

dr LIDIA ZAPÓR
Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy
00-701 Warszawa
ul. Czerniakowska 16

Adypinian bis(2- -etyloheksylu)

Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego*

NDS: 400 mg/m³

NDSch: –

NDSP: –

Ft – substancja działająca toksycznie na płód

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 8.10.2004

Weryfikacja dokumentu: styczeń 2006

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 17.03.2006

Słowa kluczowe: adypinian bis(2-etyloheksylu), toksyczność układowa, wartości normatywne.

Key words: Bis(2-ethylhexyl) adipate, systemic toxicity, exposure limits.

Adypinian bis(2-etyloheksylu) (DEHA) jest stosowany głównie jako plastyfikator w produkcji i przetwórstwie polichlorku winylu, polistyrenu i innych polimerów, w produkcji nitrocelulozy i kauczuku syntetycznego, a także jako rozpuszczalnik i składnik smarów stosowanych w lotnictwie. Jest też wykorzystywany w przemyśle kosmetycznym.

W warunkach narażenia zawodowego adypinian bis(2-etyloheksylu) może wchłaniać się do organizmu na drodze inhalacyjnej i przez skórę.

Narażenie zawodowe na aerozole adypinianu bis(2-etyloheksylu) dotyczy przede wszystkim osób zatrudnionych przy produkcji związku oraz jego stosowania, głównie jako plastyfikatora w produkcji i przetwórstwie tworzyw polistyrenowych i poliuretanowych, zwłaszcza w procesach przebiegających w wysokich temperaturach (cięcie folii żywnościowych i innych materiałów używanych do pakowania żywności). W dostępnym piśmiennictwie nie ma doniesień na temat szkodliwego działania adypinianu bis(2-etyloheksylu) na ludzi.

Wartość LD₅₀ adypinianu bis(2-etyloheksylu) po podaniu *per os* szczurom ustalono na poziomie 9110 mg/kg m.c.

Dane w piśmiennictwie dotyczące toksyczności ostrej i przewlekłej związku wskazują, że narządem docelowego działania adypinianu bis(2-etyloheksylu) u zwierząt jest wątroba, a krytycznym objawem działania związku

* Wartość NDS adypinianu bis(2-etyloheksylu) została przyjęta przez Międzyresortową Komisję do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy, która wnioskuje o jej wprowadzenie do wykazu wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy w rozporządzeniu ministra właściwego do spraw pracy (stan na listopad 2006 r.).

Metodę oznaczania adypinianu bis(2-etyloheksylu) w powietrzu na stanowiskach pracy opublikowano w „Podstawach i Metodach Oceny Środowiska Pracy” 2005, nr 4(46).

jest rozrost (proliferacja) peroksyosomów w hepatocytach. Adypinian bis(2-etyloheksylu) nie wykazywał działania genotoksycznego w wielu układach eksperymentalnych, powodował występowanie pierwotnych raków wątroby u myszy, nie powodował jednak wzrostu częstości występowania zmian nowotworowych u szczurów.

W 2000 r. eksperci IARC na podstawie istniejących danych toksykologicznych, biorąc pod uwagę przypuszczalny mechanizm działania adypinianu bis(2-etyloheksylu), zaliczyli związek do grupy 3., argumentując to brakiem wystarczających dowodów rakotwórczego działania związku u ludzi i zwierząt doświadczalnych. Nowotwory wykryte u zwierząt doświadczalnych (myszy) powstają na drodze niegenotoksycznego mechanizmu i są następstwem proliferacji peroksyosomów w wątrobie i wzrostu zawartości aktywnych form tlenu w hepatocytach. Zdaniem ekspertów IARC wyniki badań dotyczących molekularnych podstaw proliferacji peroksyosomów wskazują, że ludzkie hepatocyty mogą być odporne na indukcję proliferacji peroksyosomów odpowiadającą za powstawanie procesu nowotworowego u gryzoni.

W badaniach na szczurach adypinian bis(2-etyloheksylu) wykazywał działanie embriotoksyczne, fetotoksyczne i teratogenne. Nie obserwowano działania gonadotoksycznego oraz wpływu związku na rozrodczość zwierząt.

Za podstawę wartości NDS adypinianu bis(2-etyloheksylu) przyjęto wyniki dwuletnich badań na szczurach przeprowadzonych przez NTP, w których nie stwierdzono u zwierząt wzrostu częstości występowania nowotworów, a za największą dawkę, po której nie obserwowano szkodliwego działania związku (NOAEL) uznano wartość 700 mg/kg m.c./dzień. Dawkę tę przeliczono na równoważne dla człowieka stężenie związku w powietrzu, a następnie podzielono przez sumaryczny współczynnik niepewności i wyznaczono wartość NDS na poziomie 400 mg/m³.

Nie ma podstaw do ustalenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) adypinianu bis(2-etyloheksylu). Nie ma też podstaw do ustalania wartości dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) adypinianu bis(2-etyloheksylu).

Wyniki badań na zwierzętach upoważniają do zaliczenia adypinianu bis(2-etyloheksylu) do związków mających działanie fetotoksyczne i teratogenne, dlatego proponuje się oznakowanie związku literami „Ft” oznaczającymi substancję działającą toksycznie na płód.

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka

Ogólna charakterystyka adypinianu bis(2-etyloheksylu), (CESARS 2003; Genium's 1999; IARC 2000; Sax 2000):

– wzór sumaryczny	$C_{22}H_{42}O_4$
– wzór strukturalny	$\begin{array}{c} \text{O} & & \text{C}_2\text{H}_5 \\ & & \\ \text{C} - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH} - (\text{CH}_2)_3 - \text{CH}_3 \\ \\ (\text{CH}_2)_4 \\ \\ \text{C} - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH} - (\text{CH}_2)_3 - \text{CH}_3 \\ \\ \text{C}_2\text{H}_5 \end{array}$
– nazwa chemiczna (IUPAC)	adipic acid bis(2-ethylhexyl)ester; bis(2-ethylhexyl)-adipate
– numer CAS	103-23-1
– nazwa chemiczna CAS	hexanedioic acid; bis(2-ethylhexyl)ester
– numer RTECS	AU9700000
– numer WE	203-090-1

- synonimy: adypinian 2-dietyloheksylu, adypinian dioktylu, adypinian oktylu, bis(etyloheksylo)ester, ester dioktylu, BEHA i DEHA
- wybrane nazwy handlowe: Adimoll DO, Adipol 2EH, ADO, ADO (lubricating oil), Arlamol DOA, Bisoflex DOA, Crodamol DOA, Diacizer DOA, Eastman DOA Plasticizer, Effomoll DOA, Ergoplast AdDO, Flexol A 26, Hatcol 2908, Kemester 5652, Kodaflex DOA, Lankroflex DOA, Mollan S, Monoplex DOA, Morflex 310, NCI – C54386, Plasthall DOA, Plastomoll DOA, PX – 238, Reomol DOA, Rucoflex Plasticizer DOA, Sansocizer DOA, Sicol 250, Staflex DOA, Truflex DOA, Uniflex DOA, Vestinol OA, Wickenol 158 i Witamol 320.

Właściwości fizykochemiczne

Właściwości fizykochemiczne adypinianu bis(2-etyloheksylu), (CESARS 2003; Genium's 1999; HSDB 2004; IARC 2000; Sax 2000):

- postać bezbarwna lub lekko bursztynowa oleista ciecz
- zapach słaby, aromatyczny
- masa cząsteczkowa 370,58
- gęstość 0,922 g/cm³ (w temp. 20 °C)
- temperatura krzepnięcia – 67,8 °C
- temperatura wrzenia 214 °C (5 mmHg), (HSDB 2004)
417 °C (IARC 2000)
- gęstość par (powietrze = 1) 12,8
- prężność pary 8,5 · 10⁻⁷ mmHg (w temp. 20 °C)
- współczynnik parowania (octan butylu = 1) < 1
- stężenie pary nasyconej 1,200000016 kg/m³
- temperatura zapłonu 206 °C (metoda tygła otwartego)
- temperatura samozapłonu 377 °C
- granice wybuchowości:
 - dolna 0,38% (v/v)
 - górna nie określono
- rozpuszczalność w wodzie < 0,1 mg/ml (w temp. 22 °C)
- rozpuszczalność w innych rozpuszczalnikach: 95% etanol: ≥ 100 mg/ml (w temp. 21 °C); aceton: ≥ 100 mg/ml (w temp. 21 °C); DMSO: 10 ÷ 50 mg/ml (w temp. 21 °C); rozpuszczalny w kwasie octowym i alkoholu
- współczynnik podziału oktanol/woda log P = > 6,11
- próg wyczuwalności zapachu nie określono
- współczynniki przeliczeniowe: 1 ppm ≈ 15,6 mg/m³, 1 mg/m³ ≈ 0,07 ppm (w temp. 25 °C)

