Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy 2009, nr 2(60), s. 93–132

prof. dr hab. ANDRZEJ SAPOTA
dr ANNA KILANOWICZ
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
90-151 Łódź
ul. J. Muszyńskiego 1

Nitrotoluen – mieszanina izomerów

Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego*

NDS: 11 mg/m^3
NDSCh: –
NDSP: –
DSB: 2% MetHb
Sk: substancja wchłaniająca się przez skórę

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 7.10.2005
Weryfikacja dokumentu: marzec 2006
Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 23.06.2006

Słowa kluczowe: nitrotoluen, działanie toksyczne, narażenie zawodowe, NDS.

Key words: nitotoluene, toxicity, occupational exposure, MAC.

Nitrotoluen (NT) jest mieszaniną trzech izomerów: 2-, 3- i 4-nitrotoluen, które nie występują w stanie naturalnym. Nitrotoluen jest wykorzystywany do produkcji azowych i siarkowych barwników do bawełny, wełny, jedwabiu, skóry i papieru, a także jest stosowany w rolnictwie, fotografii, przemyśle farmaceutycznym oraz przy produkcji gum.

Nie ma udokumentowanych danych dotyczących zatruć ostrych, przewlekłych oraz danych epidemiologicznych osób narażonych na nitrotoluen.

Z badań toksyczności ostrej na zwierzętach doświadczalnych wynika, że zakresy wartości DL_{50} dla szczurów i myszy po podaniu dożołądkowym (*per os*) dla izomerów 2- i 3-NT wynosiły 891 ÷ 2463 mg/kg m.c., natomiast dla 4-NT – 1960 ÷ 7100 mg/kg m.c.

Z badań toksyczności podprzewlekłej (13 tygodni) przeprowadzonych na dwóch gatunkach gryzoni obu płci (myszy i szczury) wynika, że najbardziej toksycznym izomerem jest 2-NT.

U zwierząt po 13 tygodniach narażania na 2-NT wykazano: niewielki spadek liczby erytrocytów (RBC), zmniejszone stężenie hemoglobiny, wzrost liczby retikulocytów, leukocytów,

* Wartość NDS mieszaniny izomerów jest zgodna z rozporządzeniem ministra pracy i polityki społecznej z dnia 30 sierpnia 2007 r. DzU nr 161, poz. 1142.

Metoda oznaczania stężenia nitrotoluenu w powietrzu na stanowiskach pracy jest zawarta w normach PN-79/Z-04128.01 i PN-Z-04128-6:2002.

wzrost średniej objętości krwinek czerwonych oraz wzrost stężenia methemoglobiny. Wszystkie badane stężenia izomeru powodowały zaburzenia czynności wątroby, śledziony i nerek. U większości narażanych zwierząt stwierdzono zmiany w wątrobie obejmujące przerost i wakuolizację hepatocytów, a także pojedyncze ogniska zapalne zbudowane głównie z eozynofilów. Stwierdzono ponadto istotnie wzmożoną proliferację komórek hematopoetycznych w śledzionie i w szpiku kostnym.

Z badań przewlekłych (2-lata) przeprowadzonych przez NTP (2002) dla 2-NT i 4-NT na myszach i szczurach obu płci wynika, że 2-NT wykazywał znacznie większą toksyczność niż 4-NT. 2-NT zarówno u myszy, jak i szczurów powodował zmniejszenie przyrostu masy ciała, a w badaniach histopatologicznych stwierdzono występowanie nowotworów: skóry, sutka i wątroby u szczurów obu płci, natomiast u samców także międzybłonka pochewki jądra i płuc. Działanie rakotwórcze 2-NT stwierdzono również u myszy obu płci, u których zmiany nowotworowe były zlokalizowane w układzie krążenia, jelicie grubym i wątrobie. Po podaniu 4-NT stwierdzono u szczurów samców jedynie pojedyncze przypadki nowotworów skóry oraz u samic przypadki raków gruczołu łechtaczkowego. U myszy skutki kancerogenne stwierdzono tylko u samców (raki oskrzelikowo-pęcherzykowe). Z analizy rodzaju i liczby obserwowanych nowotworów można wnioskować, że ten typ nowotworów nie powinien występować w wyniku narażenia zawodowego ludzi i nie może być podstawą do analizy ryzyka.

Z uwagi na brak wystarczających dowodów działania rakotwórczego 2-NT na ludzi i ograniczone dowody działania rakotwórczego na zwierzęta doświadczalne Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) w 1996 r. zaliczyła nitrotoluen, na podstawie wyników eksperymentu 13-tygodniowego, do grupy 3., czyli związków nieklasyfikowanych jako kancerogeny dla ludzi (wyniki 2-letnich badań 2- i 4-NT wykonane na szczurach i myszach przez NTP zostały opublikowane w 2002 r.).

Ze względu na brak badań toksyczności dla mieszaniny wszystkich trzech izomerów, do wyliczenia wartości NDS przyjęto wyniki 2-letnich badań dla najbardziej toksycznego izomeru, tj: 2-nitrotoluenu. W tym eksperymencie 2-NT podawano szczurom obu płci w paszy o stężeniach: 625; 1250 lub 2000 ppm przez 105 tygodni. Dawkę najmniejszą (625 ppm w paszy) odpowiadającą 25 mg/kg m.c./dzień dla samców i 30 mg/kg m.c./dzień dla samic przyjęto za wartość LOAEL. Ze względu na fakt, iż samce były znacznie bardziej wrażliwe niż samice na działanie 2-NT do obliczeń wartości NDS przyjęto dawkę 25 mg/kg m.c./dzień ustaloną dla samców za wartość LOAEL. Przyjmując cztery współczynniki niepewności, obliczono wartość NDS równą 11 mg/m^3. Zaproponowana wartość NDS dotyczy poszczególnych izomerów nitrotoluenu (2-NT, 3-NT i 4-NT) oraz ich mieszaniny.

Normatyw oznaczono literami „Sk" – substancja wchłania się przez skórę. Ze względu na działanie methemoglobinotwórcze zaproponowano wartość dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) taką samą jak dla wszystkich substancji methemoglobinotwórczych, czyli 2% MetHb we krwi.

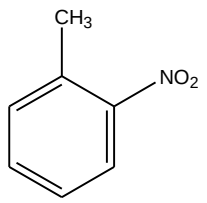
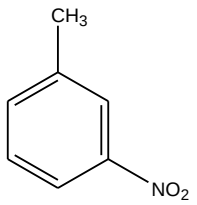
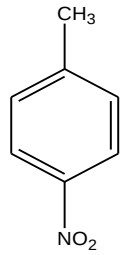
CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

Ogólną charakterystykę izomerów nitrotoluenu przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1.

Ogólna charakterystyka izomerów nitrotoluenu (NTP 1992; IARC 1996; IUCLID 2000; CHEMINFO 2004)

Ogólna charakterystyka	2-Nitrotoluen	3-Nitrotoluen	4-Nitrotoluen
Synonimy	2-metylonitrobenzen; *orto*-metylonitrobenzen; 2-metylo-1-nitrobenzen; *orto*-mononitrotoluen; 2-nitrotoluen; *orto*-nitrotoluen	3-metylonitrobenzen; *meta*-metylonitrobenzen; 3-metylo-1-nitrobenzen; *meta*-mononitrotoluen; 3-nitrotoluen; *meta*-nitrotoluen;	4-metylonitrobenzen; *para*-metylonitrobenzen; 4-metylo-1-nitrobenzen; *para*-nitrotoluen; 4-nitrotoluen; *para*-nitrotoluen;
Nazwa CAS	1-metylo-2-nitrobenzen	1-metylo-3-nitrobenzen	1-metylo-4-nitrobenzen
Numer CAS	88-72-2	99-08-1	99-99-0
Nazwa IUPAC	*2*-nitrotoluen	*3*-nitrotoluen	4-nitrotoluen
Numer EINECS	201-853-3	202-728-6	202-808-0
Nazwa EINECS	2-nitrotoluen	3-nitrotoluen	4-nitrotoluen
Wzór chemiczny	$C_7H_7NO_2$	$C_7H_7NO_2$	$C_7H_7NO_2$
Wzór strukturalny			

Zgodnie z załącznikiem do rozporządzenia ministra zdrowia z dnia 28 września 2005 r. w sprawie wykazu substancji niebezpiecznych wraz z ich klasyfikacją i oznakowaniem (DzU nr 201, poz. 1674) zaklasyfikowano izomery nitrotoluenu jako produkty niebezpieczne:

a) 2-nitrotoluen:

– rakotwórczy kategorii 2. (produkt rozpatrywany jako rakotwórczy dla człowieka) ze zwrotem R45 – może powodować raka

– mutagenny kategorii 2. (rozpatruje się jako mutagenny dla człowieka) ze zwrotem R46 – może powodować dziedziczne wady genetyczne

– działający szkodliwie na rozrodczość kategorii 3. (produkt o możliwym działaniu na funkcje rozrodcze człowieka) ze zwrotem R62 – możliwe ryzyko upośledzenia płodności

– szkodliwy – Xn ze zwrotem R22 – działa szkodliwie po połknięciu

– niebezpieczny dla środowiska – N ze zwrotem R51– działa toksycznie na organizmy wodne; R53 – może powodować długo utrzymujące się niekorzystne zmiany w środowisku wodnym,

b) 4-nitrotluen:

– toksyczny – T ze zwrotem R23/24/25 – działa toksycznie przez drogi oddechowe w kontakcie ze skórą i po połknięciu; ze zwrotem R33 – niebezpieczeństwo kumulacji w organizmie

– niebezpieczny dla środowiska – N ze zwrotem R51 – działa toksycznie na organizmy wodne; R53 – może powodować długo utrzymujące się niekorzystne zmiany w środowisku wodnym.

Przedstawiona klasyfikacja jest zgodna z klasyfikacją obowiązującą w Unii Europejskiej (dyrektywa Rady 67/548/EWG wraz z późniejszymi zmianami do 29 ATP włącznie).

Właściwości fizykochemiczne

Właściwości fizykochemiczne poszczególnych izomerów nitrotoluenu przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2.

