

*Joanna Stragierowicz, Adam Daragó, Michał Klimczak, Aneta Galoch,
Joanna Duda-Szymańska¹, Małgorzata Skrzypińska-Gawrysiak, Anna Kilanowicz*

ZMIANY HISTOPATOLOGICZNE W WĄTROBIE SZCZURÓW PO NARAŻENIU NA MIESZANINY POLICHLOROWANYCH NAFTALENÓW – BADANIA UZUPEŁNIAJĄCE*

Zakład Toksykologii, Międzywydziałowej Katedry Farmakologii Ogólnej, Klinicznej
i Toksykologii, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. *A. Sapota*

¹ Zakład Patomorfologii, Międzywydziałowej Katedry Patomorfologii,
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. *M. Danilewicz*

W pracy przeprowadzono ocenę histopatologiczną wątroby samców szczurów Wistar, którym podawano wielokrotnie (7, 14, 21 lub 28 dni) drogą dożołądkową dwie różne mieszaniny polichlorowanych naftalenów (PCNs): w tym jedną o składzie zbliżonym do najczęściej stosowanego w przeszłości preparatu Halowax 1014 oraz drugą składającą się głównie z izomerów heksachloronaftalenu uważanego za najbardziej toksyczny kongener PCNs.

Hasła kluczowe: mieszaniny polichlorowanych naftalenów, zmiany histopatologiczne, wątroba, szczury.

Key words: polychlorinated naphthalenes mixture, histopathology changes, liver, rats.

Polichlorowane naftaleny (PCNs) to grupa 75 kongenerów, których mieszaniny w handlowych preparatach (m.in. Halowax, Nibren Wax, Perna Wax, Seekay Wax, Clonacire Wax), były bardzo powszechnie używane w różnych gałęziach przemysłu (np. w przemyśle elektroenergetycznym) (1, 2). Stosowano je także do impregnacji drewna, papieru i materiałów tekstylnych celem zwiększenia oporności tych materiałów na działanie wody, ognia oraz warunków atmosferycznych (1). Najczęściej stosowanymi do końca lat 80^{tych} ubiegłego wieku preparatami były Halowax 1013 i Halowax 1014 (3). Pomimo, iż od wielu lat zabroniono ich syntezy oraz stosowania, to właściwości fizyko-chemiczne PCNs (głównie duża stabilność termiczna i chemiczna) sprawiły, że są wszechobecne praktycznie we wszystkich elementach środowiska naturalnego (powietrze, woda, gleba) (2, 4). PCNs należą do zanieczyszczeń, których na przykład nie można wyeliminować z żywności. Ich obecność wykazano w rybach morskich oraz rzecznych, mleku, jajach, przetworach mięsnych, olejach i tłuszczach zwierzęcych (5, 6, 7). Ze względu na ogromną trwałość w środowisku oraz działanie

* Badania zostały dofinansowane z działalności statutowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (Nr 503/3-045-01/503-31-001).

toksyczne, związki te zostały w 2012 r. włączone przez kraje Unii Europejskiej do grupy tzw. *trwałych zanieczyszczeń organicznych (TZO)* uważanych za najgroźniejsze trucizny środowiskowe dla ludzi (8).

Z przeprowadzonych przez nas wcześniej badań toksyczności ogólnej wynika, że mieszaniny polichlorowanych naftalenów wywołują u szczurów działanie neurotoksyczne objawiające się m.in. anoreksją, a także indukują stres oksydacyjny oraz bardzo silną peroksydację lipidów w wątrobie, co prawdopodobnie prowadzi do jej stłuszczenia (9, 10, 11).

Celem pracy była ocena histopatologiczna wątroby pozwalająca na potwierdzenie działania hepatotoksycznego PCNs u samców szczurów szczepu Wistar, którym wielokrotnie drogą dożołądkową podawano dwie mieszaniny polichlorowanych naftalenów, jedną o składzie zbliżonym do preparatu Halowax 1014, i drugą składającą się z izomerów heksachloronaftalenu (heksaCN), uważanego za najbardziej toksyczny kongener.