- klasyfikacja i oznakowanie: adypinian bis(2-etyloheksylu) nie jest umieszczony w wykazie substancji niebezpiecznych zgodnie z załącznikiem do rozporządzenia ministra zdrowia z dnia 28 września 2005 r. w sprawie wykazu substancji niebezpiecznych wraz z ich klasyfikacją i oznakowaniem (DzU nr 212, poz. 1769)

Otrzymywanie, zastosowanie, narażenie zawodowe (Genium's 1999; IARC 2000; HSDB 2004)

Adypinian bis(2-etyloheksylu) jest syntetyzowany z kwasu adypinowego i 2-etyloheksanolu w obecności kwasu siarkowego lub *p*-toluenosulfonowego jako katalizatorów. Według danych z 1999 r. DEHA jest produkowany w Japonii, USA, Indiach, Kanadzie, Francji, Niemczech, Chinach, Brazylii, Meksyku, Hiszpanii, Argentynie, Australii, Chile, Włoszech, Holandii, Wielkiej Brytanii, Belgii, Czechach, Peru, Rosji, Turcji i Wenezueli (IARC 2000). Produkcja związku w USA w 1991 r. wynosiła 24 343 kg (HSDB 2004).

DEHA jest stosowany głównie jako plastyfikator w produkcji i przetwórstwie polichlorku winylu, polistyrenu i innych polimerów, w produkcji nitrocelulozy i kauczuku syntetycznego, a także jako rozpuszczalnik i składnik smarów stosowanych w lotnictwie. Jest też wykorzystywany w przemyśle kosmetycznym do produkcji wosków, pomadek, cieni do powiek, zmywaczy do paznokci i olejków kąpielowych (HSDB 2004; IARC 2000).

Na podstawie wyników badań NIOSH w 1999 r. (cyt. za IARC 2000) w USA w latach 1981-1983 na DEHA było narażonych około 15 600 pracowników.

Narażenie zawodowe na aerozole DEHA dotyczy przede wszystkim osób zatrudnionych przy produkcji związku oraz jego stosowaniu, głównie jako plastyfikatora w produkcji wyrobów z PCV, w tym folii żywnościowych i innych materiałów używanych do pakowania żywności (klejów, celofanu).

Stężenie związku w powietrzu w strefie oddychania pracowników zatrudnionych przy procesach cięcia folii PCV na zgrzewarkach (przy pakowaniu żywności) wynosiło w zależności od temperatury procesu – 0,25 mg/m³, gdy temperatura wynosiła 182 °C i 0,14 mg/m³, gdy temperatura wynosiła 104 °C (Van Houten i in. 1974, cyt. za IARC 2000). Cook (1980, cyt. za IARC 2000) oszacował, że maksymalne stężenie DEHA w powietrzu na stanowiskach pracy, gdzie stosuje się procesy cięcia folii na gorąco, wynosi 0,2 mg/m³. Natomiast według NIOSH stężenia związku na podobnych stanowiskach notowano na granicy oznaczalność, tj. poniżej 0,08 mg/m³ (cyt. za IARC 2000).

Na podstawie wyników badań, prowadzonych przez Pośniak i in. (1999) nad oceną narażenia pracowników na szkodliwe substancje chemiczne emitowane w procesie przetwórstwa tworzyw polistyrenowych oraz tworzyw poliuretanowych – wykazano obecność DEHA na badanych stanowiskach pracy (analizy ilościowej nie wykonywano z powodu braku normatywów higienicznych). Ze względu na powszechne zastosowanie DEHA, ocenia się, że liczba osób narażonych na działanie związku w Polsce może wynosić kilka tysięcy.

DEHA nie występuje w przyrodzie jako związek naturalny, jest natomiast uwalniany do środowiska w procesach produkcji, stosowania go i z odpadów. Według danych EPA (1996, cyt. za IARC 2000) w USA w 1994 r. emisja związku do środowiska sięgała 315 000 kg.

Populacja ludzka jest narażona na DEHA głównie na drodze pokarmowej, na związek występujący w produktach spożywczych, do których przenika z folii opakowaniowych (IARC 2000).

Maksymalne dzienne spożycie DEHA w Wielkiej Brytanii w 1987 r. wynosiło 16 mg, natomiast w latach późniejszych 8,2 mg (IARC 2000).

Dopuszczalne stężenie DEHA w wodzie pitnej ustalone przez WHO w 1996 r. wynosiło 80 µg/l (IARC 2000). Maksymalne stężenie DEHA w wodzie pitnej ustalone przez EPA w USA w 1998 r. wynosiło 0,4 mg/l (IARC 2000).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne. Toksyczność ostra

W dostępnej literaturze nie znaleziono doniesień na temat przypadków wystąpienia ostrego zatrucia adypinianem bis(2-etyloheksylu) u ludzi, zarówno po podaniu dożołądkowym, jak i po narażeniu inhalacyjnym czy przez skórę.

Obserwacje kliniczne. Toksyczność przewlekła

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących objawów przewlekłych zatruc adypinianem bis(2-etyloheksylu) u ludzi.

Badania epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono doniesień dotyczących badań epidemiologicznych adypinianu bis(2-etyloheksylu).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra i przedłużona

W tabeli 1. przedstawiono wartości medialnych dawek śmiertelnych adypinianu bis(2-etyloheksylu) dla zwierząt doświadczalnych. Wartości LD₅₀ DEHA po podaniu *per os* szczerom ustalono na poziomie 9110 mg/kg m.c.

Tabela 1.

Wartości medialnych dawek śmiertelnych (LD₅₀/LC₅₀) adypinianu bis(2-etyloheksylu) dla kilku gatunków zwierząt laboratoryjnych

Gatunek	Droga narażenia	Dawka LD ₅₀	Piśmiennictwo
Szczur	dożołądkowa	9110 mg/kg m.c.	<i>Sax</i> 2000
Szczur	dożylna	900 mg/kg m.c.	<i>Sax</i> 2000
Królik	dożylna	540 mg/kg m.c.	<i>Sax</i> 2000

W tabeli 2. przedstawiono skutki toksycznego działania DEHA w warunkach ostrego i przedłużonego narażenia zwierząt.

U szczurów rasy Wistar, którym podawano przez 7 dni DEHA w dawce 1600 mg/kg m.c./dzień z paszą (DEHA o stężeniu 2% w paszy) obserwowano wzrost stężenia białka wiążącego kwasy tłuszczowe w wątrobie oraz wzrost aktywności stearoilo-CoA w mikrosomach wątroby. Wykazano, że indukcja peroksysomów była związana z kilkukrotnym wzrostem aktywności peroksysomalnego układu β-oksydacji kwasów tłuszczowych i tylko dwukrotnym wzrostem aktywności katalazy (*Kawashima* i in. 1983, cyt. za IARC 2000).

Tabela 2.

Skutki działania toksycznego adypinianu bis(2-etyloheksylu) w warunkach ostrego narażenia zwierząt laboratoryjnych

Gatunek zwierzęcia	Droga narażenia	Dawka/stężenie	Czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Wistar	pokarmowa (z paszą)	1600 mg/kg m.c./dzień (2% w paszy)	7 dni	wzrost stężenia białka wiążącego kwasy tłuszczowe w wątrobie oraz wzrost aktywności stearoilo-CoA w mikrosomach wątroby; kilkakrotny wzrost aktywności peroksyosomalnego układu β -oksydacji kwasów tłuszczowych, dwukrotny wzrost aktywności katalazy	<i>Kawashima</i> i in. 1983 (cyt. za IARC 2000)
Szczury Fischer 344	pokarmowa (z paszą)	0,5 ÷ 2,5 mg/kg m.c.	14 dni	wyraźny (od 2-krotnego do 15-krotnego) wzrost aktywności oksydacyjnej palmitoilokoenzymu A (CoA) w peroksyosomach; zależna od poziomu dawkowania hipertrofia hepatocytów; wzrost eozynofilii oraz utrata glikogenu w hepatocytach, zależny od dawki wzrost objętości względnej peroksyosomów w komórce	<i>Keith</i> i in. 1992
Szczury	pokarmowa (z paszą)	1600 mg/kg m.c./dzień (2% w paszy)	14 dni	wzrost poziomu fosfolipidów w wątrobie oraz spadek wartości współczynnika stosunku fosfatydylocholiny do fosfatydyloetanolaminy	<i>Yanagita</i> i in. 1987 (cyt. za IARC 2000)
Szczury Fischer 344	pokarmowa (z paszą)	2000 mg/kg m.c./dzień (2,5% w paszy)	14 dni	względny (36%) i bezwzględny (32%) wzrost masy wątroby; wzrost stężenia 8-hydroksydeoksyguanozyny w wątrobie	<i>Takagi</i> i in. 1990 (cyt. za IARC 2000)
Szczury Fischer 344	pokarmowa (z paszą)	1600 mg/kg m.c./dzień (2% w paszy)	21 dni	prolifracja peroksyosomów w wątrobie, zwiększenie masy wątroby, wzrost aktywności enzymów peroksyosomalnych – katalazy i acetylotransferazy karnityny oraz obniżenie stężenia lipidów w surowicy krwi	<i>Moody, Reed</i> 1978
Szczury Sprague-Dawley	pokarmowa (z paszą)	800 mg/kg m.c./dzień (1% w paszy)	14 ÷ 28 dni	obniżone stężenie cholesterolu w surowicy krwi w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej po dwóch tygodniach narażenia; obniżone stężenie cholesterolu i trójglicerydów po 4 tygodniach	<i>Bel</i> 1983; 1984 (cyt. za IARC 2000)
Szczury Fischer 344	pokarmowa (z paszą)	800 lub 1600 mg/kg m.c./dzień (1 lub 2% w paszy)	30 dni	wzrost objętości względnej peroksyosomów	<i>Reddy</i> i in. 1986

