szczegółowe wyniki badania przeprowadzonego na szczurach przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6.

Liczba i rodzaj zmian przednowotworowych i nowotworów u szczurów narażonych na fenoloftaleinę w badaniu 2-letnim NTP (1996)

Lokalizacja i rodzaj zmian	Samice				Samce			
	dawka fenoloftaleiny, mg/kg mc.				dawka fenoloftaleiny, mg/kg mc.			
	0	500	1 000	2 500	0	500	1 000	2 000
Rdzeń nadnerczy:								
Ogniska rozrostu	10/50	18/50	15/50	11/49	13/50	22/50	18/50	23/50
Łagodny guz chromochłonny	3/50	11/50	9/50	2/49	17/50	34/50	34/50	34/50
W tym obustronny	1/50	2/50	0/50	0/50	3/50	19/50	19/50	15/50
Łagodne i złośliwe guzy chromochłonne razem	3/50	12/50	10/50	2/49	18/50	35/50	35/50	35/50

cd. tab. 6

Lokalizacja i rodzaj zmian	Samice				Samce			
	dawka fenoloftaleiny, mg/kg mc.				dawka fenoloftaleiny, mg/kg mc.			
	0	500	1 000	2 500	0	500	1 000	2 000
Nabłonek kanalików nerkowych:								
Rozrost komórek	1/50	4/50	3/50	3/50	3/50	25/50	29/50	27/50
Gruzołaki	1/50	2/50	0/50	1/50	1/50	10/50	15/50	15/50
Gruzołaki i raki razem	–	–	–	–	1/50	10/50	16/50	16/50

Myszy

Myszom B6C3F1 (po 50 samic i samców w grupie) podawano fenoloftaleinę w paszy o stężeniach: 0 (grupa kontrolna); 3 000; 6 000 lub 12 000 ppm przez 2 lata, co w grupach narażanych odpowiadało średnim dawkom:

- myszy samice: 400; 800 lub 1 500 mg/kg mc./dzień
- myszy samce: 300; 600 lub 1 200 mg/kg mc./dzień.

U narażanych zwierząt obu płci odnotowano wzrost liczby przypadków mięsaka histiocytarnego istotny w grupach samic i samców, które otrzymywały 2 większe dawki fenoloftaleiny.

Liczba przypadków: złośliwego chłoniaka (wszystkich typów), chłoniaka grasicy oraz aty-

powego rozrostu grasicy była istotnie większa we wszystkich grupach narażanych samic w stosunku do samic z grupy kontrolnej. U samców również odnotowano wzrost liczby przypadków chłoniaka grasicy, ale był on istotny statystycznie jedynie w grupie, której podawano 600 mg fenoloftaleiny/kg mc./dzień, a istotny wzrost liczby przypadków atypowego rozrostu grasicy obserwowano u samców przy 2 największych dawkach.

U samic obserwowano również istotny statystycznie wzrost liczby przypadków łagodnych nowotworów jajnika (ang. *sex-cord stroma tumors of the ovary*) we wszystkich narażanych grupach oraz zmian rozrostowych komórek zrębowych jajnika przy dawkach 400 lub 1 500 mg/kg mc./dzień.

Szczegółowe wyniki badania przeprowadzonego na myszach przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7.

Liczba i rodzaj zmian przednowotworowych i nowotworów u myszy narażonych na fenoloftaleinę w 2-letnim badaniu NTP (1996)

Lokalizacja i rodzaj zmian	Samice				Samce			
	dawka fenoloftaleiny, mg/kg mc.				dawka fenoloftaleiny, mg/kg mc.			
	0	400	800	1 500	0	300	600	1 200
Mięsak histiocytarny*	0/50	2/50	7/50	7/50	1/50	3/50	11/50	12/50
Atypowy rozrost komórek grasicy	0/48	7/44	6/49	5/45	0/43	3/46	7/44	7/42
Chłoniak złośliwy (wszystkie typy)	15/50	28/50	33/50	25/50	6/50	8/50	12/50	8/49
Chłoniak grasicy	1/50	9/50	10/50	7/50	0/50	4/50	7/50	2/49
Rozrost komórek zrębu jajnika	4/50	11/50	10/50	17/50	–	–	–	–
Łagodne nowotwory jajnika	0/50	7/49	6/50	5/50	–	–	–	–

Objaśnienia:

* – głównie w wątrobie, ale również w innych lokalizacjach (w: śledzionie, płucu, szpiku kostnym, węzłach chłonnych).