MATERIAŁY I METODY

Doświadczenia przeprowadzono na samcach szczurów Wistar o masie 265 ± 38 g pochodzących ze Zwierzętarń Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Zwierzęta karmione były standardową paszą „Murigran” (Agropol, Motycz, Polska) i otrzymywały wodę *ad libitum*. W trakcie eksperymentu zwierzęta przebywały w pomieszczeniu o temp. $21\text{--}23^\circ\text{C}$ i wilgotności $55 \pm 5\%$ przy cyklu światło/ciemność wynoszącym 12/12 godz. Eksperyment przeprowadzony był zgodnie z obowiązującymi przepisami i uzyskał zgodę Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach (Nr L/BD/170).

W badaniu zastosowano dwie mieszaniny polichlorowanych naftalenów (PCNs i heksaCN) zsyntetyzowane w Zakładzie Chemii Radiacyjnej Politechniki Łódzkiej, dla których skład poszczególnych kongenerów potwierdzony (jakościowo i ilościowo) metodą GC/MS (chromatograf gazowy Agilent-6890 połączony z detektorem mas Agilent-5973 MSD-El) przedstawiał się następująco: mieszanina PCNs: 54% tetraCN, 8% pentaCN, 23% hexaCN i 14% heptaCN; natomiast mieszanina heksaCN składała się w 94,14% z różnych izomerów heksaCN: 81,17% 1,2,3,5,6,7-heksaCN oraz 12,97% z innych izomerów heksaCN (1,2,3,4,6,7-, 2,3,4,5,6,7-, 1,2,4,5,6,7-heksaCN). Dodatkowo, obie mieszaniny poddano analizie ilościowej w celu sprawdzenia zawartości dioksyn i furanów za pomocą metody rozcieńczeń izotopowych HRGC/HRMS. Zawartość wymienionych zanieczyszczeń nie przekraczała $0,1 \mu\text{g}/100 \mu\text{g}$.

Obie mieszaniny: PCNs i heksaCN podawano szczurom (dla każdej dawki, $n=5$) dożołądkowo (za pomocą sondy) po rozpuszczeniu w oleju słonecznikowym w objętości $0,5 \text{ cm}^3/100 \text{ g}$ masy ciała szczura. Grupa kontrolna ($n=5$) otrzymywała vehiculum (olej słonecznikowy) w takiej samej ilości. Mieszaninę PCNs podawano szczurom codziennie w dawkach: 1, 10 i 100 mg/kg masy ciała przez 7, 14 i 21 dni, natomiast mieszaninę izomerów heksaCN podawano przez 7, 14 i 28 dni w dziennych dawkach: 1 i 10 mg/kg masy ciała. Ze względu na widoczne niekorzystne działanie mieszaniny PCNs podawanej szczurom w dawce 100 mg/kg masy ciała eksperyment

zakończono po 14 dniach. W trakcie trwania obu eksperymentów codziennie kontrolowano zmianę masy ciała zwierząt, a także spożycie paszy i wody.

Po zakończonym okresie podawania badanych substancji, szczury poddano eutanazji poprzez skrwawienie przez punkcję dosercową w narkozie z użyciem dwutlenku węgla po: 7, 14 i 21 dniach narażenia na mieszaninę PCNs oraz po 7, 14 i 28 dniach po podaniu heksaCN. Od każdego zwierzęcia pobrano wątrobę do oceny histopatologicznej oraz surowicę, w której oznaczono aktywności: aminotransferazy alaninowej (AIAT, E.C 2.6.1.2) oraz dehydrogenazy sorbitolowej (SDH, E.C 1.1.1.14). Aktywność aminotransferazy alaninowej i dehydrogenazy sorbitolowej oznaczono zgodnie z metodyką zamieszczoną w publikacji (9). Za jednostkę aktywności AIAT przyjęto liczbę μmoli powstałego w ciągu 1 godz. w temp. 37°C pirogronianu sodu w przeliczeniu na 1cm^3 surowicy, natomiast aktywność SDH wyrażano w jednostkach międzynarodowych IU.

