

Karbaminian etylu

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

Ethyl carbamate

Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

prof. dr hab. JADWIGA SZYMAŃSKA
e-mail: jadwiga.szymanska@umed.lodz.pl
dr hab. ELŻBIETA BRUCHAJZER
e-mail: elzbieta.bruchajzer@umed.lodz.pl
dr BARBARA FRYDRYCH
e-mail: barbara.frydrych@umed.lodz.pl
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
ul. J. Muszyńskiego 1
90-151 Łódź

NDS	0,001 mg/m ³
NDSch	nie ustalono
NDSP	nie ustalono
DSB	nie ustalono

Carc. 1B	substancja rakotwórcza kat. 1.B (substancja, która ma potencjalne działanie rakotwórcze dla ludzi)
Ft	substancja działająca szkodliwie na płód
Skóra	wchłanianie substancji przez skórę może być podobne istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 25.06.2014 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 2.04.2015 r.

Słowa kluczowe: karbaminiany etylu, uretan, toksyczność, narażenie zawodowe, NDS.

Keywords: ethyl carbamate, urethane, toxicity, occupational exposure, MAC-TWA.

¹ Wartość NDS karbaminianu etylu została przyjęta dnia 2.04.2015 r. na 78. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i została przedłożona ministrowi pracy i polityki społecznej (wniosek nr 94) w celu jej wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych w środowisku pracy.

² Publikacja opracowana na podstawie wyników 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

Karbaminian etylu (uretan, nr CAS 51-79-6) jest ciałem stałym, bez zapachu, dobrze rozpuszczalnym w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych. W środowisku występuje jako naturalny produkt powstający podczas fermentacji alkoholowej pokarmów i napojów zawierających alkohol. Są one głównym źródłem narażenia populacji generalnej. Techniczne preparaty karbaminianu etylu, otrzymywane na drodze syntezy organicznej, uzyskują wysoką czystość chemiczną.

Karbaminian etylu jest stosowany głównie jako półprodukt w syntezie organicznej (m.in. do wytwarzania żywic aminowych), a jego wodne roztwory jako rozpuszczalniki: pestycydów, fumigantów, kosmetyków oraz środków farmaceutycznych stosowanych w weterynarii.

Narażenie zawodowe w Polsce na karbaminian etylu (drogą inhalacyjną i/lub przez kontakt ze skórą) występuje w kilku zakładach produkujących oraz stosujących go i obejmuje kilkadziesiąt osób rocznie.

U ludzi nie stwierdzono zatruc ostrych karbaminianem etylu. W dostępnym piśmiennictwie nie ma informacji na temat jego toksyczności przewlekłej u ludzi narażonych zawodowo oraz danych epidemiologicznych.

Wartość LD_{50} dla karbaminianu etylu podanego dożołądkowo szczurom wynosi 1810 mg/kg mc. W zatruciu ostrym zwierząt obserwowano działanie znieczulające i nasenne (wykorzystywane w weterynarii) oraz narkotyczne związku. Karbaminian etylu nie wykazywał działania drażniącego i uczulającego na zwierzęta.

Podprzewlekłe narażenie szczurów i myszy na karbaminian etylu podawany w wodzie do picia (o stężeniach $110 \pm 10\,000$ ppm, czyli w dawkach 8 ± 622 mg/kg mc./dzień dla szczurów oraz $18,3 \pm 1667$ mg/kg mc./dzień dla myszy) spowodowało, zależne od wielkości narażenia, działanie immunosupresyjne. U zwierząt obserwowano także nefropatię i kardiomiopatię, a u samców również uszkodzenie wątroby. Oprócz działania immunotoksycznego u myszy stwierdzono zmiany rozrostowe w układzie rozrodczym i płucach. Po 2-letnim narażeniu myszy na karbaminian etylu w wodzie do picia (o stężeniach 10 ± 90 ppm, co odpowiadało dawce $1,17 \pm 12$ mg/kg mc./dzień) zaobserwowano skutki toksycznego działania związku na: wątrobę, serce, płuca oraz macicę. Karbaminian etylu o stężeniach w wodzie wynoszących 30 lub 90 ppm (4 lub 12 mg/kg mc./dzień) spowodował zwiększoną liczbę padnięć zwierząt.

Na podstawie wyników standardowych testów, karbaminian etylu został sklasyfikowany jako substancja o słabym działaniu mutagennym i genotoksycznym.

Wyniki podprzewlekłych i przewlekłych badań nad toksycznością karbaminianu etylu podawanego w różny sposób i różnym gatunkom zwierząt laboratoryjnych, jednoznacznie wskazują na jego rakotwórcze działanie. Związek ten powodował: nowotwory płuc, wątroby, naczyń krwionośnych i skóry, a także chłoniaki i białaczki.

Karbaminian etylu wpływa niekorzystnie na płodność. Stwierdzono jego działanie: embriotoksyczne, fetotoksyczne oraz teratogennie.

Karbaminian etylu wchłania się do organizmu bardzo szybko i całkowicie po narażeniu w różny sposób i natychmiast podlega dystrybucji w organizmie. Większość karbaminianu etylu (ponad 90%) jest metabolizowana do: etanolu, amoniaku i ditlenku węgla, który jest wydalany z powietrzem wydychanym. Około 5% karbaminianu etylu podlega przemianom przy udziale enzymu CYP 2E1 do karbaminianu winylu, a następnie epoksytlenu karbaminianu winylu, który – przez wiązanie z zasadami DNA i RNA – jest odpowiedzialny za genotoksyczne i rakotwórcze działanie związku. Wydalanie metabolitów z moczem i kałem jest niewielkie i wynosi odpowiednio: $2 \pm 8\%$ oraz $0,3 \pm 1\%$.

Karbaminian etylu został zakwalifikowany przez IARC (2010) do grupy 2.A, czyli czynników prawdopodobnie rakotwórczych dla ludzi. Unia Europejska zaklasyfikowała go do grupy 1.B, czyli substancji, które mogą powodować raka.

W żadnym państwie nie ustalono wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla karbaminianu etylu. W SCOEL dla karbaminianu etylu nie ustalono wartości OEL, gdyż związek zaliczono do grupy A rakotwórczości, tj. do genotoksycznych kancerogenów bez możliwości ustalenia wartości dopuszczalnej na podstawie skutku zdrowotnego. Karbaminian etylu wywołuje nowotwory złośliwe u szczurów i myszy w wielu narządach docelowych, po podaniu go w różny sposób. Karbaminian etylu jest substancją: toksyczną, mutagenną i klastogenną, zwłaszcza w obecności układu z aktywacją metaboliczną. Na podstawie danych doświadczalnych (2-letnie narażenie myszy drogą pokarmową) oszacowano, że ryzyko wystąpienia dodatkowego nowotworu płuc u ludzi narażonych w środowisku pracy na karbaminian etylu w Polsce wynosi odpowiednio:

- 10^{-3} dla 40 lat narażenia na karbaminian etylu o stężeniu 0,0093 ($\approx 0,01$) mg/m³
- 10^{-4} dla 40 lat narażenia na karbaminian etylu o stężeniu 0,00093 ($\approx 0,001$) mg/m³
- 10^{-5} dla 40 lat narażenia na karbaminian etylu o stężeniu 0,000093 ($\approx 0,0001$) mg/m³.

Na podstawie tego szacowania zaproponowano przyjęcie wartości NDS karbaminianu etylu na

poziomie ryzyka 10^{-4} , czyli 0,001 mg/m³. Brak jest podstaw do wyznaczenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) i dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB). Zaproponowano także dodatkowe oznakowanie związku jako: „Carc. 1.B”, „Ft – działa szkodliwie na płód” i „skóra – wchłanianie substancji przez skórę może być podobnie istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową”.

Summary

Ethyl carbamate (urethane, CAS 51-79-6) is a solid, odorless and soluble in water and organic solvents. In an environment it occurs as a natural product produced during alcoholic fermentation of foods and beverages containing alcohol. They could be the main source of exposure of the general population. The technical formulations of ethyl carbamate, obtained through organic synthesis, achieve a high chemical purity.

Ethyl carbamate is mainly used as an intermediate in organic synthesis (including manufacturing amino resin), and its aqueous solutions as solvents for pesticides, fumigants, cosmetics and pharmaceuticals used in veterinary medicine.

In Poland, occupational exposure to ethyl carbamate (inhalation and/or skin contact) occurs in several plants producing and using it, and many people are exposed every year.

In humans, no acute poisoning with ethyl carbamate was noticed. There is no information in the available literature about epidemiological data and chronic toxicity in humans occupationally exposed.

The LD₅₀ value of ethyl carbamate given intragastrically to rats is 1810 mg/kg of body weight. In acute intoxication in animals, narcosis and sedation (used in veterinary medicine) and narcotic effects were observed. Ethyl carbamate did not show irritation and sensitization for animals.

Subchronic exposure of rats and mice on ethyl carbamate administered in drinking water (with concentrations of 110 – 10.000 ppm, or in doses of 8 – 622 mg/kg/day for rats and 18.3 – 1667 mg/kg/day for mice) resulted in, depending on the size of the exposure, immunosuppressive activity. In animals, observed nephropathy and cardiomyopathy were also, and in males also damages to liver were observed. In addition to the immunotoxicity in mice, proliferation changes in the genital tract and in the lungs were observed.

After 2-year exposure of mice for ethyl carbamate in drinking water (with concentrations of 10 to 90 ppm, corresponding to a dose of 1.17 to 12 mg/kg/day) the toxic effects for liver, heart,

lung, and uterus were observed. Ethyl carbamate in concentration in water 30 or 90 ppm (4 or 12 mg/kg /day) caused an increasing number of deaths of animals.

Based on the results of standardized tests, ethyl carbamate is classified as a substance with a weak mutagenic and genotoxic effects.

The results of subchronic and chronic toxicity studies of ethyl carbamate administered in various ways and various species of laboratory animals show its carcinogenic effect. The compound was found as a cause of cancer of lung, liver, blood vessels and skin, and lymphomas and leukemia. Ethyl carbamate cause a negative impact on fertility. It has embryotoxic, fetotoxic and teratogenic effects.

Ethyl carbamate is absorbed into an organism rapidly and completely after exposure in different ways and is immediately subjected to distribution in a body. Majority of ethyl carbamate (90%) is metabolized to ethanol, ammonia and carbon dioxide, which is excreted in the expired air. About 5% of ethyl carbamate is transformed by CYP2E1 to the vinyl carbamate and then to vinyl carbamate epoxide which, by binding to DNA and RNA, is responsible for the genotoxic and carcinogenic effects of the compound. The excretion of metabolites in the urine and faeces is low and amounts 2 – 8% and 0.3 – 1%, respectively. Ethyl carbamate classified by IARC (2010) as 2.A group – agents probably carcinogenic to humans. The European Union classified it as 1.B group – substances that can cause cancer.

The maximum allowable concentration (MAC) for ethyl carbamate was not set in any country. SCOEL did not established OEL values, since the compound is in Group A carcinogenicity, i.e., genotoxic carcinogens with no establish limit values based on health effect. Ethyl carbamate causes the cancer in rats and mice in many target organs following administration to a differently ways. Ethyl carbamate is toxic, mutagenic or clastogenic, especially in the presence of a metabolic activation.

The risk of additional lung cancer was estimated on the basis of experimental data (2-year exposure of mice, *p.o.*):

- 10⁻³ to 40 years of exposure to ethyl carbamate at a concentration of 0.0093 (≈0.01) mg/m³
- 10⁻⁴ to 40 years of exposure to ethyl carbamate at a concentration of 0.00093 (≈0.001) mg/m³
- 10⁻⁵ to 40 years of exposure to ethyl carbamate at a concentration of 0.000093 (≈0.0001) mg/m³.

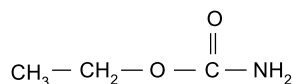
Based on this estimation it is proposed to accept the MAC-TWA value for ethyl carbamate at risk 10⁻⁴ or 0.001 mg/m³. There is no reason to determine the value of short-term exposure limit (STEL) and the biological exposure index (BEI). Additional labeling as „Carc. 1.B”, „Ft – fetotoxicity” and „skin – absorption of substances through the skin may be similarly important, as with inhalation” was proposed.

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

Ogólna charakterystyka karbaminianu etylu (Merck... 2000; GESTIS-Stoffdatabank 2013; HSDB 2014; IARC 1974; IARC 2010; ICSC 2010; NTP 1996; SCOEL 2012):

- wzór sumaryczny C₃H₇NO₂
- wzór strukturalny



- nazwa chemiczna karbaminian etylu
- numer CAS 51-79-6
- nazwa CAS ethyl carbamate
- numer WE 200-123-1

- numer indeksowy 607-149-00-6
- numer RTECS FA8400000
- synonimy: uretan, uretan etylu, ester etylowy kwasu karbaminowego, leucothane, pracarbamin.

Zharmonizowaną klasyfikację i oznakowanie karbaminianu etylu zgodnie z tabelą 3.1. załącznika VI Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie(WE) nr 1907/2006 (Dz. Urz. UE z dnia 31.12.2008 r. L 353) przedstawiono w tabeli 1. i na rysunku 1.

Tabela 1.

Zharmonizowana klasyfikacja oraz oznakowanie substancji stwarzających zagrożenie (rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady nr 1272/2008)

Numer indeksowy	Międzynarodowa terminologia chemiczna	Numer WE	Numer CAS	Klasyfikacja		Oznakowanie		Specyficzne stężenia graniczne i współczynniki „M”	Uwagi
				klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody hasel ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia		
607-149-00-6	uretan; karbaminian etylu	200-123-1	51-79-6	Carc. 1B	H350	GHS08 Dgr	H350		

Objaśnienia:

Carc. 1B – rakotwórczość, kategoria 1.B, H350 – może powodować raka. GHS08 – zagrożenie dla zdrowia, H350 – może powodować raka.



Rys. 1. Piktogram ostrzegawczy – zagrożenie dla zdrowia

Właściwości fizykochemiczne substancji

Właściwości fizykochemiczne karbaminianu etylu (Merck... 2000; GESTIS... 2013; HSDB 2014; IARC 1974; 2010; ICSC 2010; NTP 1996; SCOEL 2012):

- postać ciało stałe występujące w postaci bezbarwnych kryształów lub białego proszku, bez zapachu (w temperaturze pokojowej)
- masa cząsteczkowa 89,09
- temperatura topnienia 48 ÷ 50 °C
- temperatura wrzenia 182 ÷ 184 °C
- temperatura zapłonu 92 °C
- współczynnik refrakcji 1,4144 (w temp. 51 °C)
- log P -0,15
- prężność par 0,005 kPa (w temp. 20 °C); 0,0349 kPa (w temp. 25 °C); 0,666 kPa (w temp. 65,8 °C); 1,333 kPa (w temp. 77,8 °C); 2,666 kPa (w temp. 91 °C); 5,333 kPa (w temp. 105,6 °C); 101,33 kPa (w temp. 184 °C)
- względna prężność par (powietrze = 1) 3,07
- gęstość względna (masa właściwa) d_4^{21} 0,9862 (woda = 1 g/cm³)

– stała Henry'ego 6,43 · 10⁻⁸ atm. m³/mol (w temp. 25 °C)

– rozpuszczalność

 w wodzie bardzo dobra – 1g/0,5 cm³

– rozpuszcza się w: etanolu (1g/0,8 cm³), chloroformie (1g/0,9 cm³), eterze (1g/1,5 cm³), glicerolu (1g/2,5 cm³), oliwie z oliwek (1g/32 cm³).

Występowanie, otrzymywanie, zastosowanie, narażenie

Występowanie

Karbaminian etylu może występować w środowisku jako naturalny produkt powstający najczęściej podczas fermentacji drożdżowej różnych pokarmów i napojów zawierających alkohol: wina, likieru, piwa, jogurtu, chleba, oliwy, sera, sosu sojowego (HSDB 2014). Karbaminian etylu powstaje wtedy podczas etanolizy w reakcji etanolu z fosforanem karbamoilu, który powstaje w reakcji amoniaku oraz ditlenku węgla przy udziale drożdżowej syntazy w obecności ATP (Ough 1976).

Większość piw i win zawiera karbaminian etylu w ilości poniżej 5 µg/l. Najmniejsze stężenia (< 0,6 µg/l) stwierdzono w piwach bezalkoholowych, a największe (192 µg/l) w japońskiej sake. W białym chlebie można znaleźć około 0,9 µg karbaminianu etylu/kg, a w chlebie ciemnym na zakwasie – 2,4 µg/kg. U człowieka o masie ciała 100 kg, spożywającego 250 ml sfermentowanych napojów zawierających 100 µg karbaminianu etylu/l, spo-

życie karbaminianu etylu wynosi 0,25 µg/kg mc. (Ough 1976). Szacuje się także, że średnia dawka spożytego z pokarmem (gdy jego głównym źródłem jest chleb) karbaminianu etylu wynosi $10 \div 20$ ng/kg mc. (Schlatter; Lutz 1990; Zimmerli, Schlatter 1991). Palenie 20 papierosów dziennie może tę ilość podwoić, a konsumpcja 30 ml napojów alkoholowych z owoców pestkowych (karbaminian etylu może dodatkowo powstawać z obecnych w pestkach cyjanków), np. brandy – może dawkę dzienną zwiększyć 60-krotnie (IARC 2010). Władze Kanady przyjęły za wartość NOEL dla gryzoni dawkę 1500 µg/kg mc. i – po zastosowaniu współczynnika bezpieczeństwa (*safety factor*) 5000 – zaproponowały przyjęcie za tolerowaną w dziecie ludzi dawkę dzienną karbaminianu etylu równą 300 ng/kg mc. (Zimmerli, Schlatter 1991).

Otrzymywanie

Karbaminian etylu otrzymuje się przez ogrzewanie (pod ciśnieniem) mocznika w obecności etanolu lub ogrzewanie azotanu(V) mocznika z etanolem i azotanem(III) sodu (Merck... 2001). Karbaminian etylu można także otrzymać w reakcji amoniaku z węglanem etylu lub chloromrówczanem etylu (HSBD 2014). Techniczne preparaty karbaminianu etylu zawierają zazwyczaj 98% czystej substancji, choć zdarzają się przypadki, gdy ta czystość przekracza 99% (HSBD 2014).

Zastosowanie

Karbaminian etylu jest stosowany m.in. jako półprodukt w syntezie organicznej do wytwarzania żywic aminowych. Jego roztwory są używane jako rozpuszczalniki oraz współrozpuszczalniki (*cosolvent*) różnych substancji organicznych, m.in. pestycydów i fumigantów oraz kosmetyków. Jest także związkiem pośrednim przy produkcji *N*-hydroksymetylu, w syntezie środków farmaceutycznych (o działaniu

nasennym, przeciwgorączkowym i przeciwnowotworowym) oraz substancji wykorzystywanych w badaniach biomedycznych (Merck... 2001). Jako środek sieciujący (zwiększający odporność na zużycie i pranie tkanin) jest stosowany także w przemyśle włókienniczym (NTP 2004).

Do lat 60. XX w. karbaminian etylu był stosowany w medycynie, początkowo jako środek uspokajający i nasenny (od 1885 r.), a później także przeciwnowotworowy, pomocniczy w terapii sulfonamidami. Wchodził w skład roztworu wykorzystywanego w leczeniu żylaków oraz jako środek bakteriobójczy działający miejscowo (IARC 1974). Roztwory karbaminianu etylu to także rozpuszczalniki trudno rozpuszczalnych w wodzie leków analgetycznych oraz przeciwbólowych stosowanych po operacjach (Miller 1991). Karbaminian etylu znajduje obecnie zastosowanie w weterynarii i jako anestetyk dla zwierząt laboratoryjnych (Field, Lang 1988; IARC 2010).