Właściwości fizykochemiczne izomerów nitrotoluenu (IARC 1996; IUCLID 2000; NTP 2002; CHEMINFO 2004)

Badane właściwości	2-Nitrotoluen	3-Nitrotoluen	4-Nitrotoluen
Masa cząsteczkowa	137,15	137,15	137,15
Postać	jasnożółta ciecz o słabym zapachu	jasnożółta ciecz o słabym zapachu	bezbarwna do żółtej ciecz o słabym zapachu
Temperatura topnienia (°C)	-9,5 (forma-α) -2,9 (forma-β)	16	54,5
Temperatura wrzenia (°C)	221,7	232,6	238,3
Temperatura zapłonu (°C)	106	101	106
Temperatura samozapłonu (°C)	305	brak danych	390
Gęstość (g/cm^3)	1,1629 w temp. 20 °C/ 4 °C	1,1571 w temp. 20 °C/4 °C	1,286 w temp. 20 °C/ 4 °C
Prężność par (Pa)	13 w temp. 20 °C	13 w temp. 20 °C	13 w temp. 20 °C
Względna gęstość par	4,72	4,72	4,72
Logarytm współczynnika podziału n-oktanol/ woda	2,30	2,42	2,37
Współczynnik przeliczeniowy	1 ppm $\approx$ 5,60 mg/m^3 1 mg/m^3 $\approx$ 0,179	1 ppm $\approx$ 5,60 mg/m^3, 1 mg/m^3 $\approx$ 0,179	1 ppm $\approx$ 5,60 mg/m^3, 1 mg/m^3 $\approx$ 0,179
Rozpuszczalność w:			
– wodzie	słabo rozpuszczalna (0,54 g/l w temp. 20 °C)	słabo rozpuszczalna (0,5g/l w temp. 20 °C)	słabo rozpuszczalna (0,26 g/l w temp. 20 °C)
– rozpuszczalnikach organicznych	benzen, eter dietylowy, etanol	benzen, eter dietylowy, etanol	aceton, benzen, chloroform, eter dietylowy, etanol

Produkcja, zastosowanie, narażenie zawodowe

Nitrotolueny (NT) nie występują w stanie naturalnym. Przemysłowo są otrzymywane przez nitrowanie toluenu w środowisku mieszaniny kwasów azotowego i siarkowego,

azotowego i sulfonowego lub azotowego i fosforowego. Całość procesu przebiega w temperaturze 25 ÷ 40 °C (NTP 1992; IARC 1996). Produktem tej reakcji jest nitrotoluen stanowiący mieszaninę izomerów o składzie: 2-NT 45 ÷ 62%; 3-NT 2 ÷ 5% i 4-NT 33 ÷ 50%. Skład procentowy izomerów w wyprodukowanej mieszaninie zależy od użytego katalizatora oraz od warunków, w jakich odbywa się produkcja (*Booth* 1991; IARC 1996; NTP 1992). Poszczególne izomery można oddzielić od siebie za pomocą kombinacji procesów destylacji frakcyjnej i krystalizacji (*Dunlap* 1981).

Szacuje się, że w USA rocznie zużywa się 10 800 ÷ 13 000 t 2-mononitrotoluenu, 5600 ÷ 6800 t 4-mononitrotoluenu oraz bardzo niewielkie ilości 3-mononitrotoluenu (*Dunlap* 1981; *Abshire, Hughes* 1982; ACGIH 1991; IARC 1996). W 1990 r. oszacowano roczną produkcję 2-nitrotoluenu na poziomie 20 250 ÷ 27 900 t, natomiast 4-nitrotoluenu – 8100 ÷ 14 400 t (NTP 2002). W 1994 r. produkcja nitrotoluenu (wszystkich trzech izomerów) na półkuli zachodniej wyniosła około 200 000 t (*Booth* 1991). W 1998 r. około 64 400 kg 4-nitrotoluenu było importowane do USA (NTP 2002b). Zarówno 2-, jak i 4-nitrotoluen znajdują się na liście U.S. Environmental Protection Agency, gdzie są zamieszczane związki chemiczne, które są produkowane w dużych ilościach (NTP 2002a,b).

Fabryki produkujące 2-nitrotoluen i 4-nitrotoluen znajdują się w: Chinach (sześć fabryk), Japonii (trzy fabryki), Niemczech, Indiach, Republice Korei i USA (po dwie fabryki) oraz w: Czechach, Włoszech, Rumunii, Szwecji i Anglii (po jednej fabryce). 3-Nitrotoluen jest produkowany w pięciu fabrykach znajdujących się w Chinach oraz w Niemczech, Indiach, Włoszech, Japonii, Republice Korei, Szwecji, Anglii i USA (po jednej fabryce), (Chemical … 1994, cyt. za IARC 1996).

Nitrotoluen jest związkiem chemicznym ważnym ze względu na jego powszechne zastosowanie w przemyśle. Jest używany m.in. do produkcji azowych i siarkowych barwników do bawełny, wełny, jedwabiu, skóry i papieru. Jest również stosowany w rolnictwie, fotografii, przemyśle farmaceutycznym oraz przy produkcji gum (NTP 1992; *Booth* 1991; The Merck 1989; ACGIH 1991; IARC 1996).

Istnieje niewiele danych na temat zawodowego narażenia ludzi na nitrotoluen. Narażenie takie następuje najczęściej drogą inhalacyjną oraz przez kontakt dermalny pracowników zatrudnionych w zakładach produkujących nitrotoluen lub też wykorzystujących ten związek w toku produkcji (IARC 1996). W Stanach Zjednoczonych oszacowano, że na 4-nitrotoluen może być narażonych 4350 osób. Brak jest jakichkolwiek danych na temat narażenia w miejscu pracy na izomery 2- i 3-nitrotoluenu (NTP 1992).

Ahlborg i in. (1985, cyt. za IARC 1996) oznaczyli maksymalne stężenie 2-nitrotoluenu w powietrzu na terenie fabryki produkującej farmaceutyki i materiały wybuchowe na poziomie 2 mg/m^3.

W Polsce nie ma danych dotyczących wartości stężeń mieszaniny izomerów nitrotoluenu w powietrzu na stanowiskach pracy.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne. Zatrucia ostre

W dostępnym piśmiennictwie nie ma danych dotyczących zatruć ostrych ludzi narażonych na nitrotolueny. Uważa się, że nitrotoluen odznacza się bardzo słabym działaniem toksycznym w porównaniu z nitrobenzenem (ACGIH 2005a; *Linch* 1974). Związek wykazuje głównie działanie methemoglobinotwórcze, powodując zmniejszenie przeno-

szenia tlenu przez krew, co może w konsekwencji prowadzić do niedotlenienia organizmu. Methemoglobinemia objawia się głównie sinicą z towarzyszącymi bólami i zawrotami głowy, wzmożoną drażliwością, sennością, nudnościami, wymiotami oraz dusznością (ACGIH 2005a; *Linch* 1974).

Obserwacje kliniczne. Zatrucia przewlekłe

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących przewlekłych zatruć ludzi nitrotoluenami.

Badania epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych epidemiologicznych dotyczących skutków przewlekłego narażania ludzi na nitrotolueny.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra

Wartości medialnych dawek i/lub stężeń letalnych izomerów nitrotoluenu dla różnych gatunków zwierząt przedstawiono w tabeli 3. W tabeli 4. natomiast porównano wartości medialnych dawek letalnych dla poszczególnych izomerów nitrotoluenu w zależności od drogi podania. Jak wynika z przedstawionych danych, zakresy wartości DL_{50} dla szczurów i myszy po podaniu dożołądkowym (*per os*) dla izomerów 2- i 3-NT były zbliżone i wynosiły 891 ÷ 2463 mg/kg m.c. Dla 4-NT wartości te były jeszcze większe i mieściły się w przedziale 1960 ÷ 7100 mg/kg m.c. W przypadku narażenia drogą inhalacyjną wartości stężeń letalnych LC_{50} wyznaczonych u szczurów dla wszystkich izomerów nitrotoluenu wynosiły powyżej 1086 mg/l. U wszystkich narażanych zwierząt padnięcie było poprzedzone atonią (zwiotczenie mięśni), obserwowano także trudności w oddychaniu, a w badaniach biochemicznych stwierdzano na ogół methemoglobinemię (IARC 1996; IUCLID 2000; Sax's… 2000; HSDB 2005).

Tabela 3.

Wartości medialnych dawek (stężeń) śmiertelnych dla poszczególnych izomerów nitrotoluenu (IARC 1996; IUCLID 2000; Sax's… 2000; HSDB 2005)

Badany izomer	Gatunek zwierząt	Droga Podania	Dawka/stężenie DL_{50}, mg/kg; LC_{50}, mg/l
2-NT	szczury samce Sprague-Dawley	*per os*	891
	szczury obu płci Wistar	*per os*	2100 ÷ 2463
	myszy	*per os*	970
	króliki	*per os*	1750
	szczury	inhalacyjna 8 h	> 1086 mg/l
	myszy	inhalacyjna 8 h	328 mg/l
	szczury	dermalna	> 5000

cd. tab. 3.

Badany izomer	Gatunek zwierząt	Droga Podania	Dawka/stężenie DL_{50}, mg/kg; LC_{50}, mg/l
3-NT	szczury samce Sprague-Dawley	*per os*	1072
	szczury obu płci Wistar	*per os*	2000 ÷ 2200
	myszy samce CF-1	*per os*	1230
	szczury	inhalacyjna (1 h)	> 2417 mg/l
	myszy	inhalacyjna (1 h)	> 2417 mg/l
	szczury	dermalna	> 1157
4-NT	szczury samce Sprague-Dawley	*per* os	1960
	szczury samice Wistar	*per os*	2250 ÷ 3200
4-NT	szczury samce Wistar	*per os*	4700 ÷ 7100
	myszy samce CF-1	*per os*	1231
	królik	*per os*	1750
	szczury	inhalacyjna (1 h)	> 4167 mg/l
	myszy	inhalacyjna (1 h)	> 4167mg/l
	szczury	dermalna	> 16000

per os – dożołądkowo.

Tabela 4.