Pobrane do oceny histopatologicznej próbki wątroby utrwalano w 10% buforowanej formalinie ($\text{pH}=7,4$). Następnie uformowano bloczki parafinowe, pocięto je i przeprowadzano przez szereg alkoholi, starannie płukano w wodzie destylowanej i poddano wybarwieniu hematoksyliną i eozyną. Zabarwione skrawki następnie odwadniano w szeregu alkoholi. Tak przygotowane preparaty oceniano w mikroskopie świetlnym. Ocenę zaawansowania procesu zapalnego w wątrobie oparto na międzynarodowej skali (od 1 do 4), w której stosuje się oznaczenia G (grading) – ocena stopnia uszkodzenia hepatocytów oraz rozprzestrzeniania nacieków limfatycznych i S (staging) – ocena w zmianach budowy całego narządu i zaawansowania procesów włóknienia oraz marskości wątroby (12).

Statystyczne opracowanie wyników przygotowano za pomocą programu Statistica 10.0 (StatSoft Inc., USA) korzystając z analizy wariancji ANOVA. Różnice przy $p \leq 0,05$ i przy $p \leq 0,01$ uznano za znamienne statystycznie.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Spożywane z dietą nawet w śladowych ilościach PCNs w sposób nieunikniony mogą kumulować się w różnych narządach i tkankach człowieka przez całe jego życie. Badania populacji generalnej przeprowadzone w licznych krajach na świecie potwierdziły obecność tych związków głównie w tkance tłuszczowej oraz w wątrobie, która jest uważana za narząd krytyczny (1,13,14). Dominującymi kongenerami PCNs zidentyfikowanymi w tkankach ludzi z populacji generalnej były głównie izomery tetraCN, pentaCN oraz dwa izomery heksaCN: 1,2,3,4,6,7-/1,2,3,5,6,7-heksaCN (1,13,14). Dane na temat toksyczności polichlorowanych naftalenów u ludzi dotyczą głównie narażenia zawodowego. U pracowników obserwowano nieswoiste objawy ze strony OUN (zawroty i bóle głowy, kłopoty z koncentracją, czy zahamowanie łaknienia), a także uszkodzenie wątroby o charakterze martwiczym (1). Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że choć niewiele jest badań eksperymentalnych na zwierzętach, to wykazano, że podobnie jak u ludzi, również u szczurów związki te m.in. wywołują działanie anorektyczne prowadzące do istotnego zmniejszenia masy ciała jak również toksycznie wpływają na wątrobę (1, 9, 10). O ile u ludzi narażonych na PCNs zawodowo (droga inhalacyjna) obserwowano efekty toksycz-

nego uszkodzenia wątroby o charakterze martwiczym (1), to w przypadku badań toksyczności ogólnej przeprowadzonych na szczurach narażonych na te związki drogą pokarmową (w paszy lub po podaniu dożołądkowym) działania takiego nie potwierdzono (1, 9, 10). Świadczył o tym m.in. brak zmian w aktywności uznanych enzymów wskaźnikowych charakterystycznych dla uszkodzenia wątroby tj. aminotransferazy alaninowej (AlAT), czy dehydrogenazy sorbitolowej (SDH) – szczególnie czułego markera hepatotoksyczności dla gryzoni (9). Z przeprowadzonych przez nas wcześniej eksperymentów na szczurach, którym podawaliśmy zarówno mieszaninę PCNs jak i heksaCN wynikało, że związki te mogą jednak indukować działanie hepatotoksyczne, ale o charakterze stłuszczenia wątroby (9,10). U narażonych szczurów wykazano hepatomegalię oraz zależną od dawki bardzo silną peroksydację lipidów w wątrobie wyrażoną istotnym wzrostem poziomu dialdehydu malonowego (MDA) (9,10).