Heterozygotycznym myszom p53(+/-) [C57BL/6TacBR-[KO]p53[TSG-p53] p53(+/-)] (po 15 samców i 15 samic w grupie) podawano 800 lub 2 400 mg fenoloftaleiny/kg mc./dzień zgłębnikiem lub 2 400 mg/kg mc./dzień fenoloftaleiny z paszą przez 26 tygodni. Przypadki chłoniaka grasicy zaobserwowano odpowiednio u: 3/15; 4/15 i 12/15 narażanych sam-

ców oraz u: 5/15; 8/15 i 14/15 narażanych samic (Stoll i in. 2006).

W 2000 r. eksperci IARC ocenili, że istnieją wystarczające dowody działania rakotwórczego na zwierzęta. W związku z tym fenoloftaleinę zaklasyfikowano do grupy 2B, czyli do czynników przypuszczalnie rakotwórczych dla ludzi (IARC 2000).

Na podstawie wyników badań na zwierzętach fenoloftaleina została uznana za substancję o przewidywanym działaniu rakotwórczym na ludzi NTP R (ang. *reasonable anticipated as human carcinogen*), (ACGIH 2015; NTP 2016).

Ekspert Unii Europejskiej zaklasyfikowali fenoloftaleinę do kategorii 1B substancji rakotwórczych, czyli do substancji, co do których wiadomo lub istnieje domniemanie, że są rakotwórcze dla człowieka, przy czym klasyfikacja opiera się na wynikach badań przeprowadzonych na zwierzętach.

Działanie na rozrodczość

Działanie na rozrodczość u ludzi

W dostępnym piśmiennictwie i w bazach danych nie znaleziono informacji dotyczących wpływu fenoloftaleiny na funkcje rozrodcze ludzi.

Nie stwierdzono zwiększenia liczby przypadków wad rozwojowych u dzieci kobiet, które stosowały fenoloftaleinę jako lek przeczyszczający w czasie ciąży. Badaniem objęto ponad 1 tys. kobiet, w tym 236 stosowało fenoloftaleinę podczas pierwszych 3 miesięcy ciąży, a 806 przez cały okres ciąży (Briggs i in 1994).

Działanie na rozrodczość u zwierząt

Jak podano w rozdziale dotyczącym toksyczności przewlekłej, w 13-tygodniowym eksperymencie NTP fenoloftaleina podawana z paszą nie spowodowała szkodliwego działania na rozrodczość u szczurów obu płci oraz u samic myszy. Natomiast u samców myszy przy dawkach: 2 000; 4 100 lub 9 000 mg/kg mc./dzień odnotowano zmniejszenie masy najądrzy i liczby plemników w przeliczeniu na gram najądrza (NTP 1996).

W opisanym szerzej w poprzednim rozdziale badaniu działania rakotwórczego fenoloftaleiny na heterozygotycznych myszach p53(+/-) [C57BL/6TacBR-[KO]p53[TSG-p53] p53(+/-)] odnotowano wzrost liczby przypadków zwyrodnienia kanalików nasiennych jąder (14/15) w grupie zwierząt, którym podawano 2 400 mg fenoloftaleiny/kg mc./dzień z paszą przez 26 tygodni. W grupie kontrolnej było 5/15 przypadków, a w grupach samców, którym podawano 800 lub 2 400 mg fenoloftaleiny/kg mc./dzień zgłębnikiem, po 3/15 (Stoll i in. 2006).

Fenoloftaleina podawana drogą pokarmową w dawce 1 895 mg/kg mc./dzień przez 30 lub 60 dni samicom myszy B6C3F1 nie spowodowała: zmian masy ciała, patologicznych zmian w jajnikach,

w cyklu menstruacyjnym ani w liczbie pęcherzyków jajnikowych: pierwotnych, wzrastających, Graafa i antralnych (Hoyer i in. 1997).

W badaniu dwupokoleniowym na myszach Swiss CD-1 fenoloftaleinę podawano z paszą w dawkach: 0 (grupa kontrolna); 150; 1 000 lub 4 500 mg/kg mc./dzień przez 105 dni (od 7. dnia przed kojarzeniem). W grupie kontrolnej było 40 myszy, a w narażonych po 20. W grupach zwierząt, którym podawano średnią i największą dawkę fenoloftaleiny, odnotowano znaczący wpływ narażenia na funkcje rozrodcze. Średnia liczba miotów na parę zmniejszyła się odpowiednio o 24 i 50%, a liczba osesków na miot zmniejszyła się o 58 ÷ 59%. Przy dawce średniej odsetek par wytwarzających od dwóch do pięciu miotów był znacznie mniejszy niż w grupie kontrolnej (dla pierwszego miotu wynosił 100%, a następnie kolejno: 89; 84; 68 i 36% w stosunku do grupy kontrolnej). Przy największej dawce tylko 5% par wytworzyło piąty miot. Po kątem sprawności reprodukcyjnej pokolenia F1 oceniano zwierzęta z ostatniego z maksymalnie 5 miotów. Ostatnie mioty hodowano na tej samej paszy, którą podawano rodzicom, 70% osesków otrzymujących dużą dawkę padło w ciągu czterech dni od urodzenia. U zwierząt F1 przy dawce średniej odnotowano zmniejszenie o połowę liczby miotów i wielkości miotu w porównaniu z grupą kontrolną, ale bez wpływu na przeżycie potomków F2. Badanie sekcyjne samców F0 wykazało zmniejszenie masy jąder o 36% oraz liczby plemników w najądrzach o 30%, a zwyrodnienie kanalików nasiennych było widoczne u 9 z 10 narażonych zwierząt, natomiast u samic F0 nie obserwowano zmian cyklu ani zmian w jajnikach. Zbliżone wyniki uzyskano u dorosłych osobników F1 po zakończeniu narażenia (Chapin i in 1997; IARC 2000; NTP 1990).