Narażenie

Narażenie zawodowe na karbaminian etylu jest związane z jego produkcją i stosowaniem. Do narażenia na ten związek może dochodzić w sposób inhalacyjny (pyły lub pary substancji, która sublimuje gwałtownie w temperaturze 100 °C i pod ciśnieniem 7,3 kPa) lub przez bezpośredni kontakt ze skórą (HSDB 2014).

Z danych na temat narażenia zawodowego w Polsce na karbaminian etylu, pochodzących z lat 2005-2012, wynika, że w $7 \div 9$ zakładach było narażonych kilkadziesiąt osób rocznie (tab. 2.).

Tabela 2.

Narażenie zawodowe na karbaminian etylu w Polsce (Centralny Rejestr... 2012)

Rok	Liczba zakładów	Liczba osób narażonych
2005	7	63
2006	8	73
2007	9	163
2008	7	46
2009	7	84
2010	7	75

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Toksyczność ostra

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji na temat ostrych zatruc ludzi karbaminianem etylu.

Toksyczność przewlekła

W dostępnym piśmiennictwie nie ma informacji o skutkach przewlekłego narażenia zawodowego ludzi na karbaminian etylu. Związek ten może działać immunosupresyjnie. Dane w dostępnym piśmiennictwie wskazują także na możliwość wywoływania przez karbaminian etylu: niedokrwistości aplastycznej, zwłóknienia węzłów chłonnych oraz zapalenia płuc w wyniku zaniku granulocytów (*Field, Lang* 1988).

W Japonii w latach 1950-1975 użyto około 100 mln ampulek (po 2 cm³), w których, oprócz wody, karbaminian etylu był rozpuszczalnikiem (w ilości 7 ÷ 15%) leków analgetycznych i przeciwbólowych stosowanych w szpitalach po operacjach (*Nomura* 1975a). Według obliczeń *Nomury* przez wiele lat pacjenci otrzymywali od 10 do 50 µg karbaminianu etylu/kg mc., czyli około 0,6 ÷ 3 g/60 kg mc. Dawki takie działały kancerogennie na myszy (*Nomura* 1975a). Obserwacje te przyczyniły się m.in. do zakończenia w 1975 r. medycznego stosowania karbaminianu etylu u ludzi (*Miller* 1991).

Podczas stosowania dużych dawek (1 ÷ 6 g/

dzień przez 5 ÷ 109 dni, co dało dawkę skumulowaną 26 ÷ 390 g) karbaminianu etylu jako leku przeciwnowotworowego u pacjentów z białaczką (32 przypadki) i z nowotworami litymi (13 przypadków) obserwowano działania uboczne związku: nudności, wymioty i biegunkę. U chorych na białaczkę notowano zmniejszenie liczby leukocytów we krwi. Skutki te ustępowały po zakończeniu narażenia. Podobne skutki uboczne zanotowano u pacjentów, którzy otrzymywali 0,5 ÷ 2 g karbaminian etylu w doustnych kapsułkach (*Hirschboeck* i in. 1948). Po domięśniowym podaniu karbaminianu etylu (w dawkach 1 ÷ 2 g) u pacjentów obserwowano zawroty głowy i senność (*Paterson* i in. 1946; IARC 2010).

Cadranel i in. (1993) opisali przypadki uszkodzenia wątroby po stosowaniu karbaminianu etylu. Dotyczyły one 11 osób w wieku 21 ÷ 80 lat. W latach 1949-1961 zażywali oni karbaminian etylu przez okres od 36 dni do 6 lat w dawkach dziennych 2 ÷ 7,6 g w leczeniu szpiczaka mnogiego (9 przypadków), raka prostaty (1 przypadek) oraz oparzenia (1 przypadek).

Dane epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie nie ma informacji dotyczących skutków przewlekłego narażenia na działanie karbaminianu etylu. Potrzebę prowadzenia takich badań zgłosił m.in. *Miller* w 1991 r. Zwrócił on uwagę

zarówno na stosowanie przez wiele dziesięcioleci leków zawierających karbaminian etylu w dużych dawkach, jaki i spożywanie pokar-

mów oraz napoi podlegających fermentacji alkoholowej, w której wyniku powstają znaczne ilości karbaminianu etylu (Miller 1991).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra

Po jednorazowym, dożołądkowym podaniu szczurom karbaminianu etylu, wartość LD_{50} ustalono na poziomie 1810 mg/kg mc., co pozwala na zaklasyfikowanie związku do

substancji szkodliwych (tab. 3.). Po podaniu dożołądkowym wartość LD_{50} dla myszy jest nieco większa i wynosi 2500 mg/kg mc. Po dootrzewnowym podaniu związku myszom i szczurom wartość LD_{50} waha się i wynosi 1500 ÷ 1539 mg/kg mc.

Tabela 3.

Mediana dawki śmiertelnej (LD_{50}) karbaminianu etylu dla zwierząt

Gatunek zwierząt	Sposób podania	Wartość LD_{50} , mg/kg	Piśmiennictwo
Mysz	dożołądkowo	2500	HSDB 2014
Szczur		1809	HSDB 2014
Szczur		1810	GESTIS... 2013
Mysz	dootrzewnowo	1539	HSDB 2014
Szczur		1500	
Mysz	podskórnie	1750	HSDB 2014
Mysz	dożylnie	500	HSDB 2014
Szczur	domięśniowo	1400	HSDB 2014

U zwierząt w zatruciu ostrym obserwowano narkotyczne działanie karbaminianu etylu. Stosowane w weterynarii dawki rzędu 2 g/kg mc. (u myszy) były skuteczne do wywołania skutku znieczulającego, a przy tym także narkotycznego (Levin 1956). Po dożołądkowym podaniu karbaminianu etylu myszom Swiss ostre objawy zatrucia (utrata przytomności) utrzymywały się do 5 h (Abraham i in. 1998).

W dostępnym piśmiennictwie nie ma informacji na temat działania drażniącego oraz uczulającego karbaminianu etylu na zwierzęta laboratoryjne.

Toksyczność po podaniu wielokrotnym

U samic myszy (B6C3F1), którym podawano dootrzewnowo dawkę 4000 mg/kg mc. karbaminianu etylu przez 14 dni, obserwowano zaburzenia układu odpornościowego. U myszy stwierdzono zmiany opóźnionej reakcji nad-

wrażliwości oraz zmniejszoną masę śledziony i grasicy. Zanotowano także ostrą mielotoksyczność – zmniejszony o połowę poziom immunoglobulin w surowicy myszy wcześniej immunizowanych dodatkiem zawiesiny erytrocytów owcy (SRBC) lub poliliposacharydami (LPS z *E. coli*) i znaczące zmniejszenie liczby limfocytów NK (*natural killer*), (Luster i in. 1982).

Atrofia śledziony i grasicy występowała u myszy (Balb/c), które otrzymywały dootrzewnowo dawkę 400 mg/kg mc. karbaminianu etylu, przez 7 dni (Cha i in. 2000; 2001).

Właściwości anestetyczne i nasenne obserwowane u zwierząt po podaniu karbaminianu etylu wskazują na jego działanie neurofarmakologiczne, które może być znacznie nasilone po jednoczesnym narażeniu na etanol (Salmon, Zeise 1991; NTP 1996; IARC 2010).

W 4-tygodniowym doświadczeniu podawano myszom karbaminian etylu w wodzie

do picia o stężeniach: 10; 30 lub 90 ppm ($10 \div 90 \text{ mg/dm}^3$ wody), co dla samców odpowiadało dawkom: 35; 110 lub 315 $\mu\text{g/mysz}$, a dla samic – 30; 80 lub 245 $\mu\text{g/mysz}$ (NTP 2004). Po uwzględnieniu średniej masy ciała samców (25 g) i samic (20 g) dawki karbaminianu etylu,

na jakie narażano myszy, wynosiły odpowiednio: 1,4; 4,4 lub 12,6 mg/kg mc. samców/dzień oraz 1,5; 4 lub 12,25 mg/kg mc. samic/dzień. Podawanie myszom karbaminianu etylu przez 4 tygodnie nie spowodowało zmian w przyroście masy ciała (tab. 4.).

Tabela 4.

Toksyczność karbaminianu etylu po podaniu samcom i samicom myszy w wodzie do picia przez 4 tygodnie ($n = 4/\text{płeć/dawkę}$), (NTP 2004)

Stężenie w wodzie, ppm (mg/dm^3 wody)	Dawka		Skutki działania toksycznego
	$\mu\text{g/mysz}$ (płeć)	mg/kg mc. (płeć)	
10 (10)	35 (samce)	1,4 (samce)	brak zmian w przyroście masy ciała samic i samców; u samców: zmniejszone spożycie wody (o 36% w 2. tygodniu i o 20% w 3. tygodniu), zmniejszone spożycie paszy (o 30% w 4. tygodniu)
	30 (samice)	1,5 (samice)	
30 (30)	110 (samce)	4,4 (samce)	brak zmian w przyroście masy ciała; zmniejszenie spożycia wody (o 27% w 2. tygodniu, o 20% w 3. tygodniu i o 15% w 4. tygodniu)
	80 (samice)	4 (samice)	
90 (90)	315 (samce)	12,6 (samce)	brak zmian w przyroście masy ciała samców i samic, u samców zmniejszenie spożycia wody (o 31% w 2. tygodniu), zwiększenie liczby adduktów z DNA: o 25% w wątrobie i o 15% w płucach
	245 (samice)	12,25 (samice)	

U zwierząt obserwowano przejściowe (po 2 tygodniach istotnie statystycznie) zmniejszenie spożycia wody (tab. 4.). W przeprowadzonym doświadczeniu nie zanotowano zmian: względnych i bezwzględnych mas wątroby i płuc, w apoptozie, stężeniu cytochromu P-450 wątrobie, aktywności enzymu CYP 2E1 oraz poziomu GSH w wątrobie. Po największym stężeniu karbaminianu etylu (90 ppm w wodzie, czyli 90 mg/dm^3 wody) u myszy zaobserwowano zwiększoną liczbą adduktów z adenozyną DNA (*etheno*-DNA adducts) o 25% w wątrobie oraz o 15% w płucach (NTP 2004).

Toksyczność podprzewlekła

W 1996 r. opublikowano wyniki badań (NTP 1996), w których karbaminian etylu podawano samicom i samcom szczurów oraz myszy przez 13 tygodni. Zwierzęta były narażane na związek w wodzie do picia. Stężenia karbaminianu etylu w wodzie wynosiły: 110; 330; 1100; 3300

lub 10 000 ppm, czyli $110 \div 10\,000 \text{ mg/dm}^3$ wody. Autorzy dokumentu (NTP 1996) wyliczyli, że dla samic szczurów stężenia te odpowiadały odpowiednio dawkom: 11; 33; 114; 332 lub 525 mg/kg mc./dzień, a dla samców: 8; 23; 78; 287 lub 622 mg/kg mc./dzień. W przypadku myszy podawane dawki karbaminianu etylu – przy założeniu, że zwierzęta ważyły 30 g i spożywały dziennie 5 ml wody – wynosiły: 18,3; 55; 183; 550 lub 1667 mg/kg mc./dzień.

Szczury

Po 13-tygodniowym podawaniu szczurom karbaminianu etylu w wodzie do picia, po najmniejszym z zastosowanych stężeń (110 ppm) u samców szczurów zaobserwowano niewielkie zmniejszenie przyrostu masy ciała i spożycia wody (tab. 5.). U samic takich skutków nie obserwowano. U samców zanotowano ponadto przejściowy spadek (po 23 dniach narażenia): poziomu hemo-

globiny, hematokrytu i liczby erytrocytów we krwi. U samic narażonych na karbaminian etylu o stężeniu 110 ppm (110 mg/dm³) w wodzie (11 mg/kg mc./dzień) przez 13 tygodni stwierdzono zmniejszoną liczbę leukocytów i limfocytów we krwi oraz wzrost aktywności alkalicznej fosfatazy i zwiększony poziom kwasów tłuszczowych we krwi.

Po narażeniu szczurów na karbaminian etylu o większym stężeniu – 330 ppm (300 mg/dm³) w wodzie – u samców zanotowano ponadto zmniejszenie masy grasicy oraz wzrost stężenia azotu mocznikowego (BUN) i aktywności dehydrogenazy sorbitolowej (SDH) we krwi.

Więcej objawów toksycznego działania karbaminianu etylu zaobserwowano po narażeniu szczurów otrzymujących dawkę 78 mg/kg mc./dzień związku dla samców oraz dawkę 114 mg/kg mc./dzień dla samic – stężenie w wodzie 1100 ppm (1100 mg/dm³), (tab. 5.). U obu płci zanotowano zmniejszenie przyrostu masy ciała. U samców, oprócz zmniejszenia liczby leukocytów i limfocytów we krwi, stwierdzono pierwsze objawy toksycznego działania związku na układ odpornościowy – częściowy zanik aparatu chłonnego w śledzionie i spadek masy grasicy. Zaobserwowano także zwiększoną względną masę wątroby oraz zaburzenia parametrów biochemicznych we krwi (wzrost stężenia azotu mocznikowego i aktywności SDH, zmniejszenie aktywności ALAT we krwi). U samic narażonych na dawkę 114 mg/kg mc./dzień (1100 ppm (1100 mg/dm³) w wodzie do picia) karbaminianu etylu, stwierdzono – oprócz zmian hematologicznych (zmniejszenia liczby leukocytów i limfocytów) oraz zwiększenia względnych mas narządów (nerek, wątroby i płuc) – także objawy działania nefrotoksycznego i kardiotoksycznego.

Po narażeniu samców szczurów na dawkę 287 mg/kg mc./dzień (3300 ppm (3300 mg/dm³) w wodzie) karbaminianu etylu stwierdzono: zaburzenia hematologiczne (wzrost poziomu hematokrytu i hemoglobiny, spadek liczby leukocytów i limfocytów), skutki działania immunosupresyjnego (częściowy zanik aparatu

chłonnego w śledzionie, spadek masy grasicy), wzrost względnej masy narządów (nerek, wątroby, płuc, jąder) oraz zaburzenia parametrów biochemicznych we krwi (wzrost poziomu BUN, aktywności SDH i stężenia kwasów tłuszczowych), (tab. 5.).

Wśród samic narażonych na dawkę 332 mg/kg mc./dzień (3300 ppm w wodzie) karbaminianu etylu jedna samica padła przed końcem narażenia. U pozostałych samic zaobserwowano: zmniejszenie masy ciała i spożycia wody, zmiany hematologiczne we krwi (wzrost poziomu hemoglobiny, hematokrytu, spadek liczby leukocytów i limfocytów), objawy działania immunotoksycznego (częściowy zanik aparatu chłonnego w śledzionie), wzrost względnych mas narządów (nerek, wątroby, płuc, grasicy), nefropatię, kardiomiopatię oraz niewielkie objawy uszkodzenia wątroby (ogniska hepatocytów o jasnej cytoplazmie).

Po największej z podawanych dawek karbaminianu etylu: dla samców 622 mg/kg mc./dzień, dla samic 525 mg/kg mc./dzień (czyli 10 000 ppm (10 000 mg/dm³) w wodzie do picia) zanotowano znaczną toksyczność (tab. 5.). Cały okres narażenia (13 tygodni) przeżyły tylko 3 samce i 6 samic (na 10 zwierząt w grupie). U szczurów, które przeżyły, stwierdzono: znaczne zmniejszenie masy ciała i spożycia wody, wychudzenie, zmienioną postawę ciała i nastroszoną sierść. Wyraźnie była zmniejszona także liczba leukocytów i limfocytów we krwi. Zanotowano także (u obu płci): objawy działania immunosupresyjnego (częściowy zanik aparatu chłonnego w śledzionie, węzłach chłonnych i szpiku kostnym, zmniejszenie masy grasicy), zaburzenia parametrów biochemicznych we krwi (wzrost poziomów BUN, ALAT i SDH) oraz wzrost względnej masy narządów (nerek, wątroby, płuc i jąder). U samców zanotowano ponadto stłuszczenie wątroby, a u samic – nefropatię i kardiomiopatię. Wyniki analiz mikroskopowych wykonanych po sekcji zwierząt wykazały zmiany w: tkankach układu limfatycznego, szpiku kostnym, wątrobie, nerkach i sercu.

Tabela 5.

Toksyczność karbaminianu etylu po narażeniu samców i samic szczurów (F344/N; n = 10/płeć/dawkę) w wodzie do picia przez 13 tygodni (NTP 1996)

Stężenie w wodzie do picia, ppm (110 mg/dm ³ wody)	Dawka, mg/kg mc./dzień	Skutki działania toksycznego (w nawiasach podano nasilenie zmian w procentach lub w skali 1 ÷ 4)
110 (110)	8 samce	samce: - niewielkie zmniejszenie przyrostu masy ciała i spożycia wody - przejściowy spadek hematokrytu, hemoglobiny i liczby erytrocytów (o 8%) po 23 dniach narażenia
	11 samice	samice: - brak zmian w przyroście masy ciała i spożyciu wody - ↓ liczby leukocytów (o 22%) i limfocytów (o 24%) - ↑ aktywności AP (o 20%) i stężenia kwasów tłuszczowych (o 55%) we krwi
330 (330)	23 samce	samce: - przejściowy spadek hematokrytu (o 6%), hemoglobiny (o 7%), liczby leukocytów (o 17%) i limfocytów (o 20%) po 23 dniach narażenia - ↓ masy grasicy (o 15%) - ↑ aktywności SDH (o 17%) i stężenia BUN (o 19%)
	33 samice	samice: - ↓ liczby leukocytów (o 19% po 23 dniach i o 29% po 13 tyg.) i limfocytów (o 19% po 23 dniach i o 22% po 13 tyg.) - ↑ aktywności AP (o 7%) - kardiomiopatia u 10/10 (1,1)
1100 (1100)	78 samce	samce: - ↓ przyrostu masy ciała i spożycia wody - ↓ liczby leukocytów o 20% po 23 dniach i o 28% po 13 tyg., limfocytów o 21% po 23 dniach i o 30% po 13 tyg. oraz hematokrytu o 5% po 3 dniach - częściowy zanik aparatu chłonnego w śledzionie u 7/10 (1,1) - ↓ masy grasicy (o 8%); ↑ względnej masy wątroby o 8% - ↑ aktywności SDH o 17% i stężenia BUN o 18% - ↓ aktywności ALAT o 22%
	114 samice	samce: - ↓ przyrostu masy ciała (do 95% w grupie kontrolnej); - ↓ liczby leukocytów (o 22% po 23 dniach i po 13 tyg.) i limfocytów (o 24% po 23 dniach i o 35% po 13 tyg.) - ↑ względnej masy wątroby (o 19%), nerek (o 8%) i płuc (o 17%); - ↑ aktywności AP (o 12%) i stężenia kwasów tłuszczowych we krwi (o 23%) - nefropatia u 4/10 (1,3); - kardiomiopatia u 10/10 (1,1)
3300 (3300)	287 samce	samce: - ↓ przyrostu masy ciała (o 9%) i spożycia wody - ↑ poziomu hematokrytu (o 4%) i hemoglobiny (o 5%) - ↓ liczby leukocytów (o 30% po 23 dniach i po 13 tyg.) i limfocytów (o 40% po 23 dniach i o 35% po 13 tyg.) - częściowy zanik aparatu chłonnego w śledzionie u 10/10 (2,0) - ↑ względnej masy wątroby (o 16%), nerek (o 16%), płuc (o 16%) i jąder (o 10%) - ↓ masy grasicy (o 28%) - ↑ aktywności SDH (o 17%), stężenia kwasów tłuszczowych (o 70%) i BUN (o 12%) - ↓ aktywności ALAT we krwi

cd. tab. 5.