Wyniki oceny histopatologicznej wątroby szczurów narażonych na obie podawane wielokrotnie mieszaniny: PCNs i heksaCN przedstawiono w tab. I. Obliczono także częstość występowania zmian stłuszczeniowych o różnym stopniu zaawansowania w zależności od dawki i czasu ekspozycji, co przedstawiono na ryc. 1. Jak wynika z analizy uzyskanych wyników do najczęstszych zmian stwierdzonych w wątrobach narażonych na obie mieszaniny szczurów należały: stłuszczenie, przewlekłe zmiany zapalne oraz zaburzenia odpływu żółci. Przykładowe zdjęcia wskazujące na typowe zmiany histopatologiczne przedstawiono na ryc. 2. Analiza mikroskopowa wątroby szczurów po narażeniu na mieszaninę PCNs i heksaCN wykazała, że natężenie zmian stłuszczeniowych (wyrażone poprzez odsetek hepatocytów ze stłuszczeniem), jak również ich rozmieszczenie (strefy zrazika lub cały zrazik) zależało w większym stopniu od liczby podanych dawek obu substancji aniżeli od wielkości dawek, przy czym mieszanina PCNs składająca z różnych kongenerów wydaje się działać znacznie silniej niż heksaCN, który jest uważany za najbardziej toksyczny kongener. Wyniki wielokrotnego podania mieszaniny PCNs, przedstawione w tab. I wskazują, że efekt stłuszczenia wątroby pojawił się już po podaniu 7-krotnym niezależnie od dawki. Stłuszczenie miało charakter zmian zarówno drobno- jak i wielkowodniczkowych, występujących w centralnej strefie zrazików, a niekiedy obejmujących całe zraziki. Zmiany te dotyczyły od mniej niż 33%, do ponad 66% hepatocytów. Istotność statystyczną stwierdzono po podaniu dwóch wyższych dawek. Po podaniu 14-krotnym obserwowane zmiany choć miały podobny charakter, to obejmowały mniejszy zakres uszkodzonych hepatocytów (do 66% hepatocytów). Stopień zaawansowania stłuszczenia był istotny statystycznie ($p < 0,05$) w porównaniu do grupy kontrolnej tylko po narażeniu na najwyższą dawkę (100 mg/kg m.c.). Natomiast po podaniu 21-krotnym mieszaniny PCNs stwierdzono zależność dawka-efekt. Po narażeniu szczurów na dawkę 10 mg/kg m.c. stłuszczenie wątroby wystąpiło u większej liczby zwierząt (4/5) aniżeli po podaniu dawki 1 mg/kg m.c. (3/5) (ryc. 1). Natomiast stłuszczenie wątroby u szczurów, którym podawano heksaCN (tab. I) odznacza się mniejszą intensywnością. Pierwsze oznaki stłuszczenia wątroby wykazano niezależnie od dawki dopiero po podaniu 14-krotnym. Stłuszczeniu uległo do 66% hepatocytów, głównie w centralnej strefie zrazików. Natomiast cechy wyraźnego stłuszczenia wątroby obejmującego ponad 66% hepatocytów stwierdzono tylko u jednego osobnika dopiero po 28-krotnym narażeniu.

Table 1. Porównanie częstości występowania oraz średniego stopnia zaawansowania zmian histopatologicznych w wątrobie szczurów po wielokrotnym podaniu dożyłkowym mieszaniny PCNs i hekscCN

Table 1. Comparison of the incidence and average severity of lesions of histopathological changes in rat liver following a repeated intragastric PCNs mixture and hexaCN administration

Rodzaj ekspozycji (liczba podanych codziennie dawek)		7					14			21 (PCNs) lub 28 (hekscCN)			
Dawka (mg/kg m.c.)	Badana mieszanina	0	1	10	100	0	1	10	100	0	1	10	
Stłuszczenie wątroby	Mix PCNs	0	3 (1,3)	5 (1,8)**	4 (2)**	0	0	2 (2)	4 (1,3)*	0	3 (1)*	4 (3)*	
	hekscCN	0	0	0	-	0	1 (1)	3 (2)*	-	0	1 (3)	1 (2)	
Przewłokłe zapalenie	G	Mix PCNs	0	2 (3)	2 (3)	3 (2)*	0	0	0	4 (3,3)**	0	0	2 (2)
		hekscCN	0	0	0	-	0	0	1 (3)	-	0	0	1 (3)
	S	Mix PCNs	0	2 (2)	2 (2,5)	3 (2)*	0	0	0	4 (3)**	0	0	2 (1)
		hekscCN	0	0	0	-	0	0	1 (3)	-	0	0	1 (3)
Rozrost kanalików żółciowych (zaburzenia w odpływie żółci)	Mix PCNs	0	2 (0,5)	3 (0,6)*	0	0	0	0	4 (0,8)**	0	0	0	
	hekscCN	0	0	0	-	0	0	1 (0,2)	-	0	0	1 (0,2)	
Martwica	Mix PCNs	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
	hekscCN	0	0	0	-	0	0	1	-	0	0	0	
Bez zmian	Mix PCNs	5	2	0	1	5	5	3	1	5	2	0	
	hekscCN	5	5	5	-	5	4	0	-	5	4	4	