Porównanie wartości medialnych dawek i stężeń letalnych dla poszczególnych izomerów nitrotoluenu (IARC 1996; IUCLID 2000; Sax's… 2000; HSDB 2005)

Gatunek zwierząt	Droga podania	2-NT	3-NT	4-NT
Szczury	dożołądkowo (mg/kg m.c.)	891 ÷ 2463	1072 ÷ 2200	1960 ÷ 7100
Myszy	dożołądkowo (mg/kg m.c.)	970 ÷ 2460	1230	1231
Króliki	dożołądkowo (mg/kg m.c.)	1750	brak danych	1750
Szczury	dermalna (mg/kg m.c.)	> 5000	> 1157	> 16 000
Szczury	inhalacyjna (mg/l)	> 1086	> 2417	> 4167
Myszy	inhalacyjna	328	> 2417	> 4167

W tabeli 5. przedstawiono skutki działania drażniącego na skórę i oczy oraz działania uczulającego poszczególnych izomerów nitrotoluenów u zwierząt doświadczalnych. Badania działania drażniącego na skórę przeprowadzono dla wszystkich izomerów nitrotoluenu, natomiast na oczy tylko dla 2-NT. Poszczególne izomery NT były

nanoszone w ilości około 500 mg na skórę ucha królika na 24 h. Obserwację uprzednio zmytej skóry prowadzono około 7 dni. Jak wynika z przeprowadzonych eksperymentów, żaden z badanych izomerów NT nie wykazywał działania drażniącego na skórę (IUCLID 2000; Sax's… 2000; HSDB 2005). Podobnie nie obserwowano podrażnienia oka królika po wprowadzeniu 2-NT w ilości 100 mg i 7-dniowej obserwacji (IUCLID 2000). Badania działania uczulającego zostały przeprowadzone tylko dla izomeru 4-NT i podobnie jak w przypadku działania drażniącego wynik był także negatywny.

Tabela 5.

Skutki działania drażniącego na skórę i oczy oraz działania uczulającego poszczególnych izomerów nitrotoluenów u zwierząt doświadczalnych (IUCLID 2000; Sax's… 2000; HSDB 2005)

Badany izomer	Gatunek zwierząt	Droga podania	Dawka	Objawy działania toksycznego
Działanie drażniące na skórę i oczy				
2-NT	królik	na skórę i oczy	500 mg 100 mg (0,1 ml)	nie stwierdzono działania drażniącego na skórę; bardzo słabo drażniąco na oczy (czas obserwacji 24 ÷ 72 h)
3-NT	królik	na skórę	580 mg	nie stwierdzono działania drażniącego (czas obserwacji do 7 dni)
4-NT	królik	na skórę	500 mg	nie stwierdzono działania drażniącego (czas obserwacji do 7 dni)
Działanie uczulające				
2-NT	brak danych			
3-NT	brak danych			
4-NT	świnka morska	na skórę	test maksymalizacji Hagnussona-Klingmana)	nie wykazuje działania uczulającego

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Skutki działania toksycznego wszystkich izomerów nitrotoluenu u myszy i szczurów badano tylko po narażeniu drogą pokarmową w badaniach podprzewlekłych (do 13 tygodni) i przewlekłych (2 lata).

2-Nitrotoluen

Wyniki badań toksyczności podprzewlekłej i przewlekłej 2-nitrotoluenu u szczurów i myszy po podaniu drogą pokarmową przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6.

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła 2-nitrotoluenu u zwierząt doświadczalnych

Gatunek zwierząt	Droga podania	Stężenie w paszy/dawka		Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
		ppm (mg/kg paszy)	mg/kg m.c.			
Szczury obu płci Wistar	dożołądkowo		500; 1000	5 d./tydzień 4 tygodnie	500 mg/kg: brak działania toksycznego 1000 mg/kg: padnięcie wszystkich zwierząt w ciągu tygodnia po podaniu	*Ciss* i in. 1980
Szczury obu płci Fischer 344/N	w paszy	625 1250 2500 5000 10 000	56 ♂ 55 ♀ 98 ♂ 102 ♀ 178 ♂ 190 ♀ 383 ♂ 382 ♀ 696 ♂ 779 ♀	5 d./tydzień 2 tygodnie	u samców od dawki 5000 ppm stwierdzono zmniejszony przyrost masy ciała; po narażeniu na związek o największym stężeniu: zmniejszone spożycie paszy oraz u 4/5 samców nieznaczny przerost komórek wątrobowych	NTP 1992
Szczury obu płci Fischer 344/N	w paszy	625 1250 2500 5000 10 000	45 ♂ 44 ♀ 89 ♂ 87 ♀ 179 ♂ 178 ♀ 353 ♂ 340 ♀ 694 ♂ 675 ♀	5 d./tydzień 13 tygodni	u obu płci od 2500 ppm stwierdzono: zmniejszony przyrost masy ciała i obniżone spożycie paszy, a także zmiany parametrów morfologicznych krwi; u samców od stężenia 5000 ppm stwierdzono wzrost stężenia kwasów żółciowych i aktywności AlAT oraz SDH w surowicy; u obu płci stwierdzono zależny od wielkości stężenia wzrost względnej masy wątroby; działanie na wątrobę u samców od stężenia 2500 ppm; zmiany w jądrach u samców (od stężenia 5000 ppm; u 2/10 szczurów wykazano rozrost międzybłonka pochewki jądra); zmiany w śledzionie i nerkach – u samców od stężenia 1250 ppm, u samic od stężenia 2500 ppm	NTP 1992

cd. tab. 6.

Gatunek zwierząt	Droga podania	Stężenie w paszy/dawka		Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
		ppm (mg/kg paszy)	mg/kg m.c.			
Szczury obu płci Wistar	dożołądkowo		200	5 d./tydzień 13 tygodni	u obu płci zmiany w nerkach (7/9 przypadków u samic i 3/8 u samców) i zmiany w śledzionie	*Ciss* i in. 1980
Szczury obu płci F344/N	w paszy	625 1250 2000	25 ♂ 30 ♀ 50 ♂ 60 ♀ 90 ♂ 100 ♀	5 d./tydzień 105 tygodni	u obu płci (samce od 50 mg/kg mc, samice od 100 mg/kg): zmniejszenie przyrostu masy ciała; po dawce 90 mg/kg istotny spadek przeżywalności u samców; po dawce 55 mg/kg u obu płci zmiany w wątrobie od dawki 25 mg/kg przerost sutka u samic; u obu płci po najmniejszej dawce: zmiany w śledzionie; rozrost komórek szpiku kostnego (od 25 mg/kg u samców i 60 mg/kg u samic); rozrost pęcherzyków płucnych u obu płci – (90 mg/kg samce; od 30 mg/kg samice) u samic po dawce 100 mg/kg rozrost limfoidalny (węzły żuchwowe); we wszystkich grupach niezależnie od wielkości dawki zmiany nowotworowe: u samic nowotwory skóry, sutka i wątroby; u samców nowotwory międzybłonka, skóry, sutka, wątroby i płuc	NTP 2002
Myszy samice B6C3F1	dożołądkowo		200, 400, 600	5 d./tydzień 2 tygodnie	nie stwierdzono działania immunosupresyjnego na Ig M	*Lysy* i in. 1988
Myszy obu płci B6C3F1	w paszy	338 675 1250 2500 5000	63 ♂ 134 ♀ 106♂ 217 ♀ 204 ♂ 397 ♀ 405 ♂ 631 ♀ 854 ♂ 1224♀	5 d./tydzień 2 tygodnie	nie stwierdzono zmian przyrostu masy ciała i spożycia paszy; nieznaczny wzrost masy wątroby u samców otrzymujących 204 mg/kg mc.	NTP 1992

cd. tab. 6.

Gatunek zwierząt	Droga podania	Stężenie w paszy/dawka		Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
		ppm (mg/kg paszy)	mg/kg m.c.			
Myszy obu płci B6C3F1	w paszy	625 1250 2500 5000 10 000	104 ♂ 132 ♀ 223 ♂ 268 ♀ 415 ♂ 542 ♀ 773 ♂ 1007 ♀ 1536 ♂ 1712 ♀	5 d./tydzień 13 tygodni	u obu płci od stężenia 2500 ppm stwierdzono zmniejszony przyrost masy ciała i zmniejszone spożycie paszy. Po narażeniu na związek o stężeniach 5000 i 10 000 ppm wykazano wzrost względnej masy wątroby i płuc oraz metaplazję nabłonka węchowego jamy nosowej. U samców po największej dawce wykazano zmniejszenie liczby plemników	NTP 1992
Myszy obu płci B6C2F1	w paszy	1250 2500 5000	165 ♂ 150 ♀ 360 ♂ 320 ♀ 700 ♂ 710 ♀	5 d./tydzień 105 tygodni	spadek przyrostu masy ciała: u samców od stężenia 1250 ppm, u samic od stężenia 2500 ppm; spadek przeżywalności: u samców od stężenia 2500 ppm, u samic przy stężeniu 5000 ppm; zmiany w wątrobie: u samców od 1250 ppm u samic przy 5000 ppm; zmiany w nerkach u samców przy 2500 ppm u samic przy 5000 ppm; degeneracja nabłonka węchowego u obu płci po wszystkich dawkach u obu płci zmiany nowotworowe: samce – układ krążenia, jelito grube, samice – układ krążenia, jelito grube i wątroba	NTP 2002

Zarówno myszom, jak i szczurom podawano 2-NT w paszy (*ad libitum*) o stężeniach od 625 ppm (około 45 mg/kg m.c./dzień szczury i 115 mg/kg myszy) do 10 000 ppm (około 684 mg/kg m.c./dzień szczury i 1600 mg/kg myszy). Po dwóch tygodniach u obu gatunków nie obserwowano zwiększonej liczby padłych zwierząt. U szczurów po dwóch największych dawkach (383 lub 696 mg/kg) stwierdzono zmniejszony przyrost masy ciała i zmniejszone spożycie paszy. Na podstawie wyników badań histopatologicznych nie

wykazano jednak istotnych zmian narządowych z wyjątkiem nieznacznego przerostu komórek wątrobowych u 4/5 samców po największej dawce. Działania toksycznego nie obserwowano także u myszy. U obu płci po narażeniu na związek o stężeniu od 2500 ppm stwierdzono zmniejszony przyrost masy ciała i zmniejszone spożycie paszy. W eksperymencie 13-tygodniowym u szczurów obu płci narażanych na związek o stężeniach 2500 ppm wykazano: nieznacznie zmniejszoną liczbę erytrocytów (RBC), zmniejszone stężenia hemoglobiny i hematokrytu, wzrost MCV, MCH, liczby płytek i limfocytów, wzrost liczby retikulocytów oraz stężenia methemoglobiny. U samców narażanych na związek o stężeniu 5000 ppm stwierdzono: wzrost stężenia kwasów żółciowych i aktywności AlAT oraz SDH w surowicy. U obu płci stwierdzono zależny od wielkości dawki wzrost względnej masy wątroby. U samców narażanych na związek o stężeniach 2500 ppm wykazano zmiany w wątrobie: przerost i wakualizację hepatocytów oraz nacieczenia zapalne. U samców szczurów narażanych na związek od stężenia 5000 ppm (353 mg/kg m.c./dzień) stwierdzono ponadto zmiany destrukcyjne w jądrach – istotne uszkodzenie nabłonka plemnikotwórczego nasieniowodów. Natomiast narażenie na związek o stężeniach większych – równych 10 000 ppm (694 mg/kg m.c./dzień) obserwowano u szczurów zahamowanie spermatogenezy i zanik nabłonka plemnikotwórczego. Wykazano ponadto wakualizację wraz z powiększeniem mitochondriów i retikulum endoplazmatycznego komórek Sertoliego. U większości szczurów stwierdzono także istotnie obniżony poziom nasienia w najądrzach. U 2/10 szczurów stwierdzono również przypadki nowotworu międzybłonka pochewki jądra. U obu płci szczurów po narażeniu na związek o stężeniu 1250 (samce) i 2500 ppm (samice) stwierdzono zmiany w śledzionie: przekrwienie, wzmożoną hematopoezę i włóknienie torebki oraz w nerkach wzrost ich masy i zwyrodnienie kropelkowo-szkliste (u samców po narażeniu na związek od 1250 ppm, u samic od 2500 ppm). Po 13 tygodniach u myszy obu płci po narażeniu na związek od stężenia 2500 ppm stwierdzono zmniejszony przyrost masy ciała i zmniejszone spożycie paszy. Po dwóch największych dawkach związku stwierdzono wzrost względnej masy wątroby i płuc. U myszy obu płci po 2 największych dawkach wykazano metaplazję nabłonka węchowego jamy nosowej, a ponadto u samców po największej dawce stwierdzono zmniejszenie liczby plemników.

