

Heksachlorobenzen – frakcja wdychalna

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

Hexachlorobenzene – inhalable fraction Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

prof. dr hab. ANDRZEJ STAREK
e-mail: mfstarek@cyfr-kr.edu.pl
Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego
30-688 Kraków
ul. Medyczna 9

NDS	0,003 mg/m ³
NDSCh	nie ustalono
NDSP	nie ustalono
DSB	150 µg heksachlorobenzenu/l osocza lub surowicy
Skóra	– wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową
Carc. 1B	– substancja rakotwórcza kategorii 1.B (substancja, która ma potencjalne działanie rakotwórcze dla ludzi)

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 30.06.2015 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 15.03.2016 r.

Słowa kluczowe: heksachlorobenzen, toksyczność, narażenie zawodowe, NDS.

Keywords: chlorophenylmethane (benzyl chloride), toxicity, occupational exposure, MAC, MAC, STEL.

¹ Wartości NDS i DSB heksachlorobenzenu – frakcji wdychalnej zostały w dniu 15.03.2016 r. przyjęte na 82. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i zostały przedłożone ministrowi rodziny, pracy i polityki społecznej (wniosek nr 98) w celu ich wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy.

² Publikacja opracowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach III etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2014-2016 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Narodowego Centrum Badań i Rozwoju.
Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

Streszczenie

Heksachlorobenzen jest nierozpuszczalnym w wodzie ciałem stałym o wysokiej lipofilności, wysokiej temperaturze topnienia i wrzenia oraz dużej gęstości par.

Związek był stosowany w: przemyśle zbrojeniowym, elektrotechnicznym i chemicznym oraz jako fungicyd. Heksachlorobenzen jest obecnie stosowany do celów laboratoryjnych. Związek ten, oprócz syntezy docelowej, powstaje jako produkt uboczny podczas syntezy rozpuszczalników chloroorganicznych.

Zgodnie z danymi z Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje, Preparaty, Czynniki i Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym, narażenie na heksachlorobenzen w Polsce wzrasta, pomimo zakazu jego stosowania. W 2005 r. na heksachlorobenzen było narażonych 28 osób, natomiast w 2014 r. już 167 (kobiet i mężczyzn).

Zgodnie z Konwencją sztokholmską w sprawie trwałych zanieczyszczeń organicznych, która została przyjęta w 2001 r. i weszła w życie dnia 17.05.2004 r., zakazano: wytwarzania, wprowadzania do obrotu i stosowania heksachlorobenzenu, wymienionego w załączniku I do rozporządzenia (WE) nr 850/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29.04.2004 r. dotyczącego trwałych zanieczyszczeń organicznych i zmieniającego dyrektywę 79/117/EWG (Dz. Urz. WE L 158 z dnia 30.04.2004 r., 7), w postaci samoistnej lub w mieszaninach (preparatach) czy też jako składnika artykułów. Zakazu tego nie stosuje się do heksachlorobenzenu używanego w badaniach laboratoryjnych lub jako substancji odniesienia.

W dostępnym piśmiennictwie nie ma informacji na temat objawów ostrego zatrucia heksachlorobenzenem wśród ludzi. Zatrucia przewlekłe heksachlorobenzenem były spowodowane jego pobieraniem z pożywieniem, co miało miejsce w Turcji w końcu lat 50. ubiegłego stulecia. Zatrucia te miały charakter epidemii. Związek ten u ludzi indukował, m.in.: porfirię skórą późną, hiperpigmentację skóry i nadmierne owłosienie, a także zmiany neurologiczne oraz ortopedyczne.

Na podstawie wartości median dawek i stężeń śmiertelnych heksachlorobenzen jest umieszczony poza klasyfikacją substancji chemicznych, opartą na kryterium ostrej toksyczności.

W warunkach powtarzanego narażenia zwierząt na heksachlorobenzen obserwowano działanie: porfiryngenne, hepatotoksyczne, w tym indukcję mikrosomalnych monoksygenaz, tyreotoksyczne i ototoksyczne związku.

Heksachlorobenzen jako słaby ligand receptorów *AhR* wykazuje działanie dioksynopodobne. Wywołuje zaburzenia, m.in. w: gruczołach tarczycy, jajnikach i nadnerczach, zmniejszając stężenia: hormonów tarczycy, estrogenów i glikokortykosteroidów oraz liczbę ich receptorów.

Heksachlorobenzen nie działał mutagennie i genotoksycznie w testach w warunkach *in vitro* i *in vivo*.

W badaniach epidemiologicznych nie udowodniono rakotwórczego działania heksachlorobenzenu u ludzi, natomiast na podstawie wyników licznych badań doświadczalnych stwierdzono: rakotwórcze, promotorowe i kokancerogenne działanie tego związku. Międzynarodowe i narodowe instytucje zaklasyfikowały heksachlorobenzen do kancerogenów grupy 2.B (IARC), kategorii 1.B (UE, Polska) i grupy A3. (ACGIH).

W SCOEL nie ustalono w 2014 r. wartości OEL, ze względu na działanie kumulacyjne związku, a do oceny narażenia zalecono wartość dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (BLV) wynoszącą 150 µg heksachlorobenzenu/l surowicy lub osocza krwi oraz oznakowanie „skin”, ze względu na wchłanianie związku przez skórę.

Heksachlorobenzen jest związkiem rakotwórczym dla zwierząt. Konsultacje publiczne propozycji SCOEL dla heksachlorobenzenu odbyły się w sierpniu 2014 r. i Polska nie zgłosiła do tych propozycji uwag. Heksachlorobenzen został ujęty w wykazie substancji, dla których powinny być ustalone wartości wiążące (BOELV). Ze względu jednak na zakaz stosowania związku (Konwencja sztokholmska) oraz jego działanie kumulacyjne, wartości BOELV nie ustalono.

Heksachlorobenzen wykazuje toksyczność rozrodu i rozwoju. U samic różnych gatunków związek działał gonadotoksycznie w wyniku: zaburzeń hormonalnych, uszkodzenia pęcherzyków jajnikowych i komórek jajowych, co prowadziło do upośledzenia procesu owulacji oraz zapłodnienia. Ponadto, heksachlorobenzen wywierał szkodliwe działanie na prenatalny i postnatalny rozwój potomstwa.

Podstawą do obliczenia wartości NDS dla heksachlorobenzenu były wyniki badań nad gonadotoksycznym działaniem tego związku u samic makaków jawańskich, narażanych drogą pokarmową przez 13 tygodni. Na podstawie wartości NOAEL wynoszącej 0,01 mg/kg mc./dzień oraz łącznego współczynnika niepewności 24, obliczono wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) związku, którą zaproponowano na

poziomie 0,003 mg/m³, łącznie z oznakowaniem „skóra”, które informuje, że wchłanianie tej substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową. Nie ma podstaw do zaproponowania wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh)

heksachlorobenzenu. Zgodnie z zaleceniami SCOEL, zaproponowano wartość dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) na poziomie 150 µg heksachlorobenzenu/l osocza lub surowicy krwi.

Summary

Hexachlorobenzene is a solid substance, insoluble in water, highly lipophilic with high melting and boiling point and high vapor density. The compound was used in war, electrotechnical, and chemical industries. Nowadays hexachlorobenzene is used for laboratory purposes. Except for destination synthesis this compound originates as a by-product during synthesis of chloroorganic solvents.

In Poland, the exposure to hexachlorobenzene is increasing despite interdiction to its application. In 2005 in Poland, 28 people were exposed to hexachlorobenzene, whereas in 2014 exposed were 167 (men and women). According to Stockholm convention (2001) on persistent organic pollutants (POPs) there is prohibition of production, introduction to trade turnover and usage of hexachlorobenzene.

There is no information about symptoms of acute poisoning by hexachlorobenzene in humans. Chronic intoxications by this compound were caused by uptake it with food, which happened in Turkey towards the end of 50s of last century. These poisonings had epidemic character. The chemical induced in humans, e.g., porphyria cutanea tarda, skin hyperpigmentation and hirsutism, neurological and orthopedic disorders.

The median lethal dose and concentration values in animals indicate that hexachlorobenzene is outside of the classification of chemicals based on an acute toxicity. In experimental animals repeatedly exposed to this chemical, porphyrinogenic, hepatotoxic, thyreotoxic, and ototoxic effects were observed. Hexachlorobenzene as a weak ligand of *AhR* receptors shows dioxine-like activity. It causes functional disturbances in thyroid gland, ovaries, adrenal gland and leads to reduction of thyroid hormone concentrations, estrogens, glyocorticoids and their receptors.

Hexachlorobenzene is not mutagenic and genotoxic *in vitro* and *in vivo*. The epidemiologic

examinations did not proved carcinogenic effects of hexachlorobenzene in humans, however, numerous experimental studies noted its carcinogenic, promoting and cocarcinogenic activities. International and national institutions classified hexachlorobenzene to a carcinogen category 2.B (IARC), 1.B (EU, Poland) and to A.3 group (ACGIH).

SCOEL did not established OEL value for hexachlorobenzene, since the compound has cumulative effect. Admissible concentration value in biological material (BLV) of 150 µg/l of serum or plasma and labeling „skin” because the compound is resorbed through the skin was recommended for assessing the exposure to hexachlorobenzene. Hexachlorobenzene is included in the register of the substances for which binding BOELV values should be established. Because of the prohibition (Stockholm convention) and cumulative effect of hexachlorobenzene BOELV value was not established.

Hexachlorobenzene demonstrates reproductive and developmental toxicities. In females of different species, gonadotoxic effects were seen as result of hormonal disturbances, ovarian and egg cells injury which led to ovulation and fertilization impairment.

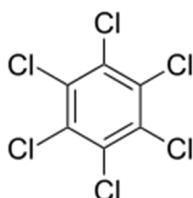
The results of study on gonadotoxic effect of hexachlorobenzene in the female cynomolgus monkey exposed *per os* for 13 weeks were basis for calculating MAC value. The NOAEL value at level of 0.01 mg/kg b.w./day and joint uncertainty factor value of 24 were used to calculate MAC value at level of 0.003 mg/m³. It was recommended to label the substance with “Skin”. No STEL value has been recommended. In agreement with recommendation of SCOEL, the BLV value at level of 150 µg/l of serum or plasma has been proposed.

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

Ogólna charakterystyka heksachlorobenzenu:

- wzór sumaryczny C_6Cl_6
- wzór strukturalny
- nazwa chemiczna heksachlorobenzen



- numer CAS 118-74-1
- numer WE 204-273-9
- numer indeksowy 602-065-00-6
- numer RTECS DA2975000
- synonimy i nazwy handlowe: HCB, perchlorobenzen, chlorek pentachlorofenyłu, Amatin®, hexachlorobenzol, Sanocide®.

Heksachlorobenzen ma zharmonizowaną klasyfikację w Unii Europejskiej (rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 r. z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/648/EWG i 1999/45/WE

oraz zmieniającego rozporządzenie WE nr 1907/2006 ze zm., rozporządzenie (WE) nr 790/2009), którą przedstawiono na rysunku 1. i w tabeli 1.



Rys. 1. Heksachlorobenzen. Kody hasła ostrzegawczego: Niebezpieczeństwo. Piktogramy określone w załączniku do rozporządzenia WE nr 1272/2008 (CLP) mają czarny symbol na białym tle z czerwonym obramowaniem na tyle szerokim, aby było wyraźnie widoczne

Tabela 1.

Zharmonizowana klasyfikacja heksachlorobenzenu (rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008; tabela 3.2. załącznika VI do rozporządzenia CLP)

Zharmonizowana klasyfikacja heksachlorobenzenu
Carc. 1B H350 STOT RE 1 H372 Aquatic Acute 1 H400 Aquatic Chronic 1 H410

Objaśnienia:

- Carc. 1B – rakotwórczy, kategoria 1.B.
- STOT RE 1 – działanie toksyczne na narządy docelowe – powtarzane narażenie STOT wielokrotne narażenie, kategoria 1.
- Aquatic Acute 1 – ostre zagrożenie dla środowiska wodnego, kategoria 1.
- Aquatic Chronic 1 – długotrwałe zagrożenie dla środowiska wodnego, kategoria 1.
- H350 – może powodować raka.
- H372 – powoduje uszkodzenie narządów (skóry, tarczycy, wątroby) w następstwie długotrwałego lub powtarzanego narażenia.
- H400 – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne.
- H410 – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

Właściwości fizykochemiczne

Właściwości fizykochemiczne heksachlorobenzenu (ACGIH 2001):

- postać: ciało stałe, krystaliczne
- barwa: biała
- masa cząsteczkowa: 284,8
- temperatura topnienia: 231 °C
- temperatura wrzenia: 323 ÷ 326 °C; sublimuje w temp. 323 °C
- temperatura zapłonu: 242 °C
- gęstość właściwa (woda = 1): 2,044 w temp. 20 °C
- prężność par (w temp. 20 °C): $1,45 \cdot 10^{-5}$ hPa ($1,09 \cdot 10^{-5}$ mmHg)
- prężność par (w temp. 25 °C): $6,53 \cdot 10^{-5}$ hPa ($4,9 \cdot 10^{-5}$ mmHg)
- gęstość par (powietrze = 1): 9,8
- rozpuszczalność: praktycznie nierozpuszczalny w wodzie
- rozpuszcza się w: benzenie, chloroformie, eterze etylowym i wrzącym etanolu
- współczynniki przeliczeniowe: $1 \text{ ppm} \approx 11,8 \text{ mg/m}^3$; $1 \text{ mg/m}^3 \approx 0,08 \text{ ppm}$.

Otrzymywanie, zastosowanie, narażenie zawodowe

Heksachlorobenzen jest otrzymywany w procesie chlorowania benzenu w temperaturze 150 ÷ 200 °C, w obecności katalizatorów, m.in. chlorku żelaza (III). Heksachlorobenzen był stosowany w: przemyśle zbrojeniowym,

elektrotechnicznym i chemicznym oraz jako selektywny fungicyd, m.in. przeciw śnieci w uprawach pszenicy. Obecnie w Polsce jest zabronione stosowanie heksachlorobenzenu jako środka ochrony roślin (rozporządzenie... 2002). Heksachlorobenzen jest stosowany obecnie tylko do celów laboratoryjnych (zakaz stosowania, zgodnie z Konwencją sztokholmską z 2001 r.).

Heksachlorobenzen powstaje jako produkt uboczny przy produkcji takich rozpuszczalników chloroorganicznych, jak: tetrachlorek węgla, tetrachloroetan, trichloroeten, dichloroeten i pentachlorobenzen. Występuje także jako zanieczyszczenie takich pestycydów chloroorganicznych, jak: pentachlorobenzen, chlorotal, chlorotalonil i dichloran.

Zgodnie z informacją Państwowej Inspekcji Sanitarnej (PIS) w Polsce w: 2007 i w 2010 r. nie zgłoszono pracowników zatrudnionych na stanowiskach pracy, na których występowało przekroczenie wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) $0,5 \text{ mg/m}^3$ heksachlorobenzenu. W 2013 oraz w 2014 r. również nie zgłoszono pracowników zatrudnionych w warunkach narażenia na heksachlorobenzen o stężeniach powyżej 0,1 wartości NDS, tj. powyżej $0,05 \text{ mg/m}^3$ (dane GIS 2014).

Dane o narażeniu na heksachlorobenzen z Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje, Preparaty, Czynniki i Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym w latach 2005-2014 przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2.

Dane o narażeniu na heksachlorobenzen z Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje, Preparaty, Czynniki i Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym w latach 2005-2014

Numer indeksowy	Nazwa substancji	Rok	Liczba województw	Liczba zakładów pracy	Liczba narażonych		
					mężczyzn	kobiet	razem
602-065-00-6	heksachlorobenzen	2005	8	10	5	23	28
		2006	11	15	15	63	78
		2007	13	22	33	76	109
		2008	14	22	15	94	109
		2009	13	22	14	85	99
		2010	13	17	16	85	101
		2011	13	20	21	79	100
		2012	12	19	34	120	154
		2013	13	22	19	97	116
		2014	10	24	42	125	167

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne.

Zatrucia ostre

W dostępnym piśmiennictwie nie ma informacji na temat skutków zdrowotnych jednorazowego lub krótkoczasowego, powtarzanego narażenia ludzi na heksachlorobenzen. Nie ma również danych dotyczących drażniącego oraz uczulającego działania związku na skórę i oczy.