Fenoloftaleina ma słabe działanie estrogenne – minimalna dawka efektywna jest 40-krotnie mniejsza w porównaniu z dietylostilbestrolem (Bitman, Cecil 1970). Podanie podskórne niedojrzałym samicom szczura powodowało wzrost masy macicy (Nieto i in. 1990).

Fenoloftaleina jest zaklasyfikowana w UE do substancji działających szkodliwie na rozrodczość kategorii 2 ze względu na wpływ na funkcje rozrodcze.

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie i rozmieszczenie

U ludzi po podaniu drogą pokarmową fenoloftaleina ulega wchłanianiu w jelitach. Na podstawie danych *American Hospital Formulary Service* stwierdzono, że wchłonięciu ulega około 15% dawki (IARC 2000; NTP 1996).

Griffin i in. (1998) badali rozmieszczenie i metabolizm fenoloftaleiny u szczurów F344 i myszy B6C3F1 po jednorazowym podaniu do żołądka [¹⁴C]fenoloftaleiny w dawce 800 mg/kg mc. Po upływie 72 h u samic odzyskano prawie 100% radioaktywnego izotopu, a u samców około 75%. Nie stwierdzono istotnej retencji ¹⁴C w tkankach po: 2; 8; 24 i 72 h od podania. Wiązanie kowalencyjne z białkami w tkankach docelowych, tj. szpiku kostnym i jajniku, mieściło się w zakresie pmol/mg białka lub poniżej.

W badaniach przeprowadzonych przez *Collins* i in. (2000), (po jednorazowym podaniu dożylnym lub dożołądkowym albo przez 14 dni z paszą szczurom F344 i myszom B6C3F1, p53 (+/-) oraz C57BL) potwierdzono, że fenoloftaleina jest wchłaniana i konwertowana do glukuronidu bez względu na drogę podania, z wyjątkiem dużych dawek podawanych z paszą, przy których obserwowano nasylenie wchłaniania. Stężenie wolnej fenoloftaleiny w surowicy krwi po jednorazowym dożylnym podaniu fenoloftaleiny szybko się zmniejszało, natomiast stężenie całkowitej fenoloftaleiny (PTH-F + PTH-G) wzrastało do wartości maksymalnej, a następnie powoli zmniejszało się w ciągu 6 ÷ 8 h po podaniu. Nie odnotowano różnic pomiędzy samcami i samicami.

Metabolizm i wydalanie

U ludzi fenoloftaleina ulega w wątrobie reakcji sprzęgania do glukuronidu (PTH-G). PTH-G jest wydalany z żółcią i przechodząc przez jelito grube ulega częściowej deglukuronizacji do wolnej fenoloftaleiny (PTH-F) przy udziale flory bakteryjnej (*Anand* i in. 1994; *Morotomi* i in. 1985). Około 70 ÷ 90% przyjętej doustnie dawki fenoloftaleiny jest wydalane z kałem, a pozostałe 10 ÷ 30% z moczem (*Kok, Faber* 1981).

W opisanym eksperymencie *Griffina* i in. (1998) po podaniu 800 mg/kg mc. fenoloftaleiny drogą pokarmową głównym metabolitem fenoloftaleiny był glukuronid (obecny w moczu obu gatunków), ale w mniejszych ilościach zidentyfikowano także inne pochodne fenoloftaleiny: wodorotlenek (w moczu i w kale myszy obu płci oraz w moczu szczurów samców), siarczan (w kale obu gatunków) i diglukuronid (w moczu szczurów samców). Obecność radioaktywnego izotopu u szczurów F344 stwierdzono przede wszystkim w kale (> 90%), natomiast myszy B6C3F1 wydalają 30 ÷ 40% z moczem. Zarówno w przypadku szczurów, jak i myszy, w kale występowała głównie fenoloftaleina w postaci niezwiązanej (89,4 ÷ 91,2%), podczas gdy w moczu znaczną część stanowił glukuronid (42,4 ÷ 92,5%).