W badaniach toksyczności przewlekłej (badania 2-letnie) u szczurów obu płci stwierdzono zmniejszenie przyrostu masy ciała (u samców od dawki 1250 ppm, u samic od dawki 2000 ppm) oraz istotne zmniejszenie przeżywalności u samców od stężenia 2000 ppm. U obu płci po narażeniu na związek o stężeniu 1250 ppm wykazano zmiany w wątrobie (przerost i wakualizację hepatocytów na ogniska zapalne), a u samic wykazano przerost sutka po narażeniu na związek o stężeniu 625 ppm. U obu płci szczurów narażanych na związek od stężenia 625 ppm obserwowano wzmożoną proliferację komórek hematopoetycznych w śledzionie oraz rozrost pęcherzyków płucnych. Stwierdzono ponadto rozrost komórek szpiku kostnego od dawki 2000 ppm u samców i 625 ppm u samic. U samic dawka 2000 ppm powodowała ponadto rozrost limfoidalny obejmujący węzły żuchwowe. W badaniach histopatologicznych u szczurów obu płci stwierdzono, niezależny od wielkości dawki 2-NT, wzrost liczby nowotworów (u samic: nowotwory skóry, sutka i wątroby, a u samców: nowotwory międzybłonka pochewki jądra, skóry, sutka, wątroby i płuc).

W badaniach toksyczności przewlekłej 2-NT wykazano u myszy spadek przyrostu masy ciała (u samców od dawki 1250 ppm, a u samic od dawki 2500 ppm) oraz spadek przeżywalności (u samców od dawki 2500 ppm, u samic przy dawce 5000 ppm). Podobnie jak u szczurów stwierdzono także zmiany w wątrobie (ogniska eozynofilowe, ogniska martwicy, wakuolizacja hepatocytów u samców od dawki 1250 ppm, a u samic przy dawce 5000 ppm) oraz w nerkach (przebarwienia – pigmentacja u samców przy dawce 2500 ppm, a u samic przy dawce 5000 ppm). U obu płci myszy narażanych na związek o stężeniu 1250 ppm wykazano zmiany zwyrodnieniowe w nabłonku węchowym. Działanie rakotwórcze 2-NT stwierdzono także u myszy obu płci, u których wykazano zmiany nowotworowe zlokalizowane w: układzie krążenia, jelicie grubym i wątrobie.

3-Nitrotoluen

Wyniki badań toksyczności podprzewlekłej (do 13 tygodni) 3-nitrotoluenu u szczurów i myszy po podaniu drogą pokarmową przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7.

Toksyczność podprzewlekła 3-nitrotoluenu u zwierząt doświadczalnych

Gatunek zwierząt	Droga podania	Stężenie w paszy/dawka		Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
		ppm (mg/kg paszy)	mg/kg m.c.			
Szczury obu płci Wistar	dożołądkowo		500, 1000	5 d./tydzień 4 tygodnie	500 mg/kg: u obu płci zaburzenia oddychania; 1000 mg/kg: trudności w oddychaniu, zwiotczenie mięśni, zmniejszenie masy ciała, drgawki, wzrost śmiertelności (12/20)	*Ciss* i in. 1980
Szczury obu płci Fischer 344/N	w paszy	625 1250 2500 5000 10000	61 ♂ 58 ♀ 108 ♂ 114 ♀ 259 ♂ 215 ♀ 431 ♂ 420 ♀ 881 ♂ 754 ♀	5 d./tydzień 2 tygodnie	zmniejszony przyrost masy ciała i spożycia paszy u obu płci (10 000 ppm); u samców po tej dawce stwierdzono zmniejszone jądra, a u samic zmniejszoną macicę. U wszystkich samców z tej grupy stwierdzono zmiany w jądrach, a u samic zanik endometrium	NTP 1992

cd. tab. 7.

Gatunek zwierząt	Droga podania	Stężenie w paszy/dawka		Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
		ppm (mg/kg paszy)	mg/kg m.c.			
Szczury obu płci Fischer 344/N	w paszy	625 1250 2500 5000 10 000	46 ♂ 48 ♀ 86 ♂ 87 ♀ 171 ♂ 172 ♀ 342 ♂ 336 ♀ 661 ♂ 638 ♀	5 d./tydzień 13 tygodni	u obu płci związek o stężeniu 5000 ppm powodował zmiany hematologiczne; u obu płci stwierdzono wzrost stężenia kwasów żółciowych w surowicy (samice od stężenia 5000 ppm, a samce od stężenia 10 000 ppm) u samców stwierdzono zmiany w nerkach (od stężenia 625 ppm) i w jądrach (od stężenia 10 000 ppm); u obu płci narażanych związek o stężeniu 2500 ppm powodował zmiany w śledzionie	NTP 1992
Szczury obu płci Wistar	dożołądkowo		300	5 d./tydzień 13 tygodni	zmiany w śledzionie; u samic nieznaczne zmniejszenie (10%) stężenia Hb	*Ciss* i in. 1980
Myszy samice B6C3F1	dożołądkowo		200 400 600	5 d./tydzień 2 tygodnie	działanie immunosupre-syjne na Ig M zależne od wielkości dawki (max 38%)	*Lysy* i in. 1988
Myszy obu płci B6C3F1	w paszy	338 675 1250 2500 5000	66 ♂ 92 ♀ 113 ♂ 164♀ 212 ♂ 297 ♀ 409 ♂ 543 ♀ 779 ♂ 901 ♀	5 d./tydzień 2 tygodnie	od stężenia 2500 ppm u obu płci stwierdzono zmniejszony przyrost masy ciała i spożycia paszy; wzrost względ-nej masy wątroby u samic we wszystkich grupach i u samców (od 2500 ppm)	NTP 1992

cd. tab. 7.

Gatunek zwierząt	Droga podania	Stężenie w paszy/dawka		Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
		ppm (mg/kg paszy)	mg/kg m.c.			
Myszy obu płci B6C3F1	w paszy	625 1250 2500 5000 10000	114 ♂ 139 ♀ 208 ♂ 254 ♀ 398 ♂ 493 ♀ 743 ♂ 884 ♀ 1422♂ 1550♀	5 d./tydzień 13 tygodni	u obu płci narażenie na związek o stężeniu 10 000 ppm spowodowało zmniejszony przyrost masy ciała i spożycia paszy, a o stężeniu 625 ppm u obu płci stwierdzono wzrost względnej masy wątroby (zależny od wielkości dawki) i płuc (niezależny od wielkości stężenia)	NTP 1992

Z badań przeprowadzonych przez NTP (1992) wynika, że po podaniu 3-NT w paszy po 2 tygodniach zarówno u szczurów obu płci (10 000 ppm), jak i u myszy (od stężenia 2500 ppm) stwierdzono zmniejszony przyrost masy ciała i spożycia paszy. U samców szczurów po narażeniu na związek o stężeniu 10 000 ppm (881 mg/kg m.c.) stwierdzono zmniejszone jądra, a u samic po narażeniu na związek o stężeniu 754 mg/kg m.c. – zmniejszoną macicę. U wszystkich szczurów samców z tej grupy wykazano zmiany zwyrodnieniowe w jądrach (brak spermatyd w kanalikach nasiennych i kanalikach najądrzy), u samic natomiast stwierdzono zanik endometrium. Zmian takich nie obserwowano u myszy.

W eksperymencie 13-tygodniowym u szczurów obu płci po narażeniu na związek o stężeniu 5000 ppm wykazano zmiany parametrów hematologicznych manifestujące się: nieznacznym zmniejszeniem liczby RBC, stężenia Hb i hematokrytu oraz wzrostem MCV, MCH, retikulocytów, płytek krwi, a także methemoglobiny. U obu płci szczurów stwierdzono wzrost stężenia kwasów żółciowych w surowicy (samice po narażeniu na związek o stężeniu 5000 ppm, a samce – 10 000 ppm). U samców po narażeniu na związek o stężeniu 625 ppm stwierdzono zmiany histologiczne w nerkach (zwyrodnienie kropelkowo-szkliste), a po narażeniu na związek o stężeniu 10 000 ppm – zmiany w jądrach (zwyrodnienie kanalików nasiennych). U obu płci szczurów po narażeniu na związek o stężeniu 2500 ppm stwierdzono zmiany w śledzionie (przekrwienie, nagromadzenie barwika – hemosyderozy). Zmian narządowych nie wykazano natomiast na podstawie wyników badań na myszach.

4-Nitrotuluen

Badania toksyczności podprzewlekłej i przewlekłej 4-nitrotoluenu (4-NT) u szczurów i myszy po podaniu drogą pokarmową przedstawiono w tabeli 8.

Tabela 8.