Obserwacje kliniczne.

Zatrucia przewlekłe

Większość przewlekłych zatruc heksachlorobenzenem u ludzi była wynikiem pobierania tego związku drogą pokarmową. Informacje te pochodzą głównie z Turcji (południowa Anatolia), gdzie w latach 1955-1959 doszło do zatrucia około 4000 osób z powodu spożywania chleba wypiekanego z mąki pochodzącej z ziarna pszenicy zaprawionej heksachlorobenzenem w ilości 2 kg heksachlorobenzenu/t ziarna. Wielkość spożycia heksachlorobenzenu oszacowano na 50 ÷ 200 mg/dzień (0,7 ÷ 2,9 mg/kg mc./dzień dla osoby o masie ciała 70 kg) przez stosunkowo długi okres przed wystąpieniem objawów skórnych. Wśród dzieci do pierwszego roku życia, karmionych

mlekiem matek spożywających heksachlorobenzen z pokarmem, obserwowano dużą śmiertelność (*Cam, Nigogosyan 1963*).

U ponad 600 osób stwierdzono porfirię skórną późną (*porfiria cutanea tarda*) i porfirię mieszaną (*Peters i in. 1987*). Spośród tych osób 348 badano w warunkach szpitalnych. Zaobserwowano szczególną częstość występowania choroby wśród chłopców i mężczyzn (76,4% przypadków); około 80% pacjentów było w wieku 4 ÷ 14 lat (*Cam, Nigogosyan 1963*).

Charakterystycznymi objawami przewlekłego zatrucia heksachlorobenzenem, oprócz porfiryrii, były: zmiany skórne w postaci pęcherzy na skórze narażonej na światło słoneczne, hiperpigmentacja i nadmierne owłosienie. W badaniu kontrolnym (20 ÷ 30 lat po narażeniu) 252 pacjentów, w tym 162 mężczyzn i 90 kobiet w wieku 35,7 lat, wykazano zmiany: dermatologiczne, neurologiczne i ortopedyczne. U osób tych stwierdzono: bliznowacenie twarzy i rąk (83,7% przypadków), hiperpigmentację (65%), nadmierne owłosienie (44,8%), bezbolesne zapalenie stawów (70,2%), małe ręce (66,6%), upośledzenie czucia (60,6%), miotonie (37,9%), powiększenie tarczycy (34,9%) oraz wątroby (4,8%). U 17 osób stwierdzono podwyższone stężenia, co

najmniej jednej porfiryny w moczu i kale. W 56 próbkach mleka od matek z porfirią średnie stężenie heksachlorobenzenu wynosiło 0,51 mg/kg, podczas gdy w nienarażonej grupie kontrolnej – 0,07 mg/kg. Potomstwo matek z porfirią po trzech dekadach wykazywało prawidłowy rozwój (Gocmen i in. 1989).

U mężczyzn zatrudnionych przy produkcji chlorowanych rozpuszczalników organicznych przez okres od roku do 4 lat oceniono wielkość narażenia na heksachlorobenzen oraz zmiany biochemiczne we krwi, a także stężenie porfiryn w moczu. Średnie stężenie heksachlorobenzenu we krwi wynosiło: 311 ppb (*parts per billion*) w 1974 r. ($n = 50$), 312 ppb w 1975 r. ($n = 49$), 160 ppb w 1976 r. ($n = 49$) i 170 ppb w 1977 r. ($n = 44$). Ocena porfiryn w moczu wykazała brak dowodów na występowanie późnej porfirii skórnej lub innego niepożąda-

nego skutku związanego z narażeniem na heksachlorobenzen. Poziomy heksachlorobenzenu we krwi były skorelowane z czasem pracy w zakładzie, natomiast nie korelowały ze stężeniem tego związku w powietrzu środowiska pracy. Na podstawie wyników badań laboratoryjnych nie wykazano porfirii skórnej późnej oraz innych zmian szkodliwych charakterystycznych dla narażenia na heksachlorobenzen (Currier i in. 1980).

Badania epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono wyników badań epidemiologicznych dotyczących skutków zdrowotnych narażenia na heksachlorobenzen skorelowanych z wielkością narażenia.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra

Mediany dawek i stężeń śmiertelnych heksachlorobenzenu u zwierząt laboratoryjnych są bardzo duże. Wartości LD_{50} *p.o.* u: myszy, szczurów, królików, świnek morskich i kotów, wynosiły odpowiednio: 4000; 3500 ÷ 10 000; 2600; > 3000 oraz 1700 mg/kg mc. Z kolei, wartości LC_{50} u: myszy, szczurów, królików i kotów, oszacowano odpowiednio na poziomach: 4000; 3600; 1800 (6 h) oraz 1600 ÷ 1800 mg/m³ (6 h), (RTECS 2015). Podane wartości median dawek i stężeń śmiertelnych heksachlorobenzenu sprawiają, że związek znajduje się poza klasyfikacją substancji chemicznych opartą na kryterium ostrej toksyczności, dla których wartości LD_{50} *p.o.* u szczurów są większe od 2000 mg/kg mc.

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Szczury Charles River obojga płci (po 70 zwierząt w grupie) narażano drogą pokarmową na dawki: 0; 0,5; 2; 8 lub 32 mg heksachlorobenzenu kg mc./dzień przez okres: 3, 6, 9, 12 lub 15 tygodni. W celu oceny odwracalności zmian patologicznych, szczury narażane najdłużej (15 tygodni) pozostawiano na diecie wolnej od heksachlorobenzenu przez okres: 1, 2, 4, 7, 16 lub 33 tygodni. U szczurów obojga płci, narażonych na największe dawki związku (8 lub 32 mg/kg mc./dzień) obserwowano znamienne wzrost względnej masy wątroby oraz hipertrofię hepatocytów centralnożółkowych. W 6. tygodniu narażenia u samców stwierdzono maksymalny wzrost aktywności dehydrogenazy sorbitolowej (SDH) w surowicy i spadek jej aktywności w tkance wątrobowej.

U samic wykazano duże stężenia porfiryn w moczu, które się utrzymywały po zakończeniu narażenia. W innych narządach nie wykazano zmian patologicznych. Samice były bardziej wrażliwe na toksyczne działanie heksachlorobenzenu, aniżeli samce (*Kuiper-Goodman* i in. 1977).

Samicom szczurów Sprague-Dawley (10 zwierząt w grupie) podawano drogą pokarmową dawki heksachlorobenzenu: 0; 0,03; 0,1; 0,3; 1; 3; 10 lub 25 mg/kg mc. dziennie, 5 dni w tygodniu przez 13 tygodni. Narażenie nie miało wpływu na przeżywalność zwierząt. W surowicy krwi stwierdzono spadek stężenia całkowitej i wolnej tyroksyny (T_4) w grupach otrzymujących dawki ≥ 1 mg/kg mc./dzień oraz trijodotyroniny (T_3) w grupach otrzymujących dawki 25 mg/kg mc./dzień, przy niezmiennym stężeniu tyreotropiny (TSH). W wątrobie wykazano indukcję monooksygenaz mikrosomalnych: CYP1A1, 2B i 1A2, podczas gdy w płucach – CYP1A1 (w grupach otrzymujących dawki: 0,03; 0,3; 1,0 lub 25 mg/kg mc./dzień). Bez względu na i względnie masy: wątroby, śledziony i płuc zwierząt, były podwyższone. W badaniu histologicznym wykazano: hipertrofię hepatocytów (po dawce ≥ 3 mg/kg mc./dzień), ogniska śródmiąższowego zwłóknienia płuc i nacieki histiocytarne (po dawce ≥ 1 mg/kg mc./dzień), hiperplazję komórek gruczołu sutkowego i zanik grasicy (po dawce ≥ 10 mg/kg mc./dzień). Obserwowano ponadto: wrzodziejące zapalenie skóry (po dawce 25 mg/kg mc./dzień), nasiloną proliferację komórek hemopoetycznych (po dawce ≥ 3 mg/kg mc./dzień) i limfoidalnych w śledzionie (po dawce ≥ 10 mg/kg mc./dzień), (*Johnson* i in. 2005).

Tyreotoksyczne działanie heksachlorobenzenu zostało potwierdzone w podprzewlekłym badaniu na szczurach Wistar, otrzymujących

dziennie drogą pokarmową związek w dawkach 0,4 lub 16 mg/kg mc. związku. U narażonych szczurów obserwowano przerost gruczołu tarczowego i zmiany jego czynności już po 3 tygodniach narażenia. Obserwowane zmiany morfologiczne w tym narządzie to: hipertrofia i hiperplazja komórek pęcherzyków gruczołowych oraz spadek objętości koloidu. Stężenia hormonów tarczycy były istotnie zmniejszone, całkowita T_4 odpowiednio o 28 i 51%, wolna T_4 o 21 i 37%, a T_3 o 21% (tylko po dawce 16 mg/kg mc./dzień). Zmianom tym towarzyszył wzrost stężenia TSH, odpowiednio o 27 i 31%. Po przerwaniu narażenia zmiany hormonalne utrzymywały się u zwierząt pozostających na diecie bez heksachlorobenzenu. Zasugerowano, że podprzewlekłe narażenie szczurów na heksachlorobenzen może prowadzić do nieodwracalnej nadczynności tarczycy (*Chalouati* i in. 2013).

Świnie narażano codziennie *per os* przez 90 dni na dawki heksachlorobenzenu: 0; 0,05; 0,5; 5,0 lub 50,0 mg/kg mc. Po największej dawce związku (50,0 mg/kg mc./dzień) u zwierząt obserwowano kliniczne objawy porfirii oraz padnięcia zwierząt podczas doświadczenia.

Zwiększone wydalanie porfiryn w moczu obserwowano w grupach narażonych na dawki związku 0,5 lub 5,0 mg/kg mc./dzień. W obu tych grupach stwierdzono również: indukcję mikrosomalnych monooksygenaz w wątrobie, tj.: hydroksylazy analiny, *N*-demetylazy aminopiryny i *O*-demetylazy *p*-nitroanizolu, łącznie ze zwiększoną masą wątroby (w grupie otrzymującej dawkę 5,0 mg/kg mc./dz.) i zmianami histopatologicznymi w tym narządzie. Wartość NOEL dla obserwowanych skutków działania heksachlorobenzenu określono na poziomie 0,05 mg/kg mc./dzień (*den Tonke-laar* i in. 1978).

Heksachlorobenzen wykazuje działanie ototoksyczne. U szczurów, które otrzymywały przez 4 tygodnie drogą pokarmową dawki związku: 0,0; 0,16; 4,0 lub 16,0 mg/kg mc., mierzono wartości akustycznych progów pobudzenia nerwu słuchowego i stężenia hormonów tarczycy w surowicy krwi. Po dawce 0,16 mg/kg mc. nie wystąpiły żadne zmiany. Po dawce 4 mg/kg mc. stwierdzono wyraźny ubytek wrażliwości ślimaka na dźwięki o średnich ($2 \div 16$ kHz) częstotliwościach. Zmiana ta miała charakter odwracalny. Natomiast u zwierząt otrzymujących dawkę heksachlorobenzenu 16 mg/kg mc. obserwowano trwałe zmiany progu słyszalności przy wszystkich badanych częstotliwościach dźwięku ($1 \div 32$ kHz). W badaniu morfologicznym nie stwierdzono utraty rzęsek ślimaka. W tej grupie zwierząt heksachlorobenzen zmniejszył stężenie T_4 w surowicy. Tyreidektomia nie miała wpływu na wrażliwość ślimaka u zwierząt nienarażanych na heksachlorobenzen, co w opinii autorów wskazuje na brak związku między ototoksycznym i tyreotoksycznym działaniem heksachlorobenzenu (Hadjab i in. 2004).

Samice szczurów Wistar otrzymywały dziennie przez 15 tygodni drogą pokarmową dawki heksachlorobenzenu 0 lub 50 mg/kg mc. Przez następne 38 tygodni zwierzęta pozostawały na diecie, która nie zawierała tego związku. W okresie narażenia wystąpił znamienny wzrost: względnej masy wątroby, śledziony, nerek i nadnerczy. Po 38 tygodniach przerwy w narażeniu masy wymienionych narządów uległy normalizacji. Zawartość porfiryn w wątrobie i moczu oraz stężenia kwasu δ -aminolewulinowego (ALA) i porfobilinogenu (PBG) w moczu sukcesywnie wzrastały do końca narażenia. Pod koniec doświadczenia

(w 53. tygodniu) zawartość porfiryn w wątrobie była większa niż na końcu narażenia (w 15. tygodniu), podczas gdy w moczu uległa normalizacji. W tym samym czasie stężenia ALA i PBG w moczu szczurów nie różniły się od stężeń obserwowanych u zwierząt w grupie kontrolnej (Koss i in. 1978).

Psy beagle (oobjęta płci) codziennie narażano drogą pokarmową na dawki: 0,0; 1,0; 10,0; 100,0 lub 1000,0 mg heksachlorobenzenu/psa przez 12 miesięcy. W 4., 13., 20., 39. i 52. tygodniu doświadczenia wykonano badania: hematologiczne krwi obwodowej, chemiczne, biochemiczne i enzymatyczne surowicy oraz moczu. Po największych dawkach heksachlorobenzenu (100 lub 1000 mg/psa/dzień) stwierdzono padnięcia zwierząt odpowiednio 2/12 i 6/12 psów oraz zmniejszenie masy ciała odpowiednio u 4/12 i 10/12 psów. U większości zwierząt w obydwu grupach obserwowano zaburzenia żołądkowo-jelitowe w postaci anoreksji i biegunki, a u niektórych: zapalenia błony surowiczej, puchliny brzusznej, zrostów sieci, rozrostu limfoidalnego błony śluzowej żołądka, zwiększonej aktywności aminotransferazy i fosfatazy zasadowej w surowicy krwi. Ponadto wykazano: niedokrwistość, hipoglikemię, hipokalcemię i degenerację jąder, które wiązano z niedożywieniem zwierząt. W grupach zwierząt narażonych na mniejsze dawki heksachlorobenzenu (1 lub 10 mg/psa/dzień) nie wykazano zmian patologicznych, z wyjątkiem rozrostu tkanki limfatycznej w błonie śluzowej żołądka (Gralla i in. 1977). Wartość NOAEL w tym badaniu można przyjąć na poziomie 10 mg/psa/dzień, co odpowiada dawce heksachlorobenzenu 1,25 mg/kg mc./dzień (średnia masa ciała psa 8 kg).