Po podaniu dożylnym fenoloftaleiny szczurom substancja ulega sprzęganiu z kwasem glukuronowym do glukuronidu. Po 60 min od podania 85% fenoloftaleiny zostało wydalone z żółcią w postaci PTH-G. Nie stwierdzono obecności wolnej fenoloftaleiny w żółci, a w moczu znajdowało się około 3% PTH-F (*Clark, Cooke* 1978).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Szeroki zakres skutków toksycznych i nowotworowych powodowanych przez fenoloftaleinę może wynikać z trzech mechanizmów lub z ich kombinacji (*Garner* i in. 2000). Pierwszym z nich jest skutek estrogeny (*Nieto* i in. 1990). *Garner* i in. (2000) wykazali, że jeden z metabolitów fenoloftaleiny – hydroksyfenoloftaleina – zmniejsza aktywność enzymu katecholo-O-metylotransferazy (COMT), przez co wpływa na zwiększenie skutku genotoksycznego endogennych estrogenów katecholowych, co z kolei może być przyczyną powstawania nowo-

tworów. Drugim mechanizmem jest opisane wcześniej działanie klastogenne fenoloftaleiny (*Tsutsui* i in. 1997; *Witt* i in. 1995). Z kolei na podstawie wyników eksperymentu *Sipe* i in. (1997) potwierdzono tworzenie wolnych rodników w reakcji fenoloftaleiny z peroksydazami w warunkach in vitro, co pozwala przypuszczać, że fenoloftaleina może być istotnym źródłem stresu oksydacyjnego.

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie i w bazach danych nie znaleziono informacji o działaniu łącznym fenoloftaleiny.

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

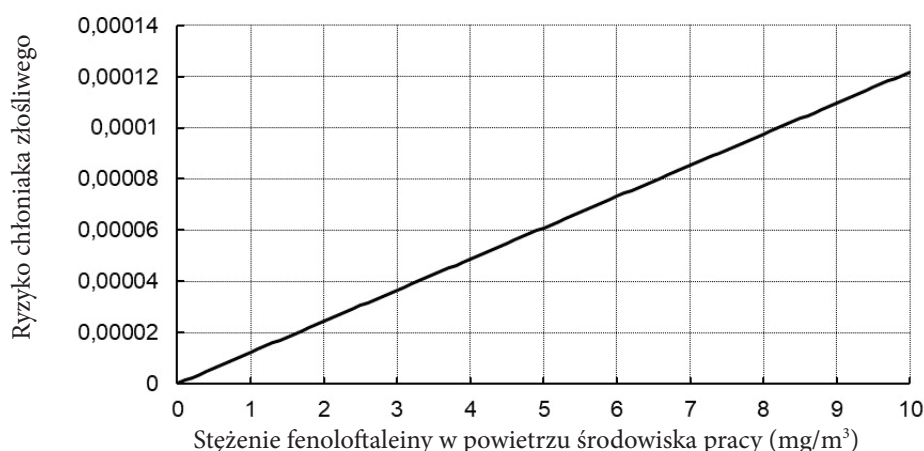
Zależność skutków nienowotworowych od dawki i czasu narażenia na fenoloftaleinę uzyskaną w eksperymencie NTP, w którym myszom i szczurom podawano paszę zawierającą fenoloftaleinę przez 13 tyg., przedstawiono w tabeli 3., a zestawienie nienowotworowych skutków obserwowanych w badaniu 2-letnim NTP – w tabeli 4.

Dane epidemiologiczne dotyczące działania rakotwórczego fenoloftaleiny u ludzi są niewystarczające do oszacowania zależności dawka-odpowiedź. Dlatego do ilościowej oceny działania rakotwórczego wykorzystano wyniki 2-letniego badania NTP (1996) na zwierzętach. Jako skutek krytyczny przyjęto zwiększenie częstości występowania chłoniaka złośliwego u myszy samic (Jankowska, Szymczak 2011).

Oszacowane dodatkowe ryzyko chłoniaka złośliwego w zależności od stężenia fenoloftaleiny w środowisku pracy, przy założeniu 40-letniego okresu pracy, kształtuje się następująco (Jankowska, Szymczak 2011):

- 0,01 przy stężeniu 827 mg/m³
- 0,001 przy stężeniu 82,5 mg/m³
- 0,0001 przy stężeniu 8,25 mg/m³.

Uzyskaną zależność dawka-odpowiedź dla człowieka przy założeniu 40-letniego okresu narażenia zawodowego przedstawiono na rysunku 1. (Jankowska, Szymczak 2011).