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła 4-nitrotoluenu u zwierząt doświadczalnych

Gatunek zwierząt	Droga podania	Stężenie w paszy/dawka		Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
		ppm (mg/kg paszy)	mg/kg m.c.			
Szczury obu płci Wistar	dożołądkowo		500; 1000	5 d./tyg./ 4 tygodnie	nie stwierdzono objawów działania toksycznego	*Ciss* i in. 1980
Szczury obu płci Fischer 344/N	w paszy	1250 2500 5000 10 000 20 000	106 ♂ 105 ♀ 211 ♂ 203 ♀ 446 ♂ 404 ♀ 723 ♂ 610 ♀ 869 ♂ 611 ♀	5 d./tyg./ 2 tygodnie	u obu płci narażenie na związek o stężeniu 20 000 ppm powodowało spadek przyrostu masy ciała i spożycia paszy (od 10 000 ppm); u szczurów (obu płci) działanie związku o stężeniu 10 000 ppm powodowało zmiany w grasicy i śledzionie	NTP 1992
Szczury obu płci Fischer 344/N	w paszy	625 1250 2500 5000 10 000	42 ♂ 44 ♀ 82 ♂ 82 ♀ 165 ♂ 164 ♀ 342 ♂ 335 ♀ 723 ♂ 680 ♀	5 d./tyg./ 13 tygodni	zmniejszony przyrost masy ciała i spożycia paszy u samców po narażeniu na związek o stężeniu 5000 i 10 000 ppm u samic; natomiast 2500 ppm u obu płci prowadziło do zmian hematologicznych. Po narażeniu na 4-NT o stężeniu 10 000 ppm u samców stwierdzono wzrost stężenia azotu mocznikowego (BUN), kreatyniny i kwasów żółciowych w surowicy. U obu płci narażenie na związek o stężeniu 625 ppm wykazało zmiany w nerkach i śledzionie, a u samców po narażeniu na związek o stężeniu 10 000 ppm stwierdzono zmiany w jądrach	NTP 1992
Szczury obu płci Wistar	dożołądkowo		400	5 d./tyg./ 13 tygodni	u obu płci zmiany w śledzionie, u samców zmiany w jądrach	*Ciss* i in. 1980
Szczury samce Fischer F344/N	dożołądkowo		90; 180; 360	5 d./tyg./ 13 tygodni	zmniejszony przyrost masy ciała (360 mg/kg), a po dawce 90 mg/kg zmniejszoną masę jąder, najądrzy i prostaty	*Morrissey* i in. 1988

cd. tab. 8.

Gatunek zwierząt	Droga podania	Stężenie w paszy/dawka		Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
		ppm (mg/kg paszy)	mg/kg m.c.			
Szczury obu płci F344/	w paszy	1250 2500 5000	55 ♂ 60 ♀ 110 ♂ 125 ♀ 240 ♂ 265 ♀	5 d./tyg./ 105 tygodni	zmniejszony przyrost masy ciała (samce od 5000 ppm, samice od 1250 ppm); zmiany w nerkach (u samców od 1250 ppm, u samic od 2500 ppm); zmiany: w śledzionie u obu płci (od stężenia 1250 ppm) i w wątrobie (od stężenia 1250 ppm) oraz zmiany w jądrach u samców we wszystkich grupach; u obu płci wykazano niezależny od dawki wzrost liczby nowotworów – u samców: pojedyncze przypadki nowotworów skóry, a u samic włókniakogruczolaki gruczołu mlecznego, gruczolaki lub raki gruczołu łechtaczkowego	NTP 2002
Myszy samice B6C3F1	dożołądkowo		200, 400, 600	5 d./tyg./ 2 tygodnie	działanie immunosupresyjne na Ig M	*Lysy* i in. 1988
Myszy obu płci B6C3F1	w paszy	625 1250 2500 5000 10 000	202♂ 388 ♀ 397♂ 647 ♀ 588 ♂ 755 ♀ 920♂ 1262 ♀ 1548 ♂ 2010♀	5 d./tyg./ 2 tygodnie	u obu płci stwierdzono zależny od wielkości dawki wzrost względnej masy wątroby; u pojedynczych myszy obu płci wszystkich grup stwierdzono zmiany w śledzionie (niezależne od dawki)	NTP 1992
Myszy obu płci B6C3F1	w paszy	625 1250 2500 5000 10 000	131 ♂ 164 ♀ 212 ♂ 320 ♀ 439 ♂ 625♀ 813 ♂ 1075 ♀ 1491♂ 1634 ♀	5 d./tyg./ 13 tygodni	po narażeniu na związek o stężeniu 10 000 ppm u obu płci stwierdzono nieznaczny spadek przyrostu masy ciała i spożycia paszy; u obu płci od stężenia 625 ppm stwierdzono bezwzględny wzrost masy wątroby	NTP 1992

cd. tab. 8.

Gatunek zwierząt	Droga podania	Stężenie w paszy/dawka		Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
		ppm (mg/kg paszy)	mg/kg m.c.			
Myszy samce B6C3F1	dożołądkowo		40; 80; 160	5 d./tyg./ 13 tygodni	nie stwierdzono zmian w przyroście masy ciała i zmian w masach narządów płciowych (jąder, najądrzy i prostaty)	*Morrissey* i in. 1988
Myszy obu płci B6C2F1	w paszy	1250 2500 5000	170 ♂ 155 ♀ 345♂ 315 ♀ 690 ♂ 660 ♀	5 d./tyg./ 105 tygodni	zmniejszony przyrost masy ciała (u samców od stężenia 2500 ppm, u samic od 5000 ppm); u obu płci od stężenia 1250 ppm stwierdzono zmiany w płucach; u samców wykazano przypadki gruczolaków lub raków oskrzelikowo pęcherzykowych	NTP 2002

Na podstawie wyników badań przeprowadzonych przez NTP (1992) stwierdzono, że u obu płci szczurów po 2-tygodniowym podaniu w paszy 4-NT o największym stężeniu (20 000 ppm) nastąpiło zmniejszenie przyrostu masy ciała i spożycia paszy (od stężenia 10 000 ppm). U szczurów (obu płci) po narażeniu na związek o stężeniu 10 000 ppm stwierdzono zanik utkania limfoidalnego w grasicy i śledzionie, a o stężeniu 10 000 ppm u obu płci stwierdzono ponadto zmiany w śledzionie (wzrost przekrwienia i wzmożoną hematopoezę). Podobne zmiany wykazano po 2 tygodniach podawania 4-NT w paszy u myszy. U myszy obu płci stwierdzono zależny od wielkości dawki wzrost względnej masy wątroby (największy po narażeniu na związek o stężeniu 10 000 ppm). W śledzionie u kilku myszy obu płci wszystkich grup stwierdzono wzmożoną hematopoezę niezależną od wielkości dawki.

Na podstawie wyników badań 13-tygodniowych u szczurów wykazano zmniejszony przyrost masy ciała i spożycia paszy (u samców od stężenia 5000 ppm, u samic przy 10 000 ppm). Narażenie na związek o stężeniu 2500 ppm u obu płci powoduje zmiany hematologiczne: zmniejszoną liczbę RBC oraz stężenia Hb i Ht, a także wzrost MCV, liczby retikulocytów i stężenia methemoglobiny. Narażenie na związek o stężeniu 10 000 ppm u samców spowodowało wzrost stężenia azotu mocznikowego (BUN), kreatyniny i kwasów żółciowych w surowicy. U obu płci po narażeniu na związek o stężeniu 625 ppm wykazano zmiany w nerkach (zwyrodnienie kropelkowo-szkliste i pigmentację) oraz w śledzionie (przekrwienie, wzmożoną hematopoezę i nagromadzenie hemosyderozy). U samców związek o stężeniu 10 000 ppm spowodował ponadto zmiany zwyrodnieniowe w jądrach obejmujące głównie kanaliki nasienne. Skutki toksycznego działania 4-NT na jądra (uszkodzenie kanalików nasiennych i zanik nabłonka plemnikotwórczego oraz przypadki martwicy kanalików najądrzy), a także zmiany w śledzionie (przekrwienie i wzmożoną hematopoezę) u szczurów potwierdził w swoim eksperymencie także *Ciss* i in. (1980). Zmian narządowych nie wykazano natomiast u narażanych myszy.

Na podstawie wyników badań 2-letnich na szczurach i myszach obu płci wykazano, że 4-NT u obu gatunków zwierząt powodował zmniejszony przyrost masy ciała, przy czym nie stwierdzono istotnego zmniejszenia przeżywalności zwierząt (NTP 2002). U szczurów stwierdzono zmiany w nerkach obejmujące zwyrodnienie kropelkowo-szkliste i pigmentację (u samców od stężenia 1250 ppm, u samic od 2500 ppm). U samic we wszystkich narażanych grupach wykazano ponadto pojedyncze przypadki onkotycznego przerostu kanalików nerkowych. U obu płci szczurów po narażeniu na związek o stężeniu 1250 ppm stwierdzono zmiany w śledzionie (proliferację komórek hematopoetycznych i przebarwienia pigmentacja) oraz w wątrobie (ogniska zapalne eozynofili u samców we wszystkich grupach, u samic pojedyncze przypadki). U samców we wszystkich narażanych grupach wykazano zmiany w jądrach obejmujące głównie zanik nabłonka plemnikotwórczego. 4-NT powodował niezależny od wielkości dawki wzrost występowania nowotworów u samic szczura (włókniakogruczolaki gruczołu mlecznego, gruczolaki lub raki gruczołu łechtaczkowego) oraz pojedyncze przypadki nowotworów skóry u samców (NTP 2002). U myszy obu płci po dwóch latach podawania w paszy 4-NT o stężeniu 1250 ppm stwierdzono zmiany w płucach obejmujące przerost i bronchiolizację pęcherzyków płucnych. U samców stwierdzono ponadto przypadki gruczolaków lub raków oskrzelikowo pęcherzykowych (NTP 2002).

Na podstawie wyników badań toksyczności podprzewlekłej (13 tygodni) przeprowadzonych przez NTP (1992) na dwóch gatunkach gryzoni obu płci (myszy i szczury) wynika, że najbardziej toksycznym izomerem jest 2-NT (tab. 6 ÷ 9). Zarówno myszom, jak i szczurom wszystkie związki podawano w paszy (*ad libitum*) o stężeniach od 625 ppm (około 60 mg/kg m.c./dzień) do 10 000 ppm (około 700 mg/kg m.c./dzień). Największe zmniejszenie przyrostu masy ciała po 13 tygodniach stwierdzono po podaniu 2-NT (około 35%) o stężeniu 2500 ppm (około 200 mg/kg/dzień). Nie stwierdzono dla badanych izomerów NT wyraźnych objawów działania toksycznego (wygląd zwierząt i ich zachowanie). Natomiast w badaniach laboratoryjnych we wszystkich narażanych grupach zwierząt stwierdzono nieznaczne odchylenia parametrów układu krwiotwórczego. U zwierząt po 13 tygodniach narażania wykazano niewielkie zmniejszenie liczby erytrocytów (RBC) i stężenie hemoglobiny oraz wzrost liczby retikulocytów i leukocytów, a także wzrost średniej objętości krwinek czerwonych i wzrost methemomoglobiny. Dla izomerów 2-NT i 3-NT skutki takie wykazano po narażeniu na związek o stężeniu 2500 ppm, natomiast dla 3-NT o stężeniu 5000 ppm.