Stężenie w wodzie do picia, ppm (110 mg/dm ³ wody)	Dawka, mg/kg mc./dzień	Skutki działania toksycznego (w nawiasach podano nasilenie zmian w procentach lub w skali 1 ÷ 4)
10 000 (10 000)	332 samice	samice: - przeżyło 9 na 10 szczurów (1 zwierzę padło) - ↓ przyrostu masy ciała (o 14%) i spożycia wody - ↑ poziomu hematokrytu (o 9%) i hemoglobiny (o 7%) - ↓ liczby leukocytów (o 23% po 23 dniach i o 47% po 13 tyg.) i limfocytów (o 9% po 3 dniach, o 32% po 23 dniach i o 52% po 13 tyg.) - częściowy zanik aparatu chłonnego w śledzionie u 10/10 (1,8) - ogniska hepatocytów o jasnej cytoplazmie u 6/10; - ↑ względnej masy wątroby (o 28%), nerek (o 16%), płuc (o 45%) i grasicy (o 28%) - ↑ aktywności AP (o 22%) - nefropatia u 8/10 (1,3) - kardiomiopatia u 10/10 (3,3)
	622 samce	samce: - przeżyło 3 na 10 szczurów - ↓ przyrostu masy ciała (o 24%) i spożycia wody (o 40%) - ↓ liczby leukocytów (o 52% po 23 dniach i o 56% po 13 tyg.) i limfocytów (o 58% po 23 dniach i o 62% po 13 tyg.) - częściowy zanik aparatu chłonnego w śledzionie u 10/10 (2,0) - częściowy zanik aparatu chłonnego w żuchwowych węzłach chłonnych u 5/10 (2,2) - częściowy zanik aparatu chłonnego w krezkowych węzłach chłonnych u 6/8 (2,3) - częściowy zanik mielocytów i erytroblastów w szpiku kostnym u 5/10 (2,0); - stłuszczenie wątroby (stłuszczenie hepatocytów w komórkach środkowej części zrazika) u 5/10 (2,0) - ↑ względnej masy wątroby (o 23%), nerek (o 18%) i jąder (o 28%) - ↓ masy grasicy (o 25%) i względnej masy grasicy (o 4%) oraz masy serca (o 23%) - ↑ aktywności SDH (o 57%), AlAT (o 14%), stężenia kwasów tłuszczowych (o 95%) i BUN (o 23%)
	525 samice	samice: - przeżyło 6 na 10 szczurów - ↓ przyrostu masy ciała (o 34%) i spożycia wody (o 50%) - ↑ poziomu hematokrytu (o 5% po 3 dniach i o 7% po 13 tyg.) i hemoglobiny (o 5% po 3 dniach) - ↓ liczby leukocytów (o 47% po 23 dniach i o 56% po 13 tyg.) i limfocytów (o 10% po 3 dniach, o 52% po 23 dniach i o 61% po 13 tyg.) - częściowy zanik aparatu chłonnego w śledzionie u 10/10 (2,6) - częściowy zanik aparatu chłonnego w żuchwowych węzłach chłonnych u 8/10 (2,3) - częściowy zanik aparatu chłonnego w krezkowych węzłach chłonnych u 5/10 (2,6) - częściowy zanik mielocytów i erytroblastów w szpiku kostnym u 9/10 (2,0); - ↑ względnej masy wątroby (o 21%), nerek (o 35%), płuc (o 49%) i serca (o 27%) - ↓ masy grasicy (o 46%) - ↑ aktywności AP (o 22%) i SDH (o 60%) we krwi; - przejściowy (po 23 dniach) ↑ aktywności AlAT (o 62%) i stężenia BUN (o 33%) - nefropatia u 10/10 (1,8) - kardiomiopatia u 10/10 (3,5)

Objaśnienia:

W tabeli przedstawiono wyniki istotne statystycznie.

↑ – wzrost; ↓ – spadek; AP – alkaliczna fosfataza; BUN – azot mocznikowy we krwi; AlAT – aminotransferaza alaninowa; SDH – dehydrogenaza sorbitolowa.

Myszy

Po 13 tygodniach podawania karbaminianu etylu samcom i samicom myszy (B6C3F1) w wodzie do picia o stężeniu 110 ppm (110 mg/dm³ wody), co odpowiada dawce 18,3 mg/kg mc./

dzień, zanotowano pierwsze objawy działania związku (tab. 6.). U samców stwierdzono wtedy 3-krotny wzrost spożycia wody, a u samic – nieznaczne zmniejszenie przyrostu masy ciała i niewielki wzrost spożycia wody (NTP 1996).

Tabela 6.

Toksyczność karbaminianu etylu po narażeniu samców i samic myszy (B6C3F1; n = 10/płeć/dawkę) z wodą do picia przez 13 tygodni (NTP 1996)

Stężenie w wodzie do picia, ppm (mg/dm ³ wody)	Dawka, mg/kg mc./dzień	Skutki działania toksycznego (w nawiasach podano nasilenie zmian w procentach lub w skali 1 ÷ 4)
110 (110)	18,3	samce: 3-krotny wzrost spożycia wody samice: niewielki spadek przyrostu masy ciała (o 2%) i wzrost spożyciu wody (o 26%)
330	55	samce: brak zmian samice: niewielkie zmniejszenie przyrostu masy ciała (o 3%) i wzrost spożycia wody (o 35%)
1100 (1100)	183	samce: - ↓ przyrostu masy ciała (o 24%) - zapalenie płuc u 4/10 (1,0) samice: - ↓ przyrostu masy ciała (o 34%) i wzrost spożycia wody (o 44%) - zapalenie płuc u 7/10 (1,7) - rozrost nabłonka oskrzelików u 4/10 (1,0) - nefropatia u 8/10 (2,8) - zmniejszenie (atrofia) jajników u 7/10 (2,6)
3300 (3300)	550	samce: - wszystkie myszy padły w 4. tygodniu - zapalenie płuc u 10/10 (1,8) - rozrost oskrzelików w płucach u 10/10 (1,6) - częściowy zanik aparatu chłonnego w śledzionie u 9/10 (2,2) - częściowy zanik aparatu chłonnego w żuchwowych węzłach chłonnych u 8/10 (2,9) - częściowy zanik aparatu chłonnego w krezkowych węzłach chłonnych u 7/10 (2,6) - częściowy zanik aparatu chłonnego w grasicy u 7/7 (3,3) samice: - wszystkie myszy padły: 1 mysz w 4. tygodniu, 9 myszy w 5. tygodniu - zapalenie płuc u 10/10 (2,0) - rozrost oskrzelików w płucach u 5/10 (1,0) - częściowy zanik aparatu chłonnego w śledzionie u 8/10 (2,6) - częściowy zanik aparatu chłonnego w żuchwowych węzłach chłonnych u 8/8 (3,6) - częściowy zanik aparatu chłonnego w krezkowych węzłach chłonnych u 8/9 (3,3) - częściowy zanik aparatu chłonnego w grasicy u 8/8 (3,8) - zwyrodnienie pęcherzyków w jajnikach u 9/10 (1,3)

cd. tab. 6.

Stężenie w wodzie do picia, ppm (mg/dm ³ wody)	Dawka, mg/kg mc./dzień	Skutki działania toksycznego (w nawiasach podano nasilenie zmian w procentach lub w skali 1 ÷ 4)
10 000 (10000)	1667	samce: - wszystkie myszy padły: 7 myszy w 2. tygodniu, 3 myszy w 3. tygodniu - zapalenie płuc u 10/10 (1,6) - nefropatia u 9/10 (2,1) - ogniska krwotoczne w mięśniu sercowym u 9/10 (1,4) - częściowy zanik aparatu chłonnego w śledzionie u 10/10 (3,9) - częściowy zanik aparatu chłonnego w żuchwowych węzłach chłonnych u 8/8 (3,9) - częściowy zanik aparatu chłonnego w krezkowych węzłach chłonnych u 8/8 (3,9) - częściowy zanik aparatu chłonnego w grasicy u 7/7 (4,0) - częściowy zanik mielocytów i erytroblastów w szpiku kostnym u 10/10 (2,7) - zwyrodnienie nabłonka kanalików nasiennych w jądrach u 5/10 (1,6) samice: - wszystkie myszy padły: 5 w 2. tygodniu i 5 w 3. tygodniu - zapalenie płuc u 10/10 (1,5) - nefropatia u 4/10 (2,3) - ogniska krwotoczne w mięśniu sercowym u 6/10 (2,3) - mineralizacja (zwapnienie) w mięśniu sercowym u 5/10 (1,6) - częściowy zanik aparatu chłonnego w śledzionie u 9/10 (3,8) - częściowy zanik aparatu chłonnego w żuchwowych węzłach chłonnych u 10/10 (3,7) - częściowy zanik aparatu chłonnego w krezkowych węzłach chłonnych u 7/7 (3,6) - częściowy zanik aparatu chłonnego w grasicy u 7/7 (3,9) - częściowy zanik mielocytów i erytroblastów w szpiku kostnym u 8/10 (2,0) - zwyrodnienie pęcherzyków w jajnikach u 8/10 (1,6)

Objaśnienia:

W tabeli przedstawiono wyniki istotne statystycznie.

↑ – wzrost; ↓ – spadek; AP – alkaliczna fosfataza; BUN – azot mocznikowy we krwi; AlAT – aminotransferaza alaninowa; SDH – dehydrogenaza sorbitolowa.

Po narażeniu myszy na karbaminian etylu o stężeniu 1100 ppm (1100 mg/dm³) w wodzie (183 mg/kg mc./dzień) zaobserwowano wyraźne zmniejszenie przyrostu masy ciała oraz zapalenie płuc u samców i samic. U samic stwierdzono ponadto: rozrost nabłonka oskrzelików, nefropatię i atrofię jajników.

Stężenie 3300 ppm (3300 mg/dm³) karbaminianu etylu w wodzie (550 mg/kg mc./dzień) spowodowało padnięcie wszystkich myszy. Samce padły w 4. tygodniu narażenia, a samice – w 5. tygodniu (1 samica w 4. tygodniu), (tab. 6.). Na podstawie wyników badania sekcijnego wykazano, że wszystkie zwierzęta miały zapalenie płuc. Rozrost oskrzelików zanotowano

u wszystkich samców i 50% samic. U myszy stwierdzono także działanie immunosupresyjne związku (częściowy zanik aparatu chłonnego w: śledzionie, węzłach chłonnych, grasicy). U samic zaobserwowano także zwyrodnienie pęcherzyków w jajnikach.

Podobne skutki, ale silniej zaznaczone, zanotowano po narażeniu myszy na karbaminian etylu o stężeniu 10 000 ppm (10 000 mg/dm³) w wodzie (1667 mg/kg mc./dzień). Należy jednak pamiętać, że zwierzęta nie przeżyły do końca okresu narażenia: 7 samców padło już w 2. tygodniu, a 3 – w 3. tygodniu narażenia. Po 5 samic padło w 2. i 3. tygodniu narażenia. U zwierząt tych przed padnięciem

zaobserwowano: znaczne wychudzenie, letarg, nastroszoną sierść i zmienioną postawę ciała. U myszy (samców i samic) stwierdzono ponadto nefropatię i ogniska krwotoczne w mięśniu sercowym. U samców notowano zwyrodnienie nabłonka kanalików nasiennych w jądrach, a u samic – zwyrodnienie pęcherzyków w jajnikach (tab. 6.).

Karbaminian etylu po dwóch największych dawkach – 550 lub 1667 mg/kg mc./dzień (3300 lub 10 000 ppm w wodzie) spowodował padnięcie wszystkich myszy. Po trzech największych dawkach (183 ÷ 1667 mg/kg mc./dzień, czyli 1100 ÷ 10 000 ppm (lub mg/dm³) w wodzie) w badaniach mikroskopowych stwierdzono zmiany w: tkankach układu limfatycznego, szpiku kostnym, płucach, nerkach, sercu, wątrobie, jajnikach i jądrach (NTP 1996).

Podsumowanie

Podprzewlekłe narażenie szczurów i myszy na karbaminian etylu powodowało działanie immunosupresyjne (częściowy zanik aparatu chłonnego w: śledzionie, węzłach chłonnych, grasicy i szpiku kostnym), nefrotoksyczne i kardi toksyczne. U szczurów zanotowano także skutki działania hepatotoksycznego, a u myszy – zmiany rozrostowe w układzie rozrodczym oraz płucach.

Toksyczność przewlekła

W czasie 2-letnich eksperymentów, w których narażano myszy na karbaminian etylu – oprócz oceny skutków kancerogennych – przeprowadzono także badania działania toksycznego niezwiązanego ze skutkami odległymi. W doświadczeniu tym samce i samice myszy narażano na karbaminian etylu o stężeniach: 10; 30 lub 90 ppm w wodzie do picia (NTP 2004).

Autorzy opracowania podali, że stężenia karbaminian etylu odpowiadały dawkom: 40; 115 lub 360 µg/samca myszy oraz: 35; 105 lub 325 µg/samicę myszy (tab. 7.). Po 2 latach podawania myszom karbaminianu etylu o stężeniu 10 ppm (10 mg/dm³) w wodzie (1,33 mg/kg mc./dzień dla samców oraz 1,167 mg/kg mc./dzień dla samic) obserwowano skutki działania toksycznego związku na wątrobę (rozszerzenie naczyń, ogniska hepatocytów o kwasochłonnej cytoplazmie) oraz serce (rozszerzenie naczyń u samców). U samic zaobserwowano także: rozszerzenie naczyń i zakrzepice w macicy oraz rozrost nabłonków pęcherzyków płucnych (tab. 7.). Po narażeniu na karbaminian etylu o stężeniu 30 ppm w wodzie do picia objawy obserwowane po mniejszym stężeniu nasilały się, a ponadto stwierdzono zmiany w sercu (rozrost śródsierdzia). U samic zanotowano także zwiększoną liczbę padnięć zwierząt: 21 samic na 48 padło (w grupie kontrolnej 10/48).

Po największym z zastosowanych stężeń karbaminianu etylu – 90 ppm (90 mg/dm³) w wodzie do picia, czyli 12 mg/kg mc./dzień dla samców i 10,8 mg/kg mc./dzień dla samic – zaobserwowano bardzo dużą liczbę padnięć zwierząt: padło 40 na 48 samców (w grupie kontrolnej 21/48) i 47 na 48 samic (w grupie kontrolnej 10/48). Nastąpił także wyraźny spadek przyrostu masy ciała myszy, a także, obserwowane po mniejszych stężeniach, znaczne nasilenie objawów działania toksycznego związku na: wątrobę (ogniska kwasochłonne, rozszerzenie naczyń, zakrzepica), serce (rozrost śródsierdzia, rozszerzenie naczyń), macicę (zakrzepica, rozszerzenie naczyń), płuca (rozrost nabłonka oskrzelików płucnych), (tab. 7.).

Oprócz tego zanotowano wiele zmian o charakterze nowotworowym, które opisano w rozdziale „Działanie rakotwórcze”.

Tabela 7.

Toksyczność karbaminianu etylu po narażeniu samców i samic myszy ($n = 48$ /płeć/dawkę) na związek z wodą do picia przez 2 lata (NTP 2004)

Stężenie w wodzie, ppm, (mg/dm ³ wody)	Dawka		Skutki działania toksycznego (w nawiasach podano nasilenie zmian w procentach lub w skali 1 ÷ 4)
	µg/mysz	mg/kg mc. ^a	
10 (10)	40/samca	1,33 (samce)	– ogniska hepatocytów o kwasochłonnej cytoplazmie u 7/47 (15%, grupa kontrolna = 13%) – rozszerzenie naczyń wątrobowych u 4/47 (9%, grupa kontrolna = 0) – rozszerzenie naczyń w sercu u 1/48 (2%, grupa kontrolna = 0)
	35/samicę	1,17 (samice)	– ogniska hepatocytów o kwasochłonnej cytoplazmie u 14/47 (30%, grupa kontrolna = 6%) – wątroba: rozszerzenie naczyń u 3/47 (6%, kontrola = 0), zakrzepica u 1/47 (2%, grupa kontrolna = 0) – macica: rozszerzenie naczyń u 4/47 (8%, kontrola = 0), zakrzepica u 1/47 (2%, grupa kontrolna = 0)
30 (30)	115/samca	3,83 (samce)	– ogniska hepatocytów o kwasochłonnej cytoplazmie u 19/46 (41%, grupa kontrolna = 13%) – wątroba: rozszerzenie naczyń u 6/46 (13%, grupa kontrolna = 0) – serce: rozrost śródsierdzia u 4/47 (8%, grupa kontrolna = 0) rozszerzenie naczyń u 2/47 (4%, grupa kontrolna = 0) – pęcherzyki płucne: rozrost nabłonka u 6/47 (12%, grupa kontrolna = 4%)
	105 /samicę	3,5 (samice)	– zwiększenie padnięć zwierząt 21/48 (grupa kontrola 10/48) – ogniska hepatocytów o kwasochłonnej cytoplazmie u 32/47 (68%, grupa kontrolna = 6%) – wątroba: rozszerzenie naczyń u 10/47 (21%, grupa kontrolna = 0), zakrzepica u 1/47 (2%, grupa kontrolna = 0) – serce: rozrost śródsierdzia u 3/48 (6%, grupa kontrolna = 2%) – macica: rozszerzenie naczyń u 6/48 (12%, grupa kontrolna = 0), zakrzepica u 4/48 (8%, grupa kontrolna = 0) – pęcherzyki płucne: rozrost nabłonka u 4/48 (8%, grupa kontrolna = 0)
90 (90)	360 samca	12 (samce)	– zwiększenie padnięć zwierząt 40/48 (grupa kontrolna 21/48) – wyraźne zmniejszenie przyrostu masy ciała – ogniska hepatocytów o kwasochłonnej cytoplazmie u 28/44 (64%, grupa kontrolna = 13%) – wątroba: rozszerzenie naczyń u 17/44 (39%, grupa kontrolna = 0) – serce: rozrost śródsierdzia u 9/48 (18%, grupa kontrolna = 0) rozszerzenie naczyń u 11/48 (23%, grupa kontrolna = 0) – pęcherzyki płucne: rozrost nabłonka u 11/48 (23%, grupa kontrolna = 4%)
	325 samicę	10,8 (samice)	– zwiększenie padnięć zwierząt 47/48 (grupa kontrolna 10/48) – wyraźne zmniejszenie przyrostu masy ciała – ogniska hepatocytów o kwasochłonnej cytoplazmie u 20/47 (43%, grupa kontrolna = 6%) – wątroba: rozszerzenie naczyń u 24/47 (51%, grupa kontrolna = 0), zakrzepica u 11/47 (23%, grupa kontrolna = 0) – serce: rozrost śródsierdzia u 6/46 (12%, grupa kontrolna = 2%) – macica: rozszerzenie naczyń u 7/46 (15%, grupa kontrolna = 0), zakrzepica u 7/46 (9%, grupa kontrolna = 0) – pęcherzyki płucne: rozrost nabłonka u 7/47 (15%, grupa kontrolna = 0)

Objaśnienia:

^a Dawki wyrażone w miligramach na kilogram masy ciała (mg/kg mc.) myszy/dzień wyliczono przy założeniu, że myszy ważyły średnio 33 g.