cd. tab. 2.

Gatunek zwierzęcia	Droga narażenia	Dawka/stężenie	Czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy NZB	pokarmowa (z paszą)	3300 mg/kg m.c./dzień (2% w paszy)	5 dni	indukcja translokazy kwasu tłuszczowego, wzrost stężenia białka przenoszącego kwasy tłuszczowe i białka wiążącego kwasy tłuszczowe w wątrobie	<i>Motojima</i> i in. 1998 (cyt. za IARC 2000)
Myszy B6C3F1	pokarmowa (z paszą)	0,5 ÷ 2,5 mg/kg m.c.	14 dni	wyraźny (od 2-krotnego do 15-krotnego) wzrost aktywności oksydacyjnej palmitoilokoenzymu A (CoA) w peroksy-somach; wzrost aktywności katalazy; zależna od poziomu dawkowania hipertrofia hepatocytów; wzrost eozynofili oraz utrata glikogenu w hepatocytach; zależny od dawki wzrost objętości względnej peroksy-somów w komórce	<i>Keith</i> i in. (1992)

Szczurom (rasy nie wymieniono) podawano związek w paszy w dawce 1600 mg/kg m.c./dzień (2% w paszy) przez 14 dni. Stwierdzono wzrost poziomu fosfolipidów w wątrobie oraz spadek wartości współczynnika stosunku fosfatydylocholiny do fosfatydyloetanolaminy (*Yanagita* i in. 1987, cyt. za IARC 2000).

U szczurów rasy Fischer 344 (samców), którym podawano przez 2 tygodnie związek w paszy w dawce odpowiadającej dziennemu spożyciu 2000 mg/kg m.c. (2,5% w paszy), obserwowano względny (36%) i bezwzględny (32%) wzrost masy wątroby. W wątrobie stwierdzano również wzrost stężenia 8-hydroksydeoksyguanozyny – wskaźnika uszkodzenia oksydacyjnego DNA. Nie wykazano zmian stężenia 8-hydroksydeoksyguanozyny w nerkach (*Takagi* i in. 1990, cyt. za IARC 2000).

Keith i in. (1992) badali wpływ DEHA na funkcjonowanie wątroby u gryzoni. Szczurom rasy Fischer 344 oraz myszom szczepu B6C3F1 podawano *per os*, zawieszony w oleju kukurydzianym związek w dawkach 0,5 ÷ 2,5 mg/kg m.c. przez 14 dni. Stwierdzono wyraźny (od 2-krotnego do 15-krotnego) wzrost aktywności oksydacyjnej niewrażliwego na cyjanek palmitoilko-koenzymu A (CoA) w peroksy-somach u obu gatunków zwierząt. Wykazano również niewielki, lecz istotny statystycznie wzrost aktywności katalazy, ale wyłącznie u myszy. W obrazie mikroskopowym wątroby obu gatunków zwierząt stwierdzono zależną od poziomu dawkowania DEHA hipertrofię hepatocytów, eozynofilię oraz utratę glikogenu w hepatocytach. Analiza morfometryczna ultrastruktur komórkowych wątroby wykazała zależny od dawki wzrost objętości względnej peroksy-somów w komórce.

U szczurów rasy Sprague-Dawley, którym przez 14 ÷ 28 dni podawano DEHA w paszy w dawce odpowiadającej dziennemu spożyciu 800 mg/kg m.c. (1% w paszy), stwierdzono po dwóch tygodniach narażenia spadek stężenia cholesterolu w surowicy krwi w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej, natomiast po 4 tygodniach również spadek stężenia trójglicerydów (*Bell* 1983; 1984, cyt. za IARC 2000).

Szczurom rasy Fisher-344 podawano w paszy DEHA w dawce odpowiadającej dziennemu spożyciu 1600 mg/kg m.c. (2% w paszy) przez 3 tygodnie. Stwierdzono występowanie proliferacji peroksy-somów w wątrobie, wzrost masy wątroby, wzrost aktywności enzymów peroksy-somalnych – katalazy i acetylotransferazy karnityny oraz obniżenie stężenia lipidów w surowicy krwi (hypolipidemię), (*Moody, Redy* 1978).

Również *Reddy* i in. (1986, cyt. za IARC 2000) obserwowali, świadczący o proliferacji i związany z narażeniem na związek, wzrost objętości względnej peroksy-somów u szczu-

rów rasy Fischer 344, którym podawano *per os* DEHA w paszy w dawkach odpowiadających dziennemu spożyciu 800 lub 1600 mg/kg m.c. (1 lub 2% w paszy) przez 30 dni.

Myszom (samcom) szczepu NZB podawano w paszy DEHA w dawce odpowiadającej dziennemu spożyciu 3300 mg/kg m.c. (2% w paszy) przez 5 dni. Wykazano indukcję translokazy kwasu tłuszczowego, wzrost stężenia białka przenoszącego kwasy tłuszczowe i białka wiążącego kwasy tłuszczowe w wątrobie (*Motojima* i in. 1998, cyt. za IARC 2000).

Dane w piśmiennictwie dotyczące toksyczności ostrej DEHA wskazują, że narządem docelowego działania związku jest wątroba, a krytycznym objawem działania DEHA jest proliferacja peroksysomów w hepatocytach.

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Dane dotyczące przewlekłego narażenia zwierząt doświadczalnych na adypinian bis(2-etyloheksylu) przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3.

Skutki działania toksycznego adypinianu bis(2-etyloheksylu) w warunkach przewlekłego narażenia zwierząt laboratoryjnych

Gatunek zwierzęcia	Droga narażenia	Dawka/stężenie	Czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury	pokarmowa (z paszą)	160 mg/kg m.c./dzień 2900 ÷ 4700 mg/kg m.c./dzień	90 dni	nie ma zmian zmiany w wątrobie i nerkach, obniżenie masy tych narządów	<i>Smyth</i> 1951 (cyt. za NTP 1982)
Szczury Fischer 344	pokarmowa (z paszą)	100; 200; 400 mg/kg m.c./dzień 700 mg/kg m.c./dzień 1500 mg/kg m.c./dzień	91 dni	nie ma zmian nieznaczny spadek przyrostu masy ciała w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej spadek przyrostu masy ciała o 8% u samic oraz o 18% u samców	NTP 1982; IRIS 1994
Szczury Fischer 344 (samice)	pokarmowa (z paszą)	144 mg/kg m.c./dzień (0,15% w paszy) 282 mg/kg m.c./dzień (0,30% w paszy) 577 mg/kg m.c./dzień (0,60% w paszy) 1135 mg/kg m.c./dzień (1,20% w paszy)	1 ÷ 13 tygodni (91 dni)	brak zmian mikroskopowych w narządach wewnętrznych nie ma zmian nie ma zmian 10-krotny w stosunku do grupy kontrolnej wzrost względnej masy wątroby; 2-krotny wzrost aktywności oksydacyjnej palmitoilo-koenzymu A (CoA) w peroksysomach	<i>Lake</i> i in. 1997

cd. tab. 3.