Tabela 3.
Biologiczne skutki narażenia podprzewlekłego i przewlekłego zwierząt laboratoryjnych na heksachlorobenzen drogą pokarmową

Gatunek, szczerp, płeć, (liczba zwierząt w grupie)	Dawka, mg/kg mc./ dz.	Czas narażenia (tygodnie)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Charles River, samce (70), samice (70)	0,0; 0,5; 2,0; 8,0; 32,0	3 ÷ 15	brak zmian; brak zmian; brak zmian; wzrost masy wątroby, hipertrofia centralnozrazikowa, podwyższona aktywność SDH w surowicy (♂); duże stężenia porfiryn w moczu (♀)	<i>Kuiper-Goodman</i> i in. 1977
Szczury Sprague-Dawley, samice (10)	0,0; 0,03; 0,1; 0,3; 1,0; 3,0; 10,0; 25,0	13 (5 dni/tydz.)	brak zmian; spadek stężenia T ₄ w surowicy (≥ 1mg/kg/dz.) i T ₃ (25 mg/kg/dz.); indukcja CYP1A1, 2B, 1A2 w wątrobie i CYP1A1 w płucach (0,03 ÷ 1,0 i 25,0 mg/kg zmiany histopatologiczne w: wątrobie, płucach, gruczole mlecznym, grasicy i śledzionie po dawce ≥ 1,0 mg/kg mc./dzień	<i>Johnson</i> i in. 2005
Szczury Wistar, samce (8)	0,0; 4,0; 16,0	3	brak zmian; spadek całkowitej (28%) i wolnej (21%) T ₄ , wzrost TSH (27%); spadek całkowitej (51%) i wolnej (37%) T ₄ oraz T ₃ (21%) 21%, wzrost TSH (31%); zmiany histopatologiczne w tarczycy	<i>Chalouati</i> i in. 2013
Świnie, samce (5)	0,0; 0,05; 0,5; 5,0; 50,0	13	brak zmian; brak zmian; zwiększone wydalanie porfiryn w moczu, indukcja mikrosomalnych monoooksygenaz w wątrobie; porfiring, padnięcia zwierząt NOEL = 0,05 mg/kg mc./dzień	<i>den Tonkelaar</i> i in. 1978
Szczury Wistar, samice (51)	0,0; 50,0	15	brak zmian; wzrost względnej masy wątroby, śledziony, nerek i nadnerczy; wzrost stężenia porfiryn w wątrobie i moczu oraz ALA i PBG w moczu	<i>Koss</i> i in. 1978
Psy beagle, samce (30), samice (30)	0,0; 0,125; 1,25; 12,5; 125,0	48	brak zmian; brak zmian; brak zmian; padnięcia zwierząt odpowiednio 2/12 i 6/12; zaburzenia trawienne, niedokrwistość, hipoglikemia; zmiany wątrobowe	<i>Gralla</i> i in. 1977
Szczury Sprague-Dawley, samce (48)	0,0; 0,16; 4,0; 16,0	4	brak zmian; brak zmian; odwracalne obniżenie progu słyszalności trwale obniżenie progu słyszalności, spadek T ₄	<i>Hadjab</i> i in. 2004
Szczury Sprague-Dawley, samce (64 ÷ 66), samice (64 ÷ 66)	0,0; 0,03; 0,14; 0,69; 3,4; samice: 0; 0,03; 0,16; 0,78; 3,9	13	toksyczność rozrodu; spadek żywotności potomstwa do 4. dnia po urodzeniu; NOAEL = 0,69 mg/kg mc./dzień	<i>Arnold</i> i in. 1985
			toksyczność rodziców; wzrost bezwzględnej masy: wątroby, serca i mózgu oraz względnej masy wątroby u samców; NOAEL = 0,14 mg/kg mc./dzień	

ODLEGŁE SKUTKI TOKSYCZNE

Działanie mutagenne

W testach przeprowadzonych na bakteriach *Salmonella Typhimurium* i *Escherichia coli* nie wykazano mutagennego działania heksachlorobenzenu o stężeniach: 10; 100; 500 lub 1000 µg/płytkę w obecności i bez udziału układu aktywującego metabolizm (S9), (Siekel i in. 1991). Również w teście cytogenetycznym w warunkach in vitro na limfocytach ludzkich nie obserwowano wzrostu częstości aberracji chromosomowych w przypadku stężeń heksachlorobenzenu wynoszących: 10^{-4} ; 10^{-5} i 10^{-6} M (Siekel i in. 1991).

Heksachlorobenzen w zakresie stężeń $5 \cdot 10^{-3} \div 10 \cdot 10^{-2}$ mM nie indukował mikrojąder w limfocytach ludzkich w warunkach in vitro (Ennaceur i in. 2008). W testach dominującej letalności u szczurów, którym podawano heksachlorobenzen, uzyskano wyniki ujemne (Khera 1974; Simon i in. 1979).

Powyższe dane wskazują, że heksachlorobenzen w warunkach in vitro oraz in vivo nie wykazywał działania mutagennego i genotoksycznego.

Działanie rakotwórcze

Działanie rakotwórcze na ludzi

W badaniu mieszkańców miasteczka Flix (Hiszpania), w którym zakład produkujący rozpuszczalniki chloroorganiczne zanieczyszczał otaczające środowisko, głównie heksachlorobenzenem, wykazano istotnie zwiększoną zapadalność u mężczyzn na mięsaka tkanek miękkich (SIR = 5,5; 95-procentowy CI: 7,7 ÷ 18,0), raka tarczycy (SIR = 6,7; 95-procentowy CI: 1,6 ÷ 28) i nowotwory mózgu (SIR = 2,7; 95-procentowy CI: 1,0 ÷ 7,2). Zakład ten produkował także takie związki chloroorganiczne o właściwościach rakotwórczych, jak: chloroform, tetrachlorek węgla i polichlorowane bifenyle (Grimalt i in. 1994).

W kolejnych latach narażenie na heksachlorobenzen w tej samej populacji było stosunkowo duże. Średnie stężenie dobowe heksachlorobenzenu w powietrzu wynosiło 35 ng/m^3 , podczas gdy stężenie w surowicy krwi mieszkańców wynosiło 26 µg/l . Od 36,8% mieszkańców, którzy wyrazili zgodę na badanie, pobrano krew i mocz oraz przeprowadzono wywiad dotyczący stanu zdrowia. Uzyskane dane uzupełniono informacjami z rejestru nowotworów oraz danymi z przychodni i szpitali. Szczególną uwagę zwrócono na choroby przyczynowo związane z narażeniem na heksachlorobenzen, a mianowicie na choroby: tarczycy, nowotwory złośliwe, chorobę Parkinsona i zaburzenia rozrodu. Częstość ocenianych zmian chorobowych oraz stężenia uroporfiryn w moczu u osób zatrudnionych w zakładzie i narażonych na heksachlorobenzen były nieco większe w porównaniu z populacją w całym regionie, ale różnice te nie były istotne statystycznie. Badanie to o charakterze przekrojowym, z niepełną zgłaszalnością badanych osób, stanowi jedyne źródło informacji na temat skutków zdrowotnych narażenia na heksachlorobenzen populacji mieszkającej w pobliżu zakładu emitującego ten związek (Sala i in. 1999).

W wielu badaniach kliniczno-kontrolnych oceniono zależność między występowaniem raka piersi u kobiet i stężeniem heksachlorobenzenu w materiale biologicznym, a zwłaszcza w wycinkach gruczołu piersiowego oraz w próbkach surowicy krwi od kobiet z rozpoznaniem rakiem piersi i od kobiet z grupy kontrolnej.

W badaniu 43 pacjentek operowanych z powodu inwazyjnego raka piersi oraz 35 pacjentek z grupy kontrolnej iloraz szans (OR) z 95-procentowym przedziałem ufności (CI) wynosił 7,1 (1,1 ÷ 45). Ponadto, u kobiet po

menopauzie z dodatnim receptorem estrogenowym (ER+) OR był znamienne podwyższony w przypadku dioksynopodobnego, koplarnego PCB#77 (*Liljegen i in.* 1998).

W grupie 24 697 kobiet, w tym 409 chorych na raka piersi, oceniono zależność między stężeniem heksachlorobenzenu w tkance tłuszczowej pobranej w latach 1993-1997 a ryzykiem tej choroby. W analizie uwzględniono, jako czynniki zakłócające: wcześniejsze łagodne nowotwory piersi, poziom wykształcenia, wskaźnik masy ciała (BMI), spożywanie alkoholu, liczbę porodów lub ich brak, wiek podczas pierwszego porodu, czas trwania hormonalnej terapii substytucyjnej oraz całkowity czas trwania laktacji. Wykazano odwrotną zależność między ryzykiem raka piersi i stężeniem heksachlorobenzenu, bardziej zaznaczoną w przypadku negatywnego receptora estrogenowego (ER-). Wykazano również istotny trend rosnącego stężenia heksachlorobenzenu i spadającego ryzyka we wszystkich grupach (dla raka piersi ogółem $p = 0,002$; dla raka piersi z obecnym ER+ $p = 0,08$, dla raka piersi z ER- $p = 0,004$). Iloraz szans (OR) dla raka piersi z 95-procentowym CI, w przypadku kwartyli 2 ÷ 4 stężeń heksachlorobenzenu, wynosił odpowiednio: 0,6 (0,2 ÷ 1,7 – Q₂), 0,5 (0,2 ÷ 1,6 – Q₃) i 0,2 (0,0 ÷ 0,6 – Q₄), (*Raaschou-Nielsen i in.* 2005).

Oceniono również zależność między częstością występowania chłoniaka nieziarniczego a narażeniem na heksachlorobenzen. W wielośrodkowym badaniu kliniczno-kontrolnym, którym objęto 174 przypadki chłoniaka i 203 osoby z grupy kontrolnej (pacjenci hospitalizowani lub z populacji generalnej), nie stwierdzono podwyższonego ryzyka tego nowotworu. W badaniach uwzględniono następujące czynniki zakłócające: wiek, płeć, wykształcenie i ośrodek badania (*Cocco i in.* 2008).

Podobne badania przeprowadzono w populacji kanadyjskiej (422 przypadki i 460 osób

z grup kontrolnych). Autorzy wyłączyli przypadki z ponad 10-procentowym spadkiem masy ciała, a próbki krwi do badań pobrali przed chemioterapią (lata 2000-2004). Osoby z grup kontrolnych ze spadkiem masy ciała nie zostały wyłączone z badania. W wynikach analiz uwzględniano: wiek, płeć, region zamieszkania, wykształcenie, BMI, wskaźnik zawartości tłuszczu w organizmie i okres laktacji u kobiet. W badaniu tym wykazano podwyższone ryzyko chłoniaka nieziarniczego oraz niektórych jego podtypów. Stwierdzono ponadto, istotny trend dodatni dla zależności między stężeniem heksachlorobenzenu w osoczu i częstością występowania chłoniaka nieziarniczego (*Spinelli i in.* 2007).

W badaniu kliniczno-kontrolnym nie wykazano zależności między stężeniem heksachlorobenzenu w tkankach i występowaniem raka prostaty. Próbki tkanek pobrano w latach 1997-1999. Wyniki analiz standaryzowano na wiek badanych w chwili pobrania próbek i BMI. Mała liczba przypadków zachorowań (58 osób) w grupie narażonej i w grupie kontrolnej (10 osób) oraz ograniczona liczba czynników zakłócających stanowiły słabą stronę tego badania (*Hardell i in.* 2006).

W badaniu przeprowadzonym w USA, którym objęto 105 kobiet z rozpoznany rakiem piersi oraz 210 kobiet z grup kontrolnych, stwierdzono 2-krotnie większe względne ryzyko u tych badanych, u których stężenie heksachlorobenzenu w surowicy przekraczało trzeci kwartył rozkładu stężenia, tj. 106 ÷ 406 ng/g lipidów. W badaniu tym nie wykazano zależności dawka-odpowiedź, a zatem nie potwierdzono udziału heksachlorobenzenu w etiologii raka piersi (*Dorgan i in.* 1999).

W latach 1999-2000 pobrano próbki surowicy w grupie 159 kobiet z rakiem piersi i 250 kobiet z grup kontrolnych po zdiagnozowaniu choroby, ale przed jej leczeniem. U 32% kobiet z grupy badanej stężenie heksachlorobenzenu

w surowicy było większe niż w grupie kontrolnej. W grupie kontrolnej u 4% kobiet stężenie heksachlorobenzenu w surowicy przewyższało wartość LOQ = 0,05 ng/g lipidów (granica oznaczalności). Wartość ilorazu szans u kobiet z rakiem piersi wynosiła 9,1; 95-procentowy CI: 2,8 ÷ 29,4. Iloraz szans standaryzowano na wykrywalne stężenia DDT (czynnik silnie związany z rakiem piersi), (Charlier i in. 2003).

W badaniu kohortowym przeprowadzonym w Japonii w latach 1990-1993 z udziałem 24 226 kobiet, w tym 139 z rakiem piersi, nie stwierdzono podwyższonego ryzyka tego nowotworu. W badaniu za potencjalne czynniki zakłócające przyjęto: wiek rozpoczęcia miesiączkowania, stan menopauzalny, liczbę porodów, wiek w czasie pierwszego porodu, wzrost BMI i spożywanie alkoholu (Iwasaki i in. 2008).

Działanie rakotwórcze na zwierzęta

Działanie rakotwórcze heksachlorobenzenu wykazano u kilku gatunków zwierząt (tab. 4).

Myszy szczepu Swiss obojga płci (30 samców i 30 samic w grupie) otrzymywały heksachlorobenzen w paszy o stężeniach: 0; 50; 100 lub 200 mg/kg (co odpowiadało dawce związku: 0; 6; 12 lub 24 mg/kg mc./dzień) przez okres 101 ÷ 120 tygodni. Przeżywalność myszy obu płci, otrzymujących największą dawkę (24 mg/kg mc./dzień) badanego związku, była wyraźnie mniejsza. Po zakończeniu doświadczenia obserwowano zwiększoną częstość występowania raka wątrobowokomórkowego w grupach zwierząt otrzymujących największe dawki heksachlorobenzenu (12 lub 24 mg/kg mc./dzień). W grupie kontrolnej i narażonej na najmniejszą dawkę heksachlorobenzenu (6 mg/kg mc./dzień) nie stwierdzono tego rodzaju nowotworu. U zwierząt z grup kontrolnych oraz u narażonych na dawkę 24 mg/kg mc./dzień heksachlorobenzenu obserwowano chłoniaki, odpowiednio

u 35 i 11% myszy. Również w grupie kontrolnej częściej występowały nowotwory płuc niż u zwierząt narażonych na heksachlorobenzen, ale liczba guzków nowotworowych/mysz była podobna we wszystkich grupach zwierząt. W innym badaniu na tym samym szczepie myszy, otrzymujących stosunkowo dużą dawkę heksachlorobenzenu (36 mg/kg mc./dzień) przez krótszy okres (15 tygodni), przeżywalność zwierząt w 11. tygodniu wynosiła 10%. Tylko u 2/30 myszy narażonych stwierdzono raka wątrobowokomórkowego, natomiast chłoniaki i gruczolaki płuc występowały z podobną częstością, zarówno w grupie narażonej, jak i kontrolnej (Carbal i in. 1979).

W innym badaniu myszy Swiss obojga płci (30 ÷ 50 zwierząt w grupie) otrzymywały w paszy następujące dawki heksachlorobenzenu: 0; 6; 12 lub 24 mg/kg mc./dzień przez 113 tygodni. Tylko u myszy narażonych na największe dawki badanego związku (12 lub 24 mg/kg mc./dzień) stwierdzono raka wątrobowokomórkowego, w tym u 10% samców i 10% samic narażonych na dawkę 12 mg/kg mc./dzień oraz u 16% samców i 34% samic pobierających dawkę 24 mg/kg mc./dzień. W grupie kontrolnej i narażonej na najmniejszą dawkę badanego związku (6 mg/kg mc./dzień) nie stwierdzono nowotworów (Carbal, Shubik 1986).

Tabela 4.
Rakotwórcze działanie heksachlorobenzenu na zwierzęta laboratoryjne otrzymujące związek drogą pokarmową

Gatunek, szczep, płeć (liczba zwierząt)	Dawka, mg/kg mc./dz.	Czas narażenia (tygodnie)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy Swiss, samce (30), samice (30)	0 6 12 24	101 ÷ 120	w grupie kontrolnej chłoniaki płuc u 35% myszy; rak wątrobowokomórkowy; chłoniaki u 11% myszy	<i>Carbal</i> i in. 1979
Myszy Swiss, samce (30 ÷ 50), samice (30 ÷ 50)	0 6 12 24	ok. 113	brak nowotworów; brak nowotworów; rak wątrobowokomórkowy u 10% ♂ i 10% ♀	<i>Carbal, Shubik</i> 1986
Szczury F344/N, samce (10 ÷ 12), samice (10)	0 14	90	brak nowotworów	<i>Smith</i> i in. 1985
Szczury Sprague-Dawley, samce (94), samice (94)	0 5 10	104	guzki nowotworowe i raki wątrobowokomórkowe u 16% ♂ i 50% ♀; rak wątrobowy u 3/52 samców i 36/56 samic	<i>Ertürk</i> i in. 1986
Syryjskie chomiki złociste, samce (40 ÷ 59), samice (40 ÷ 60)	0 6 12 24	110	rak wątrobowy u 4/56 samców i 48/55 samic; nowotwory śledziony; nowotwory komórek miąższowych wątroby (46,6 ÷ 86,6% zwierząt); śródbłoniaki krwotoczne wątroby (3,3 ÷ 35%) i śledziony (3,3 ÷ 10%), gruczolaki tarczycy (3,3 ÷ 14%)	<i>Carbal, Shubik</i> 1986

Szczury F344 obojga płci karmiono paszą zawierającą heksachlorobenzen o stężeniu 200 mg/kg paszy (dawka pobrana 14 mg/kg mc./dzień) przez 90 tygodni. Po zakończeniu doświadczenia u wszystkich samic, które przeżyły, stwierdzono liczne nowotwory wątroby z silnym odczynem dodatnim na γ -glutamylotranspeptydazę (GGT), sklasyfikowane jako guzki nowotworowe lub raki wątrobowokomórkowe. Tylko u 16% narażonych samców obserwowano nowotwory, które były mniejsze i rzadziej występowały niż u samic (*Smith* i in. 1985).