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Mutagenne i genotoksyczne działanie karbaminianu etylu badano z użyciem testów w warunkach *in vitro* i *in vivo* (NPT 1996; IARC 2010; SCOEL 2012).

Uzyskane w trakcie prowadzenia standardowych eksperymentów wyniki wskazują, że karbaminian etylu wykazuje słabe działanie mutagenne i genotoksyczne (tab. 8.).

Na podstawie wyników badań prowadzonych na organizmach prokariotycznych (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* i *Salmonella Typhimurium*) wykazano, że karbaminian etylu jest słabym mutagenem. Podobne wyniki uzyskano w testach z użyciem grzybów, przy czym właściwości mutagenne i genotoksyczne karbaminianu etylu zależały od użytego do badań szczepu bakterii.

Badanie mutacji powrotnych przeprowadzono na szczepach *Salmonella Typhimurium*: TA100, TA1535, TA1537, TA97 i TA98 bez aktywacji i z aktywacją (frakcja S9). Wynik dodatni uzyskano jedynie w doświadczeniu z użyciem szczepu TA1535 w obecności frakcji S9.

Na podstawie większości otrzymanych danych wykazano, że karbaminian etylu może powodować uszkodzenie DNA w komórkach ssaków zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*.

Testy w warunkach *in vitro* z użyciem komórek ssaków, które przeprowadzono w celu oceny działania klastogennego związku, nie dały jednoznacznej odpowiedzi, jednak sporadyczne dodatnie wyniki dotyczyły testów, w których stosowano duże dawki karbaminianu etylu wraz z aktywacją metaboliczną. Na podstawie wyników tych doświadczeń wykazano również, że karbaminian etylu w warunkach *in vitro* nie wywołuje mutacji punktowych.

Na podstawie wyników uzyskanych w badaniach w warunkach *in vitro*, w których oceniano klastogenne działanie karbaminianu etylu na limfocytach ludzkich, stwierdzono, że karbaminian etylu indukuje wymianę chro-

matyd siostrzanych oraz uszkodzenie DNA (pomiar nieplanowej syntezy DNA) zarówno z aktywacją metaboliczną, jak i bez aktywacji metabolicznej. Nie stwierdzono natomiast w tych komórkach indukcji mikrojąder, a w ludzkich komórkach rozrodczych także aberracji chromosomalnych. Również ujemne wyniki uzyskano w testach oceniających mutacje genowe, które przeprowadzono z użyciem ludzkich fibroblastów.

Wyniki testów w warunkach *in vivo* były w zdecydowanej większości dodatnie. W badaniach tych stosowano karbaminian etylu o dużym zakresie stężeń i z użyciem wielu modeli eksperymentalnych (myszy, szczury, chomiki) oraz tkanek (wątroba, szpik kostny, płuca). Wykazano, że karbaminian etylu wywołuje: aberracje chromosomowe, wymianę chromatyd siostrzanych, mutacje genowe, uszkodzenie DNA i tworzenie mikrojąder. Wykazano również, że karbaminian etylu podawany w pokarmie może powodować sprzężone z płcią letalne mutacje recesywne oraz translokacje u samców muszki owocowej *Drosophila melanogaster*.

W badaniach oceniających zdolność karbaminianu etylu do indukcji nowotworów wykazano słabą korelację między działaniem rakotwórczym a klastogennym związkiem.

Działanie rakotwórcze karbaminianu etylu jest związane z metabolizmem tego związku, w którego wyniku jest on utleniany przez CYP2E1 do karbaminianu winylu i epoksytlenu karbaminianu winylu (Dahl i in. 1978). Potwierdzeniem tej hipotezy są wyniki badań, w których wykazano silną indukcję raka wątrobowokomórkowego w wyniku narażenia na karbaminian winylu (Dahl i in. 1980). Park i in. udowodnili, że epoksytlenek jest silniejszym kancerogenem dla wątroby od karbaminianu winylu (Park i in. 1993).

Na udział CYP2E1 w tworzeniu metabolitów karbaminianu etylu odpowiedzialnych za

działanie mutagenne i rakotwórcze wskazuje by oraz płuc u myszy CYP2E1-null (*Hoffer i in.* 2005)
fakt zmniejszenia proliferacji komórek wątro-

Tabela 8.

Wyniki badań działania mutagennego i genotoksycznego karbaminianu etylu (IARC 2010; NTP 1996)

Rodzaj testu	Rodzaj komórek	Aktywacja metaboliczna	Wynik
W warunkach in vitro			
Mutacje genowe	<i>Salmonella</i> Typhimurium: TA100, TA102, TA1537, TA97, TA98 <i>Salmonella</i> Typhimurium: TA100, TA102, TA1537, TA97, TA98 <i>Salmonella</i> Typhimurium: TA1535	– +	negatywny
	<i>Escherichia coli</i> WP2 uvrA <i>Escherichia coli</i> PQ37SOS	– + – +	negatywny pozytywny słabo dodatni negatywny
Test rekombinacyjny	limfocyty mysie L5178Y locus tk	–	negatywny
Translokacja chromosomów	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> YB110	– –	negatywny negatywny
Wymiana chromatyd siostrzanych	komórki jajnika chomika chińskiego	– +	pozytywny pozytywny
	komórki płuc V79 chomika chińskiego	– +	negatywny negatywny
	ludzkie limfocyty	– +	pozytywny negatywny
	komórki szpiku kostnego myszy	– +	negatywny negatywny
Nieplanowa synteza DNA	ludzkie fibroblasty	– +	pozytywny pozytywny
	komórki HeLa	– +	pozytywny pozytywny
Pęknięcie pojedynczej nici DNA	hepatocyty szczurze szczurze komórki mózgowe	– +	negatywny pozytywny
W warunkach in vivo			
Mutacje genowe	komórki płuc chomika chińskiego komórki: płuc, wątroby, śledziony, szpiku kostnego myszy lac Z	– –	pozytywny
Wymiana chromatyd siostrzanych	spermatogonie samców myszy komórki szpiku myszy limfocyty mysie komórki płuc myszy komórki wątroby myszy komórki szpiku kostnego chomików chińskich i złocistych	– – – – – –	pozytywny
Test mikrojądrowy	erytrocyty mysie komórki szpiku kostnego myszy retikulocyty krwi obwodowej myszy	– – –	pozytywny
Aberracje chromosomowe	komórki grasicy, śledziony i szpiku kostnego myszy komórki szpiku kostnego szczurów	– –	pozytywny
Nieplanowa synteza DNA	spermatogonie myszy	–	pozytywny
Test dominujących mutacji letalnych	myszy	–	negatywny
Test mutacji letalnych związanych z płcią	<i>Drosophila melanogaster</i>	–	pozytywny

Działanie rakotwórcze

Działanie rakotwórcze na ludzi

W dostępnym piśmiennictwie nie ma danych o udowodnionym rakotwórczym działaniu karbaminianu etylu na ludzi.

Działanie rakotwórcze na zwierzęta

Narażenie kilku gatunków gryzoni na karbaminian etylu jednorazowo i wielokrotnie w różny sposób było przyczyną wystąpienia nowotworów o różnym umiejscowieniu (tab. 9.).

Karbaminian etylu wywoływał łagodne i/lub złośliwe nowotwory płuc (gruczolak lub rak płaskokomórkowy) u:

- myszy narażanych drogą: pokarmową, inhalacyjną, dootrzewnową, dermalną
- noworodków myszy narażanych podskórnio lub dootrzewnowo
- chomików narażanych dożołądkowo lub podskórnio
- noworodków chomików narażanych podskórnio.

Rak wątroby (rak wątrobowokomórkowy) wystąpił u:

- dorosłych i noworodków myszy po narażeniu: dożołądkowym, dootrzewnowym oraz podskórnio
- noworodków szczurów narażanych dootrzewnowo
- samic szczurów narażanych dożołądkowo
- chomików narażanych dożołądkowo.

Guzy o charakterze łagodnym i/lub złośliwym naczyń krwionośnych (naczyniak lub naczylniakomięsak, m.in.: wątroby, śledziony, macicy) były wynikiem narażenia na karbaminian etylu podawany w wodzie pitnej myszom i chomikom obu płci oraz samicom szczurów.

Chłoniaka złośliwego lub białaczkę stwierdzono po:

- dożołądkowym narażeniu myszy i chomików obu płci oraz samic szczurów

- dootrzewnowym lub podskórnym narażeniu noworodków myszy.

Narażenie na karbaminian etylu wywołało także nowotwory skóry. U dorosłych chomików narażanych na badany związek z wodą pitną lub podskórnio stwierdzono czerniaka. Inne nowotwory skóry obserwowano u myszy po narażeniu dożołądkowym i dermalnym.

Ponadto narażenie na karbaminian etylu skutkowało wystąpieniem guzów w następujących tkankach:

- gruczoł sutkowy:
 - samice myszy, szczurów i chomików, narażenie dożołądkowe
 - samice myszy, narażenie dermalne
 - samice szczurów, narażenie dootrzewnowe
- gruczoł Harderiana:
 - myszy, narażenie dermalne
 - noworodki myszy, narażenie dootrzewnowe lub podskórnio
- przedśołądek:
 - dorosłe chomiki, narażenie dożołądkowe i podskórnio
 - noworodki chomików, narażenie podskórnio.

Zmiany nowotworowe spotykane rzadziej u gryzoni dotyczyły: jajników, macicy, gruczolu Zymbala, kory nadnerczy oraz przewodu pokarmowego.

Zmiany o charakterze nowotworowym odnotowano również jako wynik narażenia prenatalnego zwierząt. W badaniach przeprowadzonych na myszach i szczurach narażanych na karbaminian etylu: dootrzewnowo, dożylnie oraz podskórnio, stwierdzono obecność: wątrobiaków, nowotworów jajnika, gruczolaków płuc oraz mięsaków serca.

W przewlekłym (70-tygodniowym) doświadczeniu karbaminian etylu podawano także samcom myszy (B6C3F1) w wodzie do picia o stężeniach: 0,6; 3; 6; 60 lub 600 ppm (0,6 ÷ 600 mg/dm³),

co odpowiadało dawkom: 0,095; 0,58; 1; 10 lub 100 mg/kg mc./dzień (*Inai* i in. 1991). Tylko po największej dawce (100 mg/kg mc./dzień, czyli 600 ppm w wodzie do picia) stwierdzono wyraźne skutki toksyczne działania związku. Wszystkie myszy otrzymujące tę dawkę padły przed końcem eksperymentu, między 23. a 46. tygodniem narażenia. U myszy narażanych na dawkę 10 mg/kg mc./dzień (60 ppm (60 mg/dm³) w wodzie) karbaminianu etylu zanotowano zmiany w wątrobie (plamicę u 14% myszy, w grupie kontrolnej – 0%) oraz gruczolaki pęcherzykowo-oskrzelikowe (u 68% myszy, w grupie kontrolnej 18,4%). Znacznie więcej skutków działania toksycznego karbaminianu etylu u zwierząt, głównie nowotworów,

zaobserwowano po dawce 100 mg/kg mc./dzień (600 ppm (600 mg/dm³) w wodzie) m.in.: nowotworów płuc i wątroby, zmian w sercu (naczyniak krwionośny u 9,1% myszy, w grupie kontrolnej 0%), (tab. 9.). Autorzy opracowania wyznaczyli wielkość VSD (*virtually safety dose*), która wynosi: dla nowotworów wątroby $7,2 \cdot 10^{-5}$ mg/kg mc./dzień, a dla nowotworów płuc – $1,8 \cdot 10^{-4}$ mg/kg mc./dzień. Uzyskana w tym doświadczeniu wielkość VSD równa 0,18 µg/kg mc./dzień (oszacowana na podstawie przypadków nowotworów płuc) jest zbliżona do wyznaczonego w Kanadzie normatywu spożycia karbaminianu etylu w napojach alkoholowych, który wynosi 0,3 µg/kg mc./dzień (*Inai* i in. 1991).

Tabela 9.

Rodzaj i częstość występowania nowotworów obserwowane u zwierząt narażanych na karbaminian etylu podawany w różny sposób

Gatunek, szczep, płeć i liczba zwierząt	Warunki narażenia	Rodzaj zmiany	Częstość zmiany		Piśmien- nictwo
			grupa kontrolna	grupa badana	
Narażenie przez układ pokarmowy					
Myszy Swiss albino, <i>n</i> =100/płeć ♂,♀	dawka 667 mg/kg mc./dzień 10 dni w wodzie pitnej obserwacja 42 tyg.	gruczolak płuc chłoniakomięsaki	♂ 9 ♀ 23 ♂ 4 ♀ 16	78 86 15 28	<i>Toth</i> i in. 1961
Myszy albino CTM, ♂,♀ <i>n</i> = 100/płeć	dawka 667 mg/kg mc./dzień w wodzie pitnej 10 dni (1 lub 2 razy) 5 dni (2 lub 3 razy) obserwacja 60 ÷ 80 tyg.	gruczolak płuc nowotwór sutka	♂,♀ 2 ÷ 7% ♀ 15/100	80 ÷ 84% 34/83	<i>Della Porta</i> i in. 1963
Myszy C3H, <i>n</i> = 32 ÷ 36 ♀	dawka 167 mg/kg mc./dzień 13 tyg. w wodzie pitnej obserwacja 76 tyg.	gruczolak płuc białaczka mięsak z komórek tłuszczowych	♀ 2/36 ♀ 0/36 ♀ 0/36	15/32 8/36 3/36	<i>Tannen- baum, Mal- toni</i> 1962
Myszy DBA, <i>n</i> = 54 ÷ 63 ♂, ♀	dawka 167 mg/kg mc./dzień 31 tyg. w wodzie pitnej obserwacja 45 tyg.	gruczolakowatość płuc gruczolak płuc rak kolczystokomórkowy rak sutka mięsak z komórek tłuszczowych	♂ 1/50 ♀ 2/56 ♂ 0/59 ♀ 0/56 ♂ 0/59 ♀ 0/56 ♀ 13/57 ♂ 0/59	20/54 20/52 10/54 11/52 11/54 6/52 34/54 3/54	
Myszy B6C3F1, ♂ <i>n</i> = 50 K <i>n</i> = 50	dawki: 0,095 mg/kg mc. 0,58 mg/kg mc. 1,0 mg/kg mc. 10 mg/kg mc. 100 mg/kg mc. 70 tyg. w wodzie pitnej	gruczolak pęcherzykowo- ostrzelikowy płuc naczyniak wątroby mięsakonaczyniak wątroby naczyniak serca	♂ 9/49 ♂ 0/49 ♂ 0/49 ♂ 0/49	4/49 7/48 8/50 34/50 42/44 2/50 (1,0) 20/44 (100) 2/50 (1,0) 2/50 (10) 11/44 (100) 4/44 (100)	<i>Inai</i> i in. 1991

cd. tab. 9.

Gatunek, szczep, płeć i liczba zwierząt	Warunki narażenia	Rodzaj zmiany	Częstość zmiany		Piśmienictwo
			grupa kontrolna	grupa badana	
Myszy NMRI, ♂, ♀	dawki: 0,1 mg/kg mc. 0,5 mg/kg mc. 2,5 mg/kg mc. 12,5 mg/kg mc. 2 lata w wodzie pitnej	chłoniak rak mieszany rak płuc rak naczyń krwionośnych	♂, ♀ 4/36	♂ 6/32 (0,1) 3/33 (0,5) 10/28 (2,5) 14/32 (12,5) ♀ 5/33 (0,1) 14/36 (0,5) 10/31 (2,5) 18/33 (12,5)	Schmähl i in. 1977
Myszy B6C3F1, ♂, ♀ n = 50/płeć K ♂, ♀ n = 50/płeć	dawki: ♂ 1,33 mg/kg mc. 3,83 mg/kg mc. 12,0 mg/kg mc. ♀ 1,167 mg/kg mc. 3,5 mg/kg mc. 10,8 mg/kg mc. 104 tyg. w wodzie pitnej	rak/gruczolak pęcherzykowo-oskrzelikowy płuc rak/gruczolak wątrobowokomórkowy naczyniakomięsak wątroby rak lub gruczolak gruczołu Harderiana rak lub brodawczak kolczystokomórkowy skóry brodawczak kolczystokomórkowy przedzłąka gięsakonaczyniak serca gruczolakorak gruczołu sukowego gruczolakorogowiak gruczołu sutkowego	♂ 0/49 ♀ 6/48 ♂ 12/46 ♀ 5/48 ♂ 1/46 ♀ 0/48 ♂ 3/47 ♀ 3/48 ♂ 0/47 ♂ 0/46 ♂ 0/48 ♀ 4/47 ♀ 0/47	18/48 29/47 37/48 8/48 28/48 39/47 18/47 24/46 23/44 11/47 20/47 19/47 2/47 5/46 13/44 0/47 1/47 7/47 12/47 30/47 38/47 11/48 19/48 30/48 1/48 3/47 6/48 2/47 3/44 5/45 0/48 1/47 5/48 3/46 3/46 11/48 1/46 1/46 11/48	NTP 2004
Szczury Sprague-Dawley, ♂ n = 40 Myszy B6C3F1, ♂ n = 50 K n = 50♀	dawka 62 mg/kg mc./dzień 2 lata w wodzie pitnej śr. czas przeżycia: 12,5 mies.	chłoniak złośliwy naczyniak/ naczyniakomięsak wątroby/śledziony/ macicy wątrobiak gruczolak kory nadnerczy włokniakomięsak krezki/macicy	brak kontroli	♂, ♀ 7/40 ♂, ♀ 11/40 ♂, ♀ 7/40 ♂, ♀ 10/40 ♂, ♀ 4/40	IARC 1974

cd. tab. 9.