Gatunek zwierzęcia	Droga narażenia	Dawka/stężenie	Czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Fischer 344 (samice)	pokarmowa (z paszą)	2095 mg/kg m.c./dzień (2,50% w paszy) 3140 mg/kg m.c./dzień (4,0% w paszy)		30-krotny w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej wzrost względnej masy wątroby; 8-krotny wzrost aktywności oksydacyjnej palmitoilo-koenzymu A (CoA) w peroksy-somach; 2-krotny wzrost aktywności 11- i 12-hydroksylazy kwasu laurynowego (CYP4A) w mikrosomach 80-krotny w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej wzrost względnej masy wątroby; 17-krotny wzrost aktywności oksydacyjnej palmitoilo-koenzymu A (CoA) w peroksy-somach; 3-krotny wzrost aktywności 11-hydroksylazy oraz 8-krotny wzrost aktywności 12-hydroksylazy kwasu laurynowego (CYP4A) w mikrosomach	<i>Lake i in. 1997</i>
Myszy B6C3F1 (samice)	pokarmowa (z paszą)	343 mg/kg m.c./dzień (0,15% w paszy) 808 mg/kg m.c./dzień (0,30% w paszy) 1495 mg/kg m.c./dzień (0,60% w paszy) 3075 mg/kg m.c./dzień (1,20% w paszy)	1 ÷ 13 tygodni (91 dni)	nie ma zmian 2-krotny wzrost aktywności 12-hydroksylazy kwasu laurynowego (CYP4A) w mikrosomach 10-krotny w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej wzrost względnej masy wątroby; 2-krotny wzrost aktywności oksydacyjnej palmitoilo-koenzymu A (CoA) w peroksy-somach; 2-krotny wzrost aktywności 11-hydroksylazy oraz 4-krotny wzrost aktywności 12-hydroksylazy kwasu laurynowego (CYP4A) w mikrosomach 50-krotny w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej wzrost względnej masy wątroby; 7-krotny wzrost aktywności oksydacyjnej palmitoilo-koenzymu A (CoA) w peroksy-somach; 3-krotny wzrost aktywności 11-hydroksylazy oraz 8-krotny wzrost aktywności 12-hydroksylazy kwasu laurynowego (CYP4A) w mikrosomach	<i>Lake i in. 1997</i>

cd. tab. 3.

Gatunek zwierzęcia	Droga narażenia	Dawka/stężenie	Czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy B6C3F1 (samice)	pokarmowa (z paszą)	5330 mg/kg m.c./dzień (2,50% w paszy)		60-krotny w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej wzrost względnej masy wątroby; 13-krotny wzrost aktywności oksydacyjnej palmitoilo-koenzymu A (CoA) w peroksy-somach; 5-krotny wzrost aktywności 11-hydroksylazy oraz 16-krotny wzrost aktywności 12-hydroksylazy kwasu laurynowego (CYP4A) w mikrosomach	<i>Lake</i> i in. 1997
Myszy B6C3F1	pokarmowa (z paszą)	400; 700; 1300 mg/kg m.c./dzień 2800 lub 7000 mg/kg m.c./dzień	91 dni	nie ma zmian spadek masy ciała (13 ÷ 25% odpowiednio u samic i samców); nie ma zmian mikroskopowych w narządach wewnętrznych	NTP 1982; IRIS 1994

Długookresowe narażenie zwierząt doświadczalnych na DEHA powodowało u szczurów i myszy zmiany w obrębie wątroby – proliferację peroksyosomów w hepatocytach. Wyniki badań pochodzą głównie z eksperymentów, w których związek podawano zwierzętom z paszą.

Szczurom (rasy nie podano) podawano DEHA z paszą w dawkach 2900 ÷ 4700 mg/kg m.c./dzień przez 90 dni (*Smyth* i in. 1951, cyt. za NTP 1982). U zwierząt obserwowano zmniejszenie masy wątroby i nerek oraz zmiany (bliżej nie określono typu zmian) w tych narządach. DEHA w dawce 160 mg/kg m.c./dzień nie powodował żadnych zmian.

W badaniach NTP (1982) szczurom rasy Fisher 344 i myszom szczepu B6C3F1 podawano DEHA w paszy o stężeniach: 1600; 3100; 6300; 12500 lub 25000 mg/kg paszy przez 91 dni, co odpowiadało dawkom: 100; 200; 400; 700 lub 1500 mg/kg m.c./dzień dla szczurów oraz 400; 700; 1300; 2800 lub 7000 mg/kg m.c./dzień dla myszy. Po narażeniu na największe dawki związku u obu gatunków zwierząt obu płci obserwowano zmniejszenie masy ciała zwierząt (8 ÷ 18% u samic i samców szczurów i 13 ÷ 25% u samic i samców myszy). Nie wykazano zmian mikroskopowych w narządach wewnętrznych (NTP 1982; IRIS 1994).

Lake i in. (1997) oceniali wpływ DEHA na funkcjonowanie wątroby u gryzoni. Samicom myszy szczepu B6C3F1 i szczurom rasy Fischer 344 podawano DEHA w paszy o stężeniu 0 ÷ 4% przez okres 1, 4 lub 13 tygodni. U myszy narażenie na związek w dawce 343 mg/kg m.c./dzień, co odpowiadało stężeniu DEHA w paszy wynoszącym 0,15%, nie powodowało żadnych zmian. Podawanie DEHA zwierzętom w dawce 808 mg/kg m.c./dzień (0,3% w paszy) i większej spowodowało zależny od dawki wzrost aktywności 11- i 12-hydroksylazy kwasu laurynowego (CYP4A) w mikrosomach. Związek o stężeniu 0,6% w paszy i większym (dawka ≥ 1495 mg/kg m.c./dzień) powodował u zwierząt zależny od wielkości narażenia wzrost względnej masy wątroby i proliferację peroksyosomów w wątrobie wyrażoną wzrostem aktywności oksydacyjnej niewrażliwego na cyjanek palmitoilo-koenzymu A (CoA). Po podaniu DEHA o stężeniu w paszy ≥ 0,6% u zwierząt obserwowano wzrost syntezy replikacyjnej DNA (oceniany na podstawie wbudowywania znakowanej 5-bromo-2'-deoksyurydyny – BrdU) w 1. tygodniu narażenia myszy na podaną dawkę oraz w 4. i 13. tygodniu po narażeniu na związek w dawce 3075 mg/kg m.c./dzień i większej (≥ 1,2% w paszy). U szczurów (w przeciwieństwie do myszy) notowano mniejszy wzrost względnej masy wątroby oraz mniejszą proliferację peroksyosomów. Aktywność mikrosomal-

nej 11- i 12-hydroksylazy kwasu laurynowego była podobna, natomiast synteza replikacyjna DNA po wzroście podczas pierwszego tygodnia narażenia utrzymywała się na tym samym poziomie do zakończenia badań (tab. 3).

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne

Ocena genotoksycznego działania adypinianu bis(2-etyloheksylu) prowadzona przez NTP (1982) i IARC (2000) w wielu układach eksperymentalnych dała, poza jednym przypadkiem, negatywne wyniki.

Nie wykazano aktywności mutagennej DEHA w testach mutacji powrotnych przeprowadzonych na szczepach *S. typhimurium* TA1535, TA1537, TA1538, TA98 i TA100 zarówno bez aktywacji metabolicznej, jak i z aktywacją metaboliczną oraz u *Saccharomyces cerevisiae* (Simmon i in. 1977, cyt. za IARC 2000). Nie wykazano również działania mutagennego w testach pośredniego gospodarza (szczur) wobec *S. typhimurium* TA100, TA1535, TA1537, TA1538 oraz TA98 (DiVincenzo i in. 1985, cyt. za IARC 2000).

Nie wykazano aktywności mutagennej w teście Mutatox na *Photobacterium phosphoreum* (Elmore, Fitzgerald 1990, cyt. za IARC 2000). DEHA nie indukował recesywnych mutacji letalnych związanych z płcią u *Drosophila melanogaster*. Negatywne wyniki uzyskano też w teście mutacji genowych na komórkach chłoniaka myszy L5178Y w genach kodujących kinazę tymidyny (*Tk*) bez aktywacji metabolicznej (Mc Gregor i in. 1988, cyt. za IARC 2000).

DEHA nie powodował ani wymiany chromatyd siostrzanych, ani aberracji chromosomowych, jak również dawał ujemne wyniki w teście mikrojądrowym na hepatocytach szczura (Fisher 344) w hodowli pierwotnej (Reisenbichler, Eckl 1993). Ujemne wyniki uzyskano również w teście mikrojądrowym na komórkach szpiku kostnego myszy (Shelby i in. 1993, cyt. za IARC 2000).

Nie wykazano zdolności DEHA do tworzenia wiązań kowalencyjnych z DNA wątroby myszy (Däniken i in. 1984).

DEHA powodował zwiększenie częstości występowania dominujących mutacji letalnych po jednorazowym, dootrzewnowym podaniu myszom ICR związku w dawce 9220 mg/kg m.c. (Singh i in. 1975, cyt. za IARC 2000).