Rys. 1. Zależność pomiędzy stężeniem fenoloftaleiny w powietrzu środowiska pracy a dodatkowym ryzykiem chłoniaka złośliwego u człowieka przy 40-letnim okresie narażenia zawodowego (cyt. za: Jankowska, Szymczak 2011)

NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIE (NDS) W POWIETRZU I NA STANOWISKACH PRACY ORAZ DOPUSZCZALNE STĘŻENIE W MATERIALE BIOLOGICZNYM (DSB)

Istniejące wartości NDS i DSB

Wartości normatywów higienicznych fenoloftaleiny nie zostały ustalone w żadnym z państw (GESTIS International... 2017).

Podstawy proponowanej wartości NDS i DSB

Fenoloftaleina jest substancją rakotwórczą zaklasyfikowaną w UE do kategorii 1B, czyli do substancji,

co do których wiadomo lub istnieje domniemanie, że są rakotwórcze dla człowieka, przy czym klasyfikacja opiera się na wynikach badań przeprowadzonych na zwierzętach. Na podstawie wyników badań na zwierzętach fenoloftaleina została uznana za substancję o przewidywanym działaniu rakotwórczym na ludzi (NTP R, ang. *reasonable anticipated as human carcinogen*) i została w 1999 r. wycofana ze stosowania w środkach przeczyszczających przez FDA (NTP 2016).

Do centralnego rejestru prowadzonego w IMP w Łodzi fenoloftaleina jest zgłaszana od 2012 r. – zarówno liczby zgłaszanych zakładów pracy, jak i narażonych pracowników, systematycznie wzrastały w latach 2012-2016. W 2016 r. prace z fenoloftaleiną zgłosiło 255 zakładów, a liczba narażonych osób wynosiła 2,5 tys. Zgodnie z raportem RIVM fenoloftaleina znajduje się na 20. miejscu rankingu TOP50 uwzględniającego substancje rakotwórcze o największej liczbie narażonych osób w Polsce (*Puts, ter Burg* 2015). Międzyresortowa Komisja ds. NDS i NDN przekazała do Zespołu Ekspertów ds. Czynników Chemicznych informację o 14 substancjach chemicznych (lub procesach) znajdujących się na liście rankingowej TOP50, w przypadku których nie ustalono dotychczas wartości NDS. Wśród tych substancji znajduje się fenoloftaleina, co było przyczyną podjęcia prac nad ustaleniem wartości normatywnych.

W badaniach kliniczno-kontrolnych obserwowano niewielki wzrost ryzyka raka jelita grubego i raka jajnika u osób stosujących leki przeczyszczające zawierające fenoloftaleinę, zwłaszcza przy intensywnym stosowaniu tych środków, ale zależność nie była istotna statystycznie. Obliczone na podstawie badań na zwierzętach przeprowadzonych w ramach NTP (1996) dodatkowe ryzyko chłoniaka złośliwego w zależności od stężenia fenoloftaleiny w środowisku pracy, przy założeniu 40-letniego

okresu pracy, kształtuje się następująco (*Jankowska, Szymczak* 2011):

- 0,01 przy stężeniu 827 mg/m³
- 0,001 przy stężeniu 82,5 mg/m³
- 0,0001 przy stężeniu 8,25 mg/m³.

W badaniu NTP obserwowano także szereg skutków o charakterze nienowotworowym, ale występowały one przy stosunkowo wysokich dawkach, dlatego jako skutek krytyczny przyjęto działanie rakotwórcze (zwiększoną częstość wystąpienia chłoniaka złośliwego). Należy podkreślić, że wszystkie dostępne informacje, zarówno dotyczące ludzi, jak i zwierząt, dotyczą narażenia drogą pokarmową, nie są dostępne żadne dane o skutkach narażenia inhalacyjnego.

Międzyresortowa Komisja ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy przyjęła dla czynników rakotwórczych akceptowane poziomy ryzyka zawodowego w zakresie $10^{-3} \div 10^{-4}$ (*Skowroń, Czerczak* 2013). Na podstawie oszacowanego dodatkowego ryzyka chłoniaka złośliwego zaproponowano przyjęcie jako wartości NDS fenoloftaleiny stężenia 8 mg/m³. Przy tej wartości dodatkowe ryzyko wystąpienia nowotworu nie przekroczy 10^{-4} . Ponieważ fenoloftaleina jest słabo rozpuszczalnym w wodzie ciałem stałym, w środowisku pracy będzie występować jedynie narażenie na pyły tej substancji. Dlatego zaproponowana wartość NDS powinna dotyczyć frakcji wdychalnej substancji. Proponuje się oznakowanie fenoloftaleiny jako „Carc. 1B” (substancja rakotwórcza kategorii 1B) oraz „Ft” (substancja działająca szkodliwie na rozrodczość). Brak jest podstaw do ustalenia najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) fenoloftaleiny oraz wartości dopuszczalnej w materiale biologicznym (DSB).