Na podstawie wyników badań wszystkich izomerów stwierdzono ich wpływ na: wątrobę, śledzionę i nerki. Zmiany histologiczne w wątrobie objawiające się stosunkowo łagodnym przerostem hepatocytów i ich wakuolizacją wykazano tylko dla 2-NT o stężeniu 2500 ppm. Wzrost względnej masy wątroby dla 2-NT stwierdzono już po podaniu związku o stężeniu 625 ppm, a dla pozostałych izomerów dopiero po podaniu związku o stężeniu 10 000 ppm. U wszystkich narażanych szczurów wykazano wzmożoną proliferację komórek hematopoetycznych w śledzionie oraz jej przebarwienia. Skutki takie obserwowano po narażeniu na 4-NT o stężeniu 625 ppm, natomiast dla pozostałych izomerów o stężeniu 2500 ppm. Zmiany histopatologiczne w nerkach obserwowane u wszystkich narażanych grup dotyczyły zwyrodnienia kropelkowo-szklistego i występowały już po najmniejszej dawce 4-NT.

U samców szczurów wykazano także toksyczny wpływ wszystkich izomerów NT na jądra. Najbardziej toksycznie działał izomer 2-NT. Istotne zmiany zwyrodnieniowe w jądrach u samców stwierdzono już po narażaniu na związek o stężeniu 5000 ppm (353 mg/kg m.c./dzień) – istotne uszkodzenie nabłonka plemnikotwórczego nasieniowodów. Natomiast po narażeniu na związek o stężeniu większym 10 000 ppm (694 mg/kg

m.c./dzień) u szczurów obserwowano zahamowanie spermatogenezy i zanik nabłonka plemnikotwórczego. Wykazano ponadto wakualizację wraz z powiększeniem mitochondriów i retikulum endoplazmatycznego komórek Sertoliego. U większości szczurów stwierdzono także istotnie obniżony poziom nasienia w najądrzach. U 2/10 szczurów narażonych na 2-NT o stężeniu 5000 ppm stwierdzono przypadki nowotworu międzybłonka pochewki jądra. W przypadku 3-NT i 4-NT zmiany degeneracyjne w jądrach stwierdzano dopiero po podaniu związków o największych stężeniach, tj. 10 000 ppm (około 700 mg/kg m.c./dzień) i miały one znacznie łagodniejszy charakter – obejmowały nieznaczne uszkodzenie nabłonka plemnikotwórczego, zmniejszenie liczby spermatyd w kanalikach nasiennych i redukcję poziomu nasienia w najądrzach.

Badania toksyczności przewlekłej (badania 2-letnie) wykonane przez NTP (2002) przeprowadzono na myszach i szczurach tylko dla dwóch izomerów: 2- i 4-NT. Podobnie jak w eksperymencie 13-tygodniowym, badane związki podawano zwierzętom w paszy. Również wyniki badań tego eksperymentu potwierdziły, że 2-NT wykazuje znacznie większą toksyczność. U obu płci szczurów stwierdzono istotne skrócenie przeżywalności i zmniejszenie przyrostu masy ciała. U większości narażanych zwierząt stwierdzono zmiany w wątrobie obejmujące przerost i wakuolizację hepatocytów, a także pojedyncze ogniska zapalne zbudowane głównie z eozynofili. Stwierdzono ponadto istotnie wzmożoną proliferację komórek hematopoetycznych w śledzionie i szpiku kostnym. W badaniach histopatologicznych stwierdzono u obu płci: występowanie nowotworów skóry, sutka i wątroby, natomiast u samców także międzybłonka pochewki jądra i płuc. Działanie rakotwórcze 2-NT stwierdzono także u myszy obu płci, u których wykazano zmiany nowotworowe zlokalizowane w układzie krążenia, jelicie grubym i wątrobie. Dla 4-NT wykazano jedynie pojedyncze przypadki nowotworów skóry, sutka, natomiast u myszy skutki kancerogenne stwierdzono tylko u samców (nowotwory płuc).

Tabela 9.

Porównanie wartości LOAEL dla poszczególnych izomerów nitrotoluenu ustalonych przy podawaniu związków myszom i szczurom w paszy przez 13 tygodni (NTP 1992)

Badane skutki narażenia	2-NT, mg/kg paszy		3-NT, mg/kg paszy		4-NT, mg/kg paszy	
	samce	samice	samce	samice	samce	samice
Szczury (F344/N)						
Spadek przyrostu masy ciała	2500	2500	10 000	5000	5000	10 000
Zmiany parametrów krwi (RBC, WBC, Hb, Ht i MetHb)	2500	2500	10 000	5000	2500	2500
Działanie na wątrobę:						
– wzrost względnej masy	625	625	10 000	10 000	5000	10 000
– wzrost AlAT	5000	–	–	5000	–	10 000
– wzrost SDH	2500	–	–	–	–	–
– wzrost kwasów żółciowych	5000	10 000	5000	10 000	10 000	–
– zmiany histologiczne	2500	–	–	–	–	–

cd. tab. 9.

Badane skutki narażenia	2-NT, mg/kg paszy		3-NT, mg/kg paszy		4-NT, mg/kg paszy	
	samce	samice	samce	samice	samce	samice
Działanie na nerki:						
– wzrost względnej masy	2500	1250	10 000	5000	5000	10 000
– zmiany histologiczne	1250	2500	625	–	625	625
Śledziona:						
– zmiany histologiczne	1250	2500	2500	2500	625	625
Zmiany w jądrach:						
– spadek liczby spermatyd	5000		10 000		10 000	
– zmiany degeneracyjne	5000		10 000		10 000	
Międzybłonek pochewki jądra:						
– zmiany nowotworowe i nienowotworowe	5000		–	–	–	–
Myszy B6C3F1						
Spadek przyrostu masy ciała	2500	2500	10 000	10 000	10 000	10 000
Jama nosowa						
– metaplazja nabłonka węchowego	1250	1250	–	–	–	–
Działanie na wątrobę	2500	1250	625	625	625	625

DZIAŁANIE RAKOTWÓRCZE, MUTAGENNE, EMBRIOTOKSYCZNE, TERATOGENNE ORAZ WPŁYW NA ROZRODCZOŚĆ

Działanie rakotwórcze na ludzi

W dostępnym piśmiennictwie i bazach danych nie ma informacji dotyczących działania rakotwórczego nitrotoluenów na ludzi.

Działanie rakotwórcze na zwierzęta

Wyniki badań działania rakotwórczego dwóch izomerów nitrotoluenu 2-NT i 4-NT u myszy i szczurów przeprowadzonych przez NTP (2002) przedstawiono w tabelach 10. i 11.

Szczury

Badane izomery (2-NT i 4-NT) podawano szczurom F344/N obu płci (50 zwierząt w grupie) w paszy (*ad. lib.*) codziennie przez 2 lata (105 tygodni). 2-NT podawano o stężeniach: 0; 625; 1250 lub 2000 ppm, co po uwzględnieniu spożycia odpowiadało równoważnym średnim dziennym dawkom: 27; 55 lub 95 mg/kg m.c., a 4-NT podawano o stężeniach: 0; 1250; 2500 lub 5000 ppm, tj. 58; 115 lub 255 mg/kg m.c.

Jak wynika z tabeli 10., 4-NT indukował u samców pojedyncze nowotwory skóry (włókniaki i/ lub włókniakomięsaki 9/ 50 u samców po dawce 2500 ppm), natomiast u samic przypadki włókniakogruczolaków zlokalizowane w gruczole mlecznym (20/50)

oraz gruczolaki lub raki gruczołu łechtaczkowego (20/50). W przeprowadzonym eksperymencie nie stwierdzono istotnej zależności wielkości dawki od wystąpienia nowotworu.

2-NT powodował znacznie większą indukcję nowotworów zlokalizowanych w różnych narządach. U obu płci szczura stwierdzono istotny wzrost występowania nowotworów skóry (włókniaki lub włókniakomięsaki: 47/60, 55/60 i 59/60 u samców i 21/60, 22/60 u samic niezależnie od dawki), nowotworów sutka (włókniakogruczolaki) 10/60 u samców i 56/60 u samic i nowotwory wątroby (8/60 u samców i 6/60 u samic – gruczolaki lub raki z komórek miąższowych).

U samców stwierdzono ponadto nowotwory międzybłonka pochewki jądra od 20/60 przypadków po narażeniu na związek o stężeniu 625 ppm do 44/60 po narażeniu na związek o stężeniu 2000 ppm, a także pojedyncze przypadki nowotworów płuc – gruczolaki lub raki oskrzelikowo-pęcherzykowe (5/50 po narażeniu na związek o stężeniu 625 ppm). Dwa przypadki nowotworów międzybłonka pochewki jądra stwierdzono u samców szczura już w eksperymencie 13-tygodniowym po podaniu 2-NT w paszy o stężeniu 5000 ppm.

Myszy

Badane izomery (2-NT i 4-NT) podawano myszom B6C3F1 obu płci (liczebność grup 50 zwierząt) w paszy (*ad. lib.*) codziennie przez 2 lata (105 tygodni). 2-NT podawano w dawkach: 0; 1250; 2500 lub 5000 ppm, co po uwzględnieniu spożycia odpowiadało równoważnym średnim dziennym dawkom: 160; 340 lub 705 mg/kg m.c., a 4-NT w dawkach: 0; 1250; 2500 lub 5000 ppm, tj. 160; 325 lub 675 mg/kg m.c.

Z przeprowadzonego eksperymentu wynika, że 4-NT indukował nowotwory płuc (gruczolaki lub raki oskrzelikowo-pęcherzykowe) tylko u samców myszy po wszystkich dawkach (14/50 i 19/50) poprzedzone bronchiolizacją pęcherzyków płucnych.

W przypadku 2-NT stwierdzono istotny wzrost liczby nowotworów w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej u obu gatunków gryzoni zlokalizowanych w układzie krążenia (naczyniakomięsak), a także w jelicie grubym (zwłaszcza samce). U samic stwierdzono ponadto liczne przypadki (24/59 i 39/60) gruczolaka lub raka z komórek miąższowych wątroby.