Według opinii ekspertów IARC (2001) i badań NTP (1982) DEHA nie jest związkiem genotoksycznym.

Działanie rakotwórcze na ludzi

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat rakotwórczego działania adypinianu bis(2-etyloheksylu) na ludzi.

Działanie rakotwórcze na zwierzęta

Działanie rakotwórcze adypinianu bis(2-etyloheksylu) DEHA było oceniane w badaniach NTP (1982) u myszy i szczurów.

Myszom (6-tygodniowym) szczepu B6C3F1, liczącym po 50 samców i samic, podawano z paszą przez 104 tygodnie DEHA (> 98% czystości) o stężeniu 12000 lub 25000 mg/kg paszy (co odpowiadało dawkom 3222 lub 8623 mg/kg m.c./dzień u samic oraz

2659 lub 6447 mg/kg m.c./dzień u samców). Grupę kontrolną stanowiło 50 zwierząt. Zwierzęta obserwowano do 106 tygodnia, a następnie uśmiercano je i przeprowadzano ocenę histopatologiczną narządów wewnętrznych. Przeżywalność zwierząt wynosiła: u samców z grupy kontrolnej – 36/50 (72%), u samców z grupy mniejszego narażenia – 32/50 (64%), a u samców z grupy większego narażenia – 41/50 (82%) oraz u samic odpowiednio – 42/50 (84%), 39/50 (78%) i 36/49 (73%). U wszystkich zwierząt stwierdzono spadek masy ciała w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej, a poza tym nie obserwowano innych klinicznych objawów narażenia na DEHA. Stwierdzono istotnie większą ($p < 0,25$) niż w grupie kontrolnej częstość występowania gruczolaków wątrobowo komórkowych w przypadku samców z obu grup narażenia – 8/49 (grupa mniejszego narażenia), 15/49 (grupa większego narażenia) i 6/50 (grupa kontrolna) oraz u samic odpowiednio: 5/50, 6/49 i 2/50. Stwierdzono również istotnie większą w stosunku do grupy kontrolnej częstość występowania raków wątrobowo komórkowych u samców z obu narażanych grup – 12/49 (grupa kontrolna – 7/50) oraz u samic 14/50 i 12/49 w grupie mniejszego i większego narażenia (grupa kontrolna – 1/50). Raki wątrobowo komórkowe dawały przerzuty do płuc u 14 samców i 11 samic. Inne przerzuty (pojedyncze przypadki) występowały wyłącznie u samic i były umiejscowione w nerkach, nadnerczach i węzłach chłonnych. Częstość występowania nowotworów u myszy narażonych na DEHA przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4.

Częstość występowania nowotworów u myszy (B6C3F1) narażonych na adypinian bis(2--etyloheksylu), (za NTP 1982)

Umiejscowienie nowotworu	Samce, dawka DEHA, mg/kg m.c./dzie			Samice, dawka DEHA, mg/kg m.c./dzie		
	grupa kontrolna	2659	6447	grupa kontrolna	3222	8623
Liczba ocenianych zwierząt	50	49	49	50	50	49
Gruczolaki wątrobowo komórkowe	6	8	15 ^a	2	5	6
Raki wątrobowo komórkowe	7	12	12	1	14 ^b	12 ^c
Procent myszy z nowotworami wątroby	26	41	56	6	38	37
Przerzuty:						
– płuca	5	4	5	–	6	5
– nerki	–	–	–	–	1	–
– nadnercza	–	–	–	–	–	1
– węzły chłonne	–	–	–	–	1	–

^a $p < 0,025$; ^b $p < 0,001$; ^c $p = 0,001$.

Szczurom (5-tygodniowym) rasy Fischer 344 (50 osobników każdej płci) podawano z paszą, przez 103 tygodnie DEHA (> 98% czystości) o stężeniu 12000 lub 25000 mg/kg paszy, (co odpowiadało dawkom 860 lub 1674 mg/kg m.c./dzień u samic oraz 697 lub 1509 mg/kg m.c./dzień u samców). Grupę kontrolną stanowiło 50 zwierząt. Po upływie 105 ÷ 107 tygodni zwierzęta uśmiercano i przeprowadzano ocenę histopatologiczną narządów wewnętrznych. Stwierdzono, że narażenie na DEHA nie miało wpływu na przeżywalność zwierząt, która

wynosiła odpowiednio: u samców z grupy kontrolnej i z grupy mniejszego narażenia – 34/50 (68%), u samców z grupy większego narażenia – 40/50 (80%) oraz u samic odpowiednio: 29/50 (58%), 39/50 (78%) i 44/50 (88%). U wszystkich zwierząt stwierdzono związany z poziomem narażenia spadek masy ciała w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej, poza tym nie obserwowano innych klinicznych objawów narażenia na DEHA. Nie stwierdzono wzrostu częstości występowania u zwierząt narażanych na DEHA nowotworów w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej. Częstość występowania guzów nowotworowych lub raków wątrobowo komórkowych wynosiła: u samców z obu grup narażenia – 2/50 (grupa kontrolna – 2/49), natomiast u samic – 3/50 i 1/50 odpowiednio dla grupy mniejszego i większego narażenia (grupa kontrolna – 0/49), (NTP 1982). Dawkę 1500 mg/kg m.c./dzień DEHA, po której notowano wyraźny spadek przyrostu masy ciała, uznano za wartość LOAEL, natomiast dawkę 700 mg/kg m.c./dzień – za wartość NOAEL DEHA (IRIS 1994).

Hodge i in. (1966, cyt. za IRIS 1994) badali działanie rakotwórcze DEHA u myszy, szczurów i psów. Po jednorazowym podskórnym podaniu 0,1 mg związku myszom C3H/Anf (50 zwierząt każdej płci na dawkę) nie stwierdzono występowania nowotworów. Również po naniesieniu na skórę myszy C3H/Anf (50 zwierząt każdej płci na dawkę) związku w acetonie, w ilości 8,8 lub 920 mg u samców oraz 9,8 lub 1010 mg u samic, nie obserwowano występowania zmian nowotworowych. W dwuletnich badaniach szczury (rasy oraz liczebności próby nie podano) otrzymywały DEHA o stężeniach: 0,1; 0,5 lub 2,5% w paszy. Stwierdzono występowanie 33 raków, jednak częstość ich występowania nie była zależna od wielkości narażenia. Psy (2 ÷ 4 osobniki) otrzymywały związek o stężeniach: 0,7; 0,15 lub 0,2% w paszy przez 1 rok. Nie stwierdzono występowania zmian nowotworowych.

W 2000 r. eksperci IARC na podstawie istniejących danych toksykologicznych, biorąc pod uwagę przypuszczalny mechanizm działania DEHA, zaliczyli związek do grupy 3., argumentując to brakiem wystarczających dowodów rakotwórczego działania związku u ludzi i zwierząt doświadczalnych.

Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

Szczurom rasy Sprague-Dawley (5 osobników) podawano dootrzewnowo adypinian bis(2-etyloheksylu) w dawkach: 1; 5 lub 10 ml/kg m.c. (922; 4610 lub 9220 mg/kg m.c.) w 5., 10. i 15. dniu ciąży. U płodów stwierdzono zależny od wielkości narażenia matek na DEHA spadek masy ciała w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej. U płodów narażonych na największą dawkę związku stwierdzono wady rozwojowe w narządach wewnętrznych (szczegółów nie podano), (*Singh* i in. 1973, cyt. za IARC 2000). Dawkę 922 mg/kg m.c. DEHA uznano za niepowodującą szkodliwych skutków u płodów (NOAEL), (IRIS 1994).

Szczury Alpk:APF50 (pochodne rasy Wistar) otrzymywały (24 osobniki na dawkę) DEHA w paszy w dawkach: 28; 170 lub 1080 mg/kg m.c. od 1. do 22. dnia ciąży. U samic otrzymujących największą dawkę obserwowano spadek łaknienia i nieznaczne zmniejszenie masy ciała w stosunku do zwierząt w grupie kontrolnej. U płodów matek narażonych na DEHA w dawce 170 mg/kg m.c. stwierdzono przypadki występowania jednostronnego skręcenia moczowodu. U płodów pochodzących z grupy otrzymującej największą dawkę związku obserwowano zmniejszenie masy ciała w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej, wzrost częstości występowania wad rozwojowych szkieletu (opóźnienie kostnienia) oraz skręcenie lub rozszerzenie moczowodu (*Hodge* 1991, cyt. za IARC 2000). Na podstawie wyników przeprowadzonych badań dawkę DEHA 170 mg/kg m.c./dzień uznano za wartość NOAEL, natomiast dawkę 1080 mg/kg m.c./dzień – za wartość LOAEL (IRIS 1994).