Gatunek, szczep, płeć i liczba zwierząt	Warunki narażenia	Rodzaj zmiany	Częstość zmiany		Piśmien- nictwo
			grupa kontrolna	grupa badana	
Szczury SD, ♂, ♀	dawki: 0,1 mg/kg mc. 0,5 mg/kg mc. 2,5 mg/kg mc. 12,5 mg/kg mc. 2 lata w wodzie pitnej	chłoniak/białaczka włóknakiomęsak chłoniak/białaczka zmiana o charakterze mieszanym chłoniak/białaczka włóknakiomęsak rak gruczołu sutkowego mięsak ogółem nowotwory	♂ 0/38 ♀ 2/36 ♂ 9/54 ♀ 3/47	1/33 (0,1) 2/31 (0,5) 1/31 (2,5) 3/36 (12,5) 1/37 (0,1) 2/34 (0,5) 6/39 (2,5) 12/38 (12,5) 22/27 21/25 ♂,♀ 23/52	<i>Schmähl</i> i in. 1977
Chomiki syryjskie, ♂ n=27 ♀ n=25 K ♂ n=54 ♀ n=47	dawka 250 mg/kg mc./dzień 20 tyg. w wodzie pitnej; kolejna dawka 500 mg/ kg mc./dzień 20 tyg. w wodzie pitnej przerwa 8 tyg.; kolejna dawka 500 mg/ kg mc./dzień 2 tyg. w wodzie pitnej obserwacja 80 tyg.	nowotwór melanotyczny brodawczak i rak płaskokomórkowy przedzłożadka chłoniak złośliwy guz sutka naczyniak naczyniakomęsak gruczolakowatość płuc gruczolakowate polipy jelita ślepego znamiona skórne	 ♂ 1/100 ♀ 0/100 ♂ 6/100 ♀ 2/100 rak przedzłożadka ♂ 0/100 ♀ 0/100 chłoniak złośliwy ♂ 7/100 ♀ 2/100 ♂ 0/100 ♀ 0/100	 ♂,♀ 40/52 ♂,♀ 5/52 ♂ 3/52 ♂,♀ 6/52 ♂,♀ 2/52 ♂,♀ 8/52 ♂,♀ 6/52	<i>Toth</i> i in. 1961b
Chomiki syryjskie, ♂ n=52 ♀ n=48 K n=100 ♂, ♀	dawka 125 mg/kg mc./dzień przez całe życie w wodzie pitnej	barwnikowe brodawczak przedzłożadka rak przedzłożadka chłoniak złośliwy gruczolakowate polipy jelita ślepego	 ♂ 1/100 ♀ 0/100 ♂ 6/100 ♀ 2/100 ♂ 0/100 ♀ 0/100 ♂ 7/100 ♀ 2/100 ♂ 0/100 ♀ 0/100	26/52 25/48 36/52 35/48 18/52 7/48 5/52 3/48 4/52 7/48	<i>Toth, Bore- isha</i> 1969
Chomiki syryjskie, ♂ n=10; ♀ n=10 K, n=63 Małpy Cynomologus, Rhesus noworodki	dawka 250 mg/kg mc./dzień 2 razy/tydzień przez całe życie w wodzie pitnej dawka 250 mg/kg mc. 5 dni/tydz. przez 5 lat	nowotwór melanotyczny u wszystkich zwierząt, które przeżyły eksperyment, stwierdzono nowotwory: - gruczolakorak płuc, śledziony, przewodów żółciowych, jelita cienkiego, wątroby - gruczolak i rak wątrobowokomórkowy - naczyńiakomęsak wątroby - wyściółczak - guz chromochłonny	♂,♀ 1/63	8/20	<i>Pietra, Shubik</i> 1960
Narażenie dermalne					
Myszy, n=20 ÷ 50 ♂,♀ (C57BLxC3H)F1	dawka 400 mg/kg mc. 2 razy/tydz. 26 lub 78 tygodni	nowotwór sutka wątroba – torbiele krwotoczne gruczolak płuc złośliwe guzy mesenchymalne oczodół – torbielakogruczolaki wielokomorowe	♀ 0/25 ♂,♀ - ♂,♀ - ♂,♀ 0/50 ♂,♀ 0/50	3/25 (26 tyg.) 7/25 (78 tyg.) 37/50 (26 tyg.) 38/50 (78 tyg.) 28/50 (26 tyg.) 26/50 (78 tyg.) 3/50 (26 tyg.) 6/50 (78 tyg.) 3/50 (26 tyg.) 1/50 (78 tyg.)	<i>Tannen- baum, Silverstone, 1958</i>
♀ DBA	70 tygodni	nowotwór sutka wątroba – torbiele krwotoczne gruczolak płuc złośliwe guzy mesenchymalne	♀ 8/30 ♀ 0/30 ♀ 0/30 ♀ 0/30	12/29 13/29 9/29 2/29	

89

cd. tab. 9.

Gatunek, szczep, płeć i liczba zwierząt	Warunki narażenia	Rodzaj zmiany	Częstość zmiany		Piśmien- nictwo
			grupa kontrolna	grupa badana	
Myszy dd, ♂, ♀ $n = 43 \div 59$	dawki: pierwsza – 5 mg/zwierzę kolejne – 10 mg/zwierzę raz/tydz. przez 4 tygodnie obserwacja: 50. ÷ 60. dzień życia 90. dzień, 100. ÷ 150. dzień	chłoniak grasicy	♂ ♀ ♂ ♀ ♂ ♀	16/49 (50 ÷ 60) 18/49 25/43 (90) 33/45 50/59 (100 ÷ 150) 39/43	<i>Ito i in. 1965</i>
Myszy dd/I, ♂, ♀ $n = 25 \div 47$	dawka 1000 mg/kg mc. raz/tydz. przez 4 tygodnie. obserwacja 80 i 180 dni	chłoniak grasicy gruczolak płuc rak płuc gruczolak gruczołu Harderiana	♂, ♀ ♂, ♀ ♂, ♀ ♂, ♀	33/47 (80) 45/47 (80) 13/25 (180)	<i>Matsuyama i in. 1969</i>
Szczury August, ♂ $n = 25$ ♀ $n = 26$	dawka 1000 mg/kg mc. raz/tydz. przez 8 tygodni	tęczówka – zmiany melanotyczne	♂, ♀ 0/50	8/25 12/26	<i>Roe i in. 1963</i>
Szczury Wistar, ♂ $n = 25$ ♀ $n = 26$ K ♂, ♀ $n = 25$ każdej rasy			♂, ♀ 0/50	0/44	
Chomiki syryjskie, wiek: 1 dzień ♂ $n = 30$ ♀ $n = 21$ lub 8 tygodni ♂ $n = 38$ ♀ $n = 40$	dawka 1000 mg/kg mc. jednorazowa obserwacja 110 tygodni	brodawczak przedłożadka	♂ ♀	10/30 (1 dzień) 16/38 (8 tyg.) 5/21 (1 dzień) 17/40 (8 tyg.)	<i>Toth 1970</i>
		znamiona skórne barwnikowe	♂ ♀	10/30 (1 dzień) 3/38 (8 tyg.) 3/21 (1 dzień) 4/40 (8 tyg.)	
		rak płaskokomórkowy przedłożadka	♂ ♀	2/30 (1 dzień) 3/38 (8 tyg.) 0/21 (1 dzień) 0/40 (8 tyg.)	
Chomiki syryjskie, wiek: 1 dzień ♂ $n = 33$ ♀ $n = 40$ lub 8 tyg. ♂ $n = 39$ ♀ $n = 38$	dawka 1000 mg/kg mc. raz/tydz. przez 10 tygodni obserwacja 110 tygodni	znamiona skórne barwnikowe	♂ ♀	13/33 (1 dzień) 14/39 (8 tyg.) 16/40 (1 dzień) 14/38 (8 tyg.)	<i>Toth 1971</i>
		nowotwór przedłożadka	♂ ♀	17/33 (1 dzień) 25/39 (8 tyg.) 21/40 (1 dzień) 30/38 (8 tyg.)	
		nowotwór tarczycy	♂ ♀	3/33 (1 dzień) 1/39 (8 tyg.) 8/40 (1 dzień) 6/38 (8 tyg.)	
		nowotwór jelita ślepego	♂ ♀	13/33 (1 dzień) 8/39 (8 tyg.) 8/40 (1 dzień) 7/38 (8 tyg.)	
Chomiki syryjskie, ♂ $n = 8$ ♀ $n = 20$ K ♂ $n = 33$ ♀ $n = 25$	dawka 1000 mg/kg mc. raz/tydz. przez 6 tygodni obserwacja 104 tygodnie	nowotwór kory nadnerczy	♂ 0/30 ♀ 0/25	2/8 6/20	<i>Matsuyama, Suzuki 1970</i>
Narażenie dootrzewnowe					
Myszy C3H ♀ $n = 10$	dawka 1000 mg/kg mc. przez 14 tyg. obserwacja przez 7,5 miesiąca	gruczolak płuc	♀ 5%	7/10	<i>Nettleship i in. 1943</i>
Myszy BALB/c, $n = 29$	dawka 1000 mg/kg mc. 11 iniekcji co 4 dni obserwacja przez 7,5 miesiąca	gruczolak płuc	♀ 5% ♀ 2% ♀ 1%	29/29 20/28 11/25	<i>Ida i in. 1962</i>
Myszy Zb, $n = 28$					
Myszy Db, $n = 25$					

cd. tab. 9.

Gatunek, szczep, płeć i liczba zwierząt	Warunki narażenia	Rodzaj zmiany	Częstość zmiany		Piśmien- nictwo
			grupa kontrolna	grupa badana	
Myszy C3H/HeA, ♂ $n = 36$ K $n = 52$	dawka 833 mg/kg mc. jednorazowa obserwacja przez 13 miesięcy	wątrobiak gruczołak płuc	♂ 2/52 ♂ 3/52	11/36 30/36	<i>Hollander, Bentvelzen</i> 1968
Myszy (C57BLxC3)F1, wiek: 1 lub 7 dni ♂, ♀ $n = 92 \div 118$ K ♂, ♀ $n = 73$	dawki: 350 mg/kg mc. 500 mg/kg 700 mg/kg 6 iniekcji co 3 dni obserwacja 13 miesięcy	białaczka	♂, ♀ 0/73	6/93 (1 dz. 350) 0/92 (7 d. 350) 30/95 (1 dz. 500) 7/103 (7 d. 500) 83/12 (1 dz. 700) 45/118 (7 d. 700)	<i>Vesselino- vitch, Mihailovich</i> 1966
Myszy (C57BLxC3)F1, wiek: 1,4 lub 7 dni ♂, ♀ $n = 26 \div 53$ K ♂, ♀ $n = 30 \div 32$	dawka 500 mg/kg mc. 3 lub 6 iniekcji co 3 dni obserwacja 60 tygodni	nowotwór z kom. podścieliska jajnika	0/32	3/31 (1 dz. 3 iniek.) 5/26 (1 dz. 6 iniek.) 8/33 (4 d. 6 iniek.) 17/53 (7 d. 6 iniek.)	<i>Vesseli- novitch, Mihailovich</i> 1967
		nowotwór nabłonkowy jajnika	0/32	0/31 (1 dz. 3 iniek.) 8/26 (1 dz. 6 iniek.) 6/33 (4 d. 6 iniek.) 9/53 (7 d. 6 iniek.)	
		gruczołak gruczołu Harderiana	♂ 0/30 ♀ 1/32	10/26 (1 dz. 3 iniek.) 21/32 (1 dz. 6 iniek.) 24/32 (4 d. 6 iniek.) 30/37 (7 d. 6 iniek.) 16/31 (1 dz. 3 iniek.) 14/26 (1 dz. 6 iniek.) 17/33 (4 d. 6 iniek.) 26/53 (7 d. 6 iniek.)	
		wątrobiak	♂ 1/30 ♀ 0/32	22/26 (1 dz. 3 iniek.) 32/32 (1 dz. 6 iniek.) 32/32 (4 d. 6 iniek.) 36/37 (7 d. 6 iniek.) 4/31 (1 dz. 3 iniek.) 16/26 (1 dz. 6 iniek.) 17/33 (4 d. 6 iniek.) 9/53 (7 d. 6 iniek.)	
		gruczołak płuc	♂ 1/30 ♀ 1/32	8/26 (1 dz. 3 iniek.) 10/32 (1 dz. 6 iniek.) 13/32 (4 d. 6 iniek.) 17/37 (7 d. 6 iniek.) 7/31 (1 dz. 3 iniek.) 10/26 (1 dz. 6 iniek.) 11/33 (4 d. 6 iniek.) 17/53 (7 d. 6 iniek.)	
Myszy B6C3F1 lub B6CF1, ♂ $n = 41 \div 50$ ♀ $n = 50 \div 51$ K ♂ $n = 48 \div 50$ ♀ $n = 49 \div 50$	dawka 1000 mg/kg mc. codziennie przez 5 dni obserwacja 110 tygodni	chłoniak	♂ B6C3F1 8/50 ♂ B6CF1 10/48 ♀ B6C3F1 18/50 ♀ B6CF1 6/49	24/41 9/46 32/51 16/50	<i>Dragani i in.</i> 1984
		nowotwór płuc	♂ B6C3F1 6/50 ♂ B6CF1 11/48 ♀ B6C3F1 2/50 ♀ B6CF1 8/49	2/41 41/46 3/51 40/50	
		nowotwór wątroby	♂ B6C3F1 13/50 ♂ B6CF1 2/48 ♀ B6C3F1 3/50 ♀ B6CF1 0/49	26/41 36/46 18/51 22/50	
		naczyniak i naczyniakomięsak	♂ B6C3F1 2/50 ♂ B6CF1 0/48 ♀ B6C3F1 1/50 ♀ B6CF1 1/49	1/41 7/46 2/51 13/50	
		nowotwór gruczołu Harderiana	♂ B6C3F1 3/50 ♂ B6CF1 2/48 ♀ B6C3F1 0/50 ♀ B6CF1 1/49	23/41 35/46 27/51 46/50	

cd. tab. 9.

Gatunek, szczep, płeć i liczba zwierząt	Warunki narażenia	Rodzaj zmiany	Częstość zmiany		Piśmiennictwo
			grupa kontrolna	grupa badana	
Myszy C57BL/6, ♂, ♀ n = 5 ÷ 15	dawka 1000 mg/kg mc. raz/tydz. przez 8 ÷ 10 tygodni obserwacja 24 tygodnie 8 ÷ 10 dawek obserwacja przez: 20 tygodni i 24, 32, 52 tygodnie	gruczolak płuc		1/15 (1 · 24 tyg.) 4/8 (8 · 20 tyg.) 5/6 (8 · 24 tyg.) 6/6 (10 · 24 tyg.) 3/5 (8 · 32 tyg.) 6/7 (10 · 32 tyg.) 4/4 (10 · 52 tyg.)	Miller i in. 2003
Szczury Wistar, ♂, ♀ n = 77 ÷ 83	dawka 500 mg/kg mc. 6 ÷ 10 iniekcji co 3 dni obserwacja 110 tygodni	nowotwór wątroby	♂, ♀ 0/80	16/77 (6 iniekcji) 44/83 (10 iniekcji)	Vesselino- vitch, Mihailovich 1968
Szczury Wistar, ♂, ♀ n = 77 K ♂, ♀ n = 118	dawka 500 mg/kg mc. 6 ÷ 10 iniekcji co 3 dni obserwacja 146 tyg.	nowotwór wątroby nowotwór nerek nowotwór mózgu nowotwór nerwów obwodowych mięsak serca	♂, ♀ 0/118 ♂, ♀ 0/118 ♂, ♀ 0/118 ♂, ♀ 1/118 ♂, ♀ 0/118	16/77 6/77 8/77 9/77 2/77	Komminen i in. 1970
Chomiki syryjskie, ♂ n = 30 ♀ n = 24 K ♂ n = 28 ♀ n = 22	dawka 500 mg/kg mc. 5 iniekcji co 3 dni obserwacja 120 tygodni	nowotwór melanotyczny	♂ 0/28 ♀ 0/22	11/24 8/30	Vesselino- vitch i in. 1970

Objaśnienia: W nawiasach podano dawkę lub sposób narażenia, które spowodowały wystąpienie opisanych zmian nowotworowych.

Podsumowanie

Wyniki badań nad rakotwórczym działaniem kabaminianu etylu podawanego w różny sposób i różnym gatunkom zwierząt jednoznacznie wskazują, że jest to substancja o właściwościach kancerogennych. Karbaminian etylu został zaklasyfikowany przez IARC (2010) do grupy 2.A, czyli czynników prawdopodobnie rakotwórczych dla ludzi. Unia Europejska zaklasyfikowała ten związek do grupy 1.B, tzn. substancji, która może powodować raka.

Na podstawie danych z piśmiennictwa (działanie rakotwórcze na zwierzęta) dokonano ilościowej oceny ryzyka choroby nowotworowej związanego z narażeniem na tę substancję (Świdwińska-Gajewska i in. 2007). Za skutek działania przyjęto raki płuca stwierdzone u samic myszy po 2-letnim narażeniu na karbaminian etylu podawany w wodzie do picia. Zależność ryzyka od stężenia karbaminianu etylu w powietrzu środowiska pracy wynosi odpowiednio: 0,01 (0,093 mg/m³); 0,001 (0,0093 mg/m³) i 0,0001 (0,00093 mg/m³).

DZIAŁANIE EMBRIOTOKSYCZNE, TERATOGENNE ORAZ WPŁYW NA ROZRODCZOŚĆ

W dostępnym piśmiennictwie nie ma danych dotyczących działania embriotoksycznego i teratogenego karbaminianu etylu na ludzi oraz jego wpływu na rozrodczość.

Wiele danych w piśmiennictwie wskazuje na teratogenne działanie karbaminianu etylu, pod warunkiem, że jest on podawany zwierzętom w dużych dawkach. Skutki tego działania były widoczne u potomstwa gryzoni, jeśli samice lub samce były narażone na działanie karbaminia-

nu etylu przed kojarzeniem lub w trakcie ciąży. Takaori i in. narażali dożołądkowo ciężarne samice szczurów Wistar na dawkę 1000 mg/kg mc. karbaminianu etylu w różnym czasie, np. przez 7 dni w 1., 2. lub 3. trymestrze ciąży lub przez 2 dni podczas organogenezy. We wszystkich przypadkach odnotowano zmniejszenie masy ciała płodów. Zaobserwowano również wzrost resorpcji płodów (w 1. i 2. trymestrze ciąży) oraz zwiększenie liczby przypadków

wrodzonych wad rozwojowych dotyczących szkieletu (*Takaori i in.* 1966).

Sinclair zaobserwował, że skutkiem iniekcji podskórnej dawki 1500 mg/kg mc. karbaminianu etylu samicom myszy była nieplodność, natomiast podanie myszom w 7. dniu ciąży dawki 750 mg/kg mc. spowodowało uszkodzenie ośrodkowego układu nerwowego (OUN), (*Sinclair* 1950).

Działanie teratogenne karbaminianu etylu odnotowano również po dootrzewnowym lub dożylnym narażeniu ciężarnych samic chomików. Związek podawano zwierzętom w 8. dniu ciąży w dawkach: 200; 400; 800 lub 1200 mg/kg mc.

Nieprawidłowości w rozwoju płodów odnotowano po narażeniu na karbaminian etylu, począwszy od dawki 400 mg/kg mc. bez względu na sposób podania. Wady rozwojowe dotyczyły: niedomknięcia czaszki, niezrośnięcia się łuków kręgow, rozszczepu kręgosłupa i niedomknięcia cewy nerwowej (*Ferm, Hanover* 1966).

Di Paolo i Elis podawali dootrzewnowo w 8. dniu trwania ciąży dawki $500 \div 3000$ mg/kg mc. karbaminianu etylu samicom chomików syryjskich, a następnie w 13. dniu przeprowadzili badanie płodów. Największa dawka karbaminianu etylu była dawką śmiertelną dla ciężarnych samic. Mniejsze dawki wywoływały u zwierząt, w zależności od wielkości dawki, zwiększenie resorpcji płodów oraz padnięć zwierząt. Takie wady rozwojowe, jak: małowłowie, brak kości czaszki lub przepuklinę mózgową, stwierdzono u 10% płodów bez względu na wielkość narażenia (*Di Paolo, Elis* 1967).

Podskórne podanie dawki 1000 mg/kg mc. karbaminianu etylu ciężarnym myszom ICR/Jcl w 17. dniu ciąży skutkowało obumarciem płodów oraz zaburzeniami szkieletowymi (wady kośćca i rozszczep podniebienia). Wykazano również, że trzykrotne (w 9., 10. i 11. dniu ciąży), podskórne podanie dawki 150 mg/kg mc. karbaminianu etylu ciężarnym myszom spowodowało znaczący wzrost wad rozwojowych płodu (*Nomura* 1975b).