Szczury Sprague-Dawley (obojga płci, po 94 zwierząt w grupie), otrzymywały heksachlorobenzen w paszy o stężeniach: 0; 75 lub 150 mg/kg (pobrane dawki: 0; 5 lub

10 mg/kg mc./dzień) przez 104 tygodnie. W obydwu grupach narażanych zwierząt stwierdzono nowotwory w postaci: naczynek krwionośnych wątroby, raka wątrobowokomórkowego, nowotworów przewodów żółciowych oraz gruczolaków i raków nerek. Częstość występowania wymienionych nowotworów u samic była większa niż u samców, z wyjątkiem gruczolaków i raków nerek, których więcej stwierdzono u samców. Raki wątroby były rozpoznawalne mikroskopowo po 300 dniach narażenia, natomiast były widoczne gołym okiem po około 500 dniach narażenia (*Ertürk* i in. 1986).

W badaniu przeprowadzonym na syryjskich chomikach złocistych (40 ÷ 59 samców i 40 ÷ 60 samic w grupach) narażanych drogą pokarmową na dawki heksachlorobenzenu:

0; 6; 12 lub 24 mg/kg mc./dzień przez okres 110 tygodni, u 10% zwierząt w grupie kontrolnej obserwowano spontaniczne nowotwory, zwłaszcza śledziony. W grupach narażonych stwierdzono obecność nowotworów u 53 ÷ 98% zwierząt, w zależności od wielkości dawki. Nowotwory występowały częściej u samców niż u samic. Przeważały nowotwory: z komórek mięsistych wątroby (u 46,6 ÷ 86,6% zwierząt), śródbłoniaki krwotoczne wątroby (3,3 ÷ 35%) i śledziony (3,3 ÷ 10%), a także gruczolaki tarczycy (3,3 ÷ 14%), (Carbal, Shubik 1986).

Przytoczone dane dowodzą, że heksachlorobenzen podawany drogą pokarmową działał rakotwórczo na: myszy, szczury i chomiki. U myszy związek ten indukował raki wątrobowokomórkowe i chłoniaki. U szczurów heksachlorobenzen wywoływał: raki wątrobowokomórkowe, naczyniaki krwionośne wątroby, gruczolaki przewodów żółciowych oraz gruczolaki i raki nerek, natomiast u chomików indukował: nowotwory z komórek mięsistych wątroby, śródbłoniaki krwotoczne wątroby i śledziony, a także gruczolaki tarczycy.

Wykazano również kokarcynogenne działanie heksachlorobenzenu w przypadku raka gruczołu mlecznego u szczurów, indukowanego przez *N*-nitrozo-*N*-metylomocznik (NMU). Szczurom Sprague-Dawley podawano iniekcyjnie jednorazową dawkę 50 mg/kg mc. NMU w: 50., 80. i 110. dniu życia. W okresie od 65. do 110. dnia życia podawano trzy razy w tygodniu dawkę 100 mg/kg mc. heksachlorobenzenu. Szczury podzielono na cztery grupy: kontrolną, narażaną na NMU, narażaną na heksachlorobenzen oraz narażaną na NMU i heksachlorobenzen. Sam heksachlorobenzen nie indukował nowotworów. Również w grupie kontrolnej nie stwierdzono zmian nowotworowych. Wskaźniki rozwoju nowotworów u szczurów narażanych na NMU + heksachlorobenzen były większe niż u zwierząt z grupy

narażanej tylko na NMU. U szczurów narażonych na NMU i heksachlorobenzen łącznie obserwowano brak różnicowania komórek w nowotworach gruczołu mlecznego w większym stopniu niż po narażeniu na sam NMU. Poziomy: receptora insulinowego (IR), receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-IR) i substratu-1 dla receptora insulinowego (IRS-1) były większe u zwierząt narażonych na sam heksachlorobenzen niż w grupie kontrolnej. Natomiast poziomy IGF-IR w grupie narażanej na NMU + heksachlorobenzen były zmniejszone w stosunku do grupy narażanej tylko na NMU. Heksachlorobenzen zmniejszał aktywność tyrozynowej kinazy białkowej w mikrosomach i cytozolu komórek nowotworowych gruczołu mlecznego. Na podstawie wyników tego badania pokazano po raz pierwszy, że heksachlorobenzen jest kokarcynogenem w stosunku do NMU indukującego raka sutka u szczurów. Autorzy pracy sugerowali, że w mechanizmie działania heksachlorobenzenu może uczestniczyć komórkowy szlak sygnałny receptora insulinowego i/lub insulinopodobnego czynnika wzrostu (Randi i in. 2006).

W innym doświadczeniu samce szczurów F344 otrzymały dietylonitrozoaminę (DEN) w jednorazowej dawce 200 mg/kg mc. *i.p.*, a po 2 tygodniach przerwy były karmione paszą zawierającą: heptachlor (HEP) o stężeniu 5 lub 25 mg/kg paszy, heksachlorobenzen o stężeniu 70, lub 350 mg/kg paszy czy mieszaniną obydwu związków chlorowanych o stężeniach 5 i 70 mg/kg, lub 25 i 350 mg/kg paszy przez 6 tygodni. W 3. tygodniu doświadczenia wszystkie szczury poddano częściowej hepatektomii, a w 8. tygodniu zwierzęta zabito. Liczba i powierzchnia przednowotworowych ognisk z dodatnim odczynem na łożyskową izoformę *S*-transferazy glutationowej (GST-P) u szczurów narażonych na obydwie chloroorganiczne związki były większe od sumy takich samych ognisk u zwierząt narażonych na sam

heptachlor lub heksachlorobenzen. Autorzy pracy konkludują, że heptachlor i heksachlorobenzen wywierają addytywne lub ponadaddytywne działanie na rozwój GST-P pozytywnych ognisk w wątrobie, co wskazuje, że łączne narażenie na te związki obecne w żywności stwarza większe ryzyko zdrowotne w porównaniu z narażeniem na każdy z tych związków oddzielnie (Abdo i in. 2013).

Właściwości heksachlorobenzenu jako promotora hepatokarcynogenezy indukowanej przez dietylnitrozoaminę oceniono u szczurów F344/N obojga płci, którym induktor ten podawano w wodzie do picia o stężeniu 0,015-procentowym przez 3 tygodnie. Po 2 tygodniach przerwy w narażeniu, szczury karmiono dietą zawierającą 0,02% heksachlorobenzenu (200 mg/kg paszy) przez 30 tygodni. U obydwu płci obserwowano nowotwory wątroby oraz dodatnie odczyny na GGT. O ile nowotwory u samców były większe niż u samic, to odczyn na GGT był silniejszy u samic. Zmiany te były silniej zaznaczone u zwierząt narażonych łącznie na dietylnitrozoaminę i heksachlorobenzen niż na każdy z tych związków oddzielnie. Podobne wyniki uzyskano u szczurów po jednorazowej dawce dietylnitrozoaminy (20 mg/kg mc.) *i.p.* i karmionych paszą zawierającą heksachlorobenzen przez 30 tygodni (Stewart i in. 1989).

Ostatnio wykazano, że heksachlorobenzen może być czynnikiem ryzyka progresji ludzkiego raka piersi. W warunkach *in vitro* heksachlorobenzen (5 μ M) nasilał ekspresję metaloproteazy 2 i 9 (MMP 2, 9), jak również inwazję komórkową przez mechanizm zależny od szlaku sygnałnego HER1 i receptora dla węglowodorów aromatycznych (AhR) w komórkach raka piersi (MDA-MB-231). W badaniu w warunkach *in vivo* heksachlorobenzen (dawki: 0,3; 3 lub 30 mg/kg mc.) stymulował wzrost nowotworu i jego przerzuty do płuc po zastosowaniu heteroprzeszczepów w dwóch

modelach mysiego raka sutka (Pontillo i in. 2013).

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) zaklasyfikowała heksachlorobenzen do grupy 2.B, tj. czynników przypuszczalnie rakotwórczych dla ludzi, uznając za wystarczające dowody działania rakotwórczego tego związku na zwierzęta doświadczalne, przy braku wystarczających dowodów tego rodzaju działania na ludzi (IARC 2001).

Unia Europejska zaliczyła heksachlorobenzen do substancji rakotwórczych kategorii 1.B, zakładając, że związek ma potencjalne działanie rakotwórcze na ludzi, przy czym klasyfikacja opiera się na wynikach badań przeprowadzonych na zwierzętach. Klasyfikacja w kategorii 1.A i 1.B opiera się na sile dowodu wraz z dodatkowymi kwestiami. Dowody takie można uzyskać z: informacji dotyczących ludzi, określających związek przyczynowo-skutkowy między narażeniem człowieka na działanie substancji a rozwojem raka (znane substancje rakotwórcze dla człowieka) lub z doświadczeń na zwierzętach, dla których istnieją wystarczające dowody na to, by wykazać działanie rakotwórcze heksachlorobenzenu dla zwierząt (substancja, co do której istnieje domniemanie, że jest rakotwórcza dla człowieka). Substancji przypisano zwrot H350 oznaczający, że ta substancja może powodować raka.

Niemiecka Komisja do Badań Zagrożenia Zdrowia Związkami Chemicznymi w Miejscu Pracy zaliczyła heksachlorobenzen do kancerogenów grupy 4., tj. do substancji potencjalnie rakotwórczych, w przypadku których brak jest działania genotoksycznego lub działanie to jest niewielkiego stopnia (DFG 1998).

Również w Environmental Protection Agency (EPA) i American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) w USA uznano heksachlorobenzen za substancję rakotwórczą dla zwierząt laboratoryjnych – grupa A3. oraz grupa B2. (ACGIH 2013).

W Wielkiej Brytanii i Francji heksachlorobenzen zaliczono do substancji rakotwórczych (RTECS 2001).

Ilościowa ocena rakotwórczości heksachlorobenzenu na podstawie wyników badań na syryjskich chomikach złocistych, gdzie skutkiem krytycznym był rak wątrobowokomórkowy, pozwoliła obliczyć ryzyko tego nowotworu dla

ludzi narażonych przez 4 lata na związek o stężeniu $0,2 \text{ mg/m}^3$ na poziomie $1,2 \cdot 10^{-3}$. Ryzyko to, oszacowane w przypadku stężenia heksachlorobenzenu na poziomie wartości NDS ($0,5 \text{ mg/m}^3$) i czasu narażenia 40 lat, jest bardzo duże i wynosi $29 \cdot 10^{-3}$ (Soćko i in. 2002).

DZIAŁANIE EMBRIOTOKSYCZNE, FETOTOKSYCZNE, TERATOGENNE, WPŁYW NA ROZRODCZOŚĆ

Działanie embriotoksyczne, fetotoksyczne, teratogenne, wpływ na rozrodczość ludzi

W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych na temat wpływu heksachlorobenzenu na ontogenetyczny rozwój człowieka w warunkach narażenia zawodowego. Istniejące dane w tym zakresie dotyczą narażenia na związek o małym stężeniu w środowisku pozazawodowym. W latach 1994–2003, w badaniu 720 kobiet w wieku około 35 lat, oceniono wyniki zapłodnienia w warunkach *in vitro* (774 próby) w zależności od stężenia heksachlorobenzenu w surowicy krwi. Ilorazy szans (OR) niepowodzenia implantacji zapłodnionego jaja były istotnie podwyższone w przypadku stężeń tego związku wyrażonych kwartylami $Q_2 - Q_4$. W przypadku Q_2 , OR = 1,71; 95-procentowy CI: $1,03 \div 2,82$; Q_3 , OR = 2,30; 95-procentowy CI: $1,39 \div 3,89$; Q_4 i OR = 2,32; 95-procentowy CI: $1,38 \div 39,0$. Wartości OR wykazywały statystycznie znamienne trend rosnący (Mahalingaiah i in. 2012).

W badaniu przeprowadzonym w Hiszpanii oceniono zależność między: czasem trwania ciąży, terminem porodu, masą i długością ciała noworodka w chwili urodzenia, wiekiem ciążowym oraz stężeniami heksachlorobenzenu w surowicy u 1568 matek w latach 2004–2008. Nie stwierdzono zależności między badanymi wskaźnikami a narażeniem na

heksachlorobenzen, co w opinii autorów pracy było związane ze zbyt małym narażeniem, którego mediana wynosiła $45,6 \text{ ng/g}$ tłuszczu (Basterrechea i in. 2014).

W innym badaniu wykazano związek między stężeniami heksachlorobenzenu we krwi pępowinowej i wartościami BMI u dzieci w wieku 6,5 lat. Stwierdzono, że dzieci, u których podczas porodu stężenie heksachlorobenzenu we krwi pępowinowej wynosiło średnio $1,03 \text{ ng/ml}$, były o $1,14 \text{ kg}$ ($\pm 0,38$) cięższe od dzieci, u których stężenia tego związku były mniejsze od $0,46 \text{ ng/ml}$. Względne ryzyko nadwagi i otyłości u dzieci w wieku 6,5 lat wynosiło odpowiednio 2,5 i 3,0, gdy stężenia heksachlorobenzenu we krwi pępowinowej były większe (Smink i in. 2008).

W badaniu kohortowym 475 dzieci w wieku przedszkolnym, u których stężenie heksachlorobenzenu we krwi w chwili urodzenia przekraczało $1,5 \text{ ng/ml}$, wykazano podwyższone względne ryzyko upośledzonej wydolności behawioralnej (RR = 4,04; 95-procentowy CI: $1,76 \div 9,58$). Nie wykazano związku między stężeniami heksachlorobenzenu we krwi oraz czynnościami poznawczymi i psychoruchowymi badanych dzieci (Ribas-Fito i in. 2007).

Na podstawie przytoczonych wcześniej wyników badań można stwierdzić, że narażenie kobiet na heksachlorobenzen o małym stężeniu w środowisku życia może skutecznie utrudniać

zapłodnienie w warunkach *in vitro*, a narażenie w okresie ciąży może skutkować zaburzeniami behawioralnymi lub somatycznymi u potomstwa w wieku przedszkolnym.

Działanie embriotoksyczne, fetotoksyczne, teratogenne, wpływ na rozrodczość zwierząt

U samic zwierząt laboratoryjnych heksachlorobenzenu działał gonadotoksycznie. U naczelników nieczłękokoształnych – makaków jawańskich (*Macaca fascicularis*), otrzymujących ten związek drogą pokarmową w dawkach: 0,0; 0,1; 1,0 lub 10 mg/kg mc./dzień przez 90 dni (około trzy cykle menstruacyjne), substancja ta po dawce największej (10 mg/kg mc./dzień) znamienne zmniejszała stężenie estradiolu (E₂) we krwi w okresie owulacji. Wartość NOAEL dla tego działania określono na poziomie 1,0 mg/kg mc./dzień (Foster i in. 1995). W innym badaniu u tego samego gatunku zwierząt wykazano znamienne spadki stężenia progesteronu (P₄) we krwi w fazie lutalnej cyklu miesięczkowego (Foster i in. 1992). Z kolei u małp reżus (*Macaca mulatta*), heksachlorobenzenu zmniejszał stężenie krążącego we krwi E₂ oraz hamował owulację, prowadząc do bezjajeczkowego cyklu owulacyjnego (Miller i in. 1978).

Obecność heksachlorobenzenu wykazano w macicy i jajnikach u nieciążarnych samic narażonych na ten związek. Heksachlorobenzenu pokonywał barierę łożyskową u ciężarnych myszy CD-1 i szczurów Sprague-Dawley oraz kumulował się w: tkance tłuszczowej, grasicy, wątrobie i skórze płodów (Courtney i in. 1976; Grant i in. 1977).