PIŚMIENNICTWO

ACGIH, American Conference of Industrial Hygienists (2015). Guide to Occupational Exposure Values. USA, Cincinnati.

Anand B.S., Torres E., Operkun A., Graham D.Y. (1994). Comparative assessment of phenolphthalein and phenolphthalein glucuronide. Is phenolphthalein glucuronide a better laxative. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 8, 559–562.

Artymowicz R.J., Childs A.L., Paolini L. (1997). Phenolphthalein-induced toxic epidermal necrolysis. *Ann. Pharmacoter.* 31(10), 1157–1159.

Biondi O., Andreozzi L., Amoroso S., Motta S. (2000). Phenolphthalein induces chromosome aberrations in human and Chinese hamster liver cells (CHEL) cultured in vitro. *Teratogenesis Carcinog. Mutagen.* 20, 209–217.

- Bishop M.E., Aidoo A., Domon O.E., Morris S.M., Casciano D.A. (1998). Phenolphthalein induces micronuclei in transgenic human lymphoblastoid cells. *Environ. Mol. Mutagen.* 32, 286–288.
- Bitman J., Cecil, H.C. (1970) Estrogenic activity of DDT analogs and polychlorinated biphenyls. *J. Agric. Food Chem.* 18, 1108–1112.
- Bonin A.M., Farquharson J.B., Baker R.S.U. (1981). Mutagenicity of arylmethane dyes in *Salmonella*. *Mutat. Res.* 89, 21–34.
- Briggs G.G., Freeman R.K. Yaffe S.J. (1994). A Reference Guide to Fetal and Neonatal Risk. Drugs in Pregnancy and Lactation. 4th Ed. Baltimore, MD: Williams & Wilkins, 683 [cyt. za: HSDB 2017].
- Chapin R., Gulati D., Mounce R., Russell S. (1997). Phenolphthalein. *Environ. Health Perspectives* 105, 335–336
- ChemIDplus Lite (2017). U.S. National Library of Medicine [https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/77-09-8], [dostęp: czerwiec 2017].
- Clark A.G., Cooke R. (1978). The effect of route of administration on the biliary excretion of phenolphthalein and its glucuronide. *J. Pharm. Pharmacol.* 30, 383–383.
- Collins B.J., Grizzle T.B., Dunnick J.K. (2000). Toxicokinetics of phenolphthalein in male and female rats and mice. *Toxicol. Sci.* 56(2), 271–281.
- Coogan P.F., Rosenberg L., Palmer J.R., Strom B.L., Zauber A.G. Stolley P.D., Shapiro S. (2000). Phenolphthalein Laxatives and risk of cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 92(23), 1943–1944.
- Cooper G.S., Longnecker M.P., Peters R.K. (2004). Risk of ovarian cancer in relation to use of phenolphthalein-containing laxatives. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* 13(1), 35–39.
- Cooper G.S., Longnecker M.P., Sandler D.P., Ness R.B. (2000). Ovarian cancer risk and use of phenolphthalein-containing laxatives. *Br. J. Cancer* 83(3), 404–406.
- Dietz D.D., Elwell M.R., Chapin R.E., Shelby M.D., Thompson M.B., Filler R., Stedham M.A. (1992). Subchronic (13 week) toxicity studies of phenolphthalein in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* 18, 48–58.
- ECHA (2017a). Candidate list. European Chemicals Agency, Helsinki [https://echa.europa.eu/pl/candidate-list-table], [dostęp: czerwiec 2017].
- ECHA (2017b). European Chemicals Agency. Helsinki [https://www.echa.europa.eu/pl/web/guest/registration-dossier/-/registered-dossier/2203], [dostęp: czerwiec 2017].
- Ellenhorn M.J., Schonwald S., Ordog G., Wasserberger J. (1997). *Ellenhorn's Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*, 2 ed. Baltimore [cyt. za: HSDB 2017].
- Fujita H., Mizuo A., Hiraga K. (1976). Mutagenicity of dyes in the microbial system. *Annu. Rep. Tokyo Metr. Res. Lab. P.H.* 27, 153–158 [cyt. za: NTP 1996].
- Garner C.E., Matthews H.B., Burka L.T. (2000). Phenolphthalein metabolite inhibits catechol-o-methyltransferase-mediated metabolism of catechol estrogens; a possible mechanism of carcinogenicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 162, 124–131.
- GESTIS International limit values (2017). [http://limitvalue.ifa.dguv.de], [dostęp: czerwiec 2017].
- GESTIS Substance Database (2017). [http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_en/000000.xml?f=templates\$fn=default.htm\$vid=gestiseng:sdbeng\$3.0], [dostęp: czerwiec 2017].
- Gibson D.P., Brauning R., Shaffi H.S., Kerckaert G.A., LeBoeuf R.A., Isfort R.J. Aardema M.J. (1997). Induction of micronuclei in Syrian hamster embryo cells: Comparison to results in the SHE cell transformation assay for National Toxicology Program test chemicals. *Mutat. Res.* 392, 61–90.
- Griffin R.J., Godfrey V.B., Burka L.T. (1998). Metabolism and disposition of phenolphthalein in male and female F344 rats and B6C3F1 mice. *Toxicol. Sci.* 42, 73–81.
- Hoyer P.B., Boese B., Sipes I.G. (1997). The effect of phenolphthalein on B6C3F1 mouse ovaries (Abstract No. 1825). *Toxicologist* 36, 359.
- HSDB, Hazardous substances data bank (2017). Phenolphthalein. USA, Bethesda, National Library of Medicine [https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?/.temp/~CSRZuS:1], [dostęp: czerwiec 2017].
- IARC, International Agency for Research on Cancer (2000). Phenolphthalein. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, vol. 76, 387–415.
- IMP, Instytut Medycyny Pracy (2017). Centralny Rejestr Danych o Narażeniu na Substancje, Mieszaniny, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym. Łódź [dane niepublikowane].
- Jacobs E.J., White, E. (1998). Constipation, laxative use, and colon cancer among middle-aged adults. *Epidemiology* 9, 385–391.
- Jankowska A., Szymczak W. (2011). Fenoloftaleina. Wytyczne szacowania ryzyka zdrowotnego dla czynników rakotwórczych 1(29), 81–100.