Nakane i Kameyama badali teratogenne działanie karbaminianu etylu na myszach szczepu CL/Fr, który charakteryzuje się zwiększoną częstością występowania spontanicznych wad dotyczących rozszczepu warg z jednoczesnym rozszczepem podniebienia u płodów. Ciężarnym myszom w 9. dniu ciąży podawano różne dawki karbaminianu etylu (250; 500 lub 750 mg/kg mc.), które spowodowały zmniejszenie częstości występowania tej wady do odpowiednio: 18, 14 i 11%. W grupie narażonej na dawkę 1000 mg/kg mc. karbaminianu etylu częstość występowania rozszczepu warg/podniebienia spadła do 6%, ale zmiany dotyczące tylko rozszczepu podniebienia stwierdzono u 23% płodów. U większości płodów w tej grupie stwierdzono anomalie dotyczące ogona oraz zmniejszenie masy ciała (*Nakane, Kameyama* 1986).

Jednorazowe, dootrzewnowe podanie myszom (w 14. dniu ciąży) dawki 800 mg/kg mc. karbaminianu etylu spowodowało u potomstwa wzrost częstości występowania: polidaktylia (wada wrodzona polegająca na obecności dodatkowego palca lub palców), rozszczepu podniebienia i małowocza (*Burkhard, Fritz-Niggli* 1987).

W eksperymencie przeprowadzonym przez *Sharova i in.* wykazano, że jednorazowa, podskórna iniekcja dawki 1500 mg/kg mc. karbaminianu etylu podanego ciężarnym myszom ICR w 10. dniu ciąży spowodowała zmniejszenie masy ciała płodów oraz wzrost częstości występowania u potomstwa rozszczepu podniebienia (*Sharova i in.* 2003).

Jednorazowa (w 8,5. dniu ciąży) iniekcja dawki 1500 mg/kg mc. karbaminianu etylu ciężarnym samicom myszy CBA i C3HeB wywoływała u potomstwa przepuklinę mózgową (*Tutikawa, Harada* 1972).

Na podstawie wyników 13-tygodniowego eksperymentu przeprowadzonego na myszach B6C3F1 i szczurach F344/N narażanych na karbaminian etylu podawany wraz z wodą pitną wykazano, że związek ten wpływa na rozrodczość.

W grupie narażanych samców szczurów stwierdzono zmniejszoną żywotność i ruchliwość plemników w najądrzach (dawki 78 lub 287 mg/kg mc.), natomiast u samic szczurów narażanie takie wywołało wydłużenie cyklu płciowego (po dawkach 332 i 525 mg/kg mc./dzień), (NTP 1996). Narażenie samców myszy na dawkę 183 mg/kg mc. karbaminianu etylu wywołało zmiany zwyrodnieniowe (określane jako umiarkowane) kanalików nasiennych oraz zmniejszenie żywotności plemników. Na podstawie wyników badań histopatologicznych narażanych na tę dawkę samic myszy wykazano zmiany zwyrodnieniowe pęcherzyków w jajnikach i ich zmniejszenie. W grupie tej stwierdzono ponadto zaburzenie cyklu objawiające się wydłużeniem fazy diestrus (NTP 1996).

Wpływ karbaminianu etylu na rozrodczość wykazano również w 2-letnim eksperymencie, w którym badany związek podawano myszom B6C3F1 obu płci wraz z wodą pitną. W grupie samic otrzymujących dawki 3 lub 10 mg/kg mc. karbaminianu etylu odnotowano, skorelowany z wielkością dawki, wzrost przypadków rozszerzenia naczyń macicy oraz krwotoki będące przyczyną padnięć kilku zwierząt. Nie stwier-

dzono natomiast wpływu karbaminianu etylu na układ płciowy samców (NTP 2004).

Russell i in. przeprowadzili badania na samcach myszy (101xC3H)F1, którym podano dootrzewnowo, jednorazowo dawkę 1750 mg/kg mc. karbaminianu etylu. Cytotoksyczne działanie związku na męskie narządy rozrodcze manifestowało się zmniejszeniem liczby plemników w przewodach nasiennych, a także liczby miotów poczętych w czasie 8 ÷ 9 tygodni po eksperymencie (*Russell* i in. 1987). Podobne wyniki doświadczenia uzyskali *Yu* i in., którzy wykazali zmniejszenie (choć nieistotne statystycznie) liczby miotów lub zmniejszoną liczbę potomstwa w miocie, będące skutkiem wcześniejszego, dootrzewnowego narażenia samców myszy NIH Swiss na dawkę 1500 mg/kg mc. karbaminianu etylu (*Yu* i in. 1999).

Nomura wykazał, że jednorazowe, dootrzewnowe narażenie zwierząt na dawki 1000 ÷ 2000 mg/kg mc. karbaminianu etylu przed kojarzeniem spowodowało, zależny od wielkości dawki, wzrost częstości występowania u potomstwa F₁ takich zmian, jak: rozszczep podniebienia, karłowatość, anomalie ogona czy otwarcie powiek (*Nomura* 1988).

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie

W warunkach środowiska pracy narażenie na karbaminian etylu może być przede wszystkim inhalacyjne (w wyniku sublimacji, szczególnie po ogrzaniu). Karbaminian etylu może dostać się do organizmu także przez kontakt ze skórą.

Na podstawie wyników badań wykonanych na myszach ustalono, że [¹⁴C]-karbaminian etylu może wchłaniać się przez skórę i przewód pokarmowy. Poziomy [¹⁴C] w tkankach były większe po podaniu dożołądkowym niż po naniesieniu związku na skórę (*Fossa* i in. 1985).

Rozmieszczenie

Na podstawie wyników badań wykonanych na myszach i szczurach, którym [¹⁴C]-karbaminian etylu podawano jednorazowo dożylnie w dawkach 0,475 ÷ 475 mg/kg mc., wynika, że związek ten był szybko rozmieszczany w poszczególnych tkankach organizmu (*Nomeir* i in. 1989). U szczurów duże stężenia związku stwierdzono: we krwi, w wątrobie, nerkach, skórze, mięśniach i płucach. Stężenia te utrzymywały się na zbliżonym poziomie do 2 h (po dawce 47,5 mg/kg mc.) lub do 6 h (po dawce 475 mg/kg mc.) od podania (tab. 10). Niższe poziomy znakowanych izotopowo pochodnych karbaminianu etylu notowano w tkance tłuszczowej.

Tabela 10.

Stężenia karbaminianu etylu i/lub jego metabolitów ($\mu\text{g/g}$) w tkankach po jednorazowym dożylnym podaniu samcom szczurów [^{14}C]-karbaminianu etylu (Nomeir i in. 1989)

Tkanki	Poziomy znacznika izotopowego w tkankach, $\mu\text{g/g}$				
	Czas po podaniu				
	15 min	2 h	6 h	12 h	24 h
Jednorazowa dawka 47,5 mg/kg mc.					
Krew	53,5 $\pm$ 3,5	38,5 $\pm$ 1,8	20,3 $\pm$ 3,4	13,0 $\pm$ 3,8	2,3 $\pm$ 0,8
Wątroba	52,9 $\pm$ 3,3	51,1 $\pm$ 16,5	19,8 $\pm$ 3,4	25,7 $\pm$ 6,2	4,8 $\pm$ 1,6
Nerki	66,6 $\pm$ 6,1	64,0 $\pm$ 14,5	27,7 $\pm$ 5,6	17,7 $\pm$ 0,3	28,0 $\pm$ 1,4
Skóra	39,2 $\pm$ 3,1	49,7 $\pm$ 15,4	16,4 $\pm$ 2,9	6,9 $\pm$ 0,1	1,8 $\pm$ 0,6
Tkanka tłuszczowa	9,0 $\pm$ 0,8	40,6 $\pm$ 29,1	6,6 $\pm$ 3,4	8,6 $\pm$ 7,7	1,0 $\pm$ 0,7
Mięśnie	53,6 $\pm$ 3,4	47,9 $\pm$ 17,7	19,5 $\pm$ 3,3	7,1 $\pm$ 1,4	0,8 $\pm$ 0,3
Płuca	46,6 $\pm$ 3,2	39,7 $\pm$ 2,5	21,2 $\pm$ 2,4	7,1 $\pm$ 0,4	2,6 $\pm$ 0,3
Jednorazowa dawka 475 mg/kg mc.					
Krew	428,5 $\pm$ 115,0	551,6 $\pm$ 31,8	408,5 $\pm$ 54,5	332,6 $\pm$ 5,2	38,7 $\pm$ 10,5
Wątroba	480,7 $\pm$ 31,4	519,8 $\pm$ 42,4	422,1 $\pm$ 27,2	298,6 $\pm$ 26,0	40,8 $\pm$ 10,5
Nerki	574,8 $\pm$ 41,8	625,9 $\pm$ 31,8	503,8 $\pm$ 40,9	376,5 $\pm$ 39,0	27,2 $\pm$ 2,1
Skóra	407,6 $\pm$ 10,5	477,4 $\pm$ 21,2	381,3 $\pm$ 40,9	285,6 $\pm$ 13,0	37,6 $\pm$ 10,5
Tkanka tłuszczowa	125,4 $\pm$ 10,5	127,3 $\pm$ 21,2	77,6 $\pm$ 2,7	85,7 $\pm$ 15,6	10,5 $\pm$ 2,1
Mięśnie	512,1 $\pm$ 52,3	530,4 $\pm$ 21,2	449,4 $\pm$ 5,5	311,6 $\pm$ 26,0	9,4 $\pm$ 3,1
Płuca	497,1 $\pm$ 26,3	–	435,2 $\pm$ 45,6	289,0 $\pm$ 13,0	15,9 $\pm$ 1,6

Po jednorazowym dożylnym podaniu [^{14}C]-karbaminianu etylu samcom myszy (w dawkach 47,5 ÷ 475 mg/kg mc.) najwyższe poziomy znacznika izotopowego w: wątrobie, nerkach, skórze, mięśniach i płucach oraz we krwi, stwierdzono 15 min od podania związku. Po 45 min poziomy te zmniejszały się o około 20 ÷ 30% (Nomeir i in. 1989).

Po 24 h od podania [^{14}C]-karbaminianu etylu poziom znacznika w analizowanych tkankach myszy i szczurów stanowił kilka procent tego, co notowano po 15 min ÷ 2 h po dożylnym podaniu związku.

Po jednorazowym, dożołądkowym podaniu dawki 47,5 lub 475 mg/kg mc. [^{14}C]-karbaminianu etylu związek był całkowicie wchłonięty z przewodu pokarmowego szczurów.

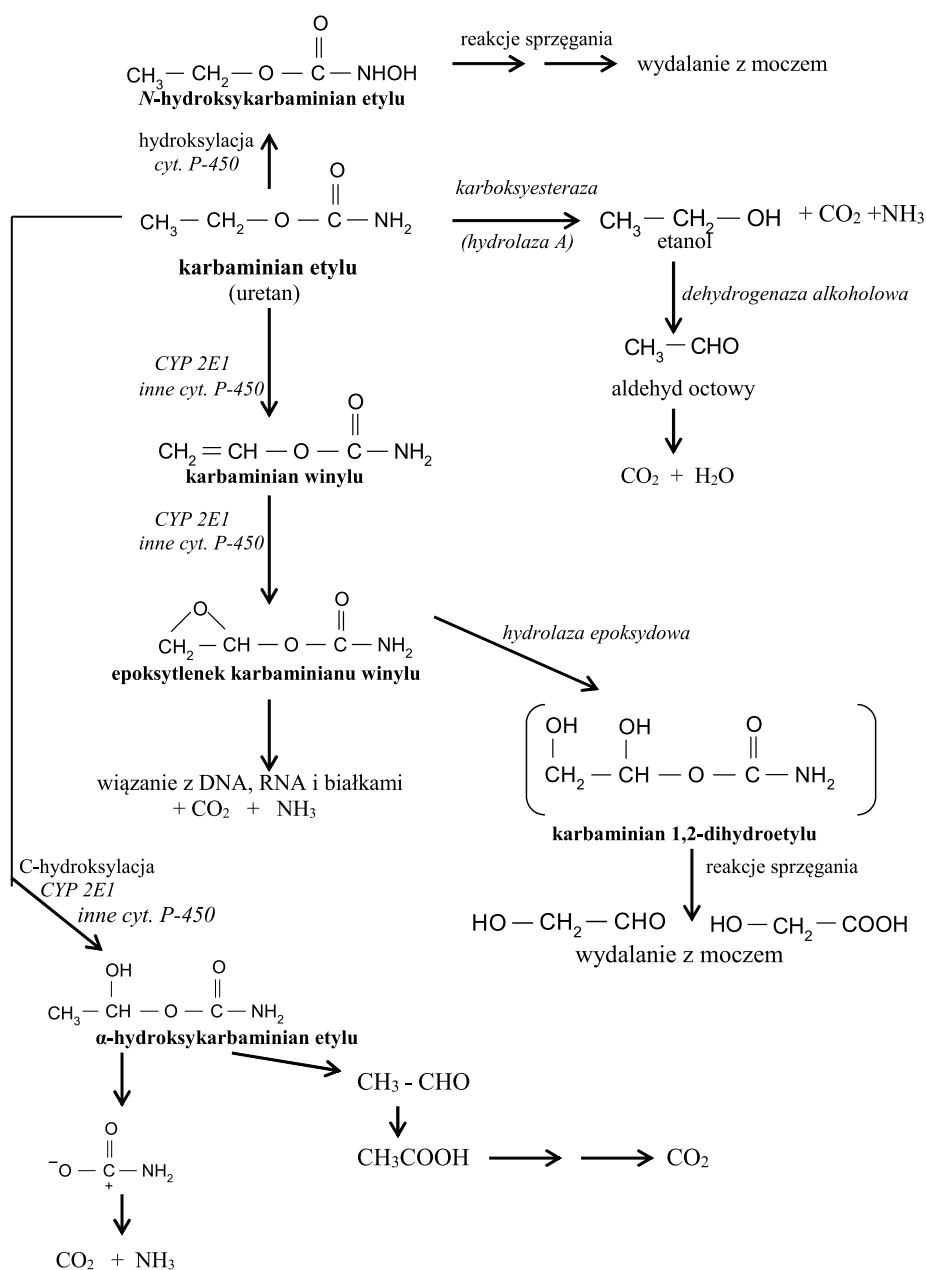
Rozmieszczenie znacznika izotopowego w tkankach szczurów po dożylnym i dożołąd-

kowym podaniu [^{14}C]-karbaminianu etylu było podobne (Nomeir i in. 1989).

Metabolizm

Metabolizm karbaminianu etylu u różnych gatunków ssaków jest podobny (IARC 1974). Związek ten jest szybko metabolizowany. Możliwe przemiany metaboliczne przedstawiono na rysunku 1.

Większość karbaminianu etylu (ponad 90%) pod wpływem mikrosomalnej karboksyesterazy (hydrolazy A) jest metabolizowana do: etanolu, ditlenku węgla i amoniaku (Choy i in. 1995). Etanol może dalej podlegać utlenieniu przy udziale dekarboksylazy alkoholowej do aldehydu octowego, co w konsekwencji prowadzi do powstania (w cyklu Krebsa) ditlenku węgla i wody (Nomeir i in. 1989). W niewielkim stopniu



Rys. 1. Schemat metabolizmu karbaminianu etylu

(ok. 0,1%) karbaminian etylu może ulegać odwracalnej *N*-hydroksylacji, przy udziale cytochromów (P-450, do karbaminianu *N*-hydroksyetylu *N*-hydroksykarbaminianu etylu), który po sprzęgnięciu w II fazie metabolizmu (głównie z kwasem glukuronowym) jest wydany z moczem (IARC 1974; Boyland, Nery 1965).

Najbardziej niebezpieczny szlak metabolizmu karbaminianu etylu prowadzi do powstania karbaminianu winylu, a z niego – epoksytlenu

karbaminianu winylu. Reakcje te zachodzą przy udziale enzymów cytochromu P-450, szczególnie CYP 2E1 (Frohlich, Wurgler 1990; Hoffler i in. 2003; Hoffler, Ghanayem 2005). Enzym CYP 2E1 bierze udział w przemianach 5% karbaminianu etylu. Epoksytenek karbaminianu winylu może się wiązać z zasadami azotowymi DNA i RNA (guaniną, adeniną), tworząc addukty (np. 7-(2'-oksoetylo)-guaninę, *N*²,3-etenoguaninę, 1,*N*⁶-etenoadeninę, 3,*N*⁴-etenocysteinę), odpo-

wiedzialne za nowotworowe działanie karbaminianu etylu (Barbin 2000; Bolt 2005).

Naturalną obroną organizmu przed działaniem epoksytenku karbaminianu winylu jest sprzęganie ze zredukowanym glutationem (przy udziale transferazy *S*-glutathionowej) i wydalanie bezpiecznych produktów przemian (Kemper i in. 1995).

Wydalanie

Wydalanie znacznika izotopowego u myszy i szczurów, którym [¹⁴C]-karbaminian etylu podawano jednorazowo, dożylnie w dawkach 47,5 ÷ 475 mg/kg mc. jest zgodne z kinetyką jednowykładniczą (*monoexponential kinetics*), (Nomeir i in. 1989). Przemiany metaboliczne spowodowały, że około 90% podanej dawki [¹⁴C]-karbaminianu etylu zostało wydalone z powietrzem wydychanym w postaci ¹⁴CO₂ w ciągu 24 h.

Po dożołądkowym i dożylnym podaniu

[¹⁴C]-karbaminianu etylu myszom i szczurom w dawkach 0,475 ÷ 475 mg/kg mc. około 2 ÷ 8% dawki (znacznika izotopowego) wydzieliło się z moczem, około 0,3 ÷ 1% z kałem, a 0,3 ÷ 2% jako lotne związki organiczne (Nomeir i in. 1989).

W moczu: szczurów, królików i ludzi, zidentyfikowano niezmieniony karbaminian etylu (w ilości 0,55 ÷ 1,7% podanej dawki) oraz jego metabolity: *N*-hydroksykarbaminian etylu (0,02 ÷ 0,15%), acetylo-*N*-hydroksykarbaminian etylu (0,1 ÷ 0,6%), pochodną etylową kwasu merkapturowego (*ethyl mercapturic acid*), (0,1 ÷ 0,2%) i *N*-acetylo-*S*-etoksykarbonylocysteinę (0,9 ÷ 2,1%).

N-hydroksylowe metabolity karbaminianu etylu są wydalone głównie w połączeniach z kwasem glukuronowym. Szybkości eliminacji *N*-hydroksylowych metabolitów są znacznie mniejsze u noworodków myszy, u których brakuje mikrosomalnej esterazy (IARC 1974).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Głównym kierunkiem działania toksycznego karbaminianu etylu jest indukowanie zmian nowotworowych, a u podłoża tego procesu leży tworzenie adduktów z DNA.