U makaków jawańskich narażonych *per os* na dawki heksachlorobenzenu: 0,01; 0,1; 1,0 lub 10 mg/kg mc./dzień przez 13 tygodni obserwowano ultrastrukturalne zmiany w pęcherzykach jajnikowych, w zależności od wielkości dawki związku. Już po najmniejszej dawce

(0,01 mg/kg mc./dzień) związku stwierdzono zmiany w rozwijającym się oocyście i komórkach pęcherzykowych w postaci głęboko wtłoczonych jąder komórkowych oraz nieprawidłowo nagromadzonych kropli tłuszczu w cytoplazmie. Po większych dawkach tego związku (0,1 ÷ 1,0 mg/kg) dochodziło do degeneracji komórek pęcherzykowych i występowania nieprawidłowych odległości między komórkami. Po największej dawce heksachlorobenzenu obserwowano zmiany w mitochondriach w postaci kondensacji macierzy mitochondrialnej i nieprawidłowych przestrzeni międzybłonowych, zwłaszcza w obrębie grzebieni mitochondrialnych. Autorzy pracy zasugerowali związek obserwowanych zmian z peroksydacją lipidów w pierwotnych pęcherzykach jajnikowych (Bourque i in. 1995).

W badaniu dwupokoleniowym, przeprowadzonym na ciężarnych samicach szczurów Sprague-Dawley CD, podawano następujące dawki heksachlorobenzenu: 0; 60; 80; 100; 120 lub 140 mg/kg paszy. W pokoleniu F_{1a} padnięcia potomstwa w okresie 21-dniowym po urodzeniu wynosiły w kolejnych grupach, odpowiednio: 9,2; 19,8; 30,0; 45,4; 93,1 i 92,6%. W pokoleniu F_{1b} padnięcia zwierząt mieściły się w zakresie 18,5 ÷ 94,1%. Obserwowane padnięcia potomstwa były wynikiem narażenia na heksachlorobenzenu w okresie życia wewnątrzmacicznego i w okresie laktacji. U samic nie obserwowano klinicznych objawów zatrucia oraz wpływu heksachlorobenzenu na płodność i plenność. W badaniu histologicznym płuc samic narażonych na ten związek stwierdzono: wzrost liczby piankowatych histiocyty w pęcherzykach płucnych oraz proliferację i przerost komórek śródbłonka naczyniowego (Kitchin i in. 1982).

Szczury Sprague-Dawley obojga płci (po 64 ÷ 66 samców i samic w grupie) karmiono paszą zawierającą heksachlorobenzenu o stężeniach: 0; 3,7; 18,6; 92,8 lub 464 mg/kg paszy (pobierane dawki: samce – 0,0; 0,03; 0,14; 0,69

lub 3,4 mg/kg mc./dzień; samice – 0,0; 0,03; 0,16; 0,78 lub 3,9 mg/kg mc./dz.) przez okres 130 tygodni. Po 12 tygodniach szczury pokolenia F₀ rozmnażano i 50 osesków (F₁) każdej płci wybierano z każdej grupy. Szczury pokolenia F₀ zabijano, a zwierzęta pokolenia F₁, po odstawieniu od matek, karmiono dietą ich rodziców przez pozostały okres życia (130 tygodni). Nie stwierdzono wpływu narażenia na: przyrost masy ciała, spożycie paszy, wskaźniki hematologiczne krwi lub czas przeżycia. W grupie samców pokolenia F₀, którym podawano dawkę heksachlorobenzenu 0,69 lub 3,4 mg/kg/mc./dzień, stwierdzono wzrost masy wątroby i serca. Heksachlorobenzen nie miał wpływu na płodność, ale po dawce największej (3,4 mg/kg mc./dzień) istotnie zmniejszał przeżywalność potomstwa. Zmiany histopatologiczne u zwierząt pokolenia F₁ obejmowały istotny dodatni trend częstości występowania: gruczolaków przytarczyc i guzków chromochłonnych u obu płci, guzków nowotworowych wątroby i płamicy wątrobową u samic oraz limfocytozę okołozółciową w wątrobie i przewlekłe zapalenie nerek u samców (Arnold i in. 1985).

U makaków jawajskich, które otrzymywały *per os* dawki heksachlorobenzenu: 0,1; 1,0 lub 10,0 mg/kg/mc./dzień przez 90 dni, obserwowano wzrost stężenia związku w: surowicy, wątrobie, nerkach, mózgu, tłuszczu okołonerkowym sieciowym i brzuszny, w zależności od wielkości dawki. Brak było objawów toksyczności układowej, z wyjątkiem wzrostu masy wątroby i nadnerczy po największej dawce heksachlorobenzenu (10 mg/kg mc./dzień), a także wzrostu stężenia porfiryn w moczu. Nie stwierdzono wpływu heksachlorobenzenu na histologiczny obraz jajników oraz na skuteczność zapłodnienia oocytów w warunkach *in vitro*. W wątrobie samic obserwowano: wzrost

gęstości elektronowej w mikroskopie elektro-nowym wokół żyły wrotnej, wakuolizację strefy pośredniej zrazika wątrobowego oraz cholestazę wewnątrzwątrobową. W jajnikach stwierdzono znamienne, około 3-krotny spadek liczby zawiązkowych pęcherzyków rdzennych (Jarrell i in. 1993).

Heksachlorobenzen wywierał działanie teratogenne. Ciężarnym samicom szczura podawano drogą pokarmową dawki: 0; 10; 20; 40; 60; 80 lub 120 mg heksachlorobenzenu/kg mc./dzień między: 6. a 9., 10. a 13., 6. a 16. lub 6. i 21. dniem ciąży. Po największych dawkach związku (80 lub 120 mg/kg mc./dzień) u samic wystąpiły objawy neurotoksyczne w postaci drgawek i nadwrażliwości na bodźce. U płodów, których matki otrzymywały dawki heksachlorobenzenu 40 ÷ 120 mg/kg/mc./dzień między 10. ÷ 13., 6. ÷ 16. lub 6. ÷ 21. dniem ciąży, obserwowano istotny wzrost częstości występowania, jednostronnie lub dwustronnie, dodatkowego 14. żebra. Opóźnienie kostnienia mostka obserwowano, w tym samym zakresie dawek, po narażeniu w okresie między 6. a 21. dniem ciąży (Khera 1974).

Oceniono również wpływ narażenia na heksachlorobenzen ciężarnych samic na pourodzeniowy rozwój potomstwa. Ciężarnym samicom szczurów, na 2 tygodnie przed porodem, podawano drogą pokarmową dawki 10 lub 100 mg heksachlorobenzenu/kg mc./dzień. U potomstwa oceniono behavior za pomocą: testu geotaksji, zdolności odróżniania węchowego oraz aktywności eksploracyjnej. Wykazano nadmierną aktywność behawioralną w okresie między 6. ÷ 20. dniem po urodzeniu. W późniejszym czasie (40 i 50 dni po urodzeniu) nie obserwowano zmian w zakresie procesu uczenia się (test pływania) lub aktywności ruchowej (Goldey, Taylor 1992).

Zaburzenia behawioralne, które były indukowane przez heksachlorobenzen u zwierząt, mogły wynikać ze zmian czynnościowych

i morfologicznych neuronów GABA-ergicznych w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), które są źródłem kwasu gamma aminomasłowego (GABA). Neurony GABA-ergiczne uzyskano w warunkach *in vitro* z embrionalnych komórek macierzystych myszy. Narażenie tych neuronów na heksachlorobenzen o stężeniu 0,5 nM nie miało wprawdzie wpływu na ich żywotność, ale: hamowało różnicowanie się komórek macierzystych w kierunku neuronów, indukowało powstawanie reaktywnych form tlenu (ROS) oraz hamowało wyrastanie aksonów w neuronach GABA-ergicznym. Ten

ostatni skutek można było odwrócić za pomocą *N*-acetylocysteiny, zmiatacza ROS. Stwierdzono również, że heksachlorobenzen nie interferuje z czynnością kanałów potasowych w ciele neuronów, co ma świadczyć o braku wpływu tego związku na dojrzewanie ciała neuronów GABA-ergicznych (Addae i in. 2013).

Na podstawie przytoczonych wyników badań można jednoznacznie stwierdzić, że heksachlorobenzen jest ksenobiotykiem wywierającym toksyczne działanie na układ endokryny jajników oraz na rozród i rozwój organizmu.

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie

Heksachlorobenzen do organizmu wchłania się: z przewodu pokarmowego, przez skórę i przez drogi oddechowe. Związek ten pokonuje barierę łożyskową i przechodzi do jajników oraz płodów w ilościach zależnych od wielkości dawki (Courtney i in. 1976; Grant i in. 1977).

U szczurów Sprague-Dawley, którym podawano jednorazowo *per os* ¹⁴C-heksachlorobenzen w ilości 150 µg, obserwowano wolniejsze wchłanianie tego związku w porównaniu z ¹⁴C-dichlorobifenylem. Wykazano, że w procesie wchłaniania heksachlorobenzenu układ limfatyczny ma większy udział niż układ żyły wrotnej. Po 48 h od podania tego związku wykazano znaczne jego ilości w tkance tłuszczowej. Stężenia heksachlorobenzenu w tkance tłuszczowej i krezkowych węzłach chłonnych zwiększały się w funkcji czasu, podczas gdy w wątrobie i nerkach stopniowo się zmniejszały (Iatropoulos i in. 1975). Po podaniu heksachlorobenzenu szczurom w roztworze olejowym drogą pokarmową w dawce jednorazowej 12 lub 30 mg/kg mc. stwierdzono, że ponad 72% dawki wchłonęło się w jelitach w ciągu 96 h po podaniu (Albro, Thomas 1974).

Szczurom Wistar (samcom) podano ¹⁴C-heksachlorobenzen dożołądkowo, w jednorazowej dawce 10 mg/kg mc. Około 80% dawki zostało wchłonięte w ciągu 48 h po podaniu (Ingebrigtsen i in. 1981).

Wchłanianie heksachlorobenzenu przez skórę jest bardzo wolne. U szczurów, którym podano ten związek w roztworze tetrachloroetenowym, tylko 1% dawki został wchłonięty po 6 h, a po 72 h około 10% dawki. Ponad 85% podanej dawki znakowanego heksachlorobenzenu odzyskano z powierzchni skóry. Stwierdzono, że proces wchłaniania heksachlorobenzenu przez skórę ma kinetykę I rzędu z czasem biologicznego półtrwania ($t_{1/2}$) około 22 dni (Koizumi i in. 1986).

Rozmieszczenie

Heksachlorobenzen jako substancja lipofilna gromadzi się w tkankach bogatych w tłuszcz. U samic małp rezus (*Macaca mulatta*), otrzymujących przez 60 dni *per os* dawki heksachlorobenzenu: 8; 32; 64 lub 128 mg/kg mc./dzień, największe stężenia tego związku stwierdzono w korze nadnerczy, a mniejsze – w rdzeniu nadnerczy (Knauf, Hobson 1979).

U szczurów Charles River karmionych paszą zawierającą heksachlorobenzen, którego pobranie wynosiło: 0,5; 2; 8 lub 32 mg/kg mc./dzień przez 15 tygodni, stwierdzono, że poziomy tego związku w tkankach osiągały plateau przed 15. tygodniem narażenia. Wykazano, że stężenia heksachlorobenzenu w tkance tłuszczowej były znacznie większe niż w wątrobie, te znacznie większe niż w mózgu, a te z kolei większe niż w surowicy (*Kuiper-Goodman* i in. 1977).

U świń, którym podawano heksachlorobenzen drogą pokarmową w dawkach: 0,05; 0,5; 5,0 lub 50,0 mg/kg mc./dzień przez 90 dni, stwierdzono, że stężenia tego związku w tłuszczu podskórnym (słonina) były około 500 razy większe niż we krwi, podczas gdy w wątrobie przewyższały stężenia w nerkach i mózgu (*den Tonkelaar* i in. 1978).

Metabolizm

Heksachlorobenzen u ssaków jest powoli metabolizowany do pentachlorofenolu przy udziale wątrobowej mikrosomalnej monooksygenazy zależnej od CYP. Dominującymi metabolitami, oprócz pentachlorofenolu, są również pentachlorobenzen i tetrachlorobenzen. Metabolitami, które powstają w mniejszych ilościach, są: 2,4,5-trichlorofenol, tetrachlorohydrochinon, 2,3,5,6-tetrachlorofenol i 2,3,4,6-tetrachlorofenol. Wszystkie wymienione metabolity powstają na drodze redukcyjnej dechloracji, natomiast pentachlorofenol oraz tetrachlorohydrochinon są produktami częściowej redukcyjnej dechloracji i oksydacji. Metabolity z grupą fenolową ulegają sprzężaniu z kwasem glukuronowym.

Drugi szlak metaboliczny heksachlorobenzenu obejmuje proces sprzężania z glutationem zredukowanym (GSH) do odpowiedniego produktu, który w procesie metabolicznym III fazy tworzy konjugat cysteinowy ulegający

acetylacji do kwasu merkapturowego lub hydrolizie przy udziale β -liazy do pentachlorotioanizolu. Pentachlorotioanizol ulega metylacji do pentachlorotioanizolu, który jest wydalany z moczem, podobnie jak kwas merkapturowy (ATSDR 2002).

Heksachlorobenzen jest induktorem enzymatycznym. W pierwotnych kulturach hepatocytów kurczęcia indukował mRNA dla CYP1A4/5 oraz deetylazę etoksyrezorufiny (EROD) zależną od CYP1A1 (*Mundy* i in. 2010). W badaniu na szczurach w warunkach in vivo obserwowano indukcję: glukuronylotransferazy, hydroksylazy aniliny, deetylazy etylomorfiny i demetylazy 4-nitroanizolu oraz cytochromów P-450 i b₅ w wątrobie (*Mehendale* i in. 1975). U świń poddanych działaniu heksachlorobenzenu drogą dożołądkową w zakresie dawek 0,05 ÷ 5,0 mg/kg mc./dzień przez 90 dni obserwowano ponadto wzrost aktywności demetylazy aminopiryny i glukozy-6-fosfatazy (*den Tonkelaar* i in. 1978).

Wydalenie

Niezmieniony heksachlorobenzen i jego metabolity są wydalone z żółcią do przewodu pokarmowego oraz z moczem. Ta pierwsza droga wydalania ma charakter dominujący.

U szczurów Wistar, które otrzymały ¹⁴C-heksachlorobenzen w jednorazowej dawce 10 mg/kg mc., odzyskano po 24 h w żółci 2,0 i 1,8% znacznika w przeliczeniu na dawkę, odpowiednio macierzystego heksachlorobenzenu i pentachlorobenzenu. Jednakże głównym metabolitem był pentachlorofenol, stanowiący 24,2% dawki związku macierzystego. Po podaniu znakowanego heksachlorobenzenu w czwartym dniu odzyskano 24,8 i 2,1% znacznika, odpowiednio w kale i moczu. Choć nie zidentyfikowano metabolitów zawierających siarkę, to po 24 h od podania heksachlorobenzenu w dawce jednorazowej 200 mg/kg mc. stwierdzono 50-procentowy

spadek stężenia GSH w wątrobie (*Ingebrigtsen* 1981). Podobne wyniki uzyskano u szczurów, którym podano *per os* ^{14}C -heksachlorobenzen w jednorazowej dawce 5 mg/kg mc. U zwierząt po 7 dniach wydalilo się z kałem około 16% znacznika, podczas gdy z moczem – poniżej 1%, w przeliczeniu na podaną dawkę (*Mehendale* i in. 1975).

Heksachlorobenzen wydala się z organizmu również z mlekiem. U małej rezus, którym podawano ten związek drogą pokarmową w dawce 64 mg/kg mc./dzień przez 60 dni, stężenie heksachlorobenzenu w mleku matek było

około 17 razy większe niż w surowicy, natomiast w surowicy osesków było $2 \div 5$ razy większe niż w surowicy matek. W porównaniu z matkami, u osesków wykazano większe stężenia heksachlorobenzenu w: tłuszczu, szpiku kostnym oraz nadnerczach (*Bailey* i in. 1980). U szczurów wykazano, że mleko odgrywa istotną rolę w wydalaniu heksachlorobenzenu u karmiących samic. Samice karmiące miały mniejsze stężenie heksachlorobenzenu w tłuszczu, w porównaniu z samicami, które nie karmiły (*Linder* i in. 1983).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Głównym skutkiem toksycznego działania heksachlorobenzenu jest porfiria wątrobowo ograniczająca biosyntezę hemu. Cechuje się ona wzrostem stężenia prekursorów hemu (porfiryn) w: wątrobie, krwi, moczu i kale. Heksachlorobenzen indukuje porfirię przez wzrost aktywności syntazy kwasu delta aminolewulinowego (ALA-S), kluczowego enzymu cyklu bursztynilo-glicynowego, a także przez zahamowanie aktywności dekarboksylazy uroporfirynogenu, enzymu odpowiedzialnego za przemianę uroporfirynogenu III do koproporfirynogenu III. Dekarboksylaza jest enzymem cytozolem przeksztalającym 4 cząsteczki kwasu octowego na grupy metylowe połączone z 4 pierścieniami pirolowymi. Powstały blok metaboliczny zaburza powstawanie kolejnych porfiryn oraz prowadzi do zwiększonego wydalania: ALA, PBG oraz uroporfiryn z moczem i kałem.

