

prof. dr hab. JADWIGA A.
SZYMAŃSKA
dr ELŻBIETA BRUCHAJZER
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
90-151 Łódź
ul. J. Muszyńskiego 1

Nitrobenzen

Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego*

NDS: 1 mg/m³

NDSch: -

NDSP: -

DSB: 2% MetHb we krwi

SK - substancja wchłania się przez skórę

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 27.06.2006

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 19.06.2007

Słowa kluczowe: nitrobenzen, działanie toksyczne, methemoglobinemia, normatywy higieniczne.

Key words: nitrobenzene, toxicity, methaemoglobinaemia, exposure limits.

Nitrobenzen (NB) występuje w postaci jasnożółtawych kryształów lub żółtawej oleistej cieczy o zapachu gorzkich migdałów. Otrzymuje się go przez bezpośrednie nitrowanie benzenu. W Polsce nitrobenzen jest produkowany w Gliwicach (Polskie Odczynniki Chemiczne) i stosowany jako składnik preparatów: Mors, Nitro I, Nitro II, Nitro III i Nitro IV.

Około 95 ÷ 99% światowej produkcji nitrobenzenu wykorzystuje się do otrzymywania aniliny. Nitrobenzen jest stosowany także do syntezy wielu innych związków chemicznych i jako rozpuszczalnik.

Narażenie ludzi na nitrobenzen jest związane z narażeniem zawodowym podczas jego produkcji lub stosowania. W latach 1997-2000 nie zanotowano w przemyśle polskim narażenia pracowników na nitrobenzen o stężeniach, które przekraczały obowiązującą wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia wynoszącą 3 mg/m³.

Niekorzystne działanie nitrobenzenu w zatruciu ostrym u ludzi przejawia się przede wszystkim wystąpieniem sinicy będącej wynikiem podwyższonego stężenia methemoglobiny (MetHb) we krwi i hemolizy krwinek czerwonych. Obserwowano również bóle głowy, nudności, wymioty, duszność, stany splątania, ból w klatce piersiowej, spadek wentylacji płuc i śpiączkę prowadzącą do śmierci.

* Wartości normatywne nitrobenzenu są zgodne z rozporządzeniem ministra pracy i polityki społecznej z dnia 30 sierpnia 2007 r. DzU nr 161, poz. 1142.

Metoda oznaczania stężenia nitrobenzenu w powietrzu na stanowiskach pracy jest zawarta w normach PZ-Z-04036-2:1996 i PN-Z-04036-5:2005, a także została opublikowana w kwartalniku „Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy” 1998, z. 19.

Przewlekłe narażenie pracowników na nitrobenzen o stężeniu 5 mg/m³ (1 ppm) nie było przyczyną wystąpienia zmian w stanie ich zdrowia. Podwyższony poziom MetHb we krwi stwierdzono u ludzi narażonych na nitrobenzen o stężeniu 30 mg/m³.

Nitrobenzen wykazywał umiarkowaną toksyczność ostrą w doświadczeniach na zwierzętach. Wartość DL₅₀ dla zwierząt po podaniu dożołądkowym ustalono w granicach 349 ÷ 640 mg/kg. Medialne stężenie śmiertelne po narażeniu inhalacyjnym szczurów wynosiło 2780 mg/m³ (556 ppm).

Najczęstsze i najszybciej występujące skutki działania związku u szczurów narażonych na nitrobenzen w warunkach narażenia ostrego to wzrost stężenia MetHb we krwi oraz zmniejszenie zdolności wytwarzania plemników u samców (po dawce 200 mg/kg podanej dożołądkowo lub dootrzewnowo). Objawy te nasilały się po zwiększeniu dawek. Po dawce 450 ÷ 550 mg nitrobenzenu/kg masy ciała zwierząt obserwowano ponadto uszkodzenie ośrodkowego układu nerwowego (oun) i zmiany w wątrobie.

Dożołądkowe podanie nitrobenzenu samcom szczurów przez 2 ÷ 4 tygodnie spowodowało już po dawce 50 mg/kg spadek produkcji plemników. Pierwsze objawy methemoglobinemii zanotowano po 28 dniach podawania szczurom dawki 200 mg nitrobenzenu/kg masy ciała. Wraz ze wzrostem dawki (do 600 mg/kg) skutek ten się nasilił. Dwutygodniowe narażenie inhalacyjne szczurów na nitrobenzen o stężeniach 60 lub 195 mg/m³ powodowało zmiany hematologiczne, a po narażeniu na związek o stężeniu 562 mg/m³ obserwowano: spadek masy ciała, sinicę, ataksję, zmiany w śledzionie, oun, nerkach, wątrobie, płucach oraz padnięcie 70% narażanych zwierząt.

Po 90-dniowym i 2-letnim narażeniu inhalacyjnym szczurów na nitrobenzen o stężeniu 25 mg/m³ stwierdzono wzrost poziomu MetHb we krwi. Skutek ten nasilał się po narażeniu na związek o większym stężeniu (80 lub 250 mg/m³ w eksperymencie 90-dniowym oraz 125 mg/m³ w doświadczeniu 2-letnim). Po 2-letnim narażeniu szczurów na nitrobenzen o stężeniu 5 mg/m³ (1 ppm) obserwowano gromadzenie się barwnika w błonie śluzowej nosa. Po 90-dniowym narażeniu szczurów na nitrobenzen o stężeniu 250 mg/m³ stwierdzono ponadto zmiany w wątrobie, śledzionie, płucach i nerkach, zaś po 2-letnim narażeniu na związek o stężeniu 125 mg/m³ także atrofię jąder.

Nitrobenzen nie wykazywał działania mutagennego, klastogennego, embriotoksycznego i teratogennego. Po przewlekłym narażeniu zarówno szczurów, jak i myszy na nitrobenzen zanotowano zwiększoną częstość występowania niektórych typów nowotworów.

Nitrobenzen wchłania się w postaci par przez płuca i skórę. Narażenie na nitrobenzen o stężeniu 5 mg/m³ odpowiada dziennemu pobraniu na poziomie 25 ÷ 33 mg związku, z czego około 7 ÷ 9 mg nitrobenzenu było absorbowane przez skórę. Nitrobenzen może także wchłaniać się do organizmu drogą pokarmową.

Metabolizm nitrobenzenu w organizmie może przebiegać dwiema drogami – przez redukcję do aniliny i hydroksylację do aminofenoli (redukcja do aniliny przebiega przez niestabilny nitrozobenzen i fenylohydroksyloaminę, które są toksyczne i prowadzą do powstawania methemoglobiny) oraz przez hydroksylację do nitrofenoli (później może nastąpić redukcja nitrofenoli do aminofenoli). Wydalanie z moczem *p*-nitrofenolu może być podstawą do wyznaczenia wartości DSB (dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym).

Mechanizm toksycznego działania nitrobenzenu w organizmie jest związany z niedotlenieniem spowodowanym methemoglobino-twórczym działaniem jego metabolitów – nitrozobenzen (*p*-chionoiminy) oraz β-fenylohydroksyloaminy. Toksyczne działanie nitrobenzenu nasila się po jednoczesnym podaniu etanolu.

Podstawą wartości NDS (najwyższego dopuszczalnego stężenia) nitrobenzenu jest methemoglobino-twórcze działanie związku obserwowane u ochotników i pracowników narażonych na nitrobenzen w przemyśle oraz methemoglobino-twórcze działanie nitrobenzenu obserwowane u szczurów i myszy narażonych inhalacyjnie na związek przez 90 dni. Na podstawie wyników badań zaproponowano przyjęcie stężenia 1 mg/m³ za wartość NDS nitrobenzenu podobnie jak w UE (dyrektywa 2006/15/WE). Nie ma podstaw do wyznaczenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSch) nitrobenzenu. Wartość dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) nitrobenzenu ustalono na poziomie 2% methemoglobiny we krwi. Wartość tę ustalono dla

wszystkich substancji działających methemoglobinotwórczo. Zaproponowano oznakowanie normatywu literami „Sk”, z uwagi na możliwość wchłaniania się nitrobenzenu przez skórę.

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

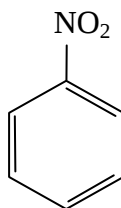
Ogólna charakterystyka substancji

Ogólna charakterystyka nitrobenzenu (Poradnik... 1974; *Beauchamp* i in. 1983; The Merck... 1996; IARC 1996; *Welzbacher* 1998; ACGIH 1999; 2005; CHEMINFO 2005; HSDB 2005):

– wzór sumaryczny



– wzór strukturalny



– nazwa zwyczajowa

nitrobenzen

– nazwa chemiczna CAS

nitrobenzene

– nazwa IUPAC

nitrobenzene

– numer CAS

98-95-3

– numer RTECS

DA 6475000

– numer EINECS

202-716-0

– synonimy:

mononitrobenzen, Benzalin, nitrobenzoleum, nitrobenzol, olejek mirbanowy, esencja mirbanowa, fałszywy olejek z gorzkich migdałów

– nazwy preparatów handlowych

UN 1662.

Klasyfikacja nitrobenzenu (rozporządzenie ministra zdrowia z dnia 28 września 2005 r. w sprawie wykazu substancji niebezpiecznych wraz z ich klasyfikacją i oznakowaniem. DzU nr 201/2005 poz. 1674):

– Rakotw. Kat. 3; R40, co oznacza: Rakotw. Kat. 3. – substancje o możliwym działaniu rakotwórczym na człowieka; R40 – ograniczone dowody działania rakotwórczego

– Repro. Kat. 3.; R62, co oznacza: Repro. Kat. 3 – substancje o możliwym szkodliwym działaniu na funkcje rozrodcze u człowieka; R62 – możliwe ryzyko upośledzenia płodności

– T; R23/24/25-48/23/24, co oznacza: T – produkt toksyczny, z przypisanym zwrotem określającym zagrożenie; R23/24/25 – działa toksycznie przez drogi oddechowe, w kontakcie ze skórą i po połknięciu; R48/23/24 – działa toksycznie przez drogi oddechowe i w kontakcie ze skórą; stwarza poważne zagrożenie zdrowia w następstwie długotrwałego narażenia

– N; R51-53, co oznacza: N – produkt niebezpieczny dla środowiska, z przypisanym zwrotem określającym zagrożenie, R51-53 – działa toksycznie na organizmy wodne, może powodować długo utrzymujące się niekorzystne zmiany w środowisku wodnym.

Właściwości fizykochemiczne substancji

Właściwości fizykochemiczne nitrobenzenu:

- wygląd jasnożółtawe kryształy lub żółtawa oleista ciecz o zapachu gorzkich migdałów (ACGIH 1999; HSDB 2005; *Welzbacher* 1998)
- masa cząsteczkowa 123,11
- próg zapachu rozpoznawalny $0,024 \text{ mg/m}^3$ ($4,7 \cdot 10^{-3}$ ppm), (HSDB 2005; *Welzbacher* 1998)
- próg zapachu oznaczalny $9,73 \text{ mg/m}^3$ (1,9 ppm), (HSDB 2005; *Welzbacher* 1998)
- temperatura wrzenia: $210,8 \div 211 \text{ }^\circ\text{C}$ (w 760 mmHg)
 $139,9 \text{ }^\circ\text{C}$ (w 100 mmHg)
 $85,4 \text{ }^\circ\text{C}$ (w 10 mmHg)
 $53,1 \text{ }^\circ\text{C}$ (w 1 mmHg), (*Beauchamp* i in. 1983)
- temperatura topnienia $5,7 \div 6 \text{ }^\circ\text{C}$
- temperatura zapłonu $87,8 \div 88 \text{ }^\circ\text{C}$
- temperatura samozapłonu: $482 \div 482,2 \text{ }^\circ\text{C}$ (HSDB 2005; *Beauchamp* i in. 1983)
 $480 \text{ }^\circ\text{C}$ (*Welzbacher* 1998)
 $496 \text{ }^\circ\text{C}$ (CHEMINFO 2005)
- gęstość względna (masa właściwa) d_4^{20}
 d_4^{15} 1,2037 (woda = 1), (*Welzbacher* 1998)
1,205 (woda = 1), (*The Merck*... 1996)
- gęstość par 4,1 (powietrze = 1), (HSDB 2005; IARC 1996)
4,25 (powietrze = 1), (CHEMINFO 2005; *Welzbacher* 1998)
- prężność par: $0,02 \text{ kPa}$ ($0,15 \text{ mmHg}$) w temp. $20 \text{ }^\circ\text{C}$ (CHEMINFO 2005; IARC 1996)
 $0,0379 \text{ kPa}$ ($0,284 \text{ mmHg}$) w temp. $25 \text{ }^\circ\text{C}$ (*Beauchamp* i in. 1983)
 $0,133 \text{ kPa}$ (1 mmHg) w temp. $44,4 \text{ }^\circ\text{C}$
 $1,333 \text{ kPa}$ (10 mmHg) w temp. $84,9 \text{ }^\circ\text{C}$
 $13,33 \text{ kPa}$ (100 mmHg) w temp. $139,9 \text{ }^\circ\text{C}$
 80 kPa (600 mmHg) w temp. $199,5 \text{ }^\circ\text{C}$ (*Beauchamp* i in. 1983)
- stężenia wybuchowe: granica dolna – 1,8% (obj.), (ACGIH 1999; CHEMINFO 2005; *Welzbacher* 1998)
granica górna – około 40% (obj.) (CHEMINFO 2005; *Welzbacher* 1998)
- współczynnik podziału oktanol/woda: $\text{Log } K_{ow} = 1,85$ (HSDB; IARC)
 $\text{Log } K_{ow} = 1,88$ (*Beauchamp* i in. 1983)
 $\text{Log } K_{ow} = 1,9$ (CHEMINFO 2005)
- rozpuszczalność w wodzie: $1,9 \text{ g}$ w 1000 g w temp. $20 \text{ }^\circ\text{C}$ (ACGIH; *Welzbacher* 1998)
 $0,1\%$ w temp. $20 \text{ }^\circ\text{C}$ (*Beauchamp* i in. 1983)
 1% w temp. $100 \text{ }^\circ\text{C}$ (*Beauchamp* i in. 1983)
- rozpuszcza się w: alkoholu etylowym, benzenie, eterze etylowym, olejach, acetonie (ACGIH 1999; CHEMINFO

2005; HSDB 2005; Poradnik... 1974; The Merck... 1996; Welzbacher 1998)

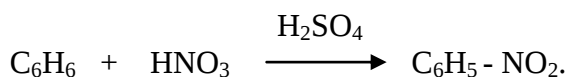
– współczynniki przeliczeniowe
w warunkach normalnych
(w temp. 25 °C, 101,3 kPa):

1ppm = 5,02 mg/m³ (CHEMINFO 2005)
1 ppm = 5,04 mg/m³ (IARC 1996)
1 mg/m³ = 0,199 ppm (CHEMINFO 2005).

Otrzymywanie, zastosowanie, narażenie zawodowe

Nitrobenzen (NB) został po raz pierwszy zsyntetyzowany w 1834 r. przez *Mitscherlicha* w reakcji benzenu z dymiącym kwasem azotowym, a w celach komercyjnych wyprodukowano go po raz pierwszy w Anglii w 1856 r. (*Dunlap* 1981).

Obecnie w celach przemysłowych nitrobenzen produkuje się przez bezpośrednie nitrowanie (wymianę wodoru na grupę nitrową, NO₂) benzenu. Reakcję tę przeprowadza się działaniem stężonego kwasu azotowego w obecności stężonego kwasu siarkowego (mieszania nitrująca). Działanie kwasu siarkowego polega na przeprowadzeniu kwasu azotowego we właściwy czynnik nitrujący, którym jest bardzo aktywny jon NO₂⁺. Nitrowanie przeprowadza się zwykle w temperaturze około 50 ÷ 55 °C (*Vogel* 1984).



Produkuje się zwykle trzy rodzaje nitrobenzenu: techniczny nitrobenzen (zawierający również *m*-dinitrobenzen, nitrofenol i wodę), podwójnie destylowany nitrobenzen (o czystości 95-procentowej) oraz olej mirbanowy (nitrobenzen o czystości 99,5-procentowej).

Światowa produkcja nitrobenzenu w 1985 r. wynosiła około 1,7 mln ton, w tym prawie 1/3 produkcji przypadała na państwa Europy Zachodniej i 1/3 (435 000 t) na Stany Zjednoczone (*Booth* 1991). Produkcja nitrobenzenu w USA wzrastała i w 1993 r. wynosiła 671 000 t. W latach 2000-2002 produkcja nitrobenzenu (NB) w Unii Europejskiej wynosiła około 1,18 mln ton (EU Risk... 2005).