Metabolizm karbaminianu etylu przebiega z udziałem cytochromu CYP2E1. Karbaminian ulega hydroksylacji – powstaje *N*-hydroksykarbaminian etylu (rys. 1.). Metabolitowi temu przypisuje się właściwości kancerogenne, ale wg IARC (2010) siła tego działania jest mniejsza niż siła działania samego karbaminianu. *N*-hydroksykarbaminian etylu może ulec konwersji do karbaminianu etylu. Drugi szlak metaboliczny, w którym również uczestniczą cytochromy P450, prowadzi do powstania karbaminianu winylu, a następnie jego epoksydu. Epoksyd karbaminianu winylu może tworzyć addukty z DNA, tj.: 7-(oksoetylo)-guaninę, 1,*N*⁶-eteno-adeninę, 3,*N*⁴-etenocytozynę, *N*²,3-eteno-guaninę. Powstałe addukty są zaliczane do nowej grupy adduktów

DNA – etenozasad, którym przypisuje się działanie promutagenne.

W nowotworach indukowanych przez karbaminian etylu u myszy mutacje stwierdzano w kodonie 61 genu *Ha-ras* (nowotwory wątroby, skóry) i genu *Ki-ras* (nowotwory płuc), (Barbin 2000). Mutacje indukowane przez karbaminian winylu to głównie tranzycja A: T → G: C i transwersja A: T → T: A, natomiast indukowane przez karbaminian etylu to głównie tranzycja G: C → A: T (puryny: A-adenina, G-guanina; pirymidyny: C-cytozyna, T-tymina), (Forkert 2010). Powstawanie etenozasad w narządach krytycznych leży u podłoża działania rakotwórczego karbaminianu etylu. Wymienione addukty są stwierdzane również w tkankach ludzi i gryzoni nienarażanych na substancje chemiczne. Uważa się, że endogenym źródłem tych połączeń jest peroksydacja lipidów (Barbin 2000).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

Informacje dotyczące działania łącznego obejmują przede wszystkim interakcje karbaminianu etylu i alkoholu etylowego oraz leków.

Po podaniu samcom myszy karbaminianu etylu i etanolu obserwowano spowolnienie wydalenia karbaminianu i jego metabolizmu (spowolnienie powstawania ditlenku węgla). *Yamamoto* i in. oraz *Carlson* uważają, że etanol jest inhibitorem metabolizmu karbaminianu etylu (*Yamamoto* i in. 1988; *Carlson* 1994). U podstaw zdolności etanolu do inhibicji wydalenia karbaminianu leży kompetycja o CYP2E1.

Szczury F344/N i myszy B6C3F otrzymywały w wodzie do picia karbaminian etylu (0; 100; 330; 1100; 3300 lub 10 000 ppm, czyli $0 \div 10\,000 \text{ mg/dm}^3$ wody) bez dodatku etanolu lub z dodatkiem etanolu (5%) przez 7 dni w tygodniu, przez 13 tygodni. Zmiany obserwowane w grupach zwierząt narażanych tylko na karbaminian etylu przedstawiono w tabeli 5. i tabeli 6. W grupie samic szczurów narażanych na karbaminian etylu o stężeniu 10 000 ppm ($10\,000 \text{ mg/dm}^3$) i etanol wszystkie zwierzęta padły przed końcem eksperymentu (w 6. tygodniu). Tak dużej liczby zwierząt, które padły, nie obserwowano w innych grupach zwierząt, tj.: otrzymujących tylko karbaminian etylu, mniejsze dawki karbaminianu etylu (mniejsze niż 10 000 ppm, czyli $10\,000 \text{ mg/dm}^3$) łącznie z etanolem, a także we wszystkich grupach samców. Szczury otrzymujące wodę do picia z karbaminianem etylu i etanolem przyjmowały mniej płynów niż te, które były narażone tylko na karbaminian etylu. W grupie samców narażonych na karbaminian etylu o stężeniu 10000 ppm i samic narażonych na karbaminian etylu o stężeniu w wodzie 3300 lub 10 000 ppm (mg/dm^3 wody) stwierdzano kardiomiopatię. Po podaniu karbaminianu etylu łącznie z 5-procentowym roztworem etanolu stopień nasilenia kardiomiopatii ulegał zmniejszeniu (osłabieniu), lecz tylko w grupie samic. Podobny skutek, tj. osłabienie nasilenia zmian, obserwowano w przypadku

nefropatii indukowanej karbaminianem etylu. Po 13 tygodniach trwania eksperymentu stężenie karbaminianu etylu w osoczu krwi myszy było 4-krotnie większe po łącznym podaniu z etanolem niż po podaniu tylko roztworów wodnych karbaminianu etylu (NTP 1996).

Po podaniu karbaminianu etylu w 5-procentowym roztworze etanolu u myszy (samów i samic) stwierdzono wzrost przypadków rozrostu nabłonka oskrzelików w porównaniu ze zwierzętami narażonymi tylko na karbaminian etylu. Jak podają autorzy opracowania, ten wzrost nie był statystycznie znamieny, ze względu na małą liczbę zwierząt w poszczególnych grupach.

Nefropatię obserwowano również w grupie myszy, samic narażanych na karbaminian etylu o stężeniu w wodzie 1100 ppm (1100 mg/dm^3), natomiast nie stwierdzano takich zmian, gdy zwierzętom podawano karbaminian etylu w 5-procentowym roztworze etanolu. Autorzy opracowania sugerują, że przyczyną braku zmian w nerkach mogło być mniejsze spożycie płynów przez myszy w tej grupie (NTP 1996).

Myszy B6C3F1 (48 samic i 48 samców) były narażane na karbaminian etylu w wodzie o stężeniach: 0; 10; 30 lub 90 ppm ($0 \div 90 \text{ mg/dm}^3$) i etanol w wodzie do picia o stężeniach: 0-; 2,5- lub 5-procentowych przez 2 lata. Dzielne pobranie karbaminianu etylu dla samców wynosiło odpowiednio: 40; 115 i 360 μg , a dla samic: 35; 105 i 325 μg (tab. 7. i 9.). Natomiast dziennie pobranie etanolu wynosiło dla samców 100 lub 180 mg oraz odpowiednio dla samic 80 lub 155 mg. U samców zaobserwowano, że wzrastające stężenie etanolu może zmniejszać częstość występowania gruczolaków pęcherzykowo-oskrzelikowych i gruczolaków gruczołu Harderiana lub raków wywołanych przez karbaminian etylu. U samic wzrastające stężenia etanolu może powodować wzrost liczby przypadków mięsaka wyściółki naczyń krwionośnych serca i gruczolaków pęcherzykowo-oskrzelikowych lub raków wywo-

lanych przez karbaminian etylu (NTP 2004).

Próbę wykonania retrospektywnych badań kohortowych przeprowadzono na grupie 664 mężczyzn zatrudnionych, w latach 1942-1979 przez co najmniej miesiąc, w fabryce chemicznej (Hagmar i in. 1986). Oprócz karbaminianu etylu pracownicy byli narażeni także na: piperazynę, tlenek etylenu, formaldehyd, chlorek benzylu, epichlorohydrynę i różne rozpuszczalniki orga-

niczne, głównie toluen. W badaniach tych zaobserwowano znacznie zwiększoną śmiertelność wśród pracowników z powodu złośliwych nowotworów, np. chłoniaka mnogiego (po 10 latach) i nowotworów oskrzeli (po 15 latach). Niestety, autorom opracowania nie udało się ustalić zależności między narażeniem na poszczególne substancje chemiczne a zwiększoną śmiertelnością pracowników (Hagmar i in. 1986).

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Zależność skutku działania toksycznego karbaminianu etylu od wielkości narażenia rozpatrywać można w odniesieniu do doświadczenia, w którym związek ten podawano myszom i szczurom w wodzie do picia przez 13 tygodni (NTP 1996), (tab. 5.). Należy jednak nadmienić, że w doświadczeniu tym nie prowadzono badań pod kątem ewentualnego działania rakotwórczego związku. Po narażeniu samców szczurów na karbaminian etylu o stężeniach $330 \div 10\,000$ ppm ($330 \div 10\,000$ mg/dm³) w wodzie do picia ($23 \div 622$ mg/kg mc./dzień) obserwowano, zależne od poziomu narażenia zmniejszenie masy grasicy. Po dawkach $78 \div 622$ mg/kg mc./dzień obserwowano u zwierząt skutki działania immunotoksycznego pod postacią częściowego zaniku aparatu chłonnego w śledzionie, a po największej dawce – także w węzłach chłonnych i szpiku kostnym. Obserwowano również zwiększenie względnej masy wątroby. Po dawkach karbaminianu etylu 287 lub 622 mg/kg mc./dzień stwierdzono zwiększenie masy: nerek, płuc i jąder (tab. 5.).

U samic szczurów narażonych na karbaminian etylu przez 13 tygodni zanotowano zależne od dawki ($33 \div 525$ mg/kg mc./dzień) skutki kardiotoksycznego działania związku. Podawkach karbaminianu etylu $114 \div 525$ mg/kg mc./dzień u zwierząt obserwowano także nefropatię oraz wzrost względnej masy wątroby i nerek. Częściowy zanik aparatu chłonnego w śledzionie obserwowano po dawkach kar-

baminianu etylu 332 lub 525 mg/kg mc./dzień. Podawce 525 mg/kg mc./dzień stwierdzono także zaburzenia w węzłach chłonnych (krezkowych i zuchwowych), (tab. 5.).

Po 13-tygodniowym narażeniu myszy na karbaminian etylu o stężeniach $110 \div 10\,000$ ppm ($110 \div 10\,000$ mg/dm³) w wodzie do picia ($18,3 \div 1667$ mg/kg mc./dzień) obserwowano wyraźne skutki działania toksycznego (znaczące zmniejszenie przyrostu masy ciała) po dawce 183 mg/kg mc./dzień (1100 ppm w wodzie). Po większych dawkach (550 lub 1667 mg/kg mc./dzień, – 3300 lub 10000 ppm) wszystkie myszy padły po 3 ÷ 5 tygodniach narażenia. Na podstawie wyników badań zwierząt, które padły, stwierdzono u nich: zapalenie płuc, częściowy zanik aparatu chłonnego w śledzionie, węzłach chłonnych i grasicy, wskazujący na działanie immunotoksyczne związku, a u samic także nefropatię (tab. 6.), (NTP 1996).

W badaniach toksyczności przewlekłej u myszy można było zaobserwować zależne od dawki ($1,17 \div 12$ mg/kg mc./dzień, czyli $10 \div 90$ ppm w wodzie do picia) zwiększenie częstości występowania nowotworów: płuc, wątroby, gruczołu Harderiana i skóry (tab. 9.), (NTP 2004).

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

Istniejące wartości NDS i ich podstawy

Karbaminian etylu jest związkiem, dla którego w żadnym państwie nie wyznaczono wartości dopuszczalnych stężeń w środowisku pracy.

W Holandii w 2000 r. (DECOS) zaproponowano przyjęcie wartości – HBC-OCR_V (*health-based calculated occupational cancer risk value*) – która w kolejnym etapie umożliwi oszacowanie ryzyka nowotworowego dla ludzi narażonych inhalacyjnie na karbaminian etylu w warunkach zawodowych. Za podstawę do wyliczeń wartości HBC-OCR_V przyjęto w przybliżeniu dawkę $3,5 \cdot 10^{-1}$ mg/kg mc./dzień (0,35 mg/kg mc./dzień), pochodzącą z wyników doświadczeń wy-

konanych na myszach i szczurach narażanych na karbaminian etylu w wodzie do picia przez 2 lata w dawkach $0,1 \div 12,5$ mg/kg mc./dzień. Już po dawkach $0,1 \div 0,5$ mg/kg mc./dzień związku u szczurów obserwowano występowanie nowotworów: włókniakomięsaka i białaczkę oraz nowotwory mieszane, a u myszy – białaczkę (Port i in. 1976; Schmähl i in. 1977).

Przy założeniu, że: czas życia człowieka wynosi średnio 75 lat, czas pracy zawodowej – 40 lat, czas pracy w roku – 48 tygodni, czas pracy w tygodniu – 5 dni, czas pracy w ciągu dnia – 8 h, a objętość wdychanego wtedy powietrza – 10 m^3 , w DECOS wyliczono wartość HBC-OCR_V:

$$\text{HBC} - \text{OCR}_V = 3,5 \cdot 10^{-1} \frac{40 \text{ lat}}{75 \text{ lat}} \cdot \frac{48 \text{ tyg.}}{52 \text{ tyg.}} \cdot \frac{5 \text{ dni}}{7 \text{ dni}} \cdot \frac{10 \text{ m}^3}{70 \text{ kg}} = 1,8 \cdot 10^{-2}.$$

Przyjmując za podstawę wartość HBC-OCR_V ($1,8 \cdot 10^{-2} \text{ mg/m}^3$), oszacowano ryzyko wystąpienia nowotworów na:

- $4 \cdot 10^{-3}$ dla 40 lat narażenia na karbaminian etylu o stężeniu $0,2 \text{ mg/m}^3$
- $4 \cdot 10^{-5}$ dla 40 lat narażenia na karbaminian etylu o stężeniu $0,002 \text{ mg/m}^3$.

W SCOEL dla karbaminianu etylu nie ustalono wartości OEL, gdyż związek zaliczono do grupy A rakotwórczości, tj. do genotoksycznych kancerogenów bez możliwości ustalenia wartości dopuszczalnej na podstawie skutku zdrowotnego. W uzasadnieniu podano, że ocena toksykologiczna karbaminianu etylu jest ukierunkowana na działanie rakotwórcze.

Nienowotworowe skutki działania związku, w tym toksyczność reprodukcyjna, występowały jedynie po dużych dawkach związku stosowanych w doświadczeniach na zwierzętach, na które w dzisiejszych czasach ludzie nie są już narażeni. Karbaminian etylu podlegał ponownej ocenie

przez IARC w 1974 oraz w 2010 r. Na podstawie dowodów rakotwórczości u zwierząt doświadczalnych stwierdzono, że jest on także czynnikiem rakotwórczym dla ludzi. Karbaminian etylu wywołuje nowotwory złośliwe u szczurów i myszy w wielu narządach docelowych, po zastosowaniu różnorodnych sposobów narażenia. Karbaminian etylu jest substancją: toksyczną, mutageną i klastogenną, zwłaszcza w obecności układu aktywacji metabolicznej. Istnieją sprawdzone dowody na to, że karbaminian etylu jest metabolicznie aktywowany przez odrębną drogę przemian, która prowadzi do powstawania reagującego z DNA – epoksydu karbaminianu winylu. Ten epoksyd powoduje powstawanie specyficznych adduktów z DNA, które są u ludzi tworzone także przez taki czynnik rakotwórczy, jak chlorek winylu. Ilościowo, na podstawie wyników doświadczeń na młodych i dorosłych myszach, specyficzne addukty z DNA powstające z karbaminianu etylu są około 2 - 4-krotnie słabsze niż chlorek winylu.

Biorąc pod uwagę wszystkie dostępne dane dotyczące: rakotwórczości, genotoksyczności i mechanizmu działania (z dużym podobieństwem do działania rakotwórczego na człowieka chlorku winylu), karbaminian etylu został zaliczony w SCOEL do grupy rakotwórczości A, tj. genotoksycznych substancji rakotwórczych bezprogowych. Wartości dopuszczalnej (OEL) oraz chwilowej (STEL) karbaminianu etylu nie można ustalić na podstawie skutku zdrowotnego. Narażenie zawodowe na karbaminian etylu powinno być ograniczone do minimum. Ocena ta została potwierdzona przez ocenę ryzyka przeprowadzoną w DECOS (2000) i w EFSA (2007). Według oceny EFSA dawka wyznaczająca (*benchmark dose*) karbaminianu etylu wynosi 0,3 mg/kg mc. Została ona przyjęta na podstawie częstości występowania u 10% samców i samic myszy nowotworów pęcherzyków płucnych i oskrzeli (SCOEL/SUM/172/2012).

Podstawy proponowanych najwyższych dopuszczalnych wielkości stężeń

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań wiadomo, że po 2-letnim narażeniu myszy na dawki $1,17 \div 1,33$ mg/kg mc./dzień karbaminian etylu u zwierząt obserwowano niewielkie zaburzenia w wątrobie (ogniska hepatocytów o kwasochłonnej cytoplazmie, rozszerzenie naczyń wątrobowych). Po tych dawkach notowano także liczne nowotwory: płuc, wątroby, gruczołu Hardriana i przedłożadka (NTP 2004). Takie zmiany nowotworowe, jak: rak płuc i naczyń krwionośnych oraz chłoniak, stwierdzano także wcześniej nawet przy jeszcze mniejszych poziomach narażenia (samice myszy narażane na dawki $0,1 \div 0,5$ mg/kg mc./dzień karbaminianu etylu przez 2 lata), (Schmähl i in. 1977).

Nie znaleziono w piśmiennictwie podstaw

do zaproponowania normatywu higienicznego na podstawie działania drażniącego lub układowego karbaminianu etylu. W związku z powyższym, za podstawę wyznaczenia wartości NDS karbaminianu etylu przyjęto szacowanie ryzyka wystąpienia nowotworów.

Opublikowana w 2007 r. dokumentacja szacująca ryzyko zawodowe związane z narażeniem ludzi na karbaminian etylu była opracowana na podstawie wyników badań przeprowadzonych przez NTP (2004), w których myszy narażano na karbaminian etylu podawany w wodzie do picia przez 2 lata (Świdwińska-Gajewska i in. 2007). Na podstawie danych doświadczalnych oszacowano, że ryzyko wystąpienia dodatkowego nowotworu płuc u ludzi narażonych na karbaminian etylu w środowisku pracy wynosi:

- 10^{-3} dla 40 lat narażenia na karbaminian etylu o stężeniu $0,0093$ ($\approx 0,01$) mg/m³
- 10^{-4} dla 40 lat narażenia na karbaminian etylu o stężeniu $0,00093$ ($\approx 0,001$) mg/m³
- 10^{-5} dla 40 lat narażenia na karbaminian etylu o stężeniu $0,000093$ ($\approx 0,0001$) mg/m³.

Na podstawie tego szacowania, zaproponowano przyjęcie wartości NDS karbaminianu etylu na poziomie ryzyka 10^{-4} (uwzględniając także możliwość występowania innych nowotworów, nie tylko płuc), czyli $0,001$ mg/m³. Brak jest podstaw do wyznaczenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) i najwyższego dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB). Zaproponowano także dodatkowe oznakowanie związku: „Carc. 1B” i „Ft” – działa szkodliwie na płód oraz „skóra” – wchłanianie substancji przez skórę może być podobnie istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową.

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

dr hab. n. med. MARTA WISZNIEWSKA

Instytut Medycyny Pracy

im. prof. dr. med. Jerzego Nofera

91-348 Łódź

ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ nerwowy, układ krążenia i skórę.

Badania pomocnicze: morfologia krwi.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ nerwowy, układ krążenia i skórę.

Badania pomocnicze: morfologia krwi.

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 pracownika lub osoby przyjmowanej do pracy.

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ nerwowy, układ krążenia i skórę.

Badania pomocnicze: morfologia krwi.

Narządy (układy) krytyczne

Ośrodkowy układ nerwowy.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami lekarskimi do zatrudnienia są:

- leczenie immunosupresyjne
- niedokrwistość aplastyczna.

U w a g a

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy.

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

Ze względu na działanie prawdopodobnie rakotwórcze u ludzi i działanie szkodliwe na płód w narażeniu na karbaminian etylu (uretan) nie wolno zatrudniać kobiet w ciąży i pracowników młodocianych.

W trakcie badań profilaktycznych należy poinformować pracowników o prawdopodobnie rakotwórczym działaniu karbaminianu etylu.