- Kada T., Tutikawa K., Sadaie Y. (1972). In vitro and host-mediated rec-assay procedures for screening chemical mutagens; and phloxine, a mutagenic red dye detected. *Mutat. Res.* 16, 165–174.
- Kerckaert G.A., Brauning R., LeBoeuf R.A., Isfort, R.J. (1996). Use of the Syrian hamster embryo cell transformation assay for carcinogenicity prediction of chemicals currently being tested by the National Toxicology Program in rodent bioassays. *Environ. Health Perspectives* 104, 1075–1084.
- Kok R.M., Faber D.B. (1981). Qualitative and quantitative analysis of some synthetic, chemically acting laxatives in urine by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 222, 389–398.
- Kune G.A. (1993). Laxative use not a risk for colorectal cancer: Data from the Melbourne Colorectal Cancer Study. *Z. Gastroenterol.* 31, 140–143.
- Lambrianides A.L., Rosin R.D. (1984). Acute pancreatitis complicating excessive intake of phenolphthalein. *Postgrad. Med. J.* 60(705), 491–492.
- Longnecker M.P., Sandler D.P., Haile R.W., Sandler R.S. (1997). Phenolphthalein containing laxative use in relation to adenomatous colorectal polyps in three studies. *Environ. Health Perspectives* 105, 1210–1212.
- Morotomi M., Nano M., Watanabe T., Sakurai T., Mutai M. (1985). Mutagenic activation of biliary metabolites of 1-nitropyrene by intestinal microflora. *Mutat. Res.* 149, 171–178.
- Mortelmans K., Haworth S., Lawlor T., Speck W., Tainer B., Zeiger E. (1986). Salmonella mutagenicity tests: II. Results from the testing of 270 chemicals. *Environ. Mutagen.* 8 (Suppl 7), 1–119.
- Nieto A., Garcia, C., Lopez de Haro S. (1990). In vivo estrogenic and antiestrogenic activity of phenolphthalein and derivative compounds. *Biochem. Int.* 2, 305–311.
- NTP, National Toxicology Program (1990). Reproductive Toxicity of Phenolphthalein (CAS No. 77-09-8). NTP Report RAC89066 [cyt. za: IARC 2000].
- NTP, National Toxicology Program (1996). NTP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of Phenolphthalein (CAS No. 77-09-8) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Feed Studies). Technical Report Series No. 465; NIH Publ. No. 97-3390, Research Triangle Park, NC, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health.
- NTP, National Toxicology Program (2016). Report on Carcinogens. Fourteenth Edition. Research Triangle Park, NC, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. [https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/content/listed_substances_508.pdf], [dostęp: czerwiec 2017].
- Puts C., ter Burg W. (2015). Identifying prevalent carcinogens at the workplace in Europe. RIVM Report 20150107.
- Rozporządzenie Komisji (WE) nr 440/2008 z dnia 30 maja 2008 r. ustalające metody badań zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1907/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów (REACH), (Dz. Urz. L 142, 1-739 z późn. zm.).
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 24 lipca 2012 r. w sprawie substancji chemicznych, ich mieszanin, czynników lub procesów technologicznych o działaniu rakotwórczym lub mutagennym w środowisku pracy (tekst jednolity DzU 2016, poz. 1117).
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywę 67/648/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie WE nr 1907/2006 (tzw. rozporządzenie CLP). Dz. Urz. UE L 353 z dnia 31.12.2008 r. z późn. zm.
- Schottenfeld D., Fraumeni J.F. (2006). *Cancer Epidemiology and Prevention*. USA, Oxford University Press, 3rd ed., 500.
- Sipe H.J. Jr., Corbett J.T., Mason R.P. (1997). In vitro free radical metabolism of phenolphthalein by peroxidases. *Drug. Metab. Dispos.* 25(4), 468–480.
- Skowroń J., Czerczak S. (2013). Zasady ustalania dopuszczalnych poziomów narażenia dla czynników rakotwórczych w środowisku pracy w Polsce i w krajach Unii Europejskiej. *Med. Pr.* 64(4), 551–563.
- Stoll R.E., Blanchard K.T., Stoltz J.H., Majeska J.B., Furst S., Lilly P.D., Mennear J.H. (2006). Phenolphthalein and bisacodyl: assessment of genotoxic and carcinogenic responses in heterozygous p53 (+/-) mice and Syrian hamster embryo (SHE) assay. *Toxicol. Sci.* 90(2), 440–450.
- Stroud M.B., Rosio T.J. (1987). A Case of Recurring Painful Red Macules. *Arch. Dermatol.* 123(9), 1230A–1230B.
- Tice R.R., Furedi-Machacek M., Satterfield D., Udumudi A., Vasquez M., Dunnick, J.K. (1998). Measurement of micronucleated erythrocytes and DNA damage during chronic ingestion of phenolphthalein in transgenic female mice heterozygous for the p53 gene. *Environ. Mol. Mutagen.* 31, 113–124.