Z uwagi na brak wystarczających dowodów działania rakotwórczego 2-NT na ludzi i ograniczone dowody działania rakotwórczego u zwierząt doświadczalnych Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) w 1996 r. na podstawie wyników eksperymentu 13-tygodniowego (2-letnie badania rakotwórczości dla 2-NT i 4-NT zostały opublikowane dopiero w 2002 r.) zaliczyła nitrotolueny do grupy 3., czyli związków nieklasyfikowanych jako kancerogeny dla ludzi (IARC 1996).

Tabela 10.

Działanie rakotwórcze izomerów nitrotoluenu podanych w paszy szczurom (obu płci) w badaniach 2-letnich (105 tygodni), (NTP 2002)

Szczury (samce) F344/N								
Badane skutki narażenia	4-nitrotoluen, ppm (mg/kg paszy)				2-nitrotoluen, ppm (mg/kg paszy)			
	0	1250	2500	5000	0	625	1250	2000
Średnia dzienna dawka, mg/kg m.c./dzień	0	55	110	240	0	25	50	90
Przeżycie	31/50	38/50	38/50	40/50	39/60	18/60	3/60	0/60

cd. tab. 10.

Szczury (samce) F344/N								
Badane skutki narażenia	4-nitrotoluen, ppm (mg/kg paszy)				2-nitrotoluen, ppm (mg/kg paszy)			
	0	1250	2500	5000	0	625	1250	2000
Międzybłonek pochewki jądra:								
– międzybłoniak złośliwy	5/50	2/50	1/50	4/50	2/50	20/60	29/60	44/60
Skóra (tkanka podskórna):								
– tłuszczak	0/50	0/50	0/50	0/50	0/60	4/60	13/60	13/60
– tłókniak	1/50	2/50	7/50	1/50	5/60	46/60	52/60	59/60
– włókniakomięsak	0/50	2/50	7/50	1/50	0/60	7/60	17/60	20/60
– włókniak lub włókniakomięsak	1/50	2/50	9/50	1/50	5/60	47/60	55/60	59/60
Gruczoł mleczny: – włókniakogruczolak	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	7/60	10/60	2/60
Wątroba: – gruczolak lub rak z komórek miąższowych	1/50	0/50	0/50	0/50	3/60	3/60	3/60	8/60
Płuca:								
– gruczolak oskrzelikowo-pęcherzykowy	1/50	0/50	2/50	2/5o	1/60	5/60	1/60	2/60
– gruczolak lub rak oskrzelikowo-pęcherzykowy	1/50	1/50	2/50	3/50	2/60	5/60	1/60	2/60
Szczury (samice) F344/N								
Średnia dzienna dawka, mg/kg mc/dzień	0	60	125	265	0	30	60	100
Przeżycie	39/50	37/50	39/50	41/50	47/60	47/60	39/60	33/60
Skóra (tkanka podskórna):								
– włókniak	0/50	0/50	0/50	1/49	3/59	3/60	18/60	19/60
– włókniakomięsak	1/50	1/50	0/50	2/50	3/60	3/60	21/60	22/60
– włókniak lub włókniakomięsak								
Gruczoł mleczny:								
– włókniakogruczolak	14/50	17/50	20/50	5/50	23/60	47/60	52/60	56/60
Wątroba:								
– gruczolak z komórek miąższowych	0/50	0/50	1/50	0/50	1/60	0/59	1/60	6/60
Gruczoł łechtaczkowy:								
– gruczolak lub rak	8/50	12/50	20/50	8/49	14/59	13/57	6/54	3/53

Tabela 11.

Działanie rakotwórcze izomerów nitrotoluenu podanych w paszy myszom (obu płci) w badaniach 2-letnich (105 tygodni), (NTP 2002)

Badane skutki narażenia	Myszy (samce) B6C3F1							
	4-nitrotoluen, ppm (mg/kg paszy)				2-nitrotoluen, ppm (mg/kg paszy)			
Średnia dzienna dawka, mg/kg m.c./dzień	0 0	1250 170	2500 345	5000 690	0 0	1250 165	2500 360	5000 700
Przeżycie	46/50	46/50	45/50	42/50	52/60	46/60	47/60	5/60
Układ krążenia:								
– naczyniakomięsak	1/50	1/50	3/50	2/50	4/60	17/50	55/60	60/60
Jelito grube (kątnica):								
– rak	1/48	0/48	0/48	0/49	0/56	12/49	9/36	0/44
Płuca:								
– gruczolak lub rak oskrzelikowo-pęcherzykowy	8/50	14/50	12/50	19/50	14/50	7/60	6/60	0/60
	Myszy (samice) B6C3F1							
Średnia dzienna dawka, mg/kg m.c./dzień	0	155	315	660	0	150	320	710
Przeżycie	46/50	47/50	43/50	49/50	52/60	46/60	47/60	5/60
Układ krążenia:								
– mięsak naczyniowy	1/50	1/50	0/50	1/50	0/60	2/60	3/60	50/60
Jelito grube (kątnica):								
– rak	0/49	0/48	0/50	0/50	0/60	1/60	4/60	3/60
Wątroba:								
– gruczolak z komórek miąższowych wątroby	6/49	3/50	2/50	5/50	7/60	5/59	19/59	29/60
– rak z komórek miąższowych	3/49	4/50	0/50	1/50	2/60	4/59	6/59	16/60
– gruczolak lub rak z komórek miąższowych	8/49	6/50	2/50	6/50	9/60	9/59	24/59	39/60

Działanie mutagenne i genotoksyczne

W testach na mutagenność przeprowadzonych na różnych szczepach *Salmonella typhimurium* (TA92, TA94, TA98, TA100, TA1535, TA1537 i TA1538) wykazano, zarówno w warunkach aktywacji metabolicznej, jak i bez aktywacji, że izomery 2-NT i 3-NT nie powodują działania mutagennego. Pojedyncze pozytywne wyniki zanotowano dla 4-nitrotoluenu na szczepie *Salmonella typhimurium* TA100 (zarówno w obecności frakcji S9, jak i bez niej), (*Chiu* i in. 1978; *Miyata* i in. 1981; *Spanggord* i in. 1982; *Haworth* i in. 1983; *Suzuki* i in. 1983; *Shimizu, Yano* 1986; *Kawai* i in. 1987; NTP 2002a; 2002b).

Wszystkie trzy izomery nitrotoluenu indukowały wymianę chromatyd siostrzanych w komórkach jajnika chomika chińskiego i tylko 3-nitrotoluen wymagał aktywacji metabolicznej do uzyskania pozytywnego wyniku w tym teście (*Galloway* i in. 1987).

4-Nitrotoluen indukował aberracje chromosomowe w komórkach jajnika chomika chińskiego w obecności frakcji S9 wątroby (*Galloway* i in. 1987). Nie odnotowano

natomiast wzrostu częstości powstawania mikrojąder czy też aberracji chromosomowych w komórkach szpiku kostnego samców myszy B6C3F$_1$, którym podano 4-nitrotoluen dootrzewnowo w jednorazowej dawce (*Furukawa* i in. 1989; *Ohuchida* i in. 1989). Izomery 2- i 4-NT nie indukowały istotnego wzrostu częstości powstawania mikrojąder w komórkach szpiku kostnego myszy i szczurów (NTP 1992). Natomiast wyniki testu mikrojądrowego w komórkach szpiku myszy, którym podawano 2-nitrotoluen w paszy przez 13 tygodni, były niejednoznaczne dla samców i negatywne dla samic (NTP 2002a).

W standardowych badaniach w warunkach in vitro (*Doolittle* i in. 1983; *Working, Butterworth* 1984) oraz w warunkach in vivo (*Doolittle* i in. 1983; *Butterworth* i in. 1989; *Mirsalis* 1989) nie wykazano, aby 3- i 4-nitrotoluen indukował nieplanową syntezę DNA w hepatocytach i spermatocytach szczura F344. 2-Nitrotoluen nie indukował również nieplanowej syntezy DNA w badaniach in vitro, ale uzyskano pozytywny wynik w badaniach in vivo przeprowadzonych u samców szczura F344 (*Doolittle* i in. 1983).

Tworzenie adduktów z DNA hepatocytów szczura (samca) badano po jednorazowym podaniu drogą doustną: 2-, 3- i 4-nitrotoluenu (*Rickert* i in. 1987). Tylko 2-nitrotoluen tworzył addukty z DNA, natomiast wszystkie trzy izomery wiązały się z białkami (NTP 1992).

Wyniki badań mutagenności i genotoksyczności poszczególnych izomerów nitrotoluenu przedstawiono w tabeli 12.

Tabela 12.

Wyniki badań mutagenności i genotoksyczności poszczególnych izomerów nitrotoluenu

Test/skutek	Badany układ (droga podania)	Wynik		Dawka	Piśmiennictwo
		-S9	+S9		
2-Nitrotoluen (in vitro)					
Mutacje powrotne	*Salmonella typhimurium* TA100, (TA98)	–	(0)	50 μg/ml	*Suzuki* i in. 1983
	Salmonella typhimurium TA1537, TA98, TA92	–	–	150 μg/ml	*Miyata* i in. 1981
	Salmonella typhimurium TA100, TA1535, TA1537 i TA98	–	–	256 μg/ml	*Haworth* i in. 1983
	Salmonella typhimurium TA100, TA1535, TA1537, TA1538 i TA98	–	–	450 μg/ml	*Shimizu, Yano* 1986
	Salmonella typhimurium TA100, TA1535, TA98 i TA94	–	–	500 μg/ml	*Miyata* i in. 1981; *Tokiwa* i in. 1981
	Salmonella typhimurium TA100, TA98	–	0	685 μg/ml	*Chiu* i in. 1978

cd. tab. 12.