PIŚMIENNICTWO

- Abraham S.K., Singh S.P., Kesavan P.C. (1998) In vivo antigenotoxic effects of dietary agents and beverage co-administered with urethane: assessment of the role of glutathione S-transferase activity. *Mutat. Res.* 413, 103–110 [cyt. za IARC 2010].
- Barbin A. (2000) Etheno-adduct-forming chemicals: from mutagenicity testing to tumor mutation spectra. *Mutat. Res.* 462, 55–69.
- Bolt H.M. (2005) Vinyl chloride – a classical industrial toxicant of New interest. *Crit. Rev. Toxicol.* 35, 307–323, [cyt. za SCOEL 2012 streszczenie].
- Boylard E., Nery R. (1965) The metabolism of urethane and related compounds. *Biochem. J.* 94, 198–208. streszczenie [cyt. za Choy i in. 1995].
- Burkhard W., Fritz-Niggli H. (1987) Antiteratogenic and anticarcinogenic effects of X-rays in urethane-treated NMR1 mice. *Int. J. Radiat. Biol. relat. Stud. Phys. Chem. Med.* 51, 1031–1039.
- Cadranel J.F., Legandre C., Desaint B., Delamarre N., Florent C., Levy V.G. (1993) Liver disease from surreptitious administration of urethane. *J. Clin. Gastroenterol.* 17(1), 52–56.
- Carlson G.P. (1994) The effect of inducers and inhibitors of urethane metabolism on its in vitro and in vivo metabolism in rats. *Cancer Lett.* 87, 145–150.
- Centralny Rejestr Danych o Narażeniu na Substancje, Preparaty, Czynniki i Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym. Korzystano z bazy GESTIS International limit value for chemical agent, Occupational exposure limits (OELs). Guide Occupational Values 2012, informacje tabelaryczne uzyskane z Biura ds. NDS, IMP, Łódź [http://www.dguv.de/ifa/en/gestis/limit_values.jsp].
- Cha S.W., Lee H.J., Cho M.H., Lee M.H., Koh W.S., Han S., Kim J., Lee E., Nam D., Jeong T.C. (2001) Role of corticosterone in ethyl carbamate – induced immunosuppression in female BALB/c mice. *Toxicol. Lett.* 119, 173–181 [cyt. za IARC 2010].
- Cha S.W., Gu H.K., Lee K.P., Lee M.H., Han S.S., Joeng T.C. (2000) Immunotoxicity of ethyl carbamate in female BALB/c mice: role of esterase and cytochrome P450. *Toxicol. Lett.* 115, 173–181.
- Chieco-Bianchi L., De Benedictis G., Tridente G., Fiore-Donati L. (1963) Influence: Of age on susceptibility to liver carcinogenesis and skin initiating action by urethane in swiss mice. *Br. J. Cancer* 17, 672–680.
- Choy W.N., Black W., Mandakas G., Mirro E.J., Black H.E. (1995) A pharmacokinetic study of ethanol inhibition of micronuclei induction by urethane in mouse bone marrow erythrocytes. *Mutat. Res.* 341, 255–263.
- Dahl G.A., Miller E.C., Miller J.A. (1980) Comparative carcinogenicities and mutagenicities of vinyl carbamate, ethyl carbamate, and ethyl *N*-hydroxycarbamate. *Cancer. Res.* 40, 1194–1203.
- Dahl G.A., Miller J.A., Miller E.C. (1978) Vinyl carbamate as a promutagen and a more carcinogenic analog of ethyl carbamate. *Cancer. Res.* 38, 3793–3804.
- DECOS (2000) Dutch Expert Committee on Occupational Standards, a Committee of the Health Council of the Netherlands: Urethane (ethyl carbamate) – health based calculated occupational cancer risk values. Health Council of the Netherlands. The Hague; publication no. 2000/12OSH.
- Della Porta G., Capitano J., Strambio de Castillia P. (1963) Studies on leukemogenesis in karbaminian etylu treated mice. *Acta Un. Int. Cancer.* 29, 783–785 [cyt. za Świdwińska-Gajewska i in. 2007].
- Di Paolo J.A., Elis J. (1967) The comparison of teratogenic and carcinogenic effects of some carbamate compounds. *Cancer Res.* 27, 1696–1701 [cyt. za IARC 2010].
- Doell R.G., Carnes H.W. (1962) Urethan induction of thymic lymphoma in C57bl mice. *Nature* 194, 588–589.
- Dragani T.A., Sozzi G., Della Porta G. (1984) Comparison of urethane-induced sister-chromatid exchanges in various murine strains, and the effect of enzyme inducers. *Mutat. Res.* 121, 233–239.
- EFSA (2007) European Food Safety Authority. Ethyl carbamate and hydrocyanic acid in food and beverages [1] – Scientific opinion of the Panel on Contaminants. The EFSA Journal 551, 1–44 [cyt. za SCOEL 2012; http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locate-1178620753812_1178655060600.htm].
- Ferm V.H., Hanover N.H. (1966) Severe developmental malformations. Malformations induced by urethane and hydroxyurea in the hamster. *Arch. Pathol.* 81, 174–177 [cyt. za IARC 2010].
- Field K.J., Lang C.M. (1988) Hazards of urethane (ethyl carbamate): a review of the literature. *Lab. Anim.* 22(3), 255–262.
- Fiore-Donati L. (1961) Leukaemogenesis by ure-

- than in newborn Swiss mice. *Nature* 190, 278–279.
- Fiore-Donati L., De Benedictis G., Chieco-Bianchi L., Maiorano G. (1962) Leukaemogenic activity of urathan in Swiss and AKR mice. *Acta Un. Int. Cancer* 18, 134–139.
- Forkert P.G. (2010) Mechanisms of lung tumorigenesis by ethyl carbamate and vinyl carbamate. *Drug Metab. Rev.* 42(2), 355–378.
- Fossa A.A., Baird W.M., Carlson G.P. (1985) Distribution of urethane and its binding to DNA, RNA and protein in Sencar and BALB/C mice following oral and dermal administration. *J. Toxicol. Environ. Health* 15, 635–654 [cyt. za Nomeir i in. 1989, streszczenie].
- Frohlich A., Wurgler F.E. (1990) Genotoxicity of etyl carbamate in the *Drosophila* wing spot test: dependence on genotype-controlled metabolic capacity. *Mutat. Res.* 244, 201–208. [cyt. za Choy i in. 1995, streszczenie].
- GESTIS-Soffdatenbank (2013) Urethane. IFA Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung.
- Hagmar L., Bellander T., Englander V., Ranstam J., Attwell R., Skerfving S. (1986) mortality and cancer morbidity among workers in a chemical factory. *Scand. J. Work Environ. Health* 12, 545–551.
- Hirschboeck J.S., Lindsert M.C., Chase J., Calvy T.L. (1948) Effects of urethane in the treatment of leukemia and metastatic malignant tumors. *J. Am. Med. Assoc.* 136, 90–95 [cyt. za IARC 2010].
- Hoffler U., Dixon D., Peddada S., Ghanayem B.I. (2005): Inhibition of urethane-induced genotoxicity and cell proliferation in CYP2E1-null mice. *Mutat. Res.* 572, 58–72.
- Hoffler U., El-Masri H.A., Ghanayem B.I. (2003) Cytochrome P-450 2E1 (CYP 2E1) is the principal enzyme responsible for urethane metabolism: comparative studies using CYP 2E1-null and wild-type mice. *J. Pharmacol. Exper. Ther.* 305(2), 557–564.
- Hoffler U., Ghanayem B.I. (2005) Increased bioaccumulation of urethane in CYP 2E1-/- versus CYP 2E1+/+ mice. *Drug Metab. Dispos.* 33, 1144–1150.
- Hollander C.F., Bentvelzen P. (1968) Enhancement of urethan induction of hepatomas in mice by prior partial hepatectomy. *J. Nat. Cancer Inst.* 41, 1303–1306 [cyt. za Świdwińska-Gajewska i in. 2007].
- HSDB (2014) Hazardous Substances Data Bank [komputerowa baza danych].
- IARC (1974) Urethane. [W:] Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man: some anti-thyroid and related substances - nitrofurans and individual chemicals, Vol. 7, 111–140, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
- IARC (2010) IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Alcohol consumption and ethyl carbamate. Vol. 96, 1281–1424.
- ICSC (2010) International Chemical Safety Cards ICSC:0314. NIOSH National Institute for Occupational safety and health [Komputerowa baza danych].
- Ida N., Oda N., Yoda T., Kiyama T. (1962) Urethan (ethyl carbamate) as a multipotential carcinogen in BALB/C, ZB and DB female mice. *Acta Med. Okayama* 16, 253–264.
- Inai K., Arihiro K., Takeshima Y., Yonchara S., Tachiyama Y., Khatun N., Nishisaka T. (1991) Quantitative risk assessment of carcinogenicity of urethane (ethyl carbamate) on the basis of long-term oral administration to B6C3F1 mice. *Jpn. J. Cancer Res.* 82, 380–385.
- Ito T., Hoshino T., Sawauchi K. (1965) Further observation of urethan-induced thymic lymphoma in mice. *Z. Krebsforsch* 66, 552–558.
- Kemper R.A., Myers S.R., Hurst H.E. (1995) Detoxification of vinyl carbamate epoxide by glutathione: evidence for participation of glutathione S-transferases in metabolism of ethyl carbamate. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 135, 110–118.
- Kommineni V.R.Ch., Greenblatt M., Mihailovich N., Vesselinovitch S.D. (1970) The significance of perinatal age periods and the dose of urethan on the tumor profile in the MRC Rat. *Cancer Res.* 30, 2552–2555.
- Levin S.V. (1956) Influence of narcosis on sorption properties of cerebral cortical cells. [W:] *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 1956, Springer Verlag, Heidelberg, Germany [cyt. za SCOEL 2012].
- Luster M.I., Dean J.H., Boorman G.A., Dieter M.P., Hayes H.T. (1982) Immune functions in methyl and ethyl carbamate treated mice. *Clin. Exp. Immunol.* 50, 223–230.
- Matsuyama M., Suzuki H., Nakamura T. (1969) Carcinogenesis in dd-I mice injected during suckling period with urethane, nitrogen mustard N-oxide, and nitroso-urethane. *Br. J. Cancer* 23, 167–171.
- Matsuyama M., Suzuki H. (1970) Adrenal tumors and endocrine lesions induced in Syrian hamsters

- by urethane injected during suckling period. *Br. J. Cancer* 24, 312–317 [cyt. za IARC 2010].
- Merck Index (2000) [Red.] S. Budavari. Boca Raton, FL, Chapman&Hall, 12th ed.
- Merck Index (2001) [Red.] S. Budavari. Boca Raton, FL, Chapman&Hall, 13th ed.
- Miller Y.E., Dwyer-Nield L.D., Keith R.L., Franklin W.A., Malkinson A.M. (2003) Induction of a high incidence of lung tumors in C57BL/6 mice with multiple ethyl carbamate injections. *Cancer Let.* 198, 139–144.
- Miller J.A. (1991) The need for epidemiological studies of the medical exposure of Japanese patients to the carcinogen ethyl carbamate (urethane) from 1950 to 1975. *Jpn. J. Cancer Res.* 82, 1323–1324.
- Nakane K., Kameyama Y. (1986) Effect of maternal urethane administration on the manifestation of cleft lip and palate in CL/Fr mice. *J. Craniofac. Genet. Dev. Biol. Suppl.* 2, 109–112.
- Nettleship A., Henshaw P.S., Meyer H.L. (1943) Induction of pulmonary tumors in mice with ethyl carbamate (urethane). *J. Nat. Cancer Inst.* 4, 309–319, [cyt. za Świdwińska-Gajewska i in. 2007].
- Nomeir A.A., Ioannou Y.M., Sanders J.M., Matthews H.B. (1989) Comparative metabolism and of ethyl carbamate (urethane) in male Fisher 344 rats and male B6C3F1 mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 97, 203–215.
- Nomura T., Hayashi T., Masuyama T., Tanaka S., Nakajima H., Kurokawa N., Isa Y. (1990) Carcinogenicity of sublimed urethane in mice through the respiratory tract. *Jpn. J. Cancer Res.* 81, 742–746.
- Nomura T. (1975a) Urethane (ethyl carbamate) as a cosolvent of drugs commonly used parenterally in humans. *Cancer Res.* 35, 2895–2899 [cyt. za Miller 1991].
- Nomura T. (1975b) Letter: Transmission of tumors and malformations to the next generation of mice subsequent to urethan treatment. *Cancer. Res.* 35, 264–266.
- Nomura T. (1988) X-Ray-and chemically induced germ-line mutation causing phenotypical anomalies in mice. *Mutat. Res.* 198, 309–320.
- NTP (1996) Technical report on toxicity studies of urethane in drinking water and urethane in 5% ethanol administered to F344/N rats and B6C3F1 mice. Toxicity Report Series, Number 52, NIH Publication 96-3937, March 1996, United States Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health.
- NTP (2004) Technical report on toxicology and carcinogenesis studies of urethane, ethanol, and urethane/ethanol in B6C3F1 mice (drinking water studies). Technical Report Series, Number 510, NIH Publication 04-4444, August 2004, United States Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health.
- Ough C.S. (1976) Ethyl carbamate in fermented beverages and foods. I. Naturally occurring ethyl carbamate. *Agric. Food Chem.* 24, 323–328 [cyt. za Miller 1991].
- Park K-K., Liem A., Stewart B.C., Miller J.A. (1993) Vinyl carbamate epoxide, a major strong electrophilic, mutagenic and carcinogenic metabolite of vinyl carbamate and ethyl carbamate (urethane). *Carcinogenesis* 14, 441–450.
- Paterson E., Haddow A., Thomas I.A., Watkinson J.M. (1946) Leukaemia treated with urethane compared with deep X-Ray therapy. *Lancet* 247, 677–683 [cyt. za IARC 2010].
- Pietra G., Rappaport M.D., Shubik P., Phil D. (1961) The effects of carcinogenic chemicals in newborn mice. *Cancer* 14, 308–317.
- Pietra G., Shubik P. (1960) Induction of melanotic tumors in the Syrian golden hamster after administration of ethyl carbamate. *J. Natl. Cancer Inst.* 25, 627–630.
- Port R., Schmahl D., Wahrendorf J. (1976) Some examples of dose-response studies in chemical carcinogenesis. *Oncology* 33(2), 6–71.
- Roe F.J.C., Millican D., Mallett J.M. (1963) Induction of melanotic lesions of the iris in rats by urethane given during the neonatal period. *Nature*, 199, 1201–1202.
- Russell L.B., Hunsicker P.R., Oakberg E.F., Cummings C.C., Schmoyer R.L. (1987) Tests for urethane induction of germ-cell mutations and germ-cell killing in the mouse. *Mutat. Res.* 188, 335–342.
- Salmon A.G., Zeise L. (1991) Risk of carcinogenesis from urethane exposure, Boca raton, FL, CRC Press [cyt. za IARC 2010; NTP 1996].
- Schlatter J., Lutz W.K. (1990) The carcinogenic potential of ethyl carbamate (urethane): risk assessment at human dietary exposure levels. *Food Chem. Toxicol.* 28, 205–211.
- Schmähl D., Port R., Wahrendorf J. (1977) A dose-response study on urethane carcinogenesis in rats and mice. *Int. J. Cancer* 19, 77–80.

- SCOEL (2012) Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for ethyl carbamate (urethane) SCOEL/SUM/172, March 2012.
- Sharova L.V., Sharov A.A., Sura P. Gogal R.M., Smith B.J., Holladay S.D. (2003) Maternal immune stimulation reduces both placental morphologic damage and down-regulated placental growth-factor and cell cycle gene expression caused by urethane: are these events related to reduced teratogenesis? *Int. Immunopharmacol.* 3, 945–955.
- Sinclair J.G. (1950) A specific transplacental effect of urethane in mice. *Tex. Rep. Biol. Med.* 8, 623–632.
- Świdwińska-Gajewska A., Czerczak S., Szymczak W. (2007) Karbaminian etylu. Wytoczne Szacowania Ryzyka 1(24), 71–124.
- Takaori S., Tanabe K., Shimamoto K. (1966) Developmental abnormalities of skeletal system induced by ethylurethan in the rat. *Jpn. J. Pharmacol.* 16, 63–73.
- Tannenbaum A., Maltoni C. (1962) Neoplastic response of various tissues to the administration of urethan. *Cancer Res.* 22, 1105–1112.
- Tannenbaum A., Silverstone H. (1958) Urethan (ethyl carbamate) as a multipotential carcinogen. *Cancer Res.* 18, 1225–1231.
- Thorgeirsson U.P., Dalgard D.W., Reeves J., Adamson R.H. (1994) Tumor incidence in a chemical carcinogenesis study of nonhuman primates. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 19, 130–151.
- Toth B., Della Porta G., Shubik P. (1961a) The occurrence of malignant lymphomas in karbaminian etylu-treated Swiss mice. *Br. J. Cancer* 15, 322–326.
- Toth B., Tomatis L., Shubik P. (1961b) Multipotential carcinogenesis with urethan administration to newborn mice of different strains. *Nature* 202, 305–306.
- Toth B. (1970) Tumor induction with single urethan injection in newborn and adult syrian golden hamsters. A study on age influence. I. *Int. J. Cancer* 15, 63–68.
- Toth B. (1971) Tumor induction by repeated injections of urethan in newborn and adult hamsters: age influence. II. *J. Natl. Cancer Inst.* 46, 81–93.
- Toth B., Boreisha I. (1969) Tumorigenesis with isonocotinic acid hydrazide and urethan in the Syrian golden hamster. *Eur. J. Cancer* 5, 164–171.
- Trainin N., Precherutti A. (1964) Law Lw, trends in carcinogenesis by urethan administration to newborn mice of different strains. *Nature* 202, 305–306.
- Tutikawa K., Harada Y. (1972) Teratogenicity and nonmutagenicity of urethane. *Teratology* [abstract], August 123 [cyt. za IARC 2010].
- Vesselinovitch S.D., Mihailovich N., Richter W.R. (1970) The induction of malignant melanomas in Syrian white hamster by neonatal exposure to urethan. *Cancer Res.* 30, 2543–2547.
- Vesselinovitch S.D., Mihailovich N. (1966) Significance of newborn age and dose of urethan in leukemogenesis. *Cancer Res.* 26, 1643–1647.
- Vesselinovitch S.D., Mihailovich N. (1967) The neonatal and infant age periods as biologic factors which modify multicarcinogenesis by urethan. *Cancer Res.* 27, 1422–1429.
- Vesselinovitch S.D., Mihailovich N. (1968) The induction of benign and malignant liver tumors by urethan in newborn rats. *cancer Res.* 28, 881–887.
- Yamamoto T., Pierce W.M., Hurst H.E., Chen D., Waddell W.J. (1988) Inhibition of the metabolism of urethane by ethanol. *Drug Metab. Dispos.* 16, 355–358.
- Yu W., Sipowicz M.A., Haines D.C., Birely L., Diwan B.A., Riggs C.W., Kasprzak K.S., Anderson L.M. (1999) Preconception urethane or chromium(III) treatment of male mice: multiple neoplastic and non-neoplastic changes in offspring. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 158, 161–176.
- Zimmerli B., Schlatter J. (1991) Ethyl carbamate: analytical methodology, occurrence, formation, biological activity and risk assessment. *Mutat. Res.* 259, 325–350.