Liczby w nawiasach przedstawiają średni stopień zaawansowania zmian dla danej grupy

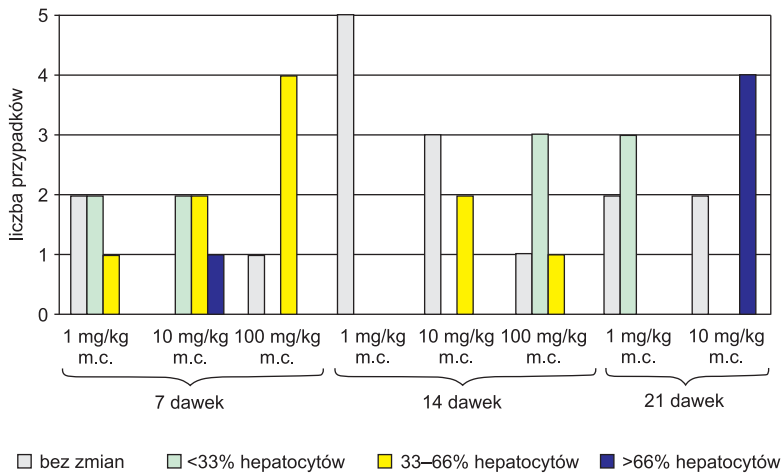
Stłuszczenie wątroby: (1) stłuszczeniu uległo do 33% hepatocytów; (2) stłuszczeniu uległo 33–66% hepatocytów; (3) stłuszczeniu uległo ponad 66% hepatocytów

Przewłokłe zapalenie: G (Grading – skala od 1 do 4); S (Staging – skala od 1 do 4) (12)

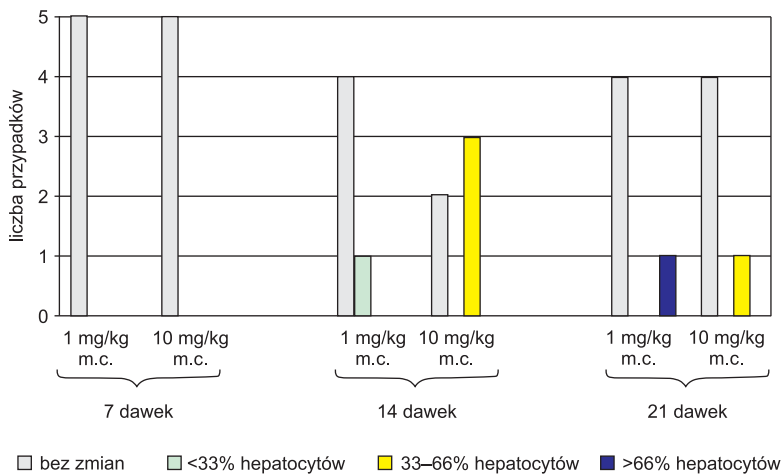
* wynik znamieny statystycznie w stosunku do grupy kontrolnej ($p \leq 0,05$)

** wynik znamieny statystycznie w stosunku do grupy kontrolnej ($p \leq 0,01$).

A) Mieszanina PCNs



B) Mieszanina heksaCN

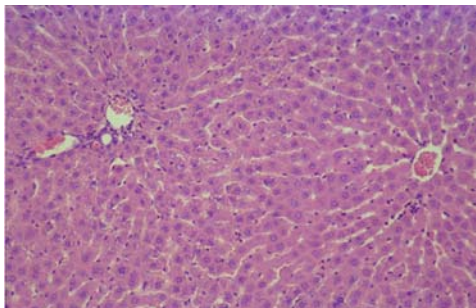


Ryc. 1. Częstość występowania zmian stłuszczeniowych o różnym stopniu zaawansowania w zależności od dawki i czasu ekspozycji na: A) mieszaniny PCNs; B) heksaCN.