Szczury Alpk:APF50 (30 samic i 15 samców na dawkę) otrzymywały DEHA w paszy w dawkach: 28; 170 lub 1080 mg/kg m.c./dzień (300; 1800 lub 12000 mg/kg paszy) przez

10 tygodni przed kojarzeniem, podczas ciąży i w okresie karmienia, aż do 36. dnia życia młodych (łącznie narażenie około 18 ÷ 19 tygodni). Nie obserwowano wpływu DEHA na: płodność samców i samic, liczbę żywych płodów oraz przeżywalność potomstwa do 22. dnia życia. U zwierząt narażanych na największą dawkę DEHA stwierdzono zwiększenie masy wątroby oraz u samic znaczący spadek masy ciała w ostatnim okresie ciąży. U potomstwa matek narażonych na największą dawkę DEHA stwierdzono znaczący spadek masy ciała w ciągu okresu postnatalnego (36. dnia życia), (*Tinston* 1988, cyt. za IARC 2000). Na podstawie wyników przeprowadzonych badań dawkę DEHA wynoszącą 170 mg/kg m.c./dzień uznano za wartość NOAEL, natomiast dawkę 1080 mg/kg m.c./dzień za wartość LOAEL (*IRIS* 1994).

Dalgaard i in. (2002) oraz *Dalgaard* i *Majken* (2003) badali wpływ DEHA na rozrodczość szczurów. Szczurom rasy Wistar podawano w okresie pre- i postnatalnym związek w dawkach: 200; 400 lub 800 mg/kg m.c./dzień. Stwierdzono, że DEHA w dawkach 400 ÷ 800 mg/kg m.c./dzień działał fetotoksycznie, powodując wzrost częstości martwo urodzonych płodów i zmniejszenie masy ciała u płodów żywych. Dawkę DEHA 200 mg/kg m.c./dzień autorzy uznali za wartość NOAEL. DEHA nie wykazywał działania gonadotoksycznego. Nie wykazano różnic w budowie i masie narządów rozrodczych (jądra, najądrza, pęcherzyki nasienne, gruczoł krokowy) u 21-dniowych szczurów w porównaniu z dorosłymi nienarażanymi samcami. Również stężenie testosteronu i hormonu luteinizującego LH w surowicy krwi narażanych zwierząt nie różniło się od wartości stwierdzanych u zwierząt w grupie kontrolnej. Nie wykazano także zmian ilościowych i morfologicznych nasienia.

W badaniach wielopokoleniowych szczury (rasy nie podano) otrzymywały DEHA z paszą w dawce 100 mg/kg m.c./dzień. Nie wykazano wpływu związku na reprodukcję, laktację czy rozwój w czterech kolejnych pokoleniach (cyt. za IARC 2000).

Nie wykazano działania embriotoksycznego związku w badaniach *in vitro* na 3-dniowych zarodkach kurzych (*chick embryos test*), które narażano na DEHA o stężeniu 17 μmoli (*Korhonen* i in. 1983).

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie i rozmieszczenie

Adypinian bis(2-etyloheksylu) w warunkach narażenia zawodowego wchłania się do organizmu głównie przez drogi oddechowe i skórę (*HSDB* 2004). W dostępnym piśmiennictwie nie ma ilościowej oceny wchłaniania DEHA tymi drogami u ludzi i zwierząt doświadczalnych.

DEHA ulega szybkiemu wchłanianiu z przewodu pokarmowego zwierząt doświadczalnych, a wchłonięty do krwi – szybkiemu rozmieszczeniu w organizmie, głównie w postaci metabolitów (*IARC* 2000).

Bergman i *Albanus* (1987) podawali dożylnie lub dożołądkowo znakowany ¹⁴C (w grupie karbonylowej lub alkoholowej) DEHA samcom szczurów rasy Sprague Dawley, samcom myszy szczepu NMRI oraz ciężarnym samicom myszy NMRI będącym w 17. dniu ciąży (dawki związku nie podano). Po 24 h od podania związku (obiema drogami) najwyższy poziom radioaktywności u obu gatunków zwierząt stwierdzono w tkance tłuszczowej, wątrobie i nerkach. Wysoki poziom radioaktywnego znacznika po podaniu dożołądkowym notowano również w przewodzie pokarmowym. Obecność związku znakowanego ¹⁴C w grupie karbonylowej stwierdzano też w: korze nadnerczy, w ciałku żółtym jajnika ciężarnych myszy, szpiku kostnym, śluzówce żołądka, gruczołach ślinowych i gruczole Hardnera u obu badanych gatunków. DEHA znakowany ¹⁴C w grupie alkoholowej występował w oskrzelach u samców myszy. DEHA przenika przez barierę łożyskową zwierząt doświadczalnych.

U płodów od 24 h po podania związku stwierdzono słaby poziom radioaktywności w pęcherzu moczowym, wątrobie, jelitach i płynie owodniowym.

Szczurom rasy Wistar podawano dożołądkowo znakowany ^{14}C -DEHA w dawce 500 mg/kg m.c. Po 6 ÷ 12 h od podania związku stwierdzano wysoki poziom radioaktywności w: przewodzie pokarmowym, mięśniach, wątrobie, tkance tłuszczowej, krwi i nerkach (*Takahashi* i in. 1981, cyt. za IARC 2000).

Metabolizm i wydalanie

Sześciu ochotnikom (mężczyznom) podawano znakowany deuterem adypinian bis(2-etyloheksylu) zawieszony w oleju kukurydzianym, w dawce około 0,5 mg/kg m.c. (około 46 mg). W osoczu krwi badanych oznaczano kwas 2-etyloheksanowy, którego okres połowicznego zaniku wynosił 1,65 h. W moczu identyfikowano następujące metabolity (podane jako procent znacznika): kwas 2-etyloheksanowy (8,6%) w postaci sprzężonej, kwas 2-etylo-5-hydroksyheksanowy (2,6%), kwas 2-etylo-1,6-heksanodiowy (0,75%), kwas 2-etylo-5-ketoheksanowy (0,2%) i 2-etyloheksanol (0,1%). Okres połowicznego wydalania wszystkich metabolitów DEHA z moczem wynosił 1,5 h. Po upływie 36 h nie wykryto żadnego z metabolitów w moczu (*Loftus* i in. 1994).

DEHA ulega szybkiej hydrolizie w organizmie zwierząt. Szybkość hydrolizy badano na homogenatach jelit szczurów rasy Sprague-Dawley. Okres półtrwania związku wynosił 6 min (HSDB 2004).

Po podaniu szczurom (samcom) rasy Wistar znakowanego ^{14}C -DEHA w dawce 500 mg/kg m.c. w żołądku oznaczano adypinian mono(2-etyloheksylu), natomiast w moczu zwierząt identyfikowano kwas adypinowy (heksanodiowy) w ilości 20 ÷ 30% podanej dawki (*Takahashi* i in. 1981, cyt. za IARC 2000).

Cornu i in. (1992) stwierdzili, że pierwszorzędowymi metabolitami DEHA w organizmie szczurów i myszy są adypinian mono(2-etyloheksylu) i 2-etyloheksanol; drugorzędowymi – kwas 2-etyloheksanowy, natomiast trzeciorzędowymi – kwas 2-etylo-5-hydroksyheksan-1-owy, kwas 2-etylo-5-oksoheksan-1-owy i kwas 2-etyloheksan-1,6-diowy.

U małp *Cynomolgus* (*Macaca fascicularis*) głównym metabolitem oznaczanym w moczu był glukuronid adypinianu mono(2-etyloheksylu). Wykryto również śladowe ilości niezmienionego DEHA (cyt. za IARC 2000).

DEHA u ssaków jest szybko wydalany głównie z moczem oraz w mniejszej ilości z żółcią. Szczurom rasy Fischer 344, myszom szczepu B6C3F1 oraz małpom *Cynomolgus* (*Macaca fascicularis*) podawano związek *per os* (dawki nie podano). Po 24 h od podania związku w moczu szczurów wykrywano 34 ÷ 78% radioaktywnego znacznika. Około 3% radioaktywnego znacznika oznaczano w żółci. Po 96 h całkowita radioaktywność w organizmie szczura wynosiła 0,5%. U myszy po 24 h od podania związku oznaczano 75 ÷ 92% radioaktywnego znacznika, natomiast u małp 47 ÷ 57% (*Bergman, Albanus* 1987).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Moody i *Reddy* (1978) stwierdzili, że obraz i skutki działania toksycznego związku na wątrobę zwierząt przypominają następstwa działania toksycznego leków stosowanych do obniżania poziomu lipidów w surowicy. W hepatocytach stwierdzano głównie proliferację peroksyzomów, której wskaźnikiem był zarówno wzrost ich liczby i wymiarów, jak również indukcja enzymów peroksyzomalnych (IARC 2000; IRIS 1994). *Kawashima* i in. (1983, cyt. za IARC 2000) obserwowali, że indukcja peroksyzomów była związana z kilkukrotnym wzrostem ak-

tywności peroksysomalnego układu β -oksydacji kwasów tłuszczowych i tylko dwukrotnym wzrostem aktywności katalazy.