Około 95 ÷ 98% światowej produkcji nitrobenzenu wykorzystuje się do otrzymywania (przez redukcję grupy nitrowej) aniliny (IARC 1996; EU Risk... 2005). Nitrobenzen jest stosowany również do syntezy wielu innych związków chemicznych (*p*-aminofenolu, *p*-nitroaminy, nitroaminy, *m*-chloronitrobenzenu, *m*-dinitrobenzenu, benzydyny i kwasu *m*-nitrobenzenosulfonowego). Nitrobenzen znalazł zastosowanie także jako rozpuszczalnik niektórych farb i pochodnych celulozy, środek konserwujący w farbach w spray'u oraz jako składnik past (wosków i płynów) do podłóg, past do czyszczenia butów (*Browning* 1965; The Merck... 1996; Hawley's... 1993). Nitrobenzen stosowany jest ponadto do otrzymywania nitrocelulozy (pyroksyliny), smarów olejowych (*lubricating oils*), w produkcji gumy, pestycydów (insektycyd używany w przechowywaniu zwłok), leków (w EU około 0,8% do produkcji np. acetaminofenu), mydeł i perfum (esencja migdałowa, olejek migdałowy), (The Merck... 1996; *Booth* 1991; EU Risk... 2005) oraz jako płyn do motorów żużlowych.

Narażenie ludzi na nitrobenzen jest związane z pracą zawodową w czasie produkcji lub wykorzystania nitrobenzenu. National Occupational Exposure Survey podaje, że w latach 1981-1983 w USA w warunkach przemysłowych na nitrobenzen było narażonych 5081 robotników (w tym 475 kobiet), (IARC 1996; HSDB 2005).

W Polsce nitrobenzen jest produkowany w Gliwicach (Polskie Odczynniki Chemiczne) i jest stosowany jako składnik preparatów: Mors, Nitro I, Nitro II, Nitro III i Nitro IV.

W latach 1997-2000 nie zanotowano w przemyśle polskim narażenia pracowników na nitrobenzen o stężeniach przekraczających obowiązującą wówczas wartość NDS równą 3 mg/m^3 .

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne. Zatrucia ostre

Pierwsza wzmianka o zatruciu ludzi nitrobenzenem pochodzi z 1886 r. Stwierdzono wtedy u ludzi noszących świeżo ufarbowane obuwie objawy, które określono jako zatrucie nitrobenzenowe. Okazało się jednak, że przyczyną zatrucia nie był nitrobenzen, lecz anilina (Agency... 1990).

Informacje o ostrych zatruciach nitrobenzenem dotyczą głównie zatruc drogą inhalacyjną, dermalną lub pokarmową. Objawami są: methemoglobinemia z sinicą (gdy stężenie methemoglobiny we krwi jest większe niż 15%), bóle głowy, duszność, nudności, wymioty, stany splątania, ból w klatce piersiowej i śpiączka prowadząca do śmierci. Objawy te pojawiają się zwykle między pierwszą a czwartą godziną narażenia. U mężczyzny, który spożył około 7 g nitrobenzenu, stwierdzono 78% methemoglobiny we krwi (Schielman i in. 1978). Nitrobenzen może także wywoływać hemolizę krwinek czerwonych o umiarkowanym nasileniu (brak danych o wielkości stężeń nitrobenzen), (Hunter 1943; HSDB 2005).

W zatruciu ostrym nitrobenzenem u ludzi obserwowano również tachykardię (częstoskurcz), przyspieszenie oddychania, spadek ciśnienia tętniczego, arytmie i spadek wentylacji płuc. U osób zatrutych w powietrzu wydychanym i w moczu może być wyczuwalny zapach gorzkich migdałów (HSDB 2005).

Salmowa i in. (1963) nie stwierdzili skutków działania toksycznego nitrobenzenu po narażeniu 7 ochotników na związek o stężeniu 5 lub 30 mg/m^3 (1 lub 6 ppm) przez 6 h. Nie stwierdzono wzrostu stężenia methemoglobiny we krwi u ochotników narażanych na nitrobenzen o stężeniu powyżej 30 mg/m^3 (6 ppm) przez 6 h oraz wzrostu wydalania 4-nitrofenolu w moczu powyżej 5 mg/l. Na podstawie wyników przeprowadzonych badań ustalono dawkę wchłoniętą na poziomie 35 mg jako maksymalne dzienne pobranie związku.

Pary nitrobenzenu wykazują umiarkowane działanie drażniące na oczy (Hathaway i in. 1991). Nitrobenzen wywołuje kontaktowe zapalenie skóry (Beauchamp i in. 1983). Nitrobenzen w postaci czystej powoduje pieczenie skóry i oparzenia pierwszego stopnia już po krótkim okresie narażenia (U.S. Coast Guard 1984-1985).

Zwiększone ryzyko toksycznego działania nitrobenzenu może występować u kobiet w ciąży (z powodu przenikania przez barierę łożyskową), u osób z niedoborem dehydrogenazy glukozo-6-fosforanowej i alkoholików. U ludzi tych może nastąpić zmniejszenie toksycznej i letalnej dawki nitrobenzenu (Sittig 1985).

Obserwacje kliniczne. Zatrucia przewlekłe

Objawy zatrucia nitrobenzenem (NB) stwierdzono u kobiety pracującej przez 3 miesiące w fabryce produkującej izolacje do kabli. Po 36 h od zakończenia narażenia poziom methemoglobiny w krwi kobiety wynosił 29,5% (37 g/l), (poziom letalny to 80%, a norma to około 1% lub 1 g/l). U kobiety stwierdzono również: hemolizę, niewielkie objawy zapalenia wątroby i neuropatię obwodową (Kokal i in. 1984).

Pacseri i in. (1958) u pracowników zatrudnionych przy produkcji aromatycznych związków nitrowych, gdzie stężenie nitrobenzenu wynosiło 30 mg/m^3 (6 ppm), nie zanotowali wyraźnych objawów zatrucia, oprócz zgłoszenia jednego lub dwóch przypadków bólu i zawrotów głowy. We krwi narażonych były niskie stężenia methemoglobiny. Stężenia nitro-

benzenu wynoszące około 200 mg/m³ (40 ppm) były poziomami, przy których u pracowników objawy zatrucia były widoczne.

Ikeda i Kita (1964) donoszą o methemoglobinemii (około 30 g/l) u kobiety, która była przez 17 miesięcy narażana na farbę zawierającą nitrobenzen jako rozpuszczalnik. Chora została przyjęta do szpitala z powodu bólu głowy, nudności, sinicy i ogólnego złego samopoczucia. Dzień po zakończeniu narażenia stężenie *p*-nitrofenolu w moczu wynosiło 1056 μmol/ml (142 mg/ml), a *p*-aminofenolu około 400 μmol/ml (39,6 mg/ml). Pacjentka miała objawy kliniczne (sinica: ust, błon śluzowych, dłoni oraz stóp) i biochemiczne zmiany, które świadczyły o anemii hemolitycznej i toksycznym zapaleniu wątroby. Można było również zaobserwować parastezję i nieznaczne (niewyraźne) objawy uszkodzenia układu nerwowego.

Badania epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie i bazach danych nie znaleziono informacji na temat badań epidemiologicznych osób narażanych na nitrobenzen.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra

Nitrobenzen wykazywał umiarkowaną toksyczność ostrą w doświadczeniach na zwierzętach. Wartość DL₅₀ nitrobenzenu dla zwierząt po podaniu dożołądkowym ustalono w granicach 349 ÷ 640 mg/kg. Medialne stężenie śmiertelne po narażeniu inhalacyjnym szczurów (tab. 1.) wynosiło 2780 mg/m³ (556 ppm) nitrobenzenu.

Tabela 1.

Wartości medialnych dawek i stężeń śmiertelnych nitrobenzenu (NB) dla zwierząt doświadczalnych

Gatunek zwierząt	Droga podania	Medialna dawka letalna DL ₅₀ , mg/kg	Medialne stężenie letalne CL ₅₀ , mg/m ³	Piśmiennictwo
Szczur	dożołądkowo	349	2780 (556 ppm)	RTECS 2005
		489		<i>Welzbacher</i> 1998
		600		HSDB 2005; IARC 1996
		640		HSDB 2005; The Merck... 1996
Mysz	dootrzewnowo inhalacyjnie (4 h)	640	2780 (556 ppm)	RTECS 2005
	na skórę	2100		RTECS 2005
	dożołądkowo	590		RTECS 2005

Najwięcej informacji na temat ostrej toksyczności nitrobenzenu po dożołądkowym podaniu związku pochodzi z doświadczeń wykonanych na szczurach i królikach (tab. 2.). Najmniejsze dawki, jakie podawano szczurom, wynosiły 50 lub 75 mg/kg. Po podaniu dożołądko-

wym dawki te nie wywoływały u zwierząt żadnych niekorzystnych objawów. Najmniejsza dawka nitrobenzenu, po której obserwowano niewielkie zmiany w wątrobie szczurów (powiększenie jąder hepatocytów), wynosiła 110 mg/kg (*Bond i in.* 1981).

Najczęstszym skutkiem zatrucia nitrobenzenem jest methemoglobinemia. Po dożołądkowym podaniu szczurom nitrobenzenu w dawce ≥ 200 mg/kg stwierdzono wzrost stężenie MetHb we krwi szczurów o 20% (*Goldstein i in.* 1984).

Po 1 ÷ 3 dniach po podaniu szczurom nitrobenzenu w dawkach 200 ÷ 300 mg/kg zanotowano zależne od dawki zwyrodnienie (wakuolizację i przerost) spermatocytów prowadzące do martwicy nabłonka plemnikotwórczego (*Bond i in.* 1981). Po większych dawkach nitrobenzenu 450 ÷ 550 mg/kg podawanych dożołądkowo (zblizonych do wartości DL_{50}) stwierdzono u szczurów niekorzystny wpływ na ośrodkowy układ nerwowy (oun), głównie zmiany w mózgu (encefalomalacja, krwotoki w mózgu i mózdzku), (*Morgan i in.* 1985).

Tabela 2.

Objawy działania toksycznego nitrobenzenu (NB) po jednorazowym dożołądkowym lub dootrzewnowym podaniu związku zwierzętom doświadczalnym

Gatunek zwierząt	Dawka, mg/kg	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Podanie dożołądkowe			
Szczur	50 ÷ 450 (50; 75; 110; 160; 200; 300; 450)	po dawkach 50 ÷ 75 mg/kg brak objawów; po dawkach 200 ÷ 300 mg/kg zależne od wielkości dawki zwyrodnienie (wakuolizacja i przerost) spermatocytów prowadzące do martwicy komórek nabłonka spermatogenego po jednym dniu do 3 dni po podaniu NB; po dawkach 110 ÷ 450 mg/kg powiększenie jąder hepatocytów z marginalizacją chromatyny; po 450 mg/kg martwica centralnej części zrazika	<i>Bond i in.</i> 1981
Szczur	≥ 200	wzrost stężenia methemoglobiny we krwi o 20%	<i>Goldstein i in.</i> 1984
Szczur	450	obustronnie w konarach mózdzku cechy rozmiękania z odczynowym rozrostem gleju	<i>Bond i in.</i> 1981
Szczur	550	encefalomalacja i krwotoki w mózgu i mózdzku; większe gromadzenie się NB w substancji szarej niż w białej	<i>Morgan i in.</i> 1985
Królik	180 ÷ 370	po dawce > 200 mg/kg padło 50% zwierząt, zaś po 250 mg/kg między 2. a 6. dniem narażenia padły wszystkie króliki	<i>Robinson i in.</i> 1951
Podanie dootrzewnowe			
Szczur	215 ÷ 1685 (1,75 ÷ 13,69 mmol/kg)	wzrost stężenia MetHb: 44% po 215 mg/kg (1,75 mmol/kg), 33% po 336 mg/kg (2,73 mmol/kg), 34% po 577 mg/kg (4,69 mmol/kg), 58% po 1144 mg/kg (9,29 mmol/kg) 58% po 1685 mg/kg (13,69 mmol/kg)	<i>Magos, Sziza</i> 1958
Szczur	200	wzrost MetHb we krwi do 30 ÷ 40% po 1,2 h	<i>Reddy i in.</i> 1976

cd. tab. 2.

Gatunek zwierząt	Dawka, mg/kg	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur	640	bez istotnych zmian w aktywności ALAT i AspAT	<i>Watanabe</i> i in. 1976
Szczur, mysz	997 (8,1 mmol/ kg) (dawka letalna)	utrata odruchów postawy i ułożenia, odruch wyprostny, drżenia, śpiączka	<i>Smith</i> i in. 1967
Mysz, kot	12,3 ÷ 1230 (0,1 ÷ 10 mmol/kg)	po dawkach 12,3 ÷ 123 mg/kg (0,1 ÷ 1 mmol/kg) 5% MetHb we krwi. Po dawkach 615 ÷ 1230 mg/kg (5 ÷ 10 mmol/kg) methemoglobinemia niewielka	<i>Smith</i> i in. 1967
Kot	10 ÷ 30	prężenie tułowia, biegnące ruchy i porażenie kończyn tylnych	<i>Bredow, Jung</i> 1942
Kot	10 ÷ 40	methemoglobinemia	
Kot	50	wzrost stężenia MetHb we krwi (8,7% po 1 h, 41,8% po 8 h), $t_{1/2}$ dla MetHb > 100 min	<i>Stopp</i> 1960

Robinson i in. (1951) opisują doświadczenie, w którym nitrobenzen podawano królikom dożołądkowo, jednorazowo w dawkach wynoszących 180 ÷ 370 mg/kg. Dawka nitrobenzenu przekraczająca 200 mg/kg powodowała padnięcie 50% królików. Po podaniu związku w dawce 250 mg/kg między 2. a 6. dniem padły wszystkie króliki.

W doświadczeniach dotyczących ostrej toksyczności nitrobenzenu u zwierząt po podaniu dootrzewnowym najczęściej obserwowano zmiany we krwi oraz w układzie nerwowym (tab. 2.). U szczurów narażonych na nitrobenzen w dawkach 215 ÷ 1685 mg/kg stwierdzono wzrost stężenia MetHb do 33 ÷ 58% (*Magos, Sziza* 1958). U myszy i kotów podwyższony poziom MetHb 5% pojawiał się we krwi już po dawkach nitrobenzenu wynoszących 12,3 ÷ 123 mg/kg. Niewielką methemoglobinemię stwierdzono także po podaniu nitrobenzenu myszom i kotom w dawkach 615 ÷ 1230 mg/kg (*Smith* i in. 1967). *Bredow* i *Jung* (1942) obserwowali u kotów wystąpienie methemoglobinemii po dawce 10 ÷ 40 mg/kg nitrobenzenu oraz zmiany w układzie nerwowym (m.in. porażenie kończyn tylnych) po dawkach 10 ÷ 30 mg/kg. Zaburzenia neurologiczne notowano także po dootrzewnowym jednorazowym podaniu nitrobenzenu szczurom i myszom, lecz podana dawka związku była zbliżona do letalnej (997 mg/kg) i powodowała m.in. drżenia, utratę odruchów i śpiączkę (*Smith* i in. 1967).

Najwięcej informacji o toksyczności ostrej nitrobenzenu po narażeniu inhalacyjnym pochodzi z doświadczeń na szczurach (tab. 3.). Zwierzęta te narażano przez 4 h na pary nitrobenzenu o stężeniach: 2200; 2580; 2720; 2780; 2900 lub 3580 mg/m³. W czasie narażenia u zwierząt obserwowano: sinicę, niewielkie zmetnienie rogówki i łzawienie. Po zakończeniu narażenia zanotowano: agresywne zachowanie szczurów, błądzenie, drgawki, przyspieszony oddech, spadek masy ciała, biegunkę, zmetnienie rogówki, szmery oddechowe oraz białą pianę wydobywającą się z pyska i nosa zwierząt. Niestety nie podano informacji po jakim stężeniu nitrobenzenu objawy te obserwowano. Wiadomo tylko, że po narażeniu zwierząt na nitrobenzen o stężeniu 2720 mg/m³ nastąpiło padnięcie 10% szczurów (1 na 10 zwierząt padło), po 2720 mg/m³ – 70%, po 2900 mg/m³ – 80%, zaś po narażeniu na nitrobenzen o stężeniu 3580 mg/m³ – 100% szczurów padło. Na podstawie tego eksperymentu wyznaczono wartość LC₅₀ nitrobenzenu na poziomie 2790 mg/m³ (556 ppm), (*duPont De Nemours* 1981).

Podskórne, jednorazowe podanie szczurom nitrobenzenu w dawce 30 mg/kg (tab. 3.) spowodowało wzrost stężenia MetHb i sulfhemoglobiny we krwi (*Manu* 1978).

Po podaniu szczurom nitrobenzenu w dawkach $30 \div 64$ mg/kg oraz 640 mg/kg notowano spadek aktywności katalazy i peroksydazy erytrocytów (*Manu* 1978; *Browning* 1965).