Tsutsui T., Tamura Y., Yagi E., Hasegawa K., Tanaka Y., Uehama A., Someya T., Hamaguchi F., Yamamoto H., Barrett J.C. (1997). Cell-transforming activity and genotoxicity of phenolphthalein in cultured Syrian hamster embryo cells. Int. J. Cancer 73, 697–701.

Witt K.L., Gulati D.K., Kaur P., Shelby, M.D. (1995). Phenolphthalein: Induction of micronucleated erythrocytes in mice. Mutat. Res. 341, 151–160.

Zanolli M.D., McAlvany J., Krowchuk D.P. (1993). Phenolphthalein-induced fixed drug eruption: a cutaneous complication of laxative use in a child. Pediatrics 91(6), 1199–1201.

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA W NARAŻENIU NA FENOLOFTALEINĘ

dr hab. n. med. Marta Wiszniewska
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ pokarmowy, wartości ciśnienia tętniczego krwi, skórę, szpik kostny i nerki.

Badania pomocnicze: morfologia krwi z rozmazem, poziom elektrolitów we krwi (jonogram).

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ pokarmowy, wartości ciśnienia tętniczego krwi, skórę, szpik kostny i nerki.

Badania pomocnicze: morfologia krwi z rozmazem, poziom elektrolitów we krwi (jonogram).

Częstotliwość badań okresowych: co 1 ÷ 2 lata.

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ pokarmowy, wartości ciśnienia tętniczego krwi, skórę, szpik kostny i nerki.

Badania pomocnicze: morfologia krwi z rozmazem, poziom elektrolitów we krwi (jonogram).

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 niezbędne dla prawidłowej oceny stanu zdrowia osoby przyjmowanej do pracy lub pracownika.

Narządy (układy) krytyczne

Narządami (układami) krytycznymi podczas pracy w narażeniu na fenoloftaleinę są układ pokarmowy i szpik kostny.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami lekarskimi do zatrudnienia w narażeniu na fenoloftaleinę są:

- przewlekłe zapalne choroby jelit
- choroby przebiegające z zaburzeniami czynności szpiku kostnego.

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 długość trwania narażenia zawodowego oraz ocenę stopnia zaawansowania i dynamikę zmian chorobowych.

Ze względu na potencjalne działanie rakotwórcze na ludzi i działanie szkodliwe na płód w narażeniu na fenoloftaleinę nie wolno zatrudniać: kobiet w ciąży, kobiet karmiących piersią i pracowników młodocianych. Należy zachować ostrożność u kobiet planujących ciążę.

Pracownicy powinni być informowani o potencjalnym działaniu rakotwórczym i szkodliwym działaniu na rozrodczość fenoloftaleiny.