W badaniach dotyczących innych związków powodujących proliferację peroksysomów wykazano, że w następstwie wzrostu aktywności enzymów β -oksydacji kwasów tłuszczowych następuje wzrost wewnątrzkomórkowego poziomu H_2O_2 , który w obecności żelaza komórkowego może ulegać rozkładowi do reaktywnych form tlenu i rodników hydroksylowych (reakcja Habera-Weissa). Wzrostowi komórkowej zawartości reaktywnych form tlenu sprzyja fakt, że aktywność katalazy w wątrobie zwierząt narażonych na działanie DEHA wzrasta nieznacznie w stosunku do objętości peroksysomów i aktywności β -oksydacji kwasów tłuszczowych. Reaktywne formy tlenu, reagując z błonami komórkowymi, powodują wzrost peroksydacji lipidów, mogą także powodować uszkodzenia DNA, co z kolei może prowadzić do transformacji nowotworowej hepatocytów (IARC 2000; *Rolecki, Majka* 1995). Na podstawie wyników innych badań wykazano, że długookresowe narażenie na związki wywołujące proliferację peroksysomów powoduje indukcję nowotworów wątroby u szczurów i myszy (IARC 2000; *Kluwe* i in. 1985; 1986, cyt. za IRIS 1994).

DEHA, poza jednym pozytywnym wynikiem testu dominujących mutacji letalnych u myszy, nie wykazywał działania genotoksycznego, nie tworzył wiązań kowalencyjnych z DNA. Brak mutagennego działania związku połączony z wynikami badań nad generowaniem nadtlenu wodoru przez proliferujące peroksysomy świadczy o tym, że ciągła proliferacja peroksysomów jest endogennym czynnikiem powodującym transformację nowotworową poprzez podnoszenie poziomu stresu oksydacyjnego. Na podstawie wyników badań *Takagi* i in. (1990, cyt. za IARC 2000), w których badacze obserwowali w wątrobie narażanych zwierząt na DEHA wzrost stężenia 8-hydroksydeoksyguanozyny (wskaźnika uszkodzenia oksydacyjnego DNA), natomiast nie obserwowali podobnych zmian w nerkach, stwierdzono, że stymulacyjne działanie DEHA na proliferację peroksysomów jest swoiste dla komórek wątroby.

W badaniach *in vitro* oceniano różnice międzygatunkowe w działaniu DEHA i jego metabolitów na proliferację peroksysomów w wątrobie. Badania przeprowadzono na hepatocytach w hodowli pierwotnej pochodzących od szczurów, myszy, świnek morskich i małą (marmozety). U osobników każdego gatunku związek macierzysty (DEHA) nie indukował enzymów peroksysomalnych, niewrażliwego na cyjanek palmitoilo-koenzymu A (CoA). W hepatocytach szczurów i myszy takie metabolity DEHA, jak: adypinian mono(2-etyloheksylu), 2-etyloheksanol, kwas 2-etyloheksanowy i kwas 2-etylo-5-hydroksyheksanowy o stężeniu ≤ 1 mM powodowały indukcję enzymów peroksysomalnych. W hepatocytach myszy indukcja enzymów peroksysomalnych była ponad dwukrotnie silniejsza, zwłaszcza w przypadku kwasu 2-etyloheksanowego. U świnek morskich i małą nie stwierdzono indukcji enzymów peroksysomów pod wpływem działania wymienionych metabolitów o stężeniach: ≤ 1 mM dla adypinianu mono(2-etyloheksylu) oraz ≤ 2 mM dla 2-etyloheksanolu, kwasu 2-etyloheksanowego i kwasu 2-etylo-5-hydroksyheksanowego (*Cornu* i in. 1992).

Badania prowadzone przez EPA (dane niepublikowane, cyt. za IRIS 1994) dotyczące zdolności szeregu związków (w tym ftalanów i adypinianów) do indukcji proliferacji peroksysomów przeprowadzone na szczurach wykazały, że DEHA był związkiem najmniej zdolnym do wywoływania tego procesu. Również badania porównawcze wpływu DEHA i ftalanu dwu-2-etyloheksylu (DEHP) na proliferację peroksysomów w wątrobie szczurów rasy Fischer 344 wykazały około 10-krotnie mniejsze działanie indukujące DEHA w porównaniu z DEHP (*Barber* i in. 1987). Na podstawie wyników biopsji w badaniach u ludzi, wykazano, że leki stosowane do obniżania poziomu lipidów w surowicy powodują zdecydowanie mniejsze zmiany w hepatocytach niż u gryzoni przy odpowiadających poziomach narażenia lub też nie powodują ich wcale (*Lake* 1995; *Cattley* i in. 1998, cyt. za IARC 2000).

Według ekspertów IARC wyniki badań dotyczących molekularnych podstaw proliferacji peroksysomów wskazują, że ludzkie hepatocyty mogą być odporne na indukcję prolifera-

cji peroksysomów odpowiadającą za powstawanie procesu nowotworowego u gryzoni (IARC 2000). Dlatego też w 2000 r. eksperci IARC na podstawie istniejących danych toksykologicznych, a także biorąc pod uwagę przypuszczalny mechanizm działania DEHA, zaliczyli związek do grupy 3., argumentując to brakiem wystarczających dowodów rakotwórczego działania związku u ludzi i zwierząt doświadczalnych.

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących łącznego narażenia na adypinian bis(2-etyloheksylu).

ZALEŻNOŚĆ EFEKTU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Zależność efektu toksycznego od wielkości narażenia zwierząt doświadczalnych na adypinian bis(2-etyloheksylu) przedstawiono w tabeli 2 i 3.

Przyjmując za główny efekt krytyczny działania DEHA działanie indukujące proliferację peroksysomów, za największą dawkę, po której nie obserwowano takiego działania (NOAEL), można przyjąć dawkę 577 mg/kg m.c./dzień. wyznaczoną w 13-tygodniowych badaniach *Lake i in.* (1997).

DEHA nie wykazał działania genotoksycznego w wielu układach eksperymentalnych.

W badaniach działania rakotwórczego DEHA powodował powstawanie pierwotnych raków wątroby u myszy, natomiast nie powodował wzrostu częstości występowania nowotworów u szczurów (NTP 1982). Na podstawie wyników dwuletnich badań działania rakotwórczego przeprowadzonych na szczurach wykazano, że dawkę 700 mg/kg m.c./dzień DEHA powodującą u zwierząt nieznaczny spadek przyrostu masy ciała można uznać za wartość NOAEL.

W badaniach embriotoksycznego i teratogennego działania DEHA wykazano zależny od poziomu dawkowania wpływ związku na powstawanie wad rozwojowych u płodów. Dawkę DEHA 170 mg/kg m.c./dzień można przyjąć za niepowodującą występowania wad rozwojowych u płodów szczurów (NOAEL).

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

Istniejące wartości NDS i DSB

W Polsce i na świecie nie ustalono dotąd wartości NDS adypinianu bis(2-etyloheksylu) (ACGIH 2005; MAK 2005; RTECS 2005; Rozporządzenie... 2002).

Podstawy proponowanej wartości NDS i DSB

W dostępnym piśmiennictwie toksykologicznym nie ma udokumentowanych danych z przemysłu o przypadkach ostrych i przewlekłych zatruc adypinianem bis(2-etyloheksylu) u ludzi. Nie znaleziono również wyników badań działania toksycznego DEHA w warunkach ostrego lub przewlekłego narażenia inhalacyjnego zwierząt.

Z przeprowadzonych eksperymentów, w których związek podawano zwierzętom z paszą, wynika, że narządem krytycznym działania DEHA u zwierząt doświadczalnych jest wątroba, a krytycznym objawem narażenia – proliferacja peroksyosomów w hepatocytach prowadząca do powstawania procesu nowotworowego.