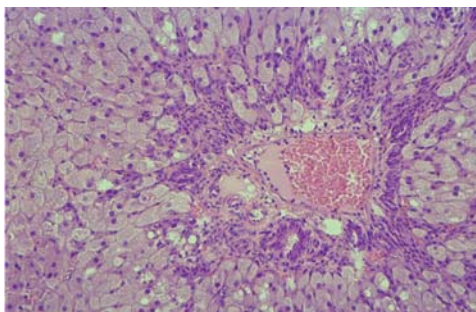
Fig. 1. The incidence of fatty change with the grade of steatosis, depending on the dose and time of exposure: A) mixture of PCNs; B) hexaCN.

Jak wynika z tab. I cechy przewlekłego zapalenia wątroby stwierdzono u szczurów po ekspozycji na mieszaninę PCNs w każdym punkcie czasowym doświadczenia jednak nie dla wszystkich dawek. Stąd pomimo zróżnicowania w nasileniu tych zmian, nie wykazano zależności ani od ilości podań, ani od wielkości zastosowanej dawki. Nasilenie zmian zapalnych wahało się w granicach od G1 S1 do G3 S3, a w pojedynczych przypadkach także do G4. Natomiast u szczurów, którym podawano heksaCN

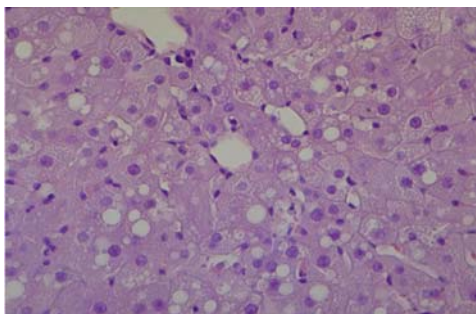
A



B



C



Ryc. 2. Przykładowe zdjęcia wybranych preparatów histopatologicznych wątrób barwionych hematoksylina i eozyną. (A) – Obraz histopatologiczny prawidłowej wątroby szczura (grupa kontrolna) z widoczną żyłą centralną zrazika i przestrzenią wrotno-żółciową, $\times 100$; (B) – Przewlekłe zapalenie G3, S3, rozrost kanalików żółciowych (zaburzenia odpływu żółci). Widoczny rozrost kanalików żółciowych i stłuszczenie (podanie 14 dawek mieszaniny PCNs w dawce 100 mg/kg m.c.), $\times 200$; (C) – stłuszczenie drobno- i wielkowodniczkowe obejmujące ponad 66% hepatocytów po narażeniu na 21 dawek mieszaniny PCNs 10 mg/kg m.c., $\times 400$.

Fig. 2. Histopathological pictures of rat liver sections stained with hematoxylin and eosin. (A) – The liver of the control group animal, showing normal histology of hepatic lobule with central vein and portobiliary space, $\times 100$; (B) – The rat liver after administration of 14 doses of 100 mg/kg b.w. PCNs mixture. Chronic hepatitis G3, S3, proliferation of bile ducts (disorders of bile flow), $\times 200$; (C) – The rat liver after administration of 21 doses of 10 mg/kg b.w. PCNs mixture. Micro- and macrovesicular steatosis, $\times 400$.