Schwedtke i *Lo-Sing* (1937) po podaniu podskórnym nitrobenzenu kotom w dawkach $10 \div 50$ mg/kg stwierdzili, że dawka progowa dla wzrostu MetHb we krwi kotów znajduje się między dawką 20 a 40 mg/kg.

Podskórne podanie nitrobenzenu królikom w dawce 750 mg/kg powodowało następujące zmiany w obrazie krwi: spadek hematokrytu i hemoglobiny, tendencję do występowania niedokrwistości sferocytowej, methemoglobinemię (4%), sulfhemoglobinemię (14%), leukopenię, leukocytozę, neutrofilę i trombocytopenię (*Browning* 1965).

Tabela 3.

Objawy działania toksycznego nitrobenzenu po jednorazowym narażeniu inhalacyjnym lub podskórnym podaniu związku zwierzętom doświadczalnym

Gatunek zwierząt	Stężenie, mg/m ³ (narażenie inhalacyjne) dawka, mg/kg (podanie podskórne)	Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Narażenie inhalacyjne				
Szczur	2200 (439 ppm) 2580 (514 ppm) 2720 (542 ppm) 2780 (555 ppm) 2900 (578 ppm) 3580 (714 ppm)	4 h	sinica, niewielkie zmętnienie rogówki, łzawienie (łzy zabarwione na czerwono). Po ekspozycji: agresywne zachowanie, błądź, drgawki, przyspieszony oddech, spadek masy ciała, biegunka, zmętnienie rogówki, rżęzenia, biała piana wydobywająca się z pyska i nosa. Padnięcie zwierząt: 1 szczur na 10 po stężeniu 2720 mg/m ³ , 7 po 2780 mg/m ³ , 8 po 2900 mg/m ³ , wszystkie (10) po 3580 mg/m ³ ; LC ₅₀ = 2790 mg/m ³ (556 ppm)	<i>duPont De Nemours</i> 1981
Pies	powietrze nasycone	5,5 h	oczopląs, porażenie, brak zmian w mózgu oprócz spadku liczby komórek Purkinje w mózdku (degeneracja chromatolityczna)	<i>Chandler</i> 1919
Podanie podskórne				
Szczur	30 mg/kg		wzrost stężenia sulfhemoglobiny i MetHb we krwi	<i>Manu</i> 1978
Szczur	$30 \div 64$ mg/kg		wzrost inkorporacji ⁵⁹ Fe do erytrocytów i wątroby, spadek aktywności katalazy i peroksydazy erytrocytów	
Szczur	32 mg/kg		wzrost t _{1/2} ⁵⁹ Fe w surowicy	<i>Goldstein</i> i in. 1970
Szczur	0,2 · DL ₅₀		spadek wykorzystania Fe w szpiku kostnym	<i>Stanculescu</i> i in. 1970

cd. tab. 3.

Gatunek zwierząt	Stężenie, mg/m ³ (narażenie inhalacyjne) dawka, mg/kg (podanie podskórne)	Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur	640 mg/kg		spadek aktywności katalazy do 96 h po podaniu, spadek aktywności peroksydazy	<i>Browning 1965</i>
Szczur			duża liczba padnięć zwierząt z powodu ostrego uszkodzenia nerek	<i>HSDB 2005</i>
Kot	10 ÷ 50 mg/kg		dawka progowa dla wzrostu MetHb we krwi między 20 a 40 mg/kg	<i>Schwedtke, Lo-Sing 1937</i>
Królik	750 mg/kg		spadek hematokrytu i hemoglobiny, tendencja do wystąpienia niedokrwistości sferocytowej; maksymalny wzrost MetHb (4%) po 4 h od podania; wzrost sulfhemoglobiny do 14%, leukopenia, leukocytoza z neutrofilia, trombocytopenia	<i>Browning 1965</i>

Toksyczność podprzewlekła

Po dożołądkowym podawaniu szczurom w dawce 50 mg/kg nitrobenzenu przez 14 lub 28 dni (tab. 4.) zanotowano zmniejszenie produkcji plemników u samców (*Koida i in. 1995*).

W innym doświadczeniu po dożołądkowym podaniu szczurom dawek 50 lub 150 mg/kg nitrobenzenu przez 28 dni nie stwierdzono żadnych zmian. Methemoglobinemię obserwowano dopiero po dawkach: 200; 400 lub 600 mg/kg (*Goldstein i in. 1984*).

Po 5-krotnym podaniu dożylnym lub na skórę nitrobenzenu królikom w dawce 0,05 mg/kg/dzień (0,1 ml/dzień) u zwierząt stwierdzono (tab. 4.) przekrwienie oraz rozrost dróg żółciowych, zmiany w płucach (m.in. obrzęk, krwotok, zmiany proliferacyjne) oraz hiperplazję szpiku (*Matsumara, Yoshida 1959*).

Yamada (1958) przeprowadził doświadczenie, w którym nitrobenzen w dawce 0,7 ml/kg podawał podskórnie ośmiu królikom przez 23 tygodnie. Cały okres narażenia przeżył tylko jeden królik (trzy króliki padły po 4 tygodniach, dwa po 6 tygodniach, jeden po 11 tygodniach i jeden po 14 tygodniach). Objawami toksycznego działania nitrobenzenu było: uszkodzenie śledziony, przerost i hiperplazja komórek układu siateczkowo-nabłonkowego, zwyrodnienie tkanki tłuszczowej oraz niewielkie zmiany w wątrobie i szpiku (tab. 4.).

Tabela 4.

Toksyczność podprzewlekła nitrobenzenu (NB) po dożołądkowym, dożylnym, podskórnym i skórnym podaniu związku zwierzętom doświadczalnym

Gatunek zwierząt	Dawka	Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Podanie dożołądkowe				
Szczur	50 mg/kg	2 lub 4 tyg.	zmniejszenie produkcji plemników (zależne od wieku, w którym rozpoczęto narażenie)	<i>Koida i in. 1995</i>
Szczur	50; 150; 200; 400; 600 mg/kg	28 dni	brak methemoglobinemii methemoglobinemia	<i>Goldstein i in. 1984</i>
Podanie dożylne				
Królik	0,05 mg/kg (0,1 ml/dzień)	5 dni	przekrwienie, hiperplazja dróg żółciowych, zmiany w płucach (krwotok, przekrwienie, obrzęk, hipertrofia ściany pęcherzyków, obecność monocytów, zmiany proliferacyjne, rozrost nabłonka oskrzeli)	<i>Matsumara, Yoshida 1959</i>
Podanie podskórne				
Królik (8)	0,7 mg/kg (0,7 ml/kg)	23 tygodnie (160 dni)	padnięcia zwierząt po 4 tyg. – 3 króliki, po 6 tyg. – 2, po 11 tyg. – 1, po 14 tyg. – 1; cały okres narażenia (23 tygodnie) przeżył tylko 1 królik objawy: uszkodzenie śledziony (znaczne przekrwienie zatok), przerost i rozrost komórek układu śródzwojowo-nabłonkowego, zwyrodnienie tkanki tłuszczowej oraz pogrubienie i zwyrodnienie hialinowe ścian naczyń, niewielka hiperplazja komórek wątroby, zmiany w szpiku (wzrost megakariocytów)	<i>Yamada 1958</i>
Podanie skórne				
Królik	0,05 mg/kg (0,1 ml/dzień)	5 dni	przekrwienie, hiperplazja dróg żółciowych, zmiany w płucach (krwotok, przekrwienie, obrzęk, hipertrofia ściany pęcherzyków, obecność monocytów, zmiany proliferacyjne, rozrost nabłonka oskrzeli)	<i>Matsumara, Yoshida 1959</i>

Dane o toksyczności podprzewlekłej nitrobenzenu pochodzą z eksperymentów inhalacyjnych na myszach i szczurach (tab. 5.). Po 2-tygodniowym narażeniu na nitrobenzen stwierdzono u zwierząt zmiany hematologiczne (m.in. zależny od dawki wzrost: liczby płytek krwi, poziomu MetHb, neutrofili, monocytów, leukocytów oraz spadek poziomu hemoglobiny

i limfocytów), a także wzrost względnej masy śledziony, nerek, wątroby i serca. Niestety, w danych z piśmiennictwa nie podano wielkości stężeń nitrobenzenu, na którego działanie narażano zwierzęta. Wiadomo tylko, że narażenie zwierząt na nitrobenzen o największym stężeniu (562 mg/m^3) spowodowało aż 70-procentowe padnięcie zwierząt. U zwierząt stwierdzono również: zmniejszenie masy ciała, sinicę, ataksję, ciężki oddech, nasiloną diurezę, zmiany histopatologiczne w śledzionie, układzie nerwowym (mózdżku, rdzeniu przedłużonym i kręgowym) oraz obrzęk płuc i zapalenie rogówki (*duPont De Nemours* 1980), (tab. 5.).

Tabela 5.

Toksyczność podprzewlekła nitrobenzenu (NB) po inhalacyjnym narażeniu zwierząt doświadczalnych

Gatunek zwierząt	Stężenie, mg/m^3 (ppm)	Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur	60 (12) 195(39) 562 (112)	6 h/dz. 5 dni/tyg. 2 tygodnie	zależny od wielkości dawki wzrost poziomu MetHb, liczby płytek krwi, neutrofilów, monocytów, leukocytów, białek surowicy, cholesterolu oraz spadek poziomu hemoglobiny, limfocytów, kreatyniny i aktywności alkalicznej fosfatazy; krew barwy ciemnobrązowej; wzrost względnej masy śledziony, nerek, wątroby i serca; narażenie na NB o stężeniu 562 mg/m^3 – 70% padnięć zwierząt oraz spadek masy ciała, sinica, ataksja, oddychanie z wysiłkiem, częściowe wyczerpanie, nasilona diureza ze zmniejszeniem osmolalności moczu i wzrostem poziomu urobilinogenu w moczu; zmiany histopatologiczne w śledzionie, mózdzku (krwotok i obrzęk), rdzeniu przedłużonym i kręgowym (odcinku szyjnym), atrofia lifobowych komórek grasicy i śledziony, obrzęk płuc i zapalenie rogówki	<i>duPont De Nemours</i> 1980
Szczur, szczep Sprague-Dawley (CD)	50 (10) 175 (35) 625 (125)	6 h/dz. 5 dni/tyg. 2 tygodnie	narażane na NB o stężeniu 625 mg/m^3 szczury po 4 dniach padały (przypuszczalna przyczyna zgonu – krwotok w mózdzku, okołonaczyniowy obrzęk i naczyniowy zastój krwi w płucach po 3 ÷ 5 dniach, ale bez zmian histopatologicznych w płucach); zwierzęta, które przeżyły, miały: krótki, płytki oddech, charczenie (sapanie), pomarańczowe przebarwienia wokół ujścia układu moczowo-płciowego, umiarkowane zmiany w nerkach, ustępujące po 14 dniach, uszkodzenie wątroby i śledziony	<i>Medinsky, Irons</i> 1985
Szczur, szczep Fischer 344	50 (10) 175 (35) 625 (125)	6 h/dz. 5 dni/tyg. 2 tygodnie	brak zmian, nawet po NB o stężeniu 625 mg/m^3	<i>Medinsky, Irons</i> 1985
Szczur	$5,4 \cdot 10^{-11} \text{M}$	5 i 10 tygodni	zwyrodnienie komórek mitralnych opuszki węchowej	<i>Pinching, Doeving</i> 1974

cd. tab. 5.

Gatunek zwierząt	Stężenie, mg/m ³ (ppm)	Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur, szczep Fischer 344	25 (5) 80 (16) 250 (50)	6 h/dz. 5 dni/tyg. 90 dni	zależny od wielkości dawki wzrost poziomu MetHb: u samców po 25; 80 i 250 mg/m ³ , u samic po 80 i 250 mg/m ³ . Po najwyższym stężeniu u samców: zmiany hematologiczne (anemia hemolityczna), uszkodzenie kanalików nerkowych, zwyrodnienie nabłonka przewodu nasienego; u obu płci: zmiany histopatologiczne w wątrobie, śledzionie, zmiany zapalne w płucach i hiperplazja w szpiku kostnym	<i>Hamm i in.</i> 1984
Szczur, szczep CD	25 (5) 80 (16) 250 (50)	6 h/dz. 5 dni/tyg. 90 dni	zależny od wielkości dawki wzrost poziomu MetHb: u samców po 80 i 250 mg/m ³ , a u samic tylko po 250 mg/m ³	<i>Hamm i in.</i> 1984
Mysz	50 (10) 175 (35) 625 (125)	6 h/dz. 5 dni/tyg. 2 tygodnie	stężenie 175 mg/m ³ umiarkowana hiperplazja oskrzelików i uszkodzenie śledziony stężenie 625 mg/m ³ dodatkowo minimalne uszkodzenie nerek	<i>Medinsky, Irons</i> 1985
Mysz	175 (35) 625 (125)	3 dni	umiarkowana hiperplazja oskrzelików	IARC 1996
Mysz	25 (5) 80 (16) 250 (50)	6 h/dz. 5 dni/tyg. 90 dni	stężenie MetHb rośnie tylko po narażeniu myszy na związek o stężeniu 250 mg/m ³ ; zmiany histopatologiczne w śledzionie – po narażeniu na związek o wszystkich stężeniach, zmiany w wątrobie po narażeniu na związek o stężeniu 80 i 250 mg/m ³ (u samców) i po 250 mg/m ³ u samic; zanotowano wzrost gęstości względnej moczu (po narażeniu na związek o wszystkich trzech stężeniach)	<i>Hamm i in.</i> 1984

W podobnym eksperymencie przeprowadzonym przez *Medinsky'ego* i *Irons'a* (1985) ocenę toksyczności wykonano po narażeniu różnych szczepów szczurów (Sprague-Dawley CD lub Fischer 344) na nitrobenzen o stężeniach: 50; 175 lub 625 mg/m³ (tab. 5.). Szczury szczepu Sprague-Dawley (CD) po narażeniu na związek o stężeniu 625 mg/m³ padały już po 4 dniach eksperymentu (przypuszczalna przyczyna zgonu – krwotok w mózdku, okołona-czyniowy obrzęk i naczyniowy zastój krwi w płucach, lecz bez zmian histopatologicznych w płucach). U zwierząt, które przeżyły, obserwowano krótki, płytki oddech, umiarkowane zmiany w nerkach (ustępujące po 14 dniach), uszkodzenie wątroby i śledziony. *Medinsky* i *Irons* (1985) stwierdzili, że narażenie szczurów szczepu Fischer 344 na nitrobenzen o stężeniu 625 mg/m³ nie wywoływało żadnych objawów (tab. 5.). Wyniki tych eksperymentów wskazują, że toksyczność nitrobenzenu zależy od szczepu szczurów.

Skutki działania nitrobenzenu po inhalacyjnym podprzewlekłym 90-dniowym narażeniu szczurów i myszy opisali *Hamm i in.* (1984), (tab. 5.). Stwierdzili oni u zwierząt zależny od wielkości dawki wzrost stężenia MetHb we krwi: u samców szczepu Fischer 344 methemoglobinemię zaobserwowano po narażeniu na związek o wszystkich trzech stężeniach (25; 80 lub 250 mg/m³), zaś u samic tylko po narażeniu na związek o dwóch większych stężeniach; u samców szczepu Dawley-Sprague (CD) skutek ten zanotowano po narażeniu szczurów na nitrobenzen o stężeniach 80 lub 250 mg/m³, a u samic tylko po narażeniu na związek o stężeniu 250 mg/m³. Po narażeniu samców na nitrobenzen o największym stężeniu (250 mg/m³) stwierdzono ponadto: zmiany hematologiczne (anemię hemolityczną), uszkodzenie kanalików nerkowych i zwyrodnienie nabłon-

ka przewodu nasiennego. U obu płci zanotowano zaś zmiany zapalne w: płucach, hiperplazję w szpiku kostnym oraz zmiany histopatologiczne w wątrobie i śledzionie (tab. 5.).

Pierwsze objawy niekorzystnego działania nitrobenzenu na myszy narażane inhalacyjnie przez 2 tygodnie pojawiły się po narażeniu na związek o stężeniu 175 mg/m^3 . Zanotowano wtedy umiarkowaną hiperplazję oskrzelików i uszkodzenie śledziony. Po narażeniu myszy na nitrobenzen o stężeniu 625 mg/m^3 stwierdzono dodatkowo niewielkie uszkodzenie nerek (Medinsky, Irons 1985), (tab. 5.).

Po 90-dniowym narażeniu myszy na nitrobenzen o stężeniach: 25; 80 lub 250 mg/m^3 stwierdzono zmiany histopatologiczne w śledzionie oraz wzrost gęstości względnej moczu. Zmiany w wątrobie u samców obserwowano po narażeniu na nitrobenzen o dwóch większych stężeniach (80 lub 250 mg/m^3), zaś u samic tylko po narażeniu na związek o stężeniu 250 mg/m^3 . Methemoglobinemię zanotowano (tab. 5.) tylko po narażeniu myszy na nitrobenzen o stężeniu 250 mg/m^3 (Hamm i in. 1984).