Biorąc pod uwagę wyniki dwuletnich badań przeprowadzonych przez NTP, w których nie stwierdzono u szczurów wzrostu częstości występowania nowotworów, za największą dawkę, po której nie obserwowano szkodliwego działania związku (NOAEL), uznano 700 mg/kg m.c./dzień (IRIS 1994). Równoważne dla człowieka stężenie DEHA w powietrzu obliczono na podstawie wzoru:

$$D_h = D_w \cdot W_h / V_h,$$

w którym:

- D_h , równoważne stężenie DEHA w powietrzu dla człowieka
 - D_w , dawka podawana szczurom *per os*
 - W_h , masa człowieka (70 kg)
 - V_h , objętość powietrza wdychanego przez człowieka w ciągu 8 h (10 m^3).
- Po podstawieniu wartości do wzoru, otrzymujemy:

$$D_h = (700 \text{ mg/kg} \cdot 70 \text{ kg}) / 10 \text{ m}^3 = 4900 \text{ mg/m}^3.$$

Do wyznaczenia wartości NDS DEHA zastosowano następujące współczynniki niepewności:

- $A = 2$, współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej ludzi
 - $B = 2$, współczynnik związany z różnicami międzygatunkowymi i inną drogą podania niż inhalacja
 - $C = 1$, współczynnik związany z przejściem z badań krótkoterminowych do długoterminowych (badania dwuletnie)
 - $D = 1$, współczynnik związany z zastosowaniem wartości NOAEL
 - $E = 3$, współczynnik modyfikacyjny wynikający ze skąpości danych na temat narażenia zawodowego i potencjalnych odległych efektów toksycznych DEHA u ludzi.
- Po podstawieniu wartości do wzoru obliczamy wartość NDS DEHA:

$$\text{NDS} = 4900 \text{ mg/m}^3 / (2 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 3) \approx 400 \text{ mg/m}^3.$$

Nie znaleziono podstaw do ustalania wartości NDSC_h DEHA (nie wykazano działania drażniącego związku) oraz wartości DSB.

Wyniki badań na zwierzętach upoważniają do zaliczenia DEHA do związków mających działanie fetotoksyczne i teratogenne, dlatego proponuje się oznakowanie związku literami „Ft” oznaczającymi substancję działającą toksycznie na płód.

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

dr med. EWA WĄGROWSKA-KOSKI
Instytut Medycyny Pracy
91-348 Łódź
ul. św. Teresy 8

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na wątrobę. Badania pomocnicze: badania czynności wątroby (bilirubina w surowicy krwi, AlAT i AspAT).

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na wątrobę. Badania pomocnicze: badania czynności wątroby (bilirubina w surowicy krwi, AlAT i AspAT).

Częstotliwość badań okresowych: co 2 ÷ 3 lata.

U w a g a

Lekarz przeprowadzający badanie profilaktyczne może poszerzyć jego zakres o dodatkowe specjalistyczne badania lekarskie oraz badania pomocnicze, a także wyznaczyć krótszy termin następnego badania, jeżeli stwierdzi, że jest to niezbędne do prawidłowej oceny stanu zdrowia osoby przyjmowanej do pracy lub pracownika.

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na wątrobę
Badania pomocnicze: badania czynności wątroby (bilirubina w surowicy krwi, AlAT i AspAT).

Narządy (układy) krytyczne

Wątroba.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Choroby przebiegające z upośledzeniem funkcji wątroby.

U w a g a

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

PIŚMIENNICTWO

ACGIH (2005) Documentation of the TLVs and BEIs with other worldwide occupational exposure values (on CD-ROM).

Barber E.D. i in. (1987) Peroxisome induction studies on seven phthalate esters. *Toxicol. Ind. Health* 2, 7-24.

Bergman K., Albanus L. (1987) Di-(2-ethylhexyl)adipate: absorption, autoradiographic distribution and elimination in mice and rats. *Food Chem. Toxicol.* 25, 309-316.

CESARS, Chemical Evaluation Search and Retrieval System (May, 2003) Canadian Centre for Occupational Health and Safety, Issue 2003-2.

Cornu M.C. i in. (1992) Identification of the proximate peroxisome proliferator(s) derived from di(2-ethylhexyl)adipate and species differences in response. *Biochem. Pharmacol.* 43, 2129-2134.

Dalgaard M. i in. (2002) Di-(2-ethylhexyl)adipate (DEHA) is foetotoxic but not anti-androgenic as Di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP). *Reprod. Toxicol.* 16, 408-409.

Dalgaard M., Majken U. (2003) Di-(2-ethylhexyl)adipate (DEHA) induced developmental toxicity but not antiandrogenic effects in pre- and postnatally exposed Wistar rats. *Reprod. Toxicol.* 17, 163-168.

Däniken A. i in. (1984) Investigation of the potential for binding of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and di(2-ethylhexyl)adipate (DEHA) to liver DNA in vivo. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 73, 373-387.

Genium's Handbook of safety, health, and environmental data for common hazardous substances. (1999). Vol. 1. New York, Genium Publishing Corporation, 447.

HSDB, Hazardous Substance Data Bank Issue (May, 2004) [baza danych].

IARC (2000) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. T. 77. Di(2-ethylhexyl)adipate. Lyon, WHO/IARC, 149-175.

IRIS, Integrated Risk Information System (1994) [baza danych, dostępna także w Internecie <http://www.epa.gov/IRIS/subst/0420.htm>].

Keith Y. i in. (1992) Peroxisome proliferation due to di(2-ethylhexyl)adipate, 2-ethylhexanol and 2-ethylhexanoic acid. *Arch. Toxicol.* 66, 321-326.

Korhonen A., Hemminki K., Vainio H. (1983) Embryotoxic effects of phthalic acid derivatives, phosphates and aromatic oils used in the manufacturing of rubber on three day chicken embryos. *Drug. Chem. Toxicol.* 6, 191-207.

Lake B.G. i in. (1997) Comparison of the effects of di-(2-ethylhexyl)adipate on hepatic peroxisome proliferation and cell replication in the rat and mouse. *Toxicology* 123, 217-226.

Loftus N.J. i in. (1994) An assessment of the dietary uptake of di-2-(ethylhexyl) adipate (DEHA) in a limited population study. *Food Chem. Toxicol.* 32, 1-5.

Moody D.E., Reddy J.K. (1978) Hepatic peroxisome (Microbody) proliferation in rats fed plasticizers and related compounds. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 45 (2), 497-504.

NTP, National Toxicology Program (1982) Carcinogenesis bioassay of di(2-ethylhexyl)adipate (CAS: 103-23-1) in F344 rats and B6C3f1 mice (Feed Studies) NTP Technical Report 212. [baza danych (2002), dostępna także w Internecie <http://ntp-db.niehs.nih.gov>].

Pośniak M. i in. (1999) Zagrożenia chemiczne w wybranych procesach technologicznych. Warszawa, CIOP.

Reisenbichler H., Eckl P.M. (1993) Genotoxic effects of the selected peroxisome proliferators. *Mutat. Res.* 286, 135-144.

Rolecki R., Majka J. (1995) Dwu-2-etyloheksylu ftalan. Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* 13, 109-151.

Rozporządzenie ministra pracy i polityki społecznej z dnia 29 listopada 2002 roku w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU nr 217, poz. 1833 ze zm.; DzU nr 212 z 2005 r. poz. 1769.

Sax N.J., Lewis R.J. (2000) Sax's dangerous properties of industrial materials. 10th ed. T. 2. New York, Van Nostrand Reinhold 81.

LIDIA ZAPÓR

Bis(2-ethylhexyl) adipate

A b s t r a c t

Bis(2-ethylhexyl) adipate (DEHA) is used primarily as a plasticizer in the flexible vinyl industry and is widely used in flexible poly(vinyl chloride) food film. It is also used as a solvent and as a component of aircraft lubricants. It is important in the processing nitrocellulose and synthetic rubber and in the cosmetic industry (cellulose-based liquid lipsticks).

Occupational exposure to DEHA may occur through inhalation or dermal contact during its manufacture and its use. Bis(2-ethylhexyl) adipate is rapidly and completely absorbed after oral administration, rapidly and extensively metabolized and excreted in humans and laboratory animals. In the available literature no data on the toxicity DEHA in humans have been found.

The oral LD₅₀ in rats is 9110 mg/kg body weight. DEHA exerts systemic action mainly on the liver in acute and chronic toxicity in laboratory animals. The critical effects of DEHA activity is induced hepatic peroxisome proliferation.

DEHA did not show genotoxic and mutagenic effects in many experimental studies. In carcinogenicity testing this compound caused an increased hepatocellular tumor in mice but not in rats. There are no data on carcinogenicity in humans.

DEHA exerts embryotoxic, fetotoxic and teratogenic effects in animals. There are no data on reproductive and developmental effects in humans.

In setting the exposure limits, the results of chronic toxicity testing were considered. Based on the NOAEL value obtained in an experimental study (700 mg/kg bw per day) and appropriate uncertainty factors, a MAC (TWA) value has been calculated at 400 mg/m³. No STEL value has been established. With regard to fetotoxic effects of DEHA in laboratory animals an Ft notation is considered appropriate.