Table II. Wybrane parametry biochemiczne (aktywność aminotransferazy alaninowej – AIAT oraz dehydrogenazy sorbitolowej – SDH w surowicy), średnie \pm SD
 Table II. The selected biochemical parameters (activity of alanine aminotransferase – AIAT and sorbitol dehydrogenase – SDH in serum), mean \pm SD

Rodzaj ekspozycji (liczba podanych codziennie dawek)		7			14			21 (PCNs) lub 28 (heksaCN)				
		0	1	10	100	0	1	10	100	0	1	10
Dawka (mg/kg m.c.)	Podawana mieszanka											
	Mix PCNs (9)	2,56 $\pm 0,53$	2,60 $\pm 0,37$	2,74 $\pm 0,16$	2,59 $\pm 0,41$	2,35 $\pm 0,78$	2,42 $\pm 0,49$	2,49 $\pm 0,59$	3,52 $\pm 0,54$	2,93 $\pm 0,70$	2,70 $\pm 0,15$	2,80 $\pm 0,26$
Aktywność AIAT w surowicy (μ mol pirogronianu/cm ³ surowicy)	heksaCN	2,21 $\pm 0,23$	2,82 $\pm 0,40$	2,43 $\pm 0,30$	–	2,69 $\pm 0,45$	2,56 $\pm 1,52$	2,77 $\pm 1,81$	–	2,27 $\pm 0,40$	2,34 $\pm 0,19$	2,70 $\pm 0,59$
	Mix PCNs (9)	3,43 $\pm 0,97$	4,77 $\pm 0,74$	3,82 $\pm 0,37$	5,16 $\pm 2,17$	3,62 $\pm 0,88$	4,31 $\pm 1,12$	4,67 $\pm 0,50$	6,39 $\pm 1,05^*$	3,26 $\pm 0,69$	4,70 $\pm 1,44$	6,66 $\pm 1,03^*$
Aktywność SDH w surowicy (IU)	heksaCN	3,03 $\pm 0,67$	3,17 $\pm 0,24$	3,09 $\pm 0,30$	–	3,52 $\pm 0,67$	3,61 $\pm 0,82$	4,00 $\pm 0,39$	–	3,60 $\pm 0,59$	3,70 $\pm 0,54$	4,66 $\pm 0,83$

(9) Źródło: (Reference)

* wynik znamieny statystycznie w porównaniu do grupy kontrolnej, $\alpha \leq 0,05$

tylko w dawce 10 mg/kg m.c. zarówno po 14- jak i 28-krotnym podaniu odnotowano jedynie pojedyncze przypadki przewlekłego zapalenia o dużym natężeniu (G3 S3).

W wykonanych badaniach histopatologicznych wątroby narażanych na obie mieszaniny polichlorowanych naftalenów stwierdzono ponadto przypadki rozrostu kanalików żółciowych, któremu towarzyszyły zaburzenia w odpływie żółci. Ponieważ stwierdzone zmiany cholestatyczne obserwowano po podaniu 7 lub 14 dawek mieszaniny PCNs, a nie po podaniu 21-krotnym, to może wskazywać na ich przejściowy charakter.

Zarówno badania histopatologiczne wątroby, jak i pomiar aktywności enzymów wskaźnikowych charakterystycznych dla uszkodzenia wątroby (AIAT, SDH) dla obu badanych w pracy mieszanin nie wskazuje na indukcję zmian martwiczych w tym narządzie (tab. II). Martwicę odnotowano tylko w pojedynczych przypadkach, a uzyskane wyniki nie były statystycznie istotne.

WNIOSKI

1. Wyniki oceny histopatologicznej wątroby szczura potwierdziły, że wielokrotne narażenie na badane mieszaniny: PCNs i heksaCN podawane drogą pokarmową prowadzi do indukcji zmian w wątrobie o charakterze stłuszczeniowym, któremu na ogół towarzyszą zmiany zapalne o charakterze przewlekłym.

2. Stwierdzone w badaniach zaburzenia odpływu żółci oraz rozrost kanalików żółciowych obserwowany w pojedynczych przypadkach można uznać za zmianę o charakterze przejściowym.

3. Większe nasilenie zmian histopatologicznych w wątrobie szczurów po narażeniu na mieszaninę różnych kongenerów PCNs w porównaniu do mieszaniny zawierającej izomery heksaCN, może sugerować na interakcję o charakterze synergizmu pomiędzy poszczególnymi kongenerami PCNs.