Test/skutek	Badany układ (droga podania)	Wynik		Dawka	Piśmiennictwo
		-S9	+S9		
	Salmonella typhimurium TA100, TA1535, TA1537, TA1538 i TA98	–	–	2500 μh/ml	*Spanggord* i in. 1982
Wymiana chromatyd siostrzanych	komórki CHO chomika chińskiego	?	+	355 μg/ml	*Galloway* i in. 1987
Aberracje chromosomowe	komórki CHO chomika chińskiego	–	–	420 μg/ml	*Galloway* i in. 1987
	komórki CHL chomika chińskiego	–	0	250 μg/ml	*Ishidate* i in. 1988
Nieplanowa synteza DNA	pierwotne hepatocyty szczura	–	0	13,7 μg/ml	*Doolittle* i in. 1983
	spermatocyty i okrągłe spermatydy szczura	–	0	13,7 μg/ml	*Working, Butterworth* 1984
	hepatocyty ludzkie	–	0	137 μg/ml	*Butterworth* i in. 1989
2-Nitrotoluen (in vivo)					
Nieplanowa synteza DNA	hepatocyty samca szczura	+		1 · 200 mg/kg m.c. p.os[a]	*Doolittle* i in. 1983; NTP 1992
	jałowe hepatocyty samca szczura	–		1 · 500 mg/kg m.c. p.os	*Doolittle* i in. 1983
	hepatocyty samicy szczura	–		1 · 200 mg/kg m.c. p.os	*Doolittle* i in. 1983
		+		1 · 750 mg/kg m.c. p.os	NTP 1992
	hepatocyty samca myszy	–		1 · 750 mg/kg m.c. p.os	NTP 1992
	hepatocyty samicy myszy	+		1 · 750 mg/kg m.c. p.os	NTP 1992
Test mikrojądrowy	szpik kostny szczura	–		1 · 625 mg/kg m.c. ip[b] 1 · 1250 mg/kg m.c. ip 1 · 2500 mg/kg m.c. ip	NTP 1992
	szpik kostny myszy	–		1 · 100 mg/kg m.c. ip 1 · 200 mg/kg m.c. ip 1 · 300 mg/kg m.c. ip 1 · 400 mg/kg m.c. ip	NTP 1992

cd. tab. 12.

Test/skutek	Badany układ (droga podania)	Wynik		Dawka	Piśmiennictwo
		-S9	+S9		
	szpik kostny myszy (samce)	?		625 ppm = 45 mg/kg m.c. 1250 ppm = 89 mg/kg m.c. 2500 ppm = 179 mg/kg m.c. 5000 ppm = 340 mg/kg m.c.	NTP 1992
	szpik kostny myszy (samice)	–		625 ppm = 44 mg/kg m.c. 1250 ppn = 87 mg/kg m.c. 2500 ppm = 178 mg/kg m.c. 5000 ppm = 340 mg/kg m.c.	NTP 1992
Addukty DNA	wątroba samca szczura	+		1 · 200 mg/kg m.c. p.os	*Rickert* i in. 1984
Addukty RNA lub białka	wątroba samca szczura	+		1 · 200 mg/kg m.c. p.os	*Rickert* i in. 1984; 1986
3-Nitrotoluen (in vitro)					
Mutacje powrotne	*Salmonella typhimurim* TA100, TA1535, TA1537 i TA98	–	–	150 μg/ml	*Miyata* i in. 1981
	Salmonella typhimurim TA100 iTA98	–	–	50 μg/ml	*Tokiwa* i in. 1981; *Suzuki* i in. 1983
	Salmonella typhimurim TA1535, TA1537 i TA98	–	–	128 μg/ml	*Haworth* i in. 1983
	Salmonella typhimurim TA1535 i TA1537	–	–	225 μg/ml	*Shimizu, Yano* 1986
	Salmonella typhimurim TA100, TA1538 i TA98	–	–	445 μg/ml	*Shimizu, Yano* 1986
	Salmonella typhimurim TA92 i TA94	–	–	500 μg/ml	*Miyata* i in. 1981
	Salmonella typhimurim TA100, TA1535, TA1537, TA1538 i TA98	–	–	2500 μg/ml	*Spanggord* i in. 1982
Wymiana chromatyd siostrzanych	komórki CHO chomika chińskiego	+	–	150 μg/ml	*Galloway* i in. 1987
Aberracje chromosomowe	komórki CHO chomika chińskiego	–	–	483 μg/ml	*Galloway* i in. 1987
	komórki CHL chomika chińskiego	–	0	250 μg/ml	*Ishidate* i in. 1988

cd. tab. 12.

Test/skutek	Badany układ (droga podania)	Wynik		Dawka	Piśmiennictwo
		-S9	+S9		
Nieplanowa synteza DNA	pierwotne hepatocyty szczura	–	0	13,7 μg/ml	*Doolittle* i in. 1983
	spermatocyty i okrągłe spermatydy szczurze	–	0	13,7 μg/ml	*Working, Butterworth* 1984
3-Nitrotoluen (in vivo)					
Nieplanowa synteza DNA	hepatocyty samca szczura	–		1· 500 mg/kg m.c. p.os	*Doolittle* i in. 1983; NTP 1992
Addukty DNA	wątroba samca szczura	–		1· 200 mg/kg m.c. p.os	*Rickert* i in. 1984
Addukty RNA lub białka	wątroba samca szczura	+		1· 200 mg/kg m.c. p.os	*Rickert* i in. 1984; 1986
4-Nitrotoluen (in vitro)					
Mutacje powrotne	*Salmonella typhimurim* TA100	+	+	nieznana	*Spanggord* i in. 1982
	Salmonella typhimurim (TA100) i TA98	(–) –	(0) –	50 μg/ml	*Suzuki* i in. 1983
	Salmonella typhimurim TA100, TA1535, TA1537 i TA98	–	–	128 μg/ml	*Haworth* i in. 1983
	Salmonella typhimurim TA1537 i TA98	–	–	150 μg/ml	*Miyata* i in. 1981
	Salmonella typhimurim TA100	–	–	250 μg/ml	*Tokiwa* i in. 1981
	Salmonella typhimurim TA100	+	0	385 μg/ml	*Shimizu, Yano* 1986
	Salmonella typhimurim TA100, TA1535, TA98 i TA92	–	–	500 μg/ml	*Miyata* i in. 1981
	Salmonella typhimurim TA100 i TA98	–	0	685 μg/ml	*Chiu* i in. 1978
	Salmonella typhimurim TA1535, TA1537, TA1538 i TA98	–	0	1925 μg/ml	*Shimizu, Yano* 1986
	Salmonella typhimurim TA1535, TA1537, TA1538 i TA98	–	–	2500 μg/ml	*Spanggord* i in. 1982
Konwersja genów	*Saccharomyces cerevisiae*	–	0	100 μg/ml	*Marquardt* i in. 1970
Mutacje genowe *tk* locus	Komórki L5178Y chłoniaka myszy	–	+	75 μg/ml	NTP 1992

cd. tab. 12.

Test/skutek	Badany układ (droga podania)	Wynik		Dawka	Piśmiennictwo
		-S9	+S9		
Wymiana chromatyd siostrzanych	komórki CHO jajnika chomika chińskiego	+	+	200 μg/ml	*Galloway* i in. 1987
Aberracje chromosomowe	komórki CHO jajnika chomika chińskiego	–	+	550 μg/ml	*Galloway* i in. 1987
	komórki CHL płuc chomika chińskiego	–	0	250 μg/ml	*Ishidate* i in. 1988
Nieplanowa synteza DNA	pierwotne hepatocyty szczura	–	0	13,7 μg/ml	*Doolittle* i in. 1983
	spermatocyty i okrągłe spermatydy szczura	–		13,7 μg/ml	*Working, Butterworth* 1984
4-Nitrotoluen (in vivo)					
Nieplanowa synteza DNA	hepatocyty samca szczura	–		1 · 500 mg/kg m.c. p.os	*Doolittle* i in. 1983; NTP 1992
	hepatocyty szczura	–		1· 1000 mg/ kg m.c. p.os	*Mirsalis* i in. 1989; cyt. za IARC 1996
Test mikrojądrowy	myszy	–		nieznana	*Ohuchida* i in. 1989
	szpik kostny szczura	–		1· 150 mg/kg m.c. ip 1· 300 mg/kg m.c. ip 1· 600 mg/kg m.c. ip	NTP 1992
	szpik kostny myszy	–		1· 150 mg/kg m.c. ip 1· 300 mg/kg mg/kg m.c. ip 1· 600 mg/kg m.c. ip	NTP 1992
Addukty DNA	wątroba samca szczura	–		1· 200 mg/kg m.c. p.os	*Rickert* i in. 1984
Addukty RNA lub białka	wątroba samca szczura	+		1· 200 mg/kg m.c. p.os	*Rickert* i in. 1984; 1986

„+” – wynik pozytywny; „-„ – wynik negatywny; „0” – nie badano; [a] p.os – *per os*; [b] ip – *intraperitoneal*; „?”– wynik niejednoznaczny.

Działanie embriotoksyczne i teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

Badania wpływu poszczególnych nitrotoluenów na rozrodczość u myszy (B6C3F1) i szczurów (F344/N) obu płci zostały przeprowadzone po podaniu zwierzętom badanych

związków w paszy w ciągu: 2, 13 i 105 tygodni przez NTP (1992; 2002). W doświadczeniu 14-dniowym stwierdzono, że po podaniu w paszy poszczególnych izomerów nitrotoluenu (625 ÷ 10000 ppm) zmiany degeneracyjne w narządach rozrodczych wykazano tylko po podaniu 3-NT. Zarówno u samic, jak i samców szczurów otrzymujących związek o największym stężeniu (10 000 ppm), co w przeliczeniu na spożycie paszy odpowiadało około 881 mg/kg m.c. dla samców i 754 mg/kg m.c. dla samic, wykazano istotne zmiany histopatologiczne w narządach płciowych. U wszystkich samców stwierdzono zmiany degeneracyjne w jądrach objawiające się: brakiem spermatyd w kanalikach nasiennych i kanalikach najądrzy, znacznym zmniejszeniem gęstości nasienia, natomiast u samic wykazano zanik endometrium. W eksperymencie 13-tygodniowym stwierdzono, że wszystkie izomery nitrotoluenu wykazywały działanie toksyczne na narządy płciowe u szczurów, zwłaszcza samców. Najbardziej toksycznym izomerem okazał się 2-NT. Istotne zmiany zwyrodnieniowe w jądrach u samców uszkodzenie nabłonka plemnikotwórczego nasieniowodów stwierdzono, gdy stężenie związku wynosiło 5000 ppm (353 mg/kg m.c./dzień). Natomiast większe stężenie związku 10 000 ppm (694 mg/kg m.c./dzień) powodowało u szczurów zahamowanie spermatogenezy i zanik nabłonka plemnikotwórczego. Wykazano ponadto wakuolizację wraz z powiększeniem mitochondriów i retikulum endoplazmatycznego komórek Sertoliego. U większości szczurów stwierdzono również istotnie obniżony poziom nasienia w najądrzach. U 2/10 szczurów wykazano także rozrost międzybłonka pochewki jądra. U samic natomiast stwierdzono jedynie wydłużenie cyklu rui bez zmian histopatologicznych w obrębie macicy. W przypadku 3-NT i 4-NT zmiany degeneracyjne w jądrach stwierdzano po podaniu związków o największych stężeniach, tj. 10 000 ppm (ok. 700 mg