U szczurów narażonych na heksachlorobenzen obserwowano nieprawidłową dekarboksylację oksydacyjną pentakarboksylowego porfirynogenu III przez oksydazę koproporfirynogenu, co prowadziło do zwiększonego wydalania uroporfiryny i heptakarboksylowej porfiryny z moczem oraz izokoproporfiryny

z kałem. Heksachlorobenzen rozkojarzył fosforylację oksydacyjną i uwalniał do przestrzeni międzybłonowej mitochondriów oksydazę koproporfirynogenu zakotwiczoną w $30 \div 50\%$ w wewnętrznej błonie mitochondrialnej (*Sopena* i in. 2008).

Tyreotoksyczne działanie heksachlorobenzenu, wyrażone: spłaszczeniem nabłonka, wzrostem objętości koloidu w pęcherzykach gruczołowych tarczycy, upośledzoną biosyntezą oraz sekrecją hormonów (T_4 i T_3), było wynikiem apoptozy komórek pęcherzyków gruczołowych, zależnej od wielkości dawki tego związku. Heksachlorobenzen indukuje ekspresję czynnika transformującego wzrost (TGF- β 1), co zapewnia prawidłową proliferację komórkową przy równoczesnej apoptozie na szlaku mitochondrialnym (*Chiappini* i in. 2009).

Na podstawie wyników badań w warunkach *in vitro* na komórkach tarczycy szczura FRTL-5 wykazano, że heksachlorobenzen: zwiększa aktywność kaspazy 3. i 8., depolaryzuje błonę mitochondrialną oraz uwalnia cytochrom c i czynnik indukujący apoptozę (AIF) z mitochondriów do cytozolu, a także powoduje translokację jądrowego AIF. Apoptotycznej śmierci komórki towarzyszy wzrost

stężenia reaktywnych form tlenu (ROS). Zablokowanie produkcji reaktywnych form tlenu za pomocą troloxu prowadziło do zahamowania translokacji jądrowego AIF i przywrócenia przeżywalności komórek na poziomie kontrolnym. Wyniki te świadczą o tym, że ROS są krytycznymi mediatorami apoptozy indukowanej przez heksachlorobenzen. Wykazano ponadto, że powstające ROS w komórkach FRTL-5 pod działaniem heksachlorobenzenu aktywują szlak sygnałny ERK 1/2 (*extracellular signal-regulated kinase*), (Chiappini i in. 2013).

Heksachlorobenzen hamował żywotność komórek FRTL-5 tarczycy szczura przez wpływ na procesy regulacyjne cyklu komórkowego. Związek ten hamował przebieg cyklu komórkowego w fazie G1/S po 24 oraz 72 h po narażeniu. Narażenie na heksachlorobenzen prowadziło również do wzrostu stężenia mRNA dla transformującego czynnika wzrostu β (TGF- β 1), negatywnego regulatora wzrostu nabłonkowych komórek tarczycy. Ponadto, związek ten zwiększał poziomy białka p27 w cytozolu i jądrze komórkowym oraz zmniejszał poziomy jądrowej cytokiny D1 w sposób zależny od czasu narażenia (Chiappini i in. 2014).

W badaniu w warunkach *in vivo* na szczurach wykazano wpływ heksachlorobenzenu na aktywność 5'-dejdynaz (5'D-I) typu I i II, uczestniczących w przemianach tyroksyny oraz trijodotyroniny. Stwierdzono istotny wzrost całkowitej aktywności 5'D-I w: tarczycy, wątrobie i nerce. Heksachlorobenzen zwiększał aktywność wątrobowej urydynodifosfoglukuronozylotransferazy (UDPGT) T₄ w sposób zależny od czasu narażenia, ale nie wpływał na aktywność UDPGT T₃. W opinii autorów pracy, obserwowana zwiększona przemiana T₄ do T₃ w tarczycy oraz powiększenie wątroby mogą być odpowiedzialne za utrzymanie stałego stężenia T₃ w surowicy szczurów narażonych na heksachlorobenzen z niedoczynnością tarczycy (Alvarez i in. 2005).

Heksachlorobenzen u szczurów Wistar, w modelu porfirii skórnej późnej, modyfikował metabolizm kwasu arachidonowego (AA) w wątrobie. Związek ten indukował aktywność wątrobowej: O-deetylazy etoksyrezorufiny (EROD), O-demetylazy metoksyrezorufiny (MROD) i N-demetylazy aminopiryny. Heksachlorobenzen nasilał metabolizm AA na szlaku cyklooksygenacji, m.in. do kwasów hydroksyeikozatetraenowych i epoksyekozatrienowych oraz stymulował biosyntezę prostaglandyny E (PGE) w skrawkach wątroby. Związek początkowo zwiększał, a następnie hamował aktywność cytozolowej fosfolipazy A₂, odszczepiającej nienasycone kwasy tłuszczowe z fosfolipidów błonowych. Na podstawie wyników tych badań wykazano po raz pierwszy, że heksachlorobenzen indukuje zarówno cyklooksygenazę, jak i stymuluje metabolizm AA zależny od CYP, przy czym indukcja ta poprzedza wystąpienie porfirii (*de Catabbi* i in. 2005).

Uważa się, że heksachlorobenzen jest związkiem dioksynopodobnym, słabym ligandem receptora AhR (*Randi* i in. 2008; *Pontillo* i in. 2011). Wykazuje zdolność deregulacji równowagi endokrynnej jako „zaburzacz hormonalny”.

U szczurów Wistar, którym podawano heksachlorobenzen przez okres 2 ÷ 8 tygodni, stwierdzono: w wątrobie zahamowanie aktywności karboksykinazy fosfoenolopirogronianowej (PEPCK), kluczowego enzymu glukoneogenezy, zmniejszenie stężenia kortykosteronu (CORT) w osoczu (23 ÷ 55%), redukcję liczby wątrobowych receptorów glikokortykosteroidowych (50 ÷ 55%) oraz wzrost stężenia porfiryn w moczu (40- ÷ 50-krotny). Na podstawie tych wyników potwierdzono, że heksachlorobenzen, podobnie jak dioksyny, może hamować biosyntezę glukozy z pirogronianu i aminokwasów cukrotwórczych na drodze glukoneogenezy. Mechanizm hamującego działania

heksachlorobenzenu może wynikać z blokowania receptorów glikokortykoidowych i upośledzonej biosyntezy glikokortykosteroidów, które są induktorami kluczowych enzymów glukoneogenezy oraz inhibitorami kluczowych enzymów glikolizy w wątrobie (Lelli i in. 2007).

U samic szczura heksachlorobenzon transformował komórki nabłonkowe na drodze epigenetycznej. W wyniku nadmiernej ekspresji szlaku kinazy związanej z integryną (ILK) dochodziło do przerywania połączeń międzykomórkowych (*gap junctions*) i zaburzenia komunikacji między komórkami (Plante i in. 2005).

Heksachlorobenzon (0,005 lub 0,05 μM) w warunkach *in vitro* stymulował proliferację komórek raka sutka MCF-7 z dodatnim receptorem estrogenowym α ($\text{ER}\alpha+$), lecz nie w komórkach MDA-MB-231 bez receptora estrogenowego ($\text{ER}\alpha-$). Związek o stężeniu 0,5 lub 5,0 μM nasilał apoptozę w komórkach MCF-7 i indukował ekspresję genu dla CYP1A1 regulowanego przez AhR. Komórki MCF-7 narażone na heksachlorobenzon (0,005 lub 0,05 μM) wykazywały nadekspresję insulinowego czynnika wzrostu (IGF-IR) i receptora

insulinowego (IR). Związek ten zwiększał aktywność kinazy c-Src oraz fosforylację tyrozyny 537 receptora $\text{ER}\alpha$ i hamował czynność tego receptora. Dane te wskazują, że stymulacja proliferacji komórkowej i szlaku sygnałnego IGF-I w komórkach raka sutka MCF-7 zależą od receptora estrogenowego α (Garcia i in. 2010).

Na podstawie wyników innych badań wykazano, że heksachlorobenzon stymuluje szlaki sygnałne w komórkach ludzkiego raka piersi MDA-CMB-231, w tym: c-Src, HER 1 i AhR, uczestniczące w migracji komórkowej (Pontillo i in. 2011).

U zdrowych szczurów heksachlorobenzon zwiększał stężenie 17β -estradiolu i prolaktyny w surowicy oraz zmniejszał stężenia: progesteronu, folitropiny (FSH) i luteotropiny (LH), a u szczurów z nowotworami gruczołu mlecznego, indukowanego przez *N*-nitrozo-*N*-metylomocznik, wykazywał działanie przeciwne, a także aktywował receptory naskórkowego czynnika wzrostu oraz szlaki sygnałne $\text{ER}\alpha$ i c-Src/HER 1 w gruczole mlecznym (Peña i in. 2012).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat łącznego działania toksycznego heksachlorobenzenu z innymi ksenobiotykami.

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Zależność skutków działania toksycznego heksachlorobenzenu od wielkości narażenia u zwierząt doświadczalnych przedstawiono w tabelach: 3., 5. i 6. W tabeli 6. podano wartości NOAEL i LOAEL dla określonych skutków szkodliwego działania heksachlorobenzenu.

Na podstawie wyników badań przedstawionych w tabelach: 3., 5. i 6. wykazano, że heksachlorobenzon jest ksenobiotykiem o działaniu wieloukładowym. Zmiany wywołane przez ten związek różnią się wartościami NOAEL i LOAEL, co wskazuje na zróżnicowaną wrażliwość narządów i układów docelowych.

Tabela 5.
Zależność między narażeniem małą na heksachlorobenzen a czynnością układu rozrodczego

Wskaźnik	Dawka, mg/kg mc./dzień				Piśmiennictwo
	0	0,1	1,0	10,0	
Pęcherzyki jamowe	58 ±11	115 ±26	110 ±9	59 ±26	Jarrell i in. 1993
Pęcherzyki zawiązkowe	26,348 ±9,860	19,473 ±4,504	24,027 ±3,717	8,737 ±3,047 ^a	Jarrell i in. 1993
Ciałka żółte	1,8 ±2,5	1,5 ±0,3	1,5 ±0,7	1,8 ±0,7	Jarrell i in. 1993
Zapłodnienie, %	15 ±8,7	14 ±4,3	22 ±8,2	9,7 ±6,6	Jarrell i in. 1993
Progesteron w surowicy, faza lutealna, ng/ml	7,9 ±3,9	8,5 ±2,0	1,8 ±0,6 ^a	2,5 ±0,4 ^a	Foster i in. 1992
Estradiol w surowicy, faza lutealna, pg/ml	165 ±4	180 ±32	69 ±10	116 ±26	Foster i in. 1992
Poziom estradiolu w okresie jajczkowania (wzgl. jednostki)	6,600 ±1,500	4,600 ±1,500	5,000 ±2,500	2,500 ±1,600 ^a	Foster i in. 1992
Wydłużenie cyklu miesięczkowego, dni	1,5 ±0,9	2,5 ±1,5	9,1 ±8,8 ^a	12 ±8,5 ^a	Foster i in. 1995
Zmiany ultrastrukturalne w komórkach jajowych	brak zmian	skondensowane i obrzmiałe grzebienie mitochondrialne; ziarnista macierz	duże grzebienie mitochondrialne	zaburzona integralność morfologiczna mitochondriów	Bourque i in. 1995
Pęcherzyk jajnikowy, nieprawidłowe jądra	brak zmian	+	++	+++	Bourque i in. 1995; Jarrell i in. 1993
Zmiany ultrastrukturalne nabłonka jajnika	brak zmian	+	++	+++	Babineau i in. 1991
Procent prawidłowych komórek w nabłonku jajnika	78 ±5	23 ±7 ^a	12 ±5 ^a	30 ±6 ^a	Sims i in. 1991

Objaśnienia:

^a Różnice istotne statystycznie w stosunku do grupy kontrolnej.

+, ++, +++ wzrost intensywności zmian; 4 samice w grupie; czas narażenia 90 dni.

Tabela 6.
Wartości NOAEL dla heksachlorobenzenu ustalone w badaniach na zwierzętach laboratoryjnych narażonych drogą pokarmową na związek podprzewlekłe i przewlekłe

Gatunek zwierząt	Czas narażenia, tygodnie	Skutki krytyczne	Wartości NOAEL/LOAEL, mg/kg mc./dzień	Piśmiennictwo
Małpy	13	martwica komórek nabłonkowych powierzchni jajników i ich obnażenie	NOAEL: 0,01	<i>Bourque</i> i in. 1995; <i>Foster</i> i in. 1992;
Świnie	13	hipertrofia wątrobowo-komórkowa	NOAEL: 0,05	<i>den Tonkelaar</i> i in. 1978
Psy	52	guzkowaty rozrost limfoidalnej tkanki żołądka	LOAEL: 0,1	<i>Gralla</i> i in. 1977
Szczury	4	upośledzenie wrażliwości ślimaka w uchu	NOAEL: 0,16	<i>Hadjab</i> i in. 2004
Szczury	13	zwyrodnienie siekaczy szczękowych	NOAEL: 0,3	<i>Long</i> i in. 2004
Szczury (badanie 2-pokoleniowe)	104	okołożółciowa limfocytoza i zwłóknienie u samców pokolenia F ₁	LOAEL: 0,016	<i>Arnold</i> i in. 1985; 1986

NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIE (NDS) W POWIETRZU ŚRODOWISKA PRACY ORAZ DOPUSZCZALNE STĘŻENIE W MATERIALE BIOLOGICZNYM (DSB)

Istniejące wartości NDS

Wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) heksachlorobenzenu obowiązujące

lub zalecane w różnych państwach zamieszczone w tabeli 7.

Tabela 7.
Wartości dopuszczalnych stężeń w powietrzu środowiska pracy (IFA 2015; RTECS 2015)

Państwo	Wartość NDS, mg/m ³	Wartość NDCh, mg/m ³	Oznakowanie	Rok publikacji
Belgia	0,002	–	skin, cancerogen	2002
Dania	0,025	–	skin, cancerogen	2011
Francja	0,5	0,05		
Hiszpania	0,002	–	cancerogen, skin	2012
Holandia	0,03 ^a	–		2003
Islandia	0,025	–	cancerogen	2011
Kanada, Ontario	0,002	–		
Kanada, Québec	0,025	–		
Łotwa	0,9	–		2007
Peru	0,002	–		
Polska	0,5	–		1998
Rosja	0,3	–	skin	
SCOEL/SUM/191	nie ustalono	nie ustalono	skin, grupa D rakotwórczości	BLV: 150 µg heksachlorobenzenu/l w surowicy lub osoczu krwi
USA, ACGIH	0,002	–	skin, A3	2015

Objaśnienia:

^a Obecna propozycja 0,006 mg/ m³.

W Polsce wartość NDS dla heksachlorobenzenu na poziomie $0,5 \text{ mg/m}^3$ została ustalona w 1998 r.

Podstawą amerykańskiej wielkości TLV były wyniki badań nad toksycznością heksachlorobenzenu u małp rebus obojga płci, narażonych na ten związek drogą pokarmową przez 18 miesięcy. Za skutki krytyczne przyjęto: zmiany stężenia estrogenów i aktywności enzymów wskaźnikowych w surowicy krwi, zmiany wskaźników hematologicznych oraz stężenia uro- i koproporfiryn w moczu. Punktem wyjścia do obliczenia wartości TLV heksachlorobenzenu była wartość NOAEL wynosząca $0,033 \text{ mg/kg mc./dzień}$ (ACGIH 2001).

Zespół ekspertów holenderskich za podstawę wartości OEL heksachlorobenzenu przyjął wyniki badań nad gonadotoksycznym działaniem tego związku u samic makaków jawajskich narażonych drogą pokarmową przez 13 tygodni. Do obliczeń wartości OEL wykorzystano wartość NOAEL wynoszącą $0,01 \text{ mg/kg mc./dzień}$ oraz łączny współczynnik niepewności 12 (DECOS 2011).