Toksyczność przewlekła

Dane o skutkach toksyczności przewlekłej nitrobenzenu (NB) pochodzą z eksperymentów wykonywanych przez 24 miesiące na szczurach i myszach narażanych inhalacyjnie na związek o stężeniach: 5; 25 lub 125 mg/m^3 (szczury) oraz 25; 125 lub 250 mg/m^3 (myszy), (Cattley i in. 1994; 1995), (tab. 6.).

Po 24 miesiącach doświadczenia w grupach kontrolnych przeżyło 75% samców i 80% samic (szczury szczepu Fischer 344) oraz 40% samców szczurów szczepu CD. W grupach zwierząt narażanych na nitrobenzen nie stwierdzono różnic w czasie przeżycia (w porównaniu ze zwierzętami z grup kontrolnych). Po narażeniu szczurów obserwowano: stan zapalny błony śluzowej nosa oraz zmiany we krwi (anemia methemoglobinowa) i w wątrobie. Po narażeniu na nitrobenzen o stężeniu 5 mg/m^3 obserwowano także odkładanie się barwnika w błonie śluzowej nosa szczurów szczepu Fischer 344. Niewielki spadek masy ciała samców stwierdzono po narażaniu na związek o największym stężeniu nitrobenzenu, zaś u obu płci nastąpiło nasilenie nefropatii. Po narażeniu zwierząt na związek o największym stężeniu nitrobenzenu (125 mg/m^3) obserwowano methemoglobinemię. U samców tego szczepu nie stwierdzono atrofii jąder.

Tabela 6.

Toksyczność przewlekła po inhalacyjnym narażeniu zwierząt doświadczalnych na nitrobenzen (NB)

Gatunek zwierząt	Stężenie, mg/m^3 (ppm)	Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Mysz	25 (5) 125 (25) 250 (50)	6 h/dz. 5 dni/tyg. 24 mies.	po 2 latach w grupie kontrolnej przeżyło 60% samców i 45% samic; narażenie na NB nie wpłynęło na liczebność zwierząt w grupach narażanych; zmniejszenie masy ciała samców, stan zapalny błony śluzowej nosa, zmiany w jądrach (hipospermia); po narażeniu na NB o stężeniu $\geq 25 \text{ mg/m}^3$: zwyrodnienie nabłonka węchowego, zmiany w wątrobie (powiększenie centralnej strefy zrazików) i w płucach; po narażeniu na NB o stężeniu $\geq 125 \text{ mg/m}^3$ zmiany we krwi (anemia methemoglobinowa)	Cattley i in. 1994; 1995

cd. tab. 6.

Gatunek zwierząt	Stężenie, mg/m ³ (ppm)	Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur, Fisher 344,	5 (1) 25 (5) 125 (25)	6 h/dz. 5 dni/tyg. 24 mies.	stan zapalny błony śluzowej nosa (odkładanie barwnika po 5 mg/m ³); po 24 miesiącach w grupach kontrolnych przeżyło 75% samców i 80% samic; narażenie na NB nie wpłynęło na liczebność zwierząt w grupach narażanych; po narażeniu na NB o stężeniu 5 mg/m ³ brak zmian; niewielki spadek stężenia masy ciała samców po narażeniu na NB o największym stężeniu, u obu płci nasilenie nefropatii; po narażeniu na NB o stężeniu 125 mg/m ³ methemoglobinemia i brak atrofii jąder	<i>Cattley i in. 1994; 1995</i>
Szczur Charles River CD	5 (1) 25 (5) 125 (25)	6 h/dz. 5 dni/tyg. 24 mies.	stan zapalny błony śluzowej nosa (odkładanie barwnika po 5 mg/m ³); NB nie wpływał na masę ciała zwierząt, które przeżyły cały okres eksperymentu; po narażeniu na NB o stężeniu 5 mg/m ³ brak zmian; po narażeniu na NB o stężeniu ≥ 25 mg/m ³ hepatomegalia środkowej strefy zrazików; po narażeniu na NB o stężeniu 125 mg/m ³ methemoglobinemia i atrofia jąder	<i>Cattley i in. 1994; 1995</i>

Nitrobenzen nie wpływał na masę ciała szczurów szczepu Charles-River CD, które przeżyły cały okres eksperymentu. Po narażeniu na nitrobenzen o stężeniu wynoszącym ≥ 25 mg/m³ u szczurów stwierdzono hepatomegalię środkowej strefy zrazików, zaś o stężeniu 125 mg/m³ – methemoglobinemię i atrofię jąder.

W doświadczeniu wykonanym na myszach stwierdzono, że po 2 latach przeżyło w grupach kontrolnych 60% samców i 45% samic. Liczba zwierząt narażonych, które przeżyły, nie odbiegała od liczby zwierząt w grupach kontrolnych. Po 2-letnim narażeniu myszy na nitrobenzen zaobserwowano: zmniejszenie masy ciała samców, stan zapalny błony śluzowej nosa i zmiany w jądrach (hipospermia). Po narażeniu myszy na nitrobenzen o stężeniu ≥ 25 mg/m³ zanotowano: degenerację nabłonka węchowego, zmiany w wątrobie (powiększenie centralnej strefy zrazików) i płucach, zaś po narażeniu na związek o stężeniu ≥ 125 mg/m³ wystąpiły zmiany we krwi (anemia methemoglobinowa), (*Cattley i in. 1994; 1995*), (tab. 6.).

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Aktywność mutagenną nitrobenzenu badano na szczepach testowych *Salmonella* Typhimurium: TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538, TA 98a, TA 98 NR, TA 100 NR i TA 1537 NR z dodatkiem i bez dodatku aktywatora – frakcji S9 wątroby szczura lub myszy. Po żadnych zastosowanych w badaniach stężeniach, które wynosiły od 50 do 2355 µg/ml, nie stwierdzono mutagennego działania nitrobenzenu (*Anderson, Styles 1978; Chiu i in. 1978; Dellarco, Prival*

1989; Haworth i in. 1983; Kawai i in. 1987; Nohmi i in. 1984; Shimizu i in. 1983; Vance, Levin 1984). Pojedyncze przypadki niewielkiej aktywności mutagennej w doświadczeniach, w których stosowano aktywację metaboliczną, stwierdził tylko jeden autor (Suzuki i in. 1983), (tab. 7.).

Tabela 7.

Wyniki badań mutagenności i genotoksyczności nitrobenzenu (NB)

Rodzaj testu	Organizm	Gatunek/szczep/typ	Najmniejsze stężenie efektywne/największe stężenie nie-efektywne	Wynik bez aktywacji	Wynik z aktywacją	Piśmiennictwo
Mutacje powrotne	bakterie	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 100	50 µg/ml 100 µg/ml 200 µg/płytkę	– –	– +	Suzuki i in. 1983
		<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 1535, TA 1537	128 µg/ml	–	–	Haworth i in. 1983
		<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 100	385 µg/ml	–	–	
		<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538, TA 98a, TA 98 NR, TA 100 NR, TA 1537 NR	500 µg/ml	–	–	Vance, Levin 1984
		<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98 NR	200 µg/płytkę 500 µg/płytkę		– +	Suzuki i in. 1983
		<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 100	465 µg/ml	–	–	Dellarco, Prival 1989
		<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 100	615 µg/ml	–		Chiu i in. 1978
		<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 100	1250 µg/ml	–		Anderson, Styles 1978
		<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 1535, TA 1538	1250 µg/ml 1250 µg/ml 1250 µg/ml		– – –	

cd. tab. 7.

Rodzaj testu	Organizm	Gatunek/szczep/typ	Najmniejsze stężenie efektywne/największe stężenie nie-efektywne	Wynik bez aktywacji	Wynik z aktywacją	Piśmiennictwo
		<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 100 TA 1535, TA1537, TA 1538	2355 µg/ml	–	–	<i>Shimizu i in.</i> 1983
		<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 100	nie podane	–	–	<i>Nohmi i in.</i> 1984
		<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 100	nie podane	–	–	<i>Kawai i in.</i> 1987
Pozostałe wyniki badań						
Rodzaj testu	Gatunek zwierząt		Dawka/stężenie nitrobenzenu		Wynik	Piśmiennictwo
Wymiana chromatyd siostrzanych	szczur F344	limfocyty krwi obwodowej in vivo	25 ÷ 250 mg/m ³ (5 ÷ 50 ppm) 6 h/dziennie, 21 dni		–	<i>Klingerman i in.</i> 1983
		limfocyty śledziony in vivo			–	
Aberracje chromosomowe		limfocyty krwi obwodowej in vivo			–	
Test recesywnych mutacji letalnych (SLRL)	<i>Drosophila melanogaster</i>				+	Rapaport 1965
Nieplanowa synteza DNA	szczur	hepatocyty in vivo	1 · p.o., 200 mg/kg 1 · p.o., 500 mg/kg		– –	<i>Mirsalis i in.</i> 1982
	człowiek	komórki ludzkich hepatocytów in vitro	123 µg/ml		–	<i>Butterworth i in.</i> 1989

Zdolność nitrobenzenu do wywoływania aberracji chromosomowych i wymiany chromatyd siostrzanych badano na limfocytach śledziony lub krwi obwodowej pobranej od szczurów narażanych inhalacyjnie na nitrobenzen o stężeniach od 25 do 250 mg/m³ przez 21 dni. W doświadczeniu tym nie stwierdzono, aby nitrobenzen wywoływał aberracje chromosomowe lub wymianę chromatyd siostrzanych (*Klingerman i in.* 1983).

U szczurów, którym nitrobenzen podano jednorazowo, dożołądkowo w dawkach 200 lub 500 mg/kg (tab. 7.), nie zanotowano nieplanowej syntezy DNA (doświadczenie przeprowadzono na hepatocytach), (Mirsalis i in. 1982). Skutku tego nie zanotowano również w badaniach w warunkach in vitro na komórkach ludzkich hepatocytów (Butterworth i in. 1989).

Podane dane wskazują, że nitrobenzen nie wykazuje ani działania mutagennego, ani genotoksycznego.

Działanie rakotwórcze

Działanie rakotwórcze nitrobenzenu (NB) obserwowano w doświadczeniu, w którym dwa szczepy szczurów (F344 i CD) i jeden szczep myszy (B6C3F1) narażano inhalacyjnie na nitrobenzen o stężeniach: 5; 25 lub 125 mg/m³ (szczury) oraz: 25; 125 lub 250 mg/m³ (myszy) przez 6 h dziennie, 5 dni w tygodniu. W ciągu 24 miesiące (tab. 8. i 9.) u samców szczurów szczepu Fischer 344 stwierdzono: wzrost przypadków nowotworów wątroby (gruczolaki i raki), gruczolaków i gruczolakoraków z komórek pęcherzyków tarczycy (po narażeniu na nitrobenzen o dwóch większych stężeniach) oraz gruczolaków komórek kanalikowych nerek po narażeniu na nitrobenzen o największym stężeniu (Cattley i in. 1994). U samic natomiast zanotowano: wzrost przypadków nowotworów wątroby (gruczolaki i raki) po narażeniu na nitrobenzen o największym stężeniu i polipów z podścieliska endometrium. Po narażeniu na nitrobenzen o dwóch największych stężeniach u szczurów szczepu Charles-River CD obserwowano także wzrost przypadków nowotworów wątroby (gruczolaki i raki), (tab. 8.). W doświadczeniu wykonanym na myszach stwierdzono u samców wzrost przypadków nowotworów pęcherzykowo-oskrzelowych (gruczolaków i raków pęcherzykowo-oskrzelowych) oraz gruczolaków z komórek pęcherzyków tarczycy, a u samic – wzrost przypadków wystąpienia gruczolaków wątroby, mieszanych raków i gruczolaków wątroby oraz gruczolakoraków gruczołu sutkowego (Cattley i in. 1994; 1995), (tab. 9.).

Tabela 8.

Występowanie nowotworów u szczurów po inhalacyjnym narażeniu na nitrobenzen (NB) przez 24 miesiące (Cattley i in. 1994; 1995)

Nowotwory	Płeć	Stężenie, mg/m ³			
		0	5	25	125
Szczury szczepu Fischer 344					
Nowotwory wątroby (gruczolaki i raki) <i>hepatocellular neoplasms (adonomas and carcinomas)</i>	samiec	1/69	4/69	5/70	16/70
	samica	0/70	2/66	0/66	4/70
Ogniska hepatocytów o kwasochłonnej cytoplazmie <i>hepatic eosinophilic foci</i>	samiec	26/69	25/69	44/70	57/70
	samica	6/70	9/66	13/66	16/70
Rozrost komórek pęcherzyków tarczycy <i>thyroid follicular-cell heperplasia</i>	samiec	0/69	1/69	2/70	4/70
	samica	1/69	—	—	0/68
Gruczolaki i gruczolakoraki z komórek pęcherzyków tarczycy <i>thyroid follicular-cell adenomas and adenocarcinomas</i>	samiec	2/69	1/69	5/70	8/70
	samica	0/69	—	—	3/68

cd. tab. 8.

Nowotwory	Płeć	Stężenie, mg/m ³			
		0	5	25	125
Polipy z komórek podścieliska endometrium <i>endometrial stromal polyps</i>	samica	11/69	17/65	15/65	25/69
Gruczolaki komórek kanalikowych nerek <i>renal tubular-cell adenomas</i>	samiec	0/69	0/68	0/70	5/70
	samica	0/70	0/66	0/66	0/70
Rak z komórek kanalików nerkowych <i>renal tubular-cell carcinoma</i>	samiec	0/69	0/68	0/70	1/70
	samica	0/70	0/66	0/66	0/70
Szczury szczepu Charles River CD					
Nowotwory wątroby (gruczolaki i raki) <i>hepatocellular neoplasms (adenomas and carcinomas)</i>	samiec	2/63	1/67	4/70	9/65
Gruczolaki komórek kanalikowych nerek <i>renal tubular-cell adenomas</i>	samiec	2/63	0/67	2/70	0/65
Rak z komórek kanalików nerkowych <i>renal tubular-cell carcinoma</i>	samiec	0/63	1/67	0/70	0/65
Gruczolaki i gruczolakoraki z komórek pęcherzyków tarczycy <i>thyroid follicular-cell adenomas and adenocarcinomas</i>	samiec	5/63	5/64	3/68	5/64

Tabela 9.

Występowanie nowotworów u myszy po inhalacyjnym narażeniu na nitrobenzen (NB) przez 24 miesiące (Cattley i in. 1994; 1995)

Nowotwory	Płeć	Stężenie, mg/m ³			
		0	25	125	250
Nowotwory pęcherzykowo-oskrzelowe (gruczolak i rak pęcherzykowo-oskrzelowy) <i>alveolar-bronchilar neoplasms (alveolar-bronchiolar adenomas and carcinomas)</i>	samiec	9/68	21/67	21/65	23/66
	samica	6/53	11/60	6/64	6/62
Rozrost struktur (komórek) pęcherzykowo-oskrzelowych <i>alveolar-bronchiolar hyperplasia</i>	samiec	0/68	58/67	58/65	62/66
	samica	0/53	55/60	63/64	62/62
Gruczolaki z komórek pęcherzyków tarczycy <i>thyroid follicular-cell adenomas</i>	samiec	0/65	4/65	1/65	7/64
	samica	2/49	0/59	3/61	2/61
Rozrost komórek pęcherzyków tarczycy <i>thyroid follicular-cell hyperplasia</i>	samiec	1/65	4/65	7/65	12/64
	samica	2/49	1/59	1/61	8/61
Gruczolaki wątroby <i>hepatocellular adenomas</i>	samiec	14/68	18/65	15/65	14/64
	samica	6/51	5/61	5/64	13/64
Mieszane raki i gruczolaki wątroby <i>hepatocellular adenomas and carcinomas combined</i>	samiec	25/68	30/65	22/65	21/64
	samica	7/51	7/61	7/64	14/62
Gruczolakoraki gruczołu sutkowego <i>mammary gland adenocarcinomas</i>	samica	0/48	–	–	5/60

Na podstawie wyników przewlekłych doświadczeń inhalacyjnych Cattley'a (Cattley i in. 1994) na zwierzętach, IARC zaliczył nitrobenzen do grupy 2B (przypuszczalnie rakotwór-

czy dla ludzi), EPA do grupy D (nieklasyfikowany jako kancerogen dla ludzi), MAK do grupy 3B (substancje, dla których w badaniach in vitro lub w badaniach na zwierzętach stwierdzono działanie rakotwórcze, ale są one niewystarczające do zaklasyfikowania tej substancji do innej kategorii), a ACGIH do grupy A3 (o udowodnionym działaniu kancerogennym u zwierząt, ale nieznanym związku powstawania nowotworów u ludzi), (IARC 2000; ACGIH 2000; 2005).

Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

Po jednorazowym, dożołądkowym podaniu samcom szczurów dawki 300 mg/kg nitrobenzenu (NB) stwierdzono: spadek masy jąder i najądrzy, zmiany morfologiczne w budowie plemników, zmiany histopatologiczne w jądrach i najądrzach oraz oligospermie (Levin i in. 1988; Linder i in. 1992), (tab. 10.).

Tabela 10.

Wpływ nitrobenzenu (NB) na płodność samców szczurów

Gatunek zwierząt	Dawka, mg/kg	Dawkowanie	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur ♂ (13-tygodniowe)	300	1 · p.o.	spadek masy jąder i najądrzy, zmiany morfologiczne główek i ogonów plemników, zmiany histopatologiczne w jądrach i najądrzach	Linder i in. 1992
Szczur ♂	300	1 · p.o.	oligospermia	Levin i in. 1988
Szczur ♂ (6-, 9-, 10-, 11- i 14-tygodniowe)	30; 45; 60	2 tygodnie, p.o.	szczury 6-tygodniowe: niewielkie zmiany masy jąder; szczury 9-, 10- i 11-tygodniowe: spadek masy jąder po 60 mg/kg; szczury 10-tygodniowe: spadek ruchliwości plemników, większy po 60 mg/kg niż po 45 mg/kg; szczury 14-tygodniowe: spadek masy jąder po 45 i 60 mg/kg	Kito i in. 1998
Szczur ♂ (6-, 8-, 10- i 40-tygodniowe)	50	2 lub 4 tygodnie, p.o.	szczury 6-tygodniowe: zmniejszenie aktywności plemników; szczury 8-tygodniowe: zmniejszenie aktywności plemników i masy jąder; szczury 10-tygodniowe: zmniejszenie liczby i aktywności plemników oraz masy jąder; zmiany mikroskopowe u 6-tygodniowych szczurów były mniejsze niż u 8- i 10-tygodniowych	Koida i in. 1995
Szczur ♂ (9-miesięczne)	60	1, 2 lub 3 tygodnie, p.o.	po 1 tygodniu: niewielkie zmiany w liczbie i ruchliwości plemników; po 2 i 3 tygodniach: spadek liczby i ruchliwości plemników	Yamamoto i in. 1995

Inne wyniki na temat wpływu nitrobenzenu na produkcję plemników pochodzą z eksperymentów wykonanych po podawaniu szczurom nitrobenzenu przez 1, 2, 3 lub 4 tygodnie

w dawkach od 30 do 60 mg/kg. Doświadczenia opisane przez *Kito i in.* (1998) oraz *Koida i in.* (1995) dotyczą skutków działania nitrobenzenu na produkcję plemników u samców szczurów, u których dożołądkowe podawanie (2- lub 4-tygodniowe w dawkach: 30; 45; 50 lub 60 mg/kg) rozpoczynano w różnym wieku zwierząt. Na podstawie otrzymanych wyników przypuszcza się, że skutki działania nitrobenzenu na układ rozrodczy samców zależą od wieku, w którym rozpoczęto narażanie i wielkości dawki: im starsze szczury i większe dawki, tym skutek silniejszy. U szczurów 6-tygodniowych zanotowano tylko zmniejszenie aktywności plemników, natomiast u 8 ÷ 11-tygodniowych obserwowano jeszcze spadek masy jąder oraz liczby i ruchliwości plemników (po 60 mg/kg). U zwierząt 14-tygodniowych objawy te pojawiały się już po dawce nitrobenzenu wynoszącej 45 mg/kg.

Po pierwszym tygodniu podawania szczurom 9-miesięcznym nitrobenzenu w dawce 60 mg/kg stwierdzono u zwierząt niewielkie zmiany w liczbie i ruchliwości plemników, natomiast po 2 i 3 tygodniach narażania zmniejszyła się ich liczba i ruchliwość (*Yamamoto i in.* 1995), (tab. 10.).

Płodność samców i samic oceniali *Dodd i in.* (1987) w doświadczeniu, w którym szczury były narażane inhalacyjnie na nitrobenzen o stężeniach: 5; 50 lub 200 mg/m³ (1; 10 i 40 ppm) przez 6 h dziennie, 5 dni w tygodniu, w ciągu 10 tygodni, przez 2 pokolenia (tab. 11.). Autorzy badań nie stwierdzili wpływu nitrobenzenu na reprodukcję po narażeniu na nitrobenzen o stężeniach wynoszących 5 lub 50 mg/m³. Po narażeniu zwierząt na nitrobenzen o stężeniu 200 mg/m³ zanotowano zmniejszenie płodności u obu pokoleń (F₀ i F₁) samców, które było związane ze spadkiem masy jąder i najądrzy, zanikiem kanalików nasiennych i zwyrodnieniem spermatocytów. Dziewięć tygodni po zakończeniu narażenia samców F₁ obserwowane wcześniej zmiany morfologiczne ustępowały, a płodność wzrastała 5-krotnie w porównaniu z okresem narażenia. *Dodd i in.* (1987) za wartość NOEL dla reprodukcji i płodności samców przyjęli stężenie nitrobenzenu wynoszące 50 mg/m³ (10 ppm).

Inny wpływ na rozrodczość obserwowano po narażeniu inhalacyjnym na nitrobenzen ciężarnych samic szczurów i królików (*Tyl i in.* 1987; *Biodynamice...* 1983; *Schroeder i in.* 1986), (tab. 11.). Po narażeniu ciężarnych szczurów na nitrobenzen o stężeniu 5 mg/m³ nie obserwowano skutków toksycznego działania związku, po narażeniu na nitrobenzen o stężeniu 50 lub 200 mg/m³ zanotowano wzrost względnej i bezwzględnej masy śledziony, zaś zmniejszenie masy ciała matek stwierdzono tylko po narażeniu na nitrobenzen o stężeniu 200 mg/m³. Narażenie samic na nitrobenzen o wszystkich badanych stężeniach nie spowodowało u nich żadnych zaburzeń organogenezy i teratogenności (*Tyl i in.* 1987).

U płodów ciężarnych samic królików narażanych na nitrobenzen o stężeniach: 50; 200 lub 400 mg/m³ (*Biodynamice...* 1983; *Schroeder i in.* 1986) również nie stwierdzono żadnych niekorzystnych zmian. Tylko po narażeniu matek na nitrobenzen o stężeniu 509 mg/m³ zanotowano niewielki wzrost resorpcji płodów, lecz nie stwierdzono skutków teratogennych narażenia. U matek narażanych na nitrobenzen o stężeniu 50 mg/m³ nie stwierdzono żadnych niekorzystnych skutków, natomiast po narażeniu na nitrobenzen o stężeniach wynoszących 200 ÷ 500 mg/m³ u samic obserwowano tylko niewielki wzrost masy wątroby i stężenia MetHb oraz luźny stolec i łysienie (tab. 11.).

Z przedstawionych doświadczeń wynika, że nitrobenzen nie wykazywał działania teratogennego u szczurów i królików, nie wpływał również na płodność samic. Jedynym niekorzystnym działaniem nitrobenzenu był wpływ na: jądra, najądrza i kanaliki nasienne u samców szczurów, co powodowało oligospermie i spadek płodności.

Tabela 11.

Wpływ nitrobenzenu (NB) na płodność samców i samic zwierząt po narażeniu inhalacyjnym

Gatunek zwierząt	Stężenie, mg/m ³ (ppm)	Narażenie	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur ♂, ♀	5 (1) 50 (10) 200 (40)	6 h/dzień, 5 dni/tyg. 10 tygodni badanie 2-poko- leniowe	brak skutków po narażeniu na NB o stężeniu 5 lub 50 mg/m ³ ; narażenie na NB o stężeniu 200 mg/m ³ : spadek płodności pokolenia F ₀ i F ₁ , która jest związana ze spadkiem masy jąder i najądrzy, zanikiem kanalików nasiennych, zwyrodnienie spermatocytów; po 9 tygodniach od przerwaniu narażenia u samców F ₁ płodność wzrosła 5-krotnie, a zmiany w narządach ustępowały; wartość NOEL dla reprodukcji i płodności samców szczurów wynosi 50 mg/m ³ (10 ppm)	<i>Dodd i in.</i> 1987; IARC 1996
Szczur ♀, ciężarne	5 (1) 50 (10) 200 (40)	6 h/dzień, między 6. a 15. dniem ciąży	narażenie na NB o stężeniu 5 mg/m ³ – bez objawów; narażenie na NB o stężeniu 50 lub 200 mg/m ³ : wzrost względnej i bezwzględnej masy śledziony u matek; narażenie na NB o stężeniu 200 mg/m ³ : spadek masy ciała matek, brak zmian u płodów, zaburzeń organogenezy i teratogenności	<i>Tyl i in.</i> 1987; IARC 1996
Królik ♀, ciężarne	50 (10) 200 (40) 400 (80)	6 h/dzień, między 13. a 19. dniem ciąży	objawy u matek: luźny stolec i łysienie; narażenie na NB o stężeniu 400 mg/m ³ – wzrost stężenia MetHb; bez zmian u płodów	<i>Biodynamics...</i> 1983
Królik ♀, ciężarne	50 (9,9) 207 (41) 509 (101)	6 h/dzień, między 7. a 19. dniem ciąży	narażenie na NB o stężeniu 50 mg/m ³ – bez objawów; narażenie na NB o stężeniu 207 i 509 mg/m ³ – niewielki wzrost masy wątroby i stężenia MetHb u matek; narażenie na NB o stężeniu 509 mg/m ³ – niewielki wzrost resorpcji płodów; bez skutków teratogennych	<i>Schroeder i in.</i> 1986; IARC 1996

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie i rozmieszczenie u ludzi

U ludzi nitrobenzen (NB) w postaci par szybko wchłania się przez płuca i skórę. U 7 ochotników narażanych na nitrobenzen o stężeniach 5 ÷ 30 mg/m³ (1 ÷ 6 ppm) przez 6 h związek ten wchłaniał się ze średnią wydajnością 80% (od 87% w pierwszej godzinie do 73% w szóstej godzinie narażenia), (*Salmowa i in.* 1963; *Piotrowski* 1972).

Szybkość wchłaniania par nitrobenzenu przez nieuszkodzoną skórę jest proporcjonalna do wielkości stężeń w powietrzu i wynosi u ludzi od około 1 mg/h, gdy stężenie par w powietrzu wynosiło 5 mg/m³ do około 9 mg/h, gdy stężenie wynosiło 30 mg/m³. W ciągu 6 h narażenia na nitrobenzen o stężeniu 10 mg/m³ przez skórę wchłania się od 8 do 19 mg związku. Absorpcja przez skórę maleje, gdy pracownik ma na sobie ubranie ochronne, a rośnie wraz ze wzrostem temperatury i wilgotności (powietrza i skóry).

Narażenie na nitrobenzen w powietrzu o stężeniu 5 mg/m³ odpowiada dziennemu pobraniu na poziomie 25 ÷ 33 mg związku. Po narażeniu na nitrobenzen o stężeniu 5 mg/m³ (1 ppm) około 7 ÷ 9 mg nitrobenzenu było absorbowane przez skórę, z czego około 20% zostało wydalone z moczem (Salmowa i in. 1963; Piotrowski 1967; 1972; 1984; National... 1981).

Po krótkotrwałym narażeniu ciekły nitrobenzen wchłania się przez skórę ze średnią szybkością 2 mg/cm²/h (Salmowa, Piotrowski 1960). Bezpośrednio po naniesieniu na skórę 15 mg/cm² nitrobenzenu stwierdzono, że związek wchłaniał się początkowo z szybkością 0,5 ÷ 2,5 mg/cm²/h, zaś po kilku godzinach wartość ta spadała do 0,1 ÷ 0,2 mg/cm²/h (Salmowa i in. 1963).

Pomiar stężenia nitrobenzenu we krwi po ostrym narażeniu ludzi wskazuje, że nitrobenzen może się gromadzić w organizmie człowieka po narażeniu wielokrotnym. Podobne obserwacje poczyniono dla dwóch jego głównych metabolitów w moczu – *p*-aminofenolu i *p*-nitrofenolu.

Wchłanianie i rozmieszczenie u zwierząt

Nitrobenzen (NB) wchłania się w postaci par do organizmu przez płuca i skórę. Nitrobenzen może także dostawać się do organizmu drogą pokarmową. Wchłanianie nitrobenzenu przez przewód pokarmowy zależy od stosowanej diety. Goldstein i in. (1984) stwierdzili, że po 28-krotnym podawaniu szczurom nitrobenzenu w dawkach: 200; 400 lub 600 mg/kg dieta bogata w celulozę powodowała najlepsze wchłanianie nitrobenzenu i w rezultacie największy wzrost MetHb we krwi (po dawce 200 mg/kg było 40% MetHb, a po 600 mg/kg – 64% MetHb we krwi).

Dieta, która miała najmniejszy wpływ na powstawanie MetHb we krwi zwierząt, była dieta zawierająca 5% celulozy: we krwi stwierdzono 5% MetHb po dawce 200 mg/kg i 20% MetHb po 600 mg/kg. Najsilniejszą methemoglobinemię zanotowano po karmieniu szczurów dietą zawierającą 8,4% celulozy (po dawce 600 mg/kg było 64% MetHb we krwi).

Albrecht i Neumann (1985) badali rozmieszczenie tkankowe i wiązanie nitrobenzenu znakowanego izotopem [¹⁴C] z hemoglobina po dożołądkowym podaniu szczurom w dawce 0,2 mmol/kg m.c. (24,6 mg/kg m.c.). Autorzy ci dokonali pomiaru radioaktywności po 1 i 7 dniach od podania nitrobenzenu. Najwyższe poziomy radioaktywności zanotowali po jednym dniu we krwi, wątrobie, nerkach i płucach (odpowiednio: 229 ± 48; 129 ± 9,5; 204 ± 27 i 62 ± 14 pmol/mg). Po 7 dniach od podania radioaktywność spadła odpowiednio do: 134 ± 19; 26,5 ± 3,5; 48 ± 2,4 i 29 ± 4,1 pmol/mg. Wiązanie nitrobenzenu z elementami krwi utrzymywało się na podwyższonym poziomie po 7 dniach od podania związku (współczynnik wiązania z hemoglobina po pierwszym dniu wynosił 72,8 ± 10 mmol/mol Hb, zaś po 7 dniach utrzymywał się na poziomie 70 ± 6,6).

Nitrobenzen jest silnym związkiem, choć słabszym od aniliny, wywołującym methemoglobinemię, lecz silniej wiąże się z hemoglobina (z globina). Goldstein i Rickert (1984) donoszą, że po dożołądkowym, jednorazowym podaniu szczurom i myszom [¹⁴C]-NB w dawkach: 75; 150; 200 lub 300 mg/kg, najwyższy poziom osiąga on po 24 h we krwi i po 24 ÷ 48 h w śledzionie. Zarówno krew, jak i śledziona są najbardziej wrażliwe na uszkodzenia w wyniku narażenia na nitrobenzen. Znacznie silniej w narządach tych wiązany jest nitrobenzen u szczurów.