J. Stragierowicz, A. Daragó, M. Klimeczak, A. Galoch,
J. Duda-Szymańska, M. Skrzypińska-Gawrysiak, A. Kilanowicz

HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN THE RAT LIVER AFTER EXPOSURE TO DIFFERENT MIXTURES OF POLYCHLORINATED NAPHTHALENES. A COMPLEMENTARY STUDY

Summary

The study was carried out to assess histopathological changes in the liver of male Wistar rats. The animals were administered intragastrically two different mixtures of polychlorinated naphthalenes (PCNs) in repeated doses for 7, 14, 21 or 28 days. One of those mixtures showed the composition similar to that used in the preparation most commonly applied in the past (Halowax 1014) and the other one predominantly composed of isomers of hexachloronaphthalene, considered to be the most toxic PCN congener.

PIŚMIENNICTWO

1. IPCS (International Programme on Chemical Safety): Chlorinated naphthalenes. Concise International Chemical Assessment Document No. 34, WHO, Geneva. 2001. – 2. *Falandysz J., Fernandes A., Gregoraszczyk E., Rose M.*: The toxicological effects of halogenated naphthalenes: a review of aryl

hydrocarbon receptor-mediated (dioxin-like) relative potency factors. *J. Environ. Sci. Health. C. Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.*, 2014; 32(3): 239-272. – 3. *Falandysz J., Puzyn T., Szymanowska B., Kawano M., Markuszewski M., Kaliszan R.* i współprac.: Thermodynamic and physico-chemical descriptors of chloronaphthalenes: an attempt to select features explaining environmental behavior and specific toxic effects of these compounds. *Pol. J. Environ. Stud.*, 2001; 10(4): 217-235. – 4. *Falandysz J.*: Polychlorinated naphthalenes: an environmental update. *Environ. Pollut.*, 1998; 101(1): 77-90. – 5. *Falandysz J.*: Chloronaphthalenes as food-chain contaminants: a review. *Food. Addit. Contam.*, 2003; 20(11): 995-1014. – 6. *Fernandes A., Mortimer D., Gem M., Smith F., Rose M., Panton S.*: Polychlorinated naphthalenes (PCNs): congener specific analysis, occurrence in food, and dietary exposure in the UK. *Environ. Sci. Technol.*, 2010; 44(9): 3533-3538. – 7. *Fernandes A., Tlustos C., Rose M., Smith F., Carr M., Panton S.*: Polychlorinated naphthalenes (PCNs) in Irish foods: Occurrence and human dietary exposure. *Chemosphere.*, 2011; 85(3): 622-328. – 8. Rozporządzenie Komisji (UE) nr 519/2012 z dnia 19 czerwca 2012 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 850/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady dotyczące trwałych zanieczyszczeń organicznych w odniesieniu do załącznika I Tekst mający znaczenie dla EOG. Dz.U. L 159 z 20.6.2012, str. 1-4. – 9. *Kilanowicz A., Skrzypinska-Gawrysiak M., Sapota A., Galoch A., Daragó A.*: Subacute toxicity of polychlorinated naphthalenes and their effect on cytochrome P-450. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2009; 72(2): 650-657. – 10. *Kilanowicz A., Skrzypinska-Gawrysiak M.*: Toxicity of hexachloronaphthalene (HxCN) and induction of CYP 1A in rats. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2010; 73(2): 196-205. 11. *Kilanowicz A., Właderna D., Lutz P., Szymczak W.*: Behavioral effects following repeated exposure to hexachloronaphthalene in rats. *Neurotoxicology.*, 2012; 33(3): 361-369. – 12. *Ishak K., Baptista A., Bianchi L., Callea F., De Groote J., Gudat F., Denk H., Desmet V., Korb G., MacSween R.N.*, i współprac.: Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J. Hepatol.*, 1995; 22(6): 696-699. – 13. *Weistrand C., and Noren K.*: Polychlorinated naphthalenes and other organochlorine contaminants in human adipose and liver tissue. *J. Toxicol. Environ. Health. A.*, 1998; 53(4): 293-311. – 14. *Schiavone A., Kannan K., Horii Y., Focardi S., Corsolini S.*: Polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated naphthalenes and polycyclic musks in human fat from Italy: comparison to polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides. *Environ. Pollut.*, 2010; 158(2): 599-606.

Adres: 90-151 Łódź, ul. Muszyńskiego 1