W SCOEL nie zaproponowano wartości OEL dla heksachlorobenzenu, gdyż ekstrapolacja danych ze zwierząt na ludzi zawiera wiele niepewności związanych z różnicami w toksykokinetyce związku. Skutkiem krytycznym działania heksachlorobenzenu u ludzi jest porfiringa wątrobowa. Najmniejszą dawkę związku wywołującą zmiany w wątrobie u ludzi ustalono na poziomie $0,8 \div 3,3 \text{ mg/kg mc./dzień}$ w badaniach epidemicznych w Turcji (HCN 2011). Nie ustalono w tych badaniach wartości NOAEL heksachlorobenzenu. Po większych dawkach związku obserwowano także działanie heksachlorobenzenu na: tarczycę, skórę, układ mięśniowo-szkieletowy, nerki, układ immunologiczny oraz nerwy, które mogą być wtórne w stosunku do porfirii wątrobowej. Heksachlorobenzen jest substancją kumulującą się w organizmie z długim półokresem eliminacji z organizmu. Ze względu na działanie

kumulacyjne heksachlorobenzenu nie ustalono wartości OEL, a do oceny narażenia zalecono wartość BLV. Na podstawie obserwacji ludzi ustalono, że objawy kliniczne zatrucia heksachlorobenzenem nie występowały, gdy stężenie związku w surowicy lub osoczu krwi wynosiło poniżej $150 \text{ } \mu\text{g/l}$ i dlatego zaproponowano przyjęcie wartości BLV na poziomie $150 \text{ } \mu\text{g/l}$ w surowicy lub osoczu krwi oraz, ze względu na wchłanianie związku przez skórę, oznakowanie „skin”. Heksachlorobenzen jest związkiem rakotwórczym dla zwierząt. Na podstawie wyników niektórych badań u ludzi można stwierdzić zwiększone ryzyko działania rakotwórczego heksachlorobenzenu, lecz w większości badań takiej zależności nie stwierdzono. Dla heksachlorobenzenu w nietoksycznych dawkach większość testów działania genotoksycznego na bakteriach oraz komórkach ssaków w badaniach w warunkach in vitro oraz in vivo dały wyniki ujemne (ATSDR 2002; Greim 2001; HCN 2011), dlatego w SCOEL heksachlorobenzen zaliczono do grupy D rakotwórczości. Konsultacje publiczne propozycji SCOEL odbyły się w sierpniu 2014 r. i Polska nie zgłosiła do zaproponowanych propozycji uwag. Heksachlorobenzen został ujęty w wykazie substancji, dla których powinny być ustalone wartości wiążące (BOELV), ale ze względu na zakaz stosowania tej substancji zgodnie z Konwencją sztokholmską z 2001 r., wartości BOELV nie ustalono (HCN 2011).

Podstawy proponowanej wartości NDS

W dostępnym piśmiennictwie nie ma odpowiednich danych z obserwacji ludzi narażonych na heksachlorobenzen, które mogą stanowić podstawę do zaproponowania wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS). Liczne dane doświadczalne dotyczą narażenia podprzewlekłego lub przewlekłego zwierząt na

heksachlorobenzen drogą pokarmową. Dostępne są tylko wyniki jednego badania przeprowadzonego na szczurach narażonych drogą oddechową na ten związek (Sherwood i in. 1989). Badanie to ma jednak takie liczne ograniczenia, jak: stosunkowo krótki czas narażenia (4 h/dz., 4 dni w tyg., 4 tyg.), tylko dwie dawki heksachlorobenzenu oraz wąski zakres badanych wskaźników (zmiana masy ciała oraz parametry bariery obronnej płuc).

Działanie gonadotoksyczne jest najczulszym skutkiem krytycznym działania heksachlorobenzenu na zwierzęta. Do obliczenia wartości NDS heksachlorobenzenu można przyjąć wyniki badań nad toksycznością reprodukcyjną u małych samic poddanych 13-tygodniowemu narażeniu na związek drogą pokarmową. Wyniki tego rodzaju badań, uzyskane przez wielu autorów (Bourque i in. 1995; Foster i in. 1992; 1995; Jarrell 1993), są zbieżne w zakresie zmian morfologicznych i czynnościowych jajników (tab. 5., 6.).

Wartość NOAEL w badaniach Bourque i in. (1995) wynosi 0,01 mg/kg mc./dzień, podczas gdy wartości LOAEL są 10-krotnie większe.

Na podstawie wartości NOAEL, która wynosi 0,01 mg/kg mc./dzień *per os* u małych, obliczono równoważne stężenie heksachlorobenzenu w powietrzu dla człowieka o masie 70 kg (W_h) i wentylacji płuc $10 \text{ m}^3 / 8 \text{ h}$ (V_h) na podstawie wzoru:

$$D_h = D_w \cdot W_h : V_h$$

$$D_h = 0,01 \text{ mg/kg/dzień} \cdot 70 \text{ kg} : 10 \text{ m}^3$$

$$D_h = 0,07 \text{ mg/m}^3$$

Do obliczenia wartości NDS heksachlorobenzenu przyjęto następujące współczynniki niepewności:

- $A = 2$, współczynnik związany z wrażliwością osobniczą
- $B = 3$, współczynnik związany z różnicami międzygatunkowymi i drogą podania (podanie drogą pokarmową)

- $C = 2$, współczynnik związany z narażeniem podprzewlekłym
- $D = 1$, do obliczeń przyjęto wartość NOAEL
- $E = 2$, współczynnik modyfikujący związany z działaniem rakotwórczym na zwierzęta.

Zatem, po podstawieniu wartości współczynników, obliczamy wartość NDS na podstawie wzoru:

$$NDS = D_h : A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E$$

$$NDS = 0,07 \text{ mg/m}^3 : 24$$

$$NDS = 0,0029 \text{ mg/m}^3$$

Udział skóry w procesie wchłaniania heksachlorobenzenu do organizmu można obliczyć jako krytyczną wartość wchłaniania (CAV), (ECETOC 1998), na podstawie wzoru:

$$CAV = 10 \text{ m}^3 \cdot NDS \cdot f \cdot 0,1/2000 \text{ cm}^2,$$

gdzie:

10 m^3 – objętość powietrza wdychanego przez człowieka w ciągu 8 h pracy,

f – współczynnik wchłaniania drogą oddechową przyjęty za 1,

0,1 – oznacza kryterium 10%,

200 cm^2 – powierzchnia dłoni i przedramion,

zatem:

$$CAV = 10 \text{ m}^3 \cdot 0,003 \text{ mg/m}^3 \cdot 1 \cdot 0,1/2000 \text{ cm}^2$$

$$CAV = 0,0000015 \text{ mg/cm}^2/\text{h}$$

$$CAV = 1,5 \text{ ng/cm}^2/\text{h}$$

Maksymalna szybkość wchłaniania heksachlorobenzenu przez skórę wynosi $0,9 \pm 0,2 \mu\text{g/cm}^2/\text{h}$ (Koizumi 1991). Jest to wartość około 600 razy większa od obliczonej wartości CAV, co uzasadnia oznakowanie wartości NDS dla heksachlorobenzenu „skóra” informujące, że wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową.

Na podstawie powyższych obliczeń i porównań z wartościami dopuszczalnych pozio-

mów narażenia zawodowego zalecanych w innych państwach, proponuje się przyjęcie wartości NDS dla frakcji wdychalnej heksachlorobenzenu na poziomie 0,003 mg/m³ oraz oznakowanie „skóra” informujące, że wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne jak przy narażeniu drogą oddechową. Nie ma podstaw merytorycznych do obliczenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) heksachlorobenzenu.

Postanowiono wartość NDS heksachlorobenzenu, wyliczoną na podstawie działania gonadotoksycznego, odnieść do ryzyka raka wątroby o takim stężeniu związku. Obliczono, że

ryzyko raka wątroby związane z narażeniem na heksachlorobenzen na proponowanym poziomie NDS wynoszącym 0,003 mg/m³ przez 40 lat, obliczone zgodnie z danymi z piśmiennictwa (Soćko i in. 2002), wynosi $1,5 \cdot 10^{-4}$.

Ponadto zaproponowano, za ustaleniami w SCOEL, przyjęcie wartości dopuszczalnej w materiale biologicznym (DSB) na poziomie 150 µg heksachlorobenzenu/l osocza lub surowicy (SCOEL 2014). Uważa się, że przy tym stężeniu heksachlorobenzenu we krwi u pracowników nie wystąpią kliniczne skutki jego działania toksycznego.

PIŚMIENNICTWO

Abdo W., Hirata A., Sakai H., El-Sawak A., Nikami H., Yamai T. (2013) Combined effects of organochlorine pesticides heptachlor and hexachlorobenzene on the promotion stage of hepatocarcinogenesis in rats. *Food Chem. Toxicol.* 55, 578–585.

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2001) The threshold limit values (TLVs) and biological exposure indices (BEIs). Cincinnati, USA.

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2013) TLV Documentation. Hexachlorobenzene [komputerowa baza danych].

Addae C., Cheng H., Martinez-Ceballos E. (2013) Effect of the environmental pollutant hexachlorobenzene (HCB) on the neuronal differentiation of mouse embryonic stem cells. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 10(10), 5244–5256.

Albro P.W., Thomas R. (1974) Intestinal absorption of hexachlorobenzene and hexachlorocyclohexane isomers in rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 12(3), 289–294.

Alvarez L., Hernandez S., Martinez-de-Mena R., Kolliker-Frers R., Obregón M.J., Kleiman de Pisarev D.L. (2005) The role of type I and type II 5 α -deiodinases on hexachlorobenzene induced alteration of the hormonal thyroid status. *Toxicology* 207(3), 349–362.

Arnold D.L., Moodie C.A., Charbonneau S.M., Grice H.C., McGuire P.F., Bryce F.R. i in. (1985) Long-term toxicity of hexachlorobenzene in the rat and the effect of dietary vitamin A. *Food Chem. Toxicol.* 23(9), 779–793.

Arnold D.L., Moodie C.A., Collins B.T., Zawadzka Z.Z., Krewski D.R. (1986) Two-generation chronic toxicity study with hexachlorobenzene in the rats. *IARC Sci. Publ.* 77, 405–410.

ATSDR, Agency for Toxic Substances and Diseases Registry (2002) Toxicological profile for hexachlorobenzene. Atlanta, USA.

Babineau K., Singh A., Jarrell J. i in. (1991) Surface epithelium of the ovary following oral administration of hexachlorobenzene to the monkey. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* 23, 457–464.

Bailey J. Knauf V., Mueller W. i in. (1980) Transfer of hexachlorobenzene and polychlorinated biphenyls to nursing infant rhesus monkeys. Enhanced toxicity. *Environ. Res.* 21, 190–196.

Basterrechea M., Lertxundi A., Iñiguez C., Mendez M., Murcia M., Mozo I. i in. (2014) Prenatal exposure to hexachlorobenzene (HCB) and reproductive effects in a multicentre birth cohort in Spain. *Sci. Total Environ.* 466–467, 770–776.

Bourque A.C., Singh A., Lakhanpal N., McMahon A., Foster W.G. (1995) Ultrastructural changes in ovarian follicles of monkeys administered hexachlorobenzene. *AM. J. Vet. Res.* 56(12), 1673–1677.

Cam C., Nigogosyan G. (1963) Acquired toxic porphyria cutanea tarda due to hexachlorobenzene. Report of 348 cases caused by this fungicide. *JAMA* 183(2), 88–91.

- Carbal J.R.P., Mollner T., Raitano F., Shubik P. (1979) Carcinogenesis of hexachlorobenzene in mice. *Int. J. Cancer* 23, 47–51.
- Carbal J.R.P., Shubik P. (1986) Carcinogenic activity of hexachlorobenzene in mice and hamsters. [W:] *Hexachlorobenzene* [Red.:] C.R. Morris C.R., J.R.P. Carbal. *Proceedings of an international symposium. IARC Scientific Publications 77*, IARC Press, Lyon 411–416.
- Chalouati H., Gomet-Payraastre L., Ben Saad M. (2013) Irreversible thyroid disruption induced after subchronic exposure to hexachlorobenzene in male rats. *Toxicol. Ind. Health* 5.
- Charlier C., Albert A., Herman P., Hamoir E., Gaspard U., Meurisse M. i in. (2003) Breast cancer and serum organochloride residues. *Occup. Environ. Med.* 60(5), 348–351.
- Chiappini F., Alvarez L., Lux-Lantos V., Randi A.S., Kleiman de Pisarev D.L. (2009) Hexachlorobenzene triggers apoptosis in rat thyroid follicular cells. *Toxicol. Sci.* 108(20), 301–310.
- Chiappini F., Pontillo C., Randi A.S., Alvarez L., Kleiman de Pisarev D.L. (2013) Reactive oxygen species and extracellular signal-regulated kinase 1/2 mediate hexachlorobenzene-induced cell death in FRTL-5 rat thyroid cells. *Toxicol. Sci.* 134(2), 276–290.
- Chiappini F., Pontillo C., Randi A., Alvarez L., Kleiman de Pisarev D.L. (2014) Hexachlorobenzene induces TGF- β 1 expression which is a regulator of p27 and cyclin D1 modifications. *Toxicol. Lett.* 230(1), 1–9.
- Cocco P., Brennan P., Ibba A., de Sanjosé L.S., Maynadié M., Nieters A. i in. (2008) Plasma polychlorobiphenyl and organochlorine pesticide level and risk of major lymphoma subtypes. *Occup. Environ. Med.* 65(2), 132–140.
- Courtney K.D., Copeland M.F., Robbins A. (1976) The effects of pentachloronitrobenzene, hexachlorobenzene, and related compounds on fetal development. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 35, 239–256.
- Currier M.F., McClimans C.D., Barna-Lloyd G. (1980) Hexachlorobenzene blood levels and the health status of men employed in the manufacture of chlorinated solvents. *J. Toxicol. Environ. Health* 6, 367–377.
- de Catabbi B., Foletti A., Fuentes F., San Martin de Viole L.C., Cochón A.C. (2005) Hepatic arachidonic acid metabolism is disrupted after hexachlorobenzene treatment. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 204(2), 187–195.
- den Tonkelaar E.M., Verschuuren H.G., Bańkowska J., De Vries T., Kroes V.R., van Esch G.J. (1978) Hexachlorobenzene toxicity in pigs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 43, 137–145.
- Dewailly E., Dodin S., Verreault R. i in. (1994) High organochlorine body burden in women with estrogen receptor-positive breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 86, 232–234.
- DFG (1998) List of MAK and BAT Values.
- Dorgan J.F., Brock J.W., Rothman N., Needham L.L., Miller R., Stephenson H.E., Jr. i in. (1999) Serum organochlorine pesticides and PCBs and breast cancer risk: results from a prospective analysis (USA). *Cancer Causes Contr.* 10, 1–11.
- Dyrektywa Rady 67/548/EWG z dnia 27.06.1967 r. o ujednoczeniu ustaw, rozporządzeń i innych przepisów prawnych i administracyjnych dotyczących klasyfikacji, pakowania i oznakowania niebezpiecznych substancji chemicznych wraz z późniejszymi zmianami do 28 ATP włącznie. Dyrektywa Komisji 201/59/WE z dnia 6.08.2001 r.
- ECETOC, European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (1998) Examination of a proposed skin notation strategy. Special report nr15. Brussels, Belgium [cyt. za DECOS 2011].
- Engst R., Macholz R.M., Kujawa M. (1976) The metabolism of hexachlorobenzene (HCB) in rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 16(2), 248–252.
- Ennaceur S., Ridha D., Marcos R. (2008) Genotoxicity of the organochlorine pesticides 1,1-dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethylene (DDE) and hexachlorobenzene (HCB) in cultured human lymphocytes. *Chemosphere* 71(7), 1335–1339.
- Ertürk E., Lambrecht R.W., Peters H.A., Cripps D.J., Gocmen A., Morris C.R. i in. (1986) Oncogenicity of hexachlorobenzene [W:] *Hexachlorobenzene* [Red.:] C.R. Morris, J.R.P. Carbal. *Proceedings of an International Symposium. IARC Scientific Publication 77*. IARC Press, Lyon 417–423.
- Falck F., Ricci A., Wolff M.S., Godbold J., Deckers P. (1992) Pesticides and polychlorinated biphenyls residues in human breast lipids and their relation to breast cancer. *Arch. Environ. Health* 47, 143–146.
- Foster W.G., McMahon A., Villeneuve D.C., Jarrell J.F. (1992) Hexachlorobenzene (HCB) suppresses circulating progesterone concentrations during the luteal phase in the cynomolgus monkey. *J. Appl. Toxicol.* 12(1), 13–17.