Metabolizm i wydalanie u zwierząt

Metabolizm nitrobenzenu jest najlepiej udokumentowany w doświadczeniach na królikach. W organizmie tych zwierząt nitrobenzen ulega przemianom dwiema drogami (rys. 1.):

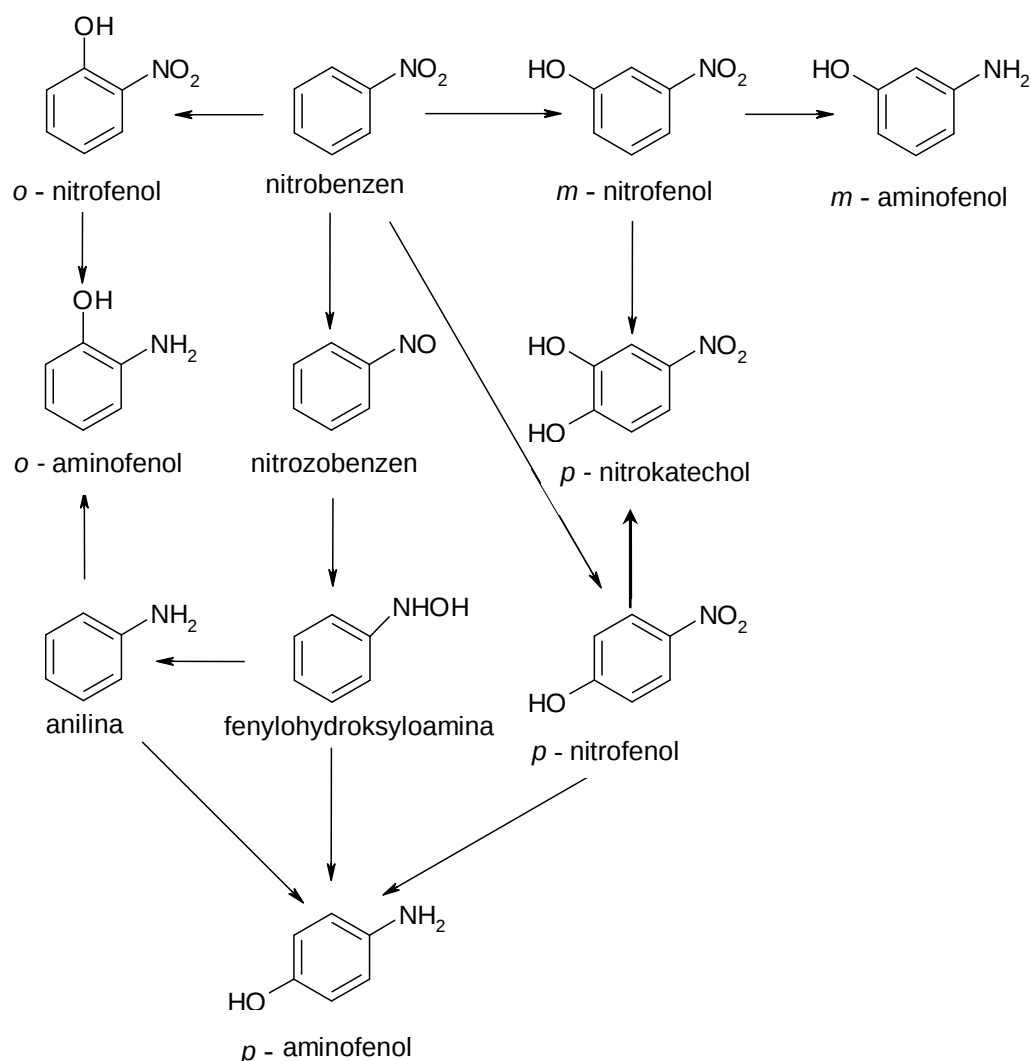
- przez redukcję do aniliny i hydroksylację do aminofenoli (redukcja do aniliny przebiega przez niestabilny nitrozobenzen i fenylohydroksyloaminę, które są toksyczne i prowadzą do powstawania methemoglobiny)
- przez hydroksylację do nitrofenoli (później może nastąpić redukcja nitrofenoli do aminofenoli), (NRC... 1981).

Wszystkie powstające w toku metabolizmu związki są wydalone w postaci sprzężonej z kwasem siarkowym i glikuronowym, głównie z moczem królików.

Z doświadczeń wykonanych przez Parke'a (1956) wiadomo, że po podaniu królikom [^{14}C]-nitrobenzenu sondą do żołądka w dawce 250 mg/kg prawie 70% radioaktywnych związków było wydalone przez 5 dni z powietrzem wydychanym, moczem i kałem. Metabolitami w moczu (zbieranym przez 4 ÷ 5 dni) były: anilina (0,3%), *o*-nitro- fenol (0,1%), *m*-nitrofenol (9%), *p*-nitrofenol (9%), *o*-aminofenol (3%), *m*-aminofenol (4%), *p*-aminofenol (31%), 4-nitrokatechol (0,7%), nitrohydroksychinon (0,1%) i kwas *p*-nitrofenylomerkapturowy (0,3%). Stwierdzono także niewielką ilość (< 0,1% dawki) niezmienionego nitrobenzenu w moczu. Z powietrzem wydychanym wydaliło się w formie ditlenku węgla (CO_2) około 1% dawki, zaś w postaci niezmienionego nitrobenzenu 0,5% dawki.

Po podaniu królikom [^{14}C]-nitrobenzenu około 55% aktywności wydaliło się w ciągu 2 dni w postaci metabolitów, z czego około 20% w formie związków nitrowych, a około 35% jako związki aminowe (NRC 1981).

Obecność nieco innych metabolitów stwierdzono w moczu szczurów i myszy. Rickert i in. (1983) podali dożołądkowo szczurom szczepu Fischer 344 [U-C^{14}]-nitrobenzen w dawce 225 mg/kg i stwierdzili, że wydalone z moczem (w ciągu 12 ÷ 24 h po podaniu) radioaktywne związki stanowiły 63,2% podanej dawki, z kałem – 14,2%, zaś z powietrzem wydychanym – 1,6% dawki. Po dootrzewnowym podaniu nitrobenzenu wyniki były podobne (mocz – 56,8%, kał – 13,7% i powietrze wydychane – 1,4%). Po dożołądkowym podaniu mniejszej dawki nitrobenzenu (22,5 mg/kg) wzrastał istotnie udział związków radioaktywnych w kale (21,4% podanej dawki). Autorzy ci znaleźli w moczu szczurów siarczany 4-hydroksyacetanilidu, 4-nitrofenol, 3-nitrofenol i jeden niezidentyfikowany metabolit polarny, które stanowiły łącznie około 60% podanej dawki. Związki te były obecne w moczu szczurów szczepu Fischer 344 w postaci sprzężonej tylko z kwasem glukuronowym. Natomiast u szczurów szczepu CD oraz myszy stwierdzono obecność połączeń zarówno z kwasem glukuronowym, jak i siarkowym.



Rys. 1. Schemat metabolizmu nitrobenzenu u królików (Robinson i in. 1951)

Po dożładowym podaniu nitrobenzenu myszom w dawce 225 mg/kg z moczem wydalano się 34,7% dawki, z kałem 18,8%, zaś z powietrzem wydychanym 0,8%. U myszy około 10% dawki było wydalone z moczem w postaci siarczanu 4-aminofenolu, podczas gdy w moczu szczurów nie znaleziono tego metabolitu (Rickert i in. 1983).

Po jednorazowym dożładowym podaniu szczurom dawki 225 mg/kg nitrobenzenu Rickert i in. (1983) stwierdzili obecność metabolitów nitrobenzenu w żółci. Metabolitami tymi były: 4-hydroksy-3-metylotioacetanilid, kwas 2-acetamido-3-(5'-acetamido-2'-hydroksyfenylo)-propanowy i S-(5'-acetamido-2'-hydroksyfenylo)-glutathion. Po 12 h od podania metabolity obecne w żółci stanowiły 1,8% dawki (u szczurów szczepu Fischer 344) i 3,8% dawki (u szczepu CD).

Metabolizm i wydalanie u ludzi

W organizmie ludzkim nitrobenzen (NB) jest metabolizowany do p-nitrofenolu i p-aminofenolu. Jednak p-aminofenol w moczu pojawia się, gdy występuje narażenie na nitrobenzen o dużym stężeniu w powietrzu. Metabolity nitrobenzenu są wydalone z moczem w postaci sprzężonej (Kuzelova, Popler 1977). W moczu ludzkim metabolity stanowią tylko około 20 ÷

30% podanej dawki nitrobenzenu (NRC 1981), choć są dane mówiące o tym, że po dożylnym podaniu ochotnikom [^{14}C]-NB stwierdzono, iż w ciągu 5 dni z moczem wydalilo się 60,5% podanej dawki (IARC 1996).

Główny metabolit nitrobenzenu – *p*-nitrofenol pojawia się w moczu ludzkim szybko, osiągając maksimum około 2 h po zaprzestaniu narażenia. Stwierdzono również, że wydalanie *p*-nitrofenolu z moczem jest wolne, dwufazowe ($T_{1/2}$ I fazy = około 5 h, zaś $T_{1/2}$ II fazy = około 60 h), co może wskazywać na możliwość kumulacji nitrobenzenu w czasie tygodnia pracy (nitrobenzen jest silnie lipofilny), (Salmowa i in. 1963; Piotrowski 1967). W przypadku codziennego powtarzanego narażenia przemysłowego wydalanie *p*-nitrofenolu wzrasta w kolejnych dniach, przy czym po 4 ÷ 5 dniach ma ono tendencję do stabilizacji na poziomie 2 ÷ 3 razy wyższym niż wydalanie pierwszego dnia. Na podstawie ustalonej zależności między stężeniem *p*-nitrofenolu wydalanego z moczem a wchłoniętą dawką nitrobenzenu opracowano szereg wariantów wskaźnika wchłaniania nitrobenzenu w warunkach przemysłowych w przypadku narażenia jednorazowego.

Monitoring biologiczny nitrobenzenu oprzeć można na pomiarze wydalania *p*-nitrofenolu z moczem. Stężenie tego metabolitu w moczu zebranym w czasie dwóch ostatnich godzin pracy wynoszące poniżej 5 mg/l wskazuje, że stężenie nitrobenzenu w powietrzu było poniżej 5 mg/m³ (Salmowa i in. 1963).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Wzrost stężenia methemoglobinemii (MetHb) we krwi jest jednym z głównych objawów toksycznego działania nitrobenzenu. Nitrobenzen należy do związków, którego metabolity utleniają hemoglobinę do methemoglobiny (MetHb(Fe^{3+})), a także nasilają powstawanie we krwi ciałek Heinzów. Jedną z reakcji powstawania MetHb wiąże się z przechodzeniem (w procesie red-ox) metabolitu nitrobenzenu – *p*-aminofenolu w *p*-chinononoiminę, odpowiedzialną za utlenianie hemoglobiny. Szczególnie silne działanie methemoglobinoformujące ma jednak inny metabolit nitrobenzenu – β -fenylohydroksyloamina (powstająca z nitrobenzenu przez nitrozobenzenu). Nitrobenzen powoduje powstawanie MetHb z pewnym opóźnieniem, a podwyższone poziomy MetHb utrzymują się dłużej.

W następstwie methemoglobinemii może dojść do hemolizy krwinek czerwonych, czego wynikiem jest przechodzenie hemoglobiny i jej produktów degradacji do osocza krwi, co nadaje krwi zabarwienie czekoladowe.

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

Do nasilenia toksycznych objawów działania nitrobenzenu w znacznym stopniu przyczynia się spożycie nawet małej ilości alkoholu. Stwierdzono bowiem, że alkohol zwiększa rozpuszczalność nitrobenzenu w płynach ustrojowych i mobilizuje jego depozyty z tkanki tłuszczowej (Paluch 1954).

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Niekorzystne działanie nitrobenzenu (NB) w zatruciu ostrym u ludzi przejawia się przede wszystkim przez wystąpienie sinicy będącej wynikiem podwyższonego stężenia MetHb we krwi i hemolizy krwinek czerwonych. Mogą również występować: bóle głowy, nudności,

wymioty, duszność, stany splątania, ból w klatce piersiowej, spadek wentylacji płuc i śpiączka prowadząca do śmierci (Hunter 1943).

Po narażeniu ochotników na nitrobenzen o stężeniu 5 mg/m^3 (1 ppm) w warunkach narażenia ostrego nie zanotowano żadnych zmian w stanie ich zdrowia (Salmowa i in. 1963). Pierwsze skutki toksycznego działania nitrobenzenu (methemoglobinemię) notowano po narażeniu ludzi na nitrobenzen o stężeniu 30 mg/m^3 (Pecseri i in. 1958). W zatruciu przewlekłym ludzi parami nitrobenzenu notowano przede wszystkim methemoglobinemię.

Znacznie więcej danych o toksyczności nitrobenzenu pochodzi z doświadczeń na zwierzętach. Najmniejsze dawki nitrobenzenu, na jakie jednorazowo narażano dożołądkowo szczury, wynosiły $50 \div 75 \text{ mg/kg}$. Nie powodowały one u zwierząt żadnych szkodliwych zmian, dlatego dawkę 75 mg/kg nitrobenzenu można przyjąć za wartość NOAEL związku. Po podaniu zwierzętom dawki 110 mg/kg nitrobenzenu obserwowano zmiany w wątrobie, a po dawce 200 mg/kg obserwowano objawy methemoglobinemii i zmniejszenie zdolności wytwarzania plemników u samców, zaś po dawkach zbliżonych do letalnych ($450 \div 550 \text{ mg/kg}$) także uszkodzenia oun (mózdzku i mózgu) i martwicę centralnej strefy zrazików (Bond i in. 1981; Goldstein i in. 1984; Morgan i in. 1985), (tab. 2.).

Po jednorazowym podaniu dootrzewnowym nitrobenzenu szczurom pierwszy objaw toksycznego działania (methemoglobinemię) obserwowano po najmniejszej stosowanej dawce wynoszącej 200 mg/kg . Skutek ten ulegał nasileniu wraz ze wzrostem dawki nitrobenzenu (po 1685 mg/kg stwierdzono 58% MetHb we krwi), (Magos, Sziza 1958; Reddy i in. 1976), (tab. 2.).

U szczurów, którym nitrobenzen podawano jednorazowo podskórnie, wzrost stężenia MetHb we krwi stwierdzono już po dawce 30 mg/kg . Dawkę tę należałoby więc uznać za wartość LOAEL nitrobenzenu. Po dawkach $30 \div 64 \text{ mg/kg}$ nitrobenzenu obserwowano zaburzenia hematologiczne (Manu 1978; Goldstein i in. 1970), (tab. 3.).

Po jednorazowym inhalacyjnym narażeniu szczurów na nitrobenzen o bardzo dużym stężeniu ($2200 \div 3580 \text{ mg/m}^3$) u zwierząt obserwowano: sinicę, zmętnienie rogówki, łzawienie oraz padnięcia zwierząt w zależności od wielkości stężenia związku (od 10% zwierząt po narażeniu na związek o stężeniu 2720 mg/m^3 do 100% po narażeniu na związek o stężeniu 3580 mg/m^3). U zwierząt, które przeżyły narażenie, stwierdzono objawy ze strony oun (agresja, drgawki), błądź powłok, przyspieszony oddech, spadek masy ciała, pianę z pyska i nosa (duPont De Nemours 1981), (tab. 3.).

Toksyczność podprzewlekłą nitrobenzenu po podaniu dożołądkowym badano najczęściej u szczurów, zaś po narażeniu inhalacyjnym u szczurów i myszy. Po dożołądkowym podawaniu szczurom nitrobenzenu w dawce 50 mg/kg przez 2 lub 4 tygodnie pierwszym zanotowanym skutkiem działania związku był spadek produkcji plemników u samców. Pierwsze objawy methemoglobinemii zanotowano z kolei po 28 dniach podawania szczurom nitrobenzenu w dawce 200 mg/kg . Wraz ze wzrostem dawki (do 600 mg/kg) skutek ten nasilał się (Koida i in. 1995; Goldstein i in. 1984), (tab. 4. i 10.).

Dwutygodniowe narażenie inhalacyjne szczurów na nitrobenzen o stężeniach 60 lub 195 mg/m^3 powodowało zmiany hematologiczne, zaś po stężeniu nitrobenzenu wynoszącym 562 mg/m^3 obserwowano: zmniejszenie masy ciała, sinicę, ataksję, zmiany w śledzionie, oun, nerkach, wątrobie i płucach oraz 70% padnięć zwierząt. Objawy te obserwowano tylko u szczurów szczepu Sprague-Dawley (CD), zaś u szczepu Fischer 344 nawet po narażeniu na nitrobenzen o stężeniu wynoszącym 625 mg/m^3 nie stwierdzono żadnych skutków toksycznego działania związku.

Myszy narażane inhalacyjnie przez 2 tygodnie na nitrobenzen o stężeniu 175 mg/m^3 miały uszkodzoną śledzionę i zmiany w oskrzelikach, zaś po narażeniu na nitrobenzen o stężeniu 625 mg/m^3 także niewielkie uszkodzenie nerek (duPont De Nemours 1980; Medinsky, Irons 1985; IARC 1996), (tab. 5.).

Pierwszym objawem obserwowanym po 90-dniowym narażeniu szczurów na nitrobenzen był wzrost stężenia MetHb we krwi. Skutek ten obserwowano po narażeniu na nitrobenzen o stężeniu 25 mg/m^3 , a więc to stężenie należy uznać za wartość LOAEL związku. Wzrost stężenia nasilał się po narażeniu na nitrobenzen o stężeniu 80 mg/m^3 , zaś nitrobenzen o stężeniu 250 mg/m^3 powodował także zmiany w: wątrobie, śledzionie, płucach i nerkach. Narażenie myszy na nitrobenzen o stężeniach 80 lub 250 mg/m^3 wywoływało zmiany w wątrobie, zaś methemoglobinemię notowano tylko po narażeniu na nitrobenzen o stężeniu 250 mg/m^3 (Hamm i in. 1984), (tab. 5.).

Pierwsze objawy niekorzystnego działania nitrobenzenu na myszy po inhalacyjnym przewlekłym (2-letnim) narażeniu obserwowano po narażeniu zwierząt na związek o stężeniu 25 mg/m^3 . Stwierdzono wtedy uszkodzenie nabłonka węchowego oraz zmiany w wątrobie i płucach. Methemoglobinemia u myszy ujawniała się dopiero po narażeniu na nitrobenzen o stężeniu 125 mg/m^3 .