- Foster W.G., McMahon A., Younglai E.V., Jarrell J.F., Lecavalier P. (1995) Alteration in circulating ovarian steroids in hexachlorobenzene-exposed monkeys. *Reprod. Toxicol.* 9(6), 541–548.
- Garcia M.A., Peña D., Alvarez L., Cocca C., Pontillo C., Bergoc R. i in. (2010) Hexachlorobenzene induces cell proliferation and IGF-I signaling pathway in an estrogen receptor alpha-dependent manner in MCF-7 breast cancer cell line. *Toxicol. Lett.* 192(2), 195–205.
- Gocmen A., Peters H.A., Cripps D.J., Bryan G.T., Morris C.R. (1989) Hexachlorobenzene episode in Turkey. *Biomed. Environ. Sci.* 2, 36–43.
- Goldey E.S., Taylor D.H. (1992) Developmental neurotoxicity following pre-mating maternal exposure to hexachlorobenzene in rats. *Neurotoxicol. Teratol.* 14, 15–21.
- Gralla E.J., Fleischman R.W., Luthra Y.K., Hagopian M., Baker J.R., Esber H., Marcus W. (1977) Toxic effects of hexachlorobenzene after daily administration to Beagle dogs for one year. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 40, 227–239.
- Grant D.L., Phillips W.E.J., Hatina G.V. (1977) Effect of hexachlorobenzene on reproduction in the rat. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 5(2), 207–216.
- Greim H. (2001) Hexachlorobenzene [W:] Occupational toxicants [Red.] H. Greim. Vol. 16, Wiley-VCH, Weinheim IFA. The Institute for Occupational Safety and Health of the German Social Accident Insurance. GESTIS Substance database. Hexachlorobenzene [[http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestisen/000000.xml?f=templates\\$fn=default.htm\\$vid=gestiseng:sdbeng\\$3.0](http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestisen/000000.xml?f=templates$fn=default.htm$vid=gestiseng:sdbeng$3.0)] dostęp: 2016-05-30.
- Grimalt J.O., Sunyer J., Moreno V. i in. (1994) Risk excess of soft-tissue sarcoma and thyroid cancer in a community exposed to airborne organochlorinated compound mixtures with high hexachlorobenzene content. *Int. J. Cancer* 56, 200–203.
- Hadjab S., Maurel D., Cazals Y., Siaud P. (2004) Hexachlorobenzene, a dioxine-like compound, disrupts auditory function in rat. *Hearing Res.* 191, 125–134.
- Hardell L., Andersson S.O., Carlberg M., Bohr L., van Lindström B.B. i in. (2006) Adipose tissue concentrations of persistent organic pollutants and the risk of prostate cancer. *J. Occup. Environ. Med.* 48(7), 700–707.
- HCN, Health Council of the Netherlands (2011) Dutch Expert Committee on Occupational Safety. Health-based recommended occupational exposure limit. Hexachlorobenzene [[http://www.gr.nl/sites/default/files/201135 Hexachlorobenzene.pdf](http://www.gr.nl/sites/default/files/201135%20Hexachlorobenzene.pdf)].
- IARC (2001) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans (2001) Some Thyrotropic Agents. IARC, Lyon 79, 493–568.
- Iatropoulos M.J., Milling A., Müller W.F., Nohynek G., Rozman K., Coulston F. i in. (1975) Absorption, transport and organotropism of dichlorobiphenyl (DCB), dieldrin, and hexachlorobenzene (HCB) in rats. *Environ. Res.* 10, 384–389.
- IFA (2015) Gestis Substance Database. Hexachlorobenzene. Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung [[http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=templates\\$fn=default.htm\\$vid=gestiseng:sdbeng\\$3.0](http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=templates$fn=default.htm$vid=gestiseng:sdbeng$3.0)] dostęp: 2016-06-01].
- Ingebrigtsen K., Skaare J.U., Nafstad I., Førde M. (1981) Studies on the biliary excretion and metabolites of hexachlorobenzene in the rat. *Xenobiotica* 11(11), 795–800.
- Iwasaki M., Inoue M., Sasazuki S., Kurahashi N., Itoh H., Usuda M. i in. (2008) Plasma organochlorine levels and subsequent risk of breast cancer among Japanese women: a nested case-control study. *Sci. Total Environ.* 402(2-3), 17–183.
- Jarrell J.F., McMahon A., Villeneuve D., Franklin C., Singh A., Valli V.E. i in. (1993) Hexachlorobenzene toxicity in the monkey primordial germ cell without induced porphyria. *Reprod. Toxicol.* 7, 41–47.
- Johnson J.D., Vasconcelos D., Ryan M., Fuciarelli A., Graves S., Hejtmancik M. i in. (2005) Subchronic toxicity study of hexachlorobenzene (HCB) in female Harlan Sprague-Dawley rats. *The Toxicologist* 84, 1, 242.
- Khera K.S. (1974) Teratogenicity and dominant lethal studies on hexachlorobenzene in rats. *Fds Cosmet. Toxicol.* 12, 471–477.
- Kitchin K.T., Linder R.E., Scotti T.M., Walsh D., Curley A.O., Svendsgaard D. (1982) Offspring mortality and maternal lung pathology in female rats fed hexachlorobenzene. *Toxicology* 23, 33–39.
- Knauf V., Hobson W. (1979) Hexachlorobenzene ingestion by female Thesus monkeys: tissue distribution and clinical symptomatology. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 21, 243–248.
- Koizumi A.K. (1991) Experimental evidence for the possible exposure of workers to hexachlorobenzene by skin contamination. *Br. J. Ind. Med.* 48(9), 622–628 [cyt. za: DECOS 2011].

- Koizumi A.K., Dryzga M.D., Waechler J.M., Jr. (1986) Hexachlorobenzene (HCB): dermal absorption in male Fischer 344 rats. *Toxicologist* 6(1), 313.
- Konwencja sztokholmska w sprawie trwałych zanieczyszczeń organicznych. Sporządzona w Sztokholmie dnia 22.05.2001 r. DzU. 2009 r. nr 14, poz. 76.
- Koss G., Senbert S., Senbert A., Koransky W., Ippen H. (1978) Studies on the toxicology of hexachlorobenzene. III. Observations in a long-term experiment. *Arch. Toxicol.* 40, 285–294.
- Kuiper-Goodman T., Grant D.L., Moodie C.A., Korsrud G.O., Muuro I.C. (1977) Subacute toxicity of hexachlorobenzene in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 40, 529–549.
- Lelli S.M., Ceballos N.R., Mazzetti M.B., Aldonetti C.A., San Martin de Viale L.C. (2007) Hexachlorobenzene as hormonal disruptor – studies about glucocorticoids: their hepatic receptors, adrenal synthesis and plasma levels in relation to impaired gluconeogenesis. *Biochem. Pharmacol.* 73(6), 873–879.
- Liljegren G., Hardell L., Lindström G., Dahl P., Magnuson A. (1998) Case-control study on breast cancer and adipose tissue concentrations of congener specific polychlorinated biphenyls, DDE and hexachlorobenzene. *Eur. J. Cancer Res.* 7, 135–140.
- Linder R.E., Edgerton T.R., Svendsgaard D.J., Moseman R.F. (1983) Long-term accumulation of hexachlorobenzene in adipose tissue of parent and filial rats. *Toxicol. Lett.* 15, 237–242.
- Long P.H., Herbert R.A., Nyska A. (2004) Hexachlorobenzene-induced incisor degeneration in Sprague-Dawley rats. *Toxicol. Pathol.* 32(1), 35–40.
- Mahalingaiah S., Missmer S.A., Maity A., Williams P.L., Meeker J.D., Berry K. i in. (2012) Association of hexachlorobenzene (HCB), dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), and dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) with in vitro fertilization (IVF) outcomes. *Environ. Health Perspect.* 120(2), 316–320.
- Mehendale H.M., Fields M., Matthews H.B. (1975) Metabolism and effects of hexachlorobenzene on hepatic microsomal enzymes in the rat. *J. Agr. Food Chem.* 23(2), 261–265.
- Moysich K.B., Ambrosone C.B., Vena J.E. i in. (1998) Environmental organochlorine exposure and postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 7, 181–188.
- Mundy L.J., Jones S.P., Crump D., Hervé J.C., Konstantinov A., Utley F. i in. (2010) Highly purified hexachlorobenzene induces cytochrome P4501A in primary cultures of chicken embryo hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 248(3), 185–193.
- Müller W.F., Hobson W., Fuller G.B., Knauf W., Coulston F., Korte F. (1978) Endocrine effects of chlorinated hydrocarbons in rhesus monkeys. *Eco-toxicol. Environ. Safety* 2, 161–172.
- Peña D., Pontillo C., Garcia M.A., Cocca C., Alvarez L., Chiappini L. i in. (2012) Alteration in c-Src/HER 1 and estrogen receptor α signaling pathways in mammary gland and tumors of hexachlorobenzene – treated rats. *Toxicology* 293(1–3), 68–77.
- Peters H., Cripps D., Gocmen A. i in. (1987) Turkish epidemic hexachlorobenzene porfuria: a 30-year study. *Ann. NY Acad. Sci.* 514, 183–190.
- Plante I., Cyr D.G., Charbonneau M. (2005) Involvement of the integrin-linked kinase pathway in hexachlorobenzene – induced gender-specific rat hepatocarcinogenesis. *Toxicol. Sci.* 88(2), 346–357.
- Pontillo C.A., Garcia M.A., Peña D., Cocca C., Chiappini F., Alvarez L. i in. (2011) Activation of c-Src/HER1/STAT 5b and HER 1/ERK 1/2 signaling pathways and cell migration by hexachlorobenzene in MDA -MB-231 human breast cancer cell line. *Toxicol. Sci.* 120(2), 284–296.
- Pontillo C.A., Rojas P., Chiappini F., Sequeira G., Cocca C., Croci M. i in. (2013) Action of hexachlorobenzene on tumor growth and metastasis in different experimental models. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 268(3), 331–342.
- Raaschou-Nielsen O., Pavuk M., LeBlanc A., Dumas P., Weber J.P., Olsen A. i in. (2005) Adipose organochlorine concentrations and risk of breast cancer among postmenopausal Danish women. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 14(1), 67–74.
- Randi A.S., Cocca C., Carbone V., Nuñez M., Croci M., Gutiérrez A. i in. (2006) Hexachlorobenzene is a tumor co-carcinogen and induces alterations in insulin-growth factors signaling pathway in the rat mammary gland. *Toxicol. Sci.* 89(1), 83–92.
- Randi A.S., Sanchez M.S., Alvarez L., Cardozo J., Pantillo C., Kleiman de Pisarev D.L. (2008) Hexachlorobenzene triggers AhR translocation to the nucleus, c-Src activation and EGRF translocation in rat liver. *Toxicol. Lett.* 177(2), 116–122.

- Ribas-Fito N., Torrent M., Carrizo D., Júlvez J., Grimalt J.O., Sunyer J. (2007) Exposure to hexachlorobenzene during pregnancy and children's social behavior at 4 years of age. *Environ. Health Perspect.* 115(3), 447–450.
- Rozporządzenie ministra pracy i polityki społecznej z dnia 6.06.2014 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU 2014, poz. 817.
- Rozporządzenie ministra rolnictwa i rozwoju wsi z dnia 5.03.2002 r. w sprawie szczegółowych zasad wydawania zezwoleń na dopuszczenie środków ochrony roślin do obrotu i stosowania. DzU nr 24/2002, poz. 250.
- RTECS (2001) [komputerowa baza danych].
- RTECS (2015) [komputerowa baza danych].
- Sala M., Sunyer J., Otero R. i in. (1999) Health effects of chronic high exposure to hexachlorobenzene in a general population sample. *Arch. Environ. Health* 54, 102–109.
- SCOEL, Scientific Committee on Occupational Exposure Limits (2014) Recommendation for hexachlorobenzene. SCOEL/SUM/188, September.
- Sherwood R.L., Thomas P.T., O'Shea W.J., Bradof J.N., Ratajczak H.V., Graham J.A. i in. (1989) Effects of inhaled hexachlorobenzene aerosols on rat pulmonary host defenses. *Toxicol. Ind. Health* 5(3), 451–461.
- Siekel P., Chalupa I., Beňo J., Blaško M., Novotný J., Burian J. (1991) A genotoxicological study of hexachlorobenzene and pentachloroanisole. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.* 11, 55–60.
- Simon G.S., Tardiff R.G., Borzelleca J.F. (1979) Failure of hexachlorobenzene to induce dominant lethal mutation in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 47, 415–419.
- Sims D.E., Singh A., Donald A. i in. (1991) Alteration of primate ovary surface epithelium by exposure to hexachlorobenzene: a quantitative study. *Histol. Histopathol.* 6, 525–529.
- Smink A., Ribas-Fitó N., Garcia R., Torrent M., Mendez M.A., Grimalt J.O. i in. (2008) Exposure to hexachlorobenzene during pregnancy increases the risk of overweight in children aged 6 years. *Acta Paediatr.* 97(10), 1465–1469.
- Smith A.G., Francis J.E., Dinsdale D., Manson M.M., Cabral J.R.P. (1985) Hepatocarcinogenicity of hexachlorobenzene in rats and the sex difference in hepatic iron status and development of porphyria. *Carcinogenesis* 6(4), 631–636.
- Soćko R., Szadkowska-Stańczyk I., Szymczak W. (2002) Heksachlorobenzen. Wytyczne Szacowania Ryzyka Zdrowotnego dla Czynn timerakotwórczych. Łódź, Instytut Medycyny Pracy 15, 51–73.
- Sopena Y.E., Ferramola de Sancovich A.M., Sancovich H.A. (2008) Hexachlorobenzene treatment on hepatic mitochondrial function parameters and intracellular coproporphyrinogen oxidase location. *Int. J. Toxicol.* 27(6), 455–465.
- Spinelli J.J., Ng C.H., Weber J.P., Connors J.M., Gascoyne R.D., Lai A.S. i in. (2007) Organochlorines and risk of non-Hodkin lymphoma. *Int. J. Cancer* 121(12), 2767–2775.
- Stewart F.P., Manson M.M., Cabral J.R.P., Smith A.G. (1989) Hexachlorobenzene as a promoter of diethylnitrosamine-initiated hepatocarcinogenesis in rats and comparison with induction of porphyria. *Carcinogenesis* 10(7), 1225–1230.

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

dr hab. n. med. MARTA WISZNIEWSKA
e-mail: martaz@imp.lodz.pl
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: skórę, narząd słuchu, wątrobę i tarczycę, a w zależności od wskazań, badanie dermatologiczne.

Badania pomocnicze: w zależności od wskazań.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: skórę, narząd słuchu, wątrobę i tarczycę, a w zależności od wskazań, badanie dermatologiczne.

Badania pomocnicze: w zależności od wskazań.

Częstotliwość badań okresowych: co 2 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 niezbędne 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: skórę, narząd słuchu, wątrobę i tarczycę, a w zależności od wskazań, badanie dermatologiczne.

Badania pomocnicze: w zależności od wskazań.

Narządy (układy) krytyczne

Narządem krytycznym w narażeniu na heksachlorobenzen jest skóra.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami lekarskimi do zatrudnienia w narażeniu na heksachlorobenzen są:

- choroby przebiegające z ciężkimi zaburzeniami biosyntezy hemu (np. porfirie)
- istotne zaburzenia rozrodo, liczne poronienia.

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, a także ocenę stopnia zaawansowania i dynamikę zmian chorobowych.

Heksachlorobenzen – frakcja wdychalna jest zaklasyfikowany do kancerogenów grupy 2.B (IARC), kat. 2. (UE, Polska), dlatego też w narażeniu na tę substancję nie wolno zatrudniać pracowników młodocianych i kobiet w ciąży oraz w okresie karmienia.

Pracownicy powinni być informowani o możliwym szkodliwym wpływie heksachlorobenzenu – frakcji wdychalnej na rozrodczość oraz rozwój płodu.