U szczurów narażanych przewlekłe na nitrobenzen o stężeniu 5 mg/m^3 nie stwierdzono niekorzystnych zmian. Wyjątkiem były szczury szczepu Fischer 344, u których obserwowano zwiększenie odkładania się barwnika w błonie śluzowej nosa. Narażenie szczurów na związek o stężeniu powyżej 25 mg/m^3 wywoływało: methemoglobinemię, uszkodzenie wątroby, nerek i atrofię jąder.

Po przewlekłym narażeniu zarówno szczurów, jak i myszy na nitrobenzen o stężeniach $5 \div 125 \text{ mg/m}^3$ (szczury) lub $25 \div 250 \text{ mg/m}^3$ (myszy) zanotowano zwiększoną częstość występowania niektórych typów nowotworów (wątroby, tarczycy, nerek i gruczołu sutkowego), (Cattley i in. 1994; 1995), (tab. 6.).

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

Istniejące wartości NDS i ich podstawy

Wartości dopuszczalnych stężeń nitrobenzenu (NB) w różnych państwach przedstawiono w tabeli 13. W większości państw przyjęto stężenie 5 mg/m^3 (1 ppm) za wartość NDS nitrobenzenu, co pozostaje w zgodzie z wartościami ustalonymi przez ACGIH, OSHA i NIOSH.

W ACGIH za podstawę do ustalenia wartości TLV-TWA nitrobenzenu przyjęto methemoglobinotwórcze działanie związku obserwowane u szczurów i myszy narażanych inhalacyjnie przez 90 dni (Hamm i in. 1984) oraz przewlekłe narażenie ludzi (Pacseri i in. 1958; Salmowa i in. 1963).

W Unii Europejskiej przyjęto w 1991 r. wartość IOELV (indykatywne dopuszczalne wartości narażenia zawodowego) nitrobenzenu na poziomie 5 mg/m^3 (1 ppm), (dyrektywa 91/322/EWG). SCOEL (2002) zmniejszył tę wartość do 1 mg/m^3 (0,2 ppm), (dyrektywa 2006/15/WE). W uzasadnieniu wartości podano, że głównym i najbardziej szkodliwym skutkiem działania nitrobenzenu zarówno u ludzi, jak i u zwierząt jest methemoglobinemia. Methemoglobinemię obserwowano u zwierząt narażonych na nitrobenzen o stężeniu 25 mg/m^3 (5 ppm), (Hamm 1984; Cattley i in. 1995) oraz u ludzi narażanych na nitrobenzen o stężeniu 30 mg/m^3 (6 ppm), (Pacseri i in. 1958). Za wartość NOAEL ze względu na methemoglobi-notwórcze działanie związku przyjęto stężenie 5 mg/m^3 (1 ppm), (Salmowa i in. 1963; ACGIH 1999). W 1995 r. Cattley i in. (1994) opisali wyniki badań, w których narażali inhalacyjnie myszy (1 szczep) i szczury (2 szczepy) na nitrobenzen przez 2 lata. Stwierdzili oni występowanie pewnych zmian nowotworowych o różnej lokalizacji. Zmiany nowotworowe u

zwierząt obserwowano po narażeniu na nitrobenzen o stężeniach powyżej 25 mg/m³ (5 ppm). Ich występowanie zależało także od gatunku zwierząt (bardziej wrażliwe były szczury) i szczepu (znacznie mniej nowotworów obserwowano u szczurów Charles River CD). Wyniki testów *in vitro* i *in vivo* oceniających działanie genotoksyczne nitrobenzenu były jednak ujemne, co sugeruje, że nitrobenzen jest kancerogenem dla zwierząt, ale mechanizm działania rakotwórczego tego związku nie ma podłoża genetycznego. Biorąc te dane pod uwagę, SCOEL nie przeprowadził oceny ryzyka, ale ustalił wartość IOELV dla nitrobenzenu. Na podstawie wyników badań *Cattley'a* i in. (1995) stwierdzono, że nowotwory u zwierząt pojawiają się po długotrwałym narażeniu na nitrobenzen o stężeniu powyżej 25 mg/m³ (5 ppm), a minimalny skutek działania związku w postaci zwiększonego odkładania się barwnika w błonie śluzowej nosa występował po narażeniu na związek o stężeniu nitrobenzenu wynoszącym 5 mg/m³ (1 ppm), dlatego przyjęto, że wartość IOELV powinna być ustalona poniżej 5 mg/m³. Na tej podstawie SCOEL ustalił wartość IOELV na poziomie 1 mg/m³ (0,2 ppm) bez ustalania wartości chwilowej. Normatyw został oznakowany literami „Skin”, ze względu na dobrze udokumentowane wchłanianie nitrobenzenu przez skórę (1/3 związku wchłania się przez skórę, a 2/3 przez drogi oddechowe), (BUA 1991).

W ACGIH zaliczono nitrobenzen do grupy A3 (substancji o udowodnionym działaniu rakotwórczym na zwierzęta, ale nieznanym związku powstawania nowotworów u ludzi), (ACGIH 2000), a IARC zaliczył nitrobenzen do grupy 2B (przypuszczalnie rakotwórczy dla ludzi).

Wartość 5 mg *p*-nitrofenolu/g kreatyniny w moczu i 1,5% MetHb we krwi proponuje się przyjąć za wartość dopuszczalnego stężenia biologicznego (DSB) zawodowego narażenia na nitrobenzen (ACGIH 2005). W Niemczech za wartość DSB przyjęto 100 µg aniliny/l krwi (Deutsche... 2005), (tab. 12.).

Tabela 12.

Wartości normatywów higienicznych nitrobenzenu (NB) w poszczególnych państwach
(RTECS 2006; Deutsche... 2005; dyrektywa 2006/15/WE; rozporządzenie 2002)

Państwo/organizacja/ instytucja	Wartość NDS		Wartość NDSh		Wartość DSB
	ppm	mg/m ³	ppm	mg/m ³	
Australia	1 s	5 s	—	—	3B, 100 µg aniliny/l krwi
Austria	1 s	5 s	—	—	
Belgia	1 s	5 s	—	—	
Dania	1 s	5 s	—	—	
Egipt	1 s	5 s	—	—	
Francja	1 s	5 s	—	—	
Holandia	1 s	5 s	—	—	
Japonia	1 s	5 s	—	—	
Niemcy	—	—	—	—	
Norwegia	1	5	—	—	
Polska (2002)	—	3 sk	—	10 sk	
Szwecja	1 s	5 s	2 s	10 s	
Szwajcaria	1 s	5 s	2 s	10 s	
Turcja	1 s	5 s	—	—	
Węgry	—	3 s	—	6 s	
Wielka Brytania	1 s	5 s	2 s	10 s	2% MetHb we krwi
Unia Europejska	0,2 s	1 s	—	—	

cd. tab. 12.

Państwo/organizacja/ instytucja	Wartość NDS		Wartość NDSCh		Wartość DSB
	ppm	mg/m ³	ppm	mg/m ³	
USA: – ACGIH (1996)	1 s	5 s	–	–	1,5% MetHb we krwi; 5 mg <i>p</i> -nitrofenolu/g kreaty- niny w moczu
	1 s	5 s	–	–	
– OSHA	1 s	5 s	–	–	
– NIOSH					

s, sk – wchłanianie przez skórę.

Niemcy, 3B – substancje, dla których w badaniach in vitro lub w badaniach na zwierzętach stwierdzono działanie rakotwórcze, ale są one niewystarczające do zaklasyfikowania związku do innej kategorii.

Podstawy proponowanej wartości NDS

Wartość NDS nitrobenzenu wyprowadzono na podstawie wyników obserwacji ludzi narażonych w warunkach przemysłowych oraz wyników badań na zwierzętach (90-dniowe narażenie inhalacyjne).

Na podstawie danych literaturowych, w których wzrost stężenia MetHb we krwi uznano za najbardziej czuły skutek toksycznego działania nitrobenzenu na ludzi, wyznaczono wartość NDS, opierając się na wynikach dwóch różnych badań przeprowadzonych w warunkach przemysłowych i na ochotnikach.

Na podstawie wyników badań na ochotnikach przeprowadzonych przez *Salmową* i in. (1963) oraz *Piotrowskiego* (1967), za wartość NOAEL przyjęto stężenie 5 mg/m³, które nie powodowało u ludzi wystąpienia zmian w stanie zdrowia.

Wartość NDS nitrotoluenu obliczono na podstawie wzoru:

$$NDS = \frac{NOAEL}{A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E} = \frac{5}{2 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 3} = \frac{5}{6} = 0,8 \text{ mg/m}^3,$$

a także przyjętych następujących współczynników niepewności:

- $A = 2$, współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej u ludzi
- $B = 1$, różnice międzygatunkowe i droga podania (badania wykonano u ludzi narażonych inhalacyjnie na działanie związku)
- $C = 1$, przejście z badań krótkoterminowych do przewlekłych
- $D = 1$, do obliczeń zastosowano wartość NOAEL
- $E = 3$, współczynnik modyfikujący, ze względu na wpływ nitrobenzenu na reprodukcję i działanie rakotwórcze. Nitrobenzen może szkodliwie działać na funkcje rozrodcze człowieka, istnieje ryzyko upośledzenia płodności. W badaniach na zwierzętach nitrobenzen powodował oligospermie i spadek płodności. Należy on do związków o udowodnionym działaniu rakotwórczym u zwierząt, ale brak jest dostatecznych dowodów na jego działanie rakotwórcze u ludzi.

Za podstawę wartości NDS nitrobenzenu przyjęto działanie methemoglobinotwórcze u zwierząt. Znamienne statystycznie wzrost stężenia MetHb we krwi myszy i szczurów obserwowano po 2-letnim narażeniu obu gatunków zwierząt na nitrobenzen o stężeniu 125 mg/m³ (25 ppm), (*Cattley* i in. 1994; 1995) oraz w czasie 90-dniowego inhalacyjnego narażenia szczurów i myszy na nitrobenzen o stężeniu 25 mg/m³ (5 ppm), (*Hamm* i in. 1984). Stężenie

25 mg/m³ nitrobenzenu przyjęto za wartość LOAEL związku i zastosowano następujące współczynniki niepewności:

- $A = 2$, współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej u ludzi
- $B = 2$, różnice międzygatunkowe i różna droga podania
- $C = 1$, przejście z badań krótkoterminowych do przewlekłych (badanie 90-dniowe lub 2-letnie)
- $D = 2$, zastosowano do obliczeń wartość LOAEL, zamiast wartości NOAEL
- $E = 3$, współczynnik modyfikujący; ze względu na wpływ nitrobenzenu na reprodukcję i działanie rakotwórcze. Nitrobenzen może szkodliwie działać na funkcje rozrodcze człowieka, istnieje ryzyko upośledzenia płodności. W badaniach na zwierzętach nitrobenzen powodował oligospermię i spadek płodności. Należy do związków o udowodnionym działaniu rakotwórczym na zwierzęta, ale brak jest dostatecznych dowodów na jego działanie rakotwórcze u ludzi.

Podstawiając przyjęte wartości współczynników niepewności, otrzymujemy wartość NDS nitrobenzenu:

$$NDS = \frac{LOAEL}{A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E} = \frac{25}{2 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 3} = \frac{25}{24} \approx 1,04 \text{ mg/m}^3.$$

Na podstawie powyższych danych za wartość NDS nitrobenzenu przyjęto stężenie 1 mg/m³, co jest zgodne z wartością ustaloną w UE (IOELV – 1 mg/m³, dyrektywa 2006/15/WE). Nie ma podstaw do wyliczenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) nitrobenzenu. Wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) nitrobenzenu ustalono przez analogię do substancji działających methemoglobino-twórczo na poziomie 2% MetHb we krwi (Czynniki... 2007). Z uwagi na możliwość wchłaniania się nitrobenzenu przez skórę normatyw oznakowano literami „Sk” (substancja wchłania się przez skórę).

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

*lek. BOŻENA NOWAKOWSKA
specjalista medycyny pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8*

Zakres badania wstępnego

Badanie ogólnolekarskie: morfologia krwi pełna oraz badania czynności wątroby (bilirubina, ALAT i AspAT).

Zakres badań okresowych

Badanie ogólnolekarskie: morfologia krwi pełna, badania czynności wątroby (bilirubina, ALAT i AspAT) oraz methemoglobina w zależności od wskazań.

Częstotliwość badań okresowych: co roku lub co 2 lata.

U w a g a

Lekarz przeprowadzający badania 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

Badanie ogólnolekarskie: morfologia krwi pełna, badania czynności wątroby (bilirubina, ALAT i AspAT) oraz methemoglobina w zależności od wskazań.

Narządy (układy) krytyczne

Krwinki czerwone i wątroba.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Niedokrwistość, choroby wątroby przebiegające z uszkodzeniem miąższu wątroby oraz methemoglobinemia wrodzone i nabyte.

U w a g a

Nitrobenzen wchłania się przez skórę.

Wartość dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) dla methemoglobiny u narażonych na nitrobenzen wynosi 2%.

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

PIŚMIENNICTWO

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2000) Nitrobenzene. Supplement do 6 ed.

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2005a) Guide to occupational exposure values.

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2005b) Threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices. Cincinnati, OH.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (1996) Toxicological profile for nitrobenzene. TP-90-19, Atlanta, GA, United States Public Health Service (1990) [cyt. za IARC 1996].

Albrecht W., Neumann H.H. (1985) Biomonitoring of aniline and nitrobenzene: hemoglobin binding in rats and analysis of adducts. Arch. Toxicol. 57, 1–5 [cyt. za IARC 1996].

Anderson D., Styles J.A. (1978) The bacterial mutation test. Br. J. Cancer 37, 924–930 [cyt. za IARC 1996].

Beauchamp R.O. i in. (1983) A critical review of the literature on nitrobenzene toxicity. CRC. Crit. Rev. Toxicol. 11, 33–84.

Biodynamics Inc. (1983) A range finding study evaluate the toxicity of nitrobenzene in the pregnant rabbit. EPA Document No 40+8324347, Fische No OTS0509345 [cyt. za HSDB 2005].

Bond J.A. i in. (1981) Induction of hepatic and testicular lesions in Fischer-344 rats by single oral dose of nitrobenzene. Fundam. Appl. Toxicol. 1, 389–394 [cyt. za IARC 1996].

Booth G. (1991) [W:] Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. 5. ed. Vol. A17. New York, VCH Publishers, 411–455 [cyt. za IARC 1996].

Bredow M.V., Jung F. (1942) Methemoglobin formation. XXV. Action of aliphatic nitric esters on the blood. Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 200, 335 [cyt. za *Beauchamp* i in. 1983].

Browning E. (1965) Toxicity and metabolism of industrial solvents. American Elsevier. New York [cyt. za HSDB].

BUA (1991) Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe der Gesellschaft Deutscher Chemiker. Nitrobenzol. BUA Stoffbericht 59 VCH, Weinheim [cyt. za SCOEL 2002].

Butterworth B.E. i in. (1989) Use of primary cultures of human hepatocytes in toxicology studies. Cancer Res. 49, 1079–1084 [cyt. za IARC 1996].

Cattley R.C. i in. (1994) Carcinogenicity and toxicity of inhaled nitrobenzene in B6C3F1 mice and F344 and CD rats. Fundam. Appl. Toxicol. 22, 328–340.

Cattley R.C. i in. (1995) Erratum. Fundam. Appl. Toxicol. 25, 159.

Chandler W.L. (1919) Physiological action of nitrobenzene vapor on animals. Memoir 20, 407 [cyt. za *Beauchamp* i in. 1983].

Cheminfo (2005) Canadian Centre for Occupational Health and Safety.

Chiu C.W. i in. (1978) Mutagenicity of some commercially available nitro compounds for *Salmonella typhimurium*. Mutat. Res. 58, 11–22 [cyt. za IARC 1996].

Czynniki szkodliwe w środowisku pracy. Wartości dopuszczalne (2007) Warszawa, Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

Dellarco V.L., Prival M.J. (1989) Mutagenicity of nitro compounds in *Salmonella typhimurium* in the presence of flavin mononucleotide in a preincubation assay. Environ. Mol. Mutag. 13, 116–127 [cyt. za IARC 1996].

Deutsche Forschungsgemeinschaft (2005) MAK and BAT Values 2005 (Report No 41).

Dodd D.E. i in. (1987) Reproduction and fertility evaluations in CD rats following nitrobenzene inhalation. Fund. Appl. Toxicol. 8(4), 493–505 [cyt. za HSDB 2005; IARC 1996].

Dunlap K.L. (1981) Nitrobenzene and nitrotoluenes. [W:] Encyclopedia of chemical technology. 3. ed., vol. 15. New York, J. Wiley 916–932 [cyt. za IARC 1996].

duPont De Nemours E.J. & Co. (1981) Haskell Laboratory for Toxicology and Industrial Medicine Inhalation median lethal concentration (LC₅₀) with cover letter. EPA Document No 878220423, Fische No OTS0215040 [cyt. za HSDB 2005].

duPont De Nemours E.J. & Co. (1980) Subacute inhalation toxicity study of nitrobenzene in rats. EPA Document No 878221372, Fische No OTS0215211 [cyt. za HSDB 2005].

Dyrektywa 2006/15/WE z dnia 7 lutego 2006 r. ustanawiająca drugi wykaz indykatywnych dopuszczalnych wartości narażenia zawodowego w celu wykonania dyrektywy Rady 98/24/WE oraz zmieniająca dyrektywy 91/322/EWG i 2000/39/WE. DzU L 38/36 z dnia 9.2.2006.

European Union Risk Assessment Report (2005) Nitrobenzene. Luxemburg, Office for Official Publications of the European Communities.

Goldstein R.S. i in. (1984) Influence of dietary pectin on intestinal microfloral metabolism and toxicity of nitrobenzene. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 75(3) 547–553 [cyt. za HSDB 2005; IARC 1996].

Goldstein R.S., Rickert D.E. (1984) Macromolecular covalent binding of [¹⁴C]-nitrobenzene in the erythrocyte and spleen of rats and mice. *Chem.-Biol. Interactions* 50, 27–37.

Goldstein R.S., Tarpa G., Gerejan S. (1970) Metabolism of iron-59 in experimental poisoning with nitrobenzene. *Med. Lav.* 61(4), 232 [cyt. za *Beauchamp* i in. 1983].

Hamm T.E. i in. (1984) A 90-day inhalation study of nitrobenzene in F-344 rats, CD rats, and B6C3F1 mice. *Toxicologist* 4, 181 [cyt. za ACGIH, suppl. 2000; HSDB 2005].

Hathaway G.J., Proctor N.H., Hughes J.P. (1991) Nitrobenzene. [W:] Proctor and Hughes' chemical hazards of the workplace. 3. ed. New York, Van Nostrand Reinhold, 427–428 [cyt. za ACGIH, suppl. 2000].

Hawley's condensed chemical dictionary (1993) [Red.] R.J. Lewis. 12. ed. New York, Van Nostrand Reinhold Co. [cyt. za HSDB 2005].

Haworth S. i in. (1983) *Salmonella* mutagenicity test results for 250 chemicals. *Environ. Mutag. Suppl.* 1, 3–142 [cyt. za IARC 1996].

HSDB, Hazardous Substances Data Bank (2005) Bethesda, National Library of Medicine.

Hunter D. (1943) Industrial toxicology. *Q. J. Med.* 12, 185–258 [cyt. za IARC 1996].

IARC (1996) Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man. Geneva, World Health Organization, International Agency for Research on Cancer (Multivolume work), Vol. 65, 381–408.

Ikeda M., Kita A. (1964) Excretion of *p*-nitrophenol and *p*-aminophenol in the urine of a patient exposed to nitrobenzene. *Br. J. Ind. Med.* 21(3), 210–213.

Kawai A. i in. (1987) Mutagenicity of aliphatic and aromatic nitro compounds. Industrial materials and related compounds. *Jpn. J. Ind. Health* 29, 34–54 [cyt. za IARC 1996].

Kito Y., Hamamatsu Y., Naya M. (1998) Effects of nitrobenzene on sperm motility and fertility in rats (2). *Teratology* 57(3), 29A.

Klingerman A.D. i in. (1983) Analysis of cytogenetic damage in rat lymphocytes following in vivo exposure to nitrobenzene. *Toxicol. Lett.* 18, 219–226.

Koida M. i in. (1995) Effects on the sperm and testis of rats treated with nitrobenzene: age and administration period differences. *Teratology* 52(4), 39B.

Kokal K.C. i in. (1984) Methemoglobinemia: an unusual presentation. *J. Assoc. Phys. India*, 32, 833–834 [cyt. za IARC 1996].

Kuzelova M., Popler A. (1977) Para-aminophenol and para-nitrophenol as indicators of exposure to aniline and nitrobenzene. *Prak. Lek.* 29(4-4), 186 [cyt. za *Beauchamp* i in. 1983].

Linder R.E. i in. (1992) Endpoints of spermatotoxicity in the rat after short duration exposures to fourteen reproductive toxicants. *Reproductive Toxicology* 6, 491–505.

Levin A.A., Bosakowski T., Earle L.L. (1988) The reversibility of nitrobenzene – induced testicular toxicity. Continuous monitoring of sperm output from vasocystotomized rats. *Toxicology* 53, 219–230.

Magos L., Sziza M. (1958) Effect of *p*-nitrobenzaldehyde on methemoglobin formation. *Naturwissenschaften* 45, 522 [cyt. za *Beauchamp* i in. 1983].

Manu P. (1978) Early detection of health disturbance in occupational exposure to various risk factors in industry on the basis of changes occurring in various systems or organs. *Rev. Ig. Bacteriol. Virusol. Parazit. Epidemiol. Pneumoftizel Ig.* 27(3), 261 [cyt. za *Beauchamp* i in. 1983].

Matsumara H., Yoshida T. (1959) Experimental studies of nitrobenzol poisoning. *Kyushu J. Med. Sci.* 10, 259 [cyt. za *Beauchamp* i in. 1983].

- Medinsky M.A., Irons R.D. (1985) Sex, strain and species differences in the response of rodents to nitrobenzene vapors. [W:] Toxicity of nitroaromatic compounds. New York, Hemisphere, 35–51 [cyt. za ACGIH suppl. 2000; IARC 1996].
- Mirsalis J.C., Tyson C.K., Butterworth B.E. (1982) Detection of genotoxic carcinogens in the in vivo-in vitro hepatocyte DNA repair assay. Environ. Mutagen. 4, 553–562 [cyt. za ACGIH suppl. 2000; IARC 1996].
- Morgan K.T. i in. (1985) Morphologic and biochemical studies of a nitrobenzene – induced encephalopathy in rats. Neurotoxicology 6, 105–116 [cyt. za IARC 1996].
- NRC, National Research Council (1981) Drinking water & Heath. Vol. 4. Washington, DC, National Academy Press [cyt. za HSDB 2005].
- Nohmi T. i in. (1984) Mutations in *Salmonella typhimurium* and inactivation of *Bacillus subtilis* transforming DNA induced by phenylhydroxylamine derivatives. Mutat. Res. 136, 159–168 [cyt. za IARC 1996].
- Pacseri L., Magos L., Batskor A. (1958) Threshold and toxic limits of some amino- and nitro-compounds. Arch. Ind. Health 18, 1–18.
- Paluch E. (1954) Toksykologia przemysłowa. Warszawa, Państwowe Wydawnictwa Techniczne 307–310.
- Parke D.V. (1956) Detoxication. LXVIII. The metabolism of ¹⁴C-nitrobenzene in the rabbit and guinea pig. Biochem. J. 62, 339 [cyt. za Beauchamp i in. 1983].
- Pinching A.J., Doeving K.B. (1974) Selective degeneration in the rat olfactor bulb following exposure to different odors. Brain Res. 82(2), 196 [cyt. za Beauchamp i in. 1983].
- Piotrowski J.K. (1967) Further investigations on the evaluation of exposure to nitrobenzene. Br. J. Ind. Med. 24(1), 60–65.
- Piotrowski J.K. (1972) Certain problems of exposure tests for aromatic compounds. Pracov. Lek. 24(2-3), 94 [cyt. za Beauchamp i in. 1983].
- Piotrowski J.K. (1984) Biological monitoring of selected misc. compounds. 165–175 [cyt. za HSDB 2005].
- Poradnik fizykochemiczny (1974) Praca zbiorowa. 2. ed. Warszawa, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne.
- Rapoport I.A. (1965) Mutational effect of para-nitro-acetophenylene-triphenylphosphine in connection with the additivity of mutational tendencies. Dokl. Biol. Sci. 160, 68 [cyt. za Beauchamp i in. 1983].
- Reddy B.G., Pohl L.P., Krishna G. (1976) The requirement of the gut flora in nitrobenzene – induced methemoglobinemia in rats. Biochem. Pharmacol. 25, 1119–1122.
- Rickert D.E. i in. (1983) Metabolism and excretion of nitrobenzene by rats and mice. Toxicol. Appl. Pharmacol. 67(2), 206–214 [cyt. za IARC 1996].
- Robinson D., Smith J.N., Williams R.T. (1951) Studies in detoxication. 40. The metabolism of nitrobenzene in the rabbit, o-, m-, and p-nitrophenols, o-, m-, and p-aminophenols and 4-nitrocatechol metabolites of nitrobenzene. Biochem. J. 50, 228 [cyt. za Beauchamp i in. 1983].
- Rozporządzenie ministra pracy i polityki społecznej z dnia 29 listopada 2002 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU nr 217, poz. 1833.
- Rozporządzenie ministra zdrowia z dnia 28.09.2005 r. w sprawie wykazu substancji niebezpiecznych wraz z ich klasyfikacją i oznakowaniem. DzU nr 210, poz. 1674.
- RTECS, Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (2005) Cincinnati, National Institutes for Occupational Safety and Health.
- Salmowa J., Piotrowski J.K. (1960) [W:] II, I. Also Proceeding XIIIth International Congress on Occupational Health. New York 780 [cyt. za Piotrowski 1967].

- Salmowa J., Piotrowski J.K., Neuhoorn U.* (1963) Evaluation of exposure to nitrobenzene. Absorption of nitrobenzene vapour through lungs and excretion of *p*-nitrophenol in urine. *Br. J. Ind. Med.* 20, 41–46 [cyt. za IARC 1996; *Beauchamp* i in. 1983].
- Schimelman M.A., Soler J.M., Muller H.A.* (1978) Methemoglobinemia: nitrobenzene ingestion. *JACEP* 7, 406–408 [cyt. za IARC 1996].
- Schroeder R.E.* i in. (1986) An inhalation teratology study in the rabbit with nitrobenzene. *Toxicologist* 6, 93 [cyt. za IARC 1996].
- Schwedtke G., Lo-Sing* (1937) Methemoglobin formation studies – report X. On methemoglobin formed by nitrobenzene. *Naunyn Schmiedebergs, Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* 188, 138 [cyt. za *Beauchamp* i in. 1983].
- SCOEL (2002) Recommendation of the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for Nitrobenzene. SCOEL/SUM/93 final.
- Shimizu M., Yasui Y., Matsumoto N.* (1983) Structural specificity of aromatic compounds with special reference to mutagenic activity of *Salmonella typhimurium* – A series of chloro- or fluoronitrobenzene derivatives. *Mutat. Res.* 116, 217–238.
- Sittig M.* (1985) Handbook of toxic and hazardous chemicals and carcinogens. 2. ed. Park Ridge. NJ, Noyes Data Corporation 652 [cyt. za HSDB 2005].
- Smith R.P., Alkaitis A.A., Shafer P.R.* (1967) Chemically induced methemoglobinemias in the mouse. *Biochem. Pharmacol.* 16(2), 317 [cyt. za *Beauchamp* i in. 1983].
- Stanculescu V.* i in. (1970) Modification of the latent iron binding capacity of serum under the influence of some poisons. I. Nitrobenzene. *Rev. Roum. Biochim.* 7(4), 307 [cyt. za *Beauchamp* i in. 1983].
- Stopp G.* (1960) The influence of exogenic factors upon the course of intoxications caused by aromatic amino- and nitro-substances. *Acta Biol. Med. Ger.* 4, 325 [cyt. za *Beauchamp* i in. 1983].
- Suzuki J., Koyama T., Suzuki S.* (1983) Mutagenicities of mono-nitrobenzene derivatives in the presence of norharman. *Mutat. Res.* 120, 105–110 [cyt. za IARC 1996].
- Suzuki J.* (1987) Dependence on *Salmonella typhimurium* enzymes of mutagenicities of nitrobenzene and its derivatives in the presence of rat-liver S9 and norharman. *Mutat. Res.* 178, 187–193 [cyt. za IARC 1996].
- The Merck Index – Encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals (1996) NJ, Whitehouse Stadion. Merck and Co., Inc.
- Tyl R.W.* i in. (1987) Developmental toxicity evaluation of inhaled nitrobenzene in CD rats. *Fund. Appl. Toxicol.* 8(4), 482–492 [cyt. za HSDB 2005; IARC 1996].
- U.S. Coast Guard, Department of Transportation. CHRIS – Hazardous Chemical Data. Vol. II. Washington, D.C., U.S. Government Printing Office, 1984–1985 [cyt. za HSDB 2005].
- Vance W.A., Levin D.E.* (1984) Structural features of nitroaromatics that determine mutagenic activity in *Salmonella typhimurium*. *Environ. Mutat.* 6, 797–811 [cyt. za IARC 1996].
- Vogel A.I.* (1984) Preparatyka organiczna. Wyd. 2. Warszawa, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne.
- Watanabe T., Ishihara N., Ikeda M.* (1976) Toxicity and biological monitoring for 1,3-diamino-2,4,6-trinitrobenzene and other nitro-amino derivatives of benzene and chlorobenzene. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 37(3), 157 [cyt. za *Beauchamp* i in. 1983].
- Welzbacher U.* (1998) Niebezpieczne substancje – praktyczny poradnik. Nitrobenzen. Warszawa, Wyd. Informacji Zawodowej, ALFA-WEKA Sp. z o.o.
- Yamada Y.* (1958) Studies on experimental chronic poisoning with nitrobenzene. *Kobe J. Med. Sci.* 4, 227 [cyt. za *Beauchamp* i in. 1983].
- Yamamoto M.* i in. (1995) Effects of nitrobenzene on sperm motility in rats. *Teratology* 52(4), 41A.

Nitrobenzene

A b s t r a c t

Nitrobenzene (NB) is a colorless-to-pale yellow, oily liquid. Its odor resembles bitter almonds. NB is produced by the direct nitration of benzene. NB has a wide variety of uses. Most significantly, and accounting for 95-99% of NB, in manufacturing aniline and aniline-derived products, and as a solvent.

Potential for human exposure is principally via inhalation and dermal uptake, following the use and production of NB. Methaemoglobinaemia, with cyanosis, haemolysis, headache, dyspnoea, weakness and ultimately coma and death, are the main effects of acute NB poisoning. Severe methaemoglobinaemia and liver damage have also been reported following chronic occupational exposure to NB. In subacute and chronic forms of poisoning, anaemia is the leading feature of the clinical picture. However, neurotoxic symptoms (including vertigo, headache, and nausea), hepatotoxicity (enlarged liver, uterus, and altered serum chemistry, hyperbilirubinemia), mild irritation of the eyes, and contact dermatitis have been reported, too. NB at a concentration of 5 mg/m³ (1 ppm) is considered a safe level for daily exposure. An elevated level of the methaemoglobin in the blood was observed after chronic exposure to NB at a concentration of 30 mg/m³ (6 ppm).

The single oral LD₅₀ for NB in animals was 349-640 mg/kg bw, and LC₅₀ in rats was 2780 mg/m³ (556 ppm). Acute exposure of rats to ≥ 200 mg NB/kg bw resulted in elevated methaemoglobin and increase incidence of testicular atrophy and epididymal hypospermic, while a higher dose (550 mg/kg bw) resulted in hepatotoxicity and neurotoxicity.

Methaemoglobinaemia was observed in rats at 25 mg/m³ (5 ppm) following 90-day and chronic inhalation exposure. Long-term (two-year) inhalation study with 5 mg NB/m³ (1 ppm) resulted in minimal health effects such as pigment deposition in the nasal epithelium in rats. Cytomegaly of centrilobular hepatocytes was induced in mice and rats at ≥ 25 mg NB/m³ (5 ppm). An increased incidence of testicular atrophy and epididymal hypospermia was observed in rats at 125 mg/m³ (25 ppm).

NB has non-mutagenic, clastogenic, embryotoxic and teratogenic effects. The compound administered to rats or mice repeatedly (long-term studies) induced some types of neoplasms.

NB absorption takes place mainly through the respiratory tract and skin. NB is metabolized via two main pathways: (1) reduction to aniline with subsequent hydroxylation to aminophenols, and (2) direct hydroxylation with formation of nitrophenols. NB is transformed into nitrosobenzene. Nitrosobenzene is transformed into phenylhydroxylamine. The reverse reaction (phenylhydroxylamine to nitrosobenzene) in erythrocytes takes place in a coupled reaction whereby methaemoglobin is formed from haemoglobin. All metabolites (except nitrophenols and phenylhydroxylamine) were found in the urine of exposed humans and animals.

The current TLV-TWA of 1 mg/m³ (0.2 ppm) for NB, with a skin notation, is based on the prevention of methaemoglobinaemia, which is the first sign of overexposure to NB. No STEL is recommended. Biological Exposure Indices (BEI) have been established for methaemoglobin inducers (2% methaemoglobin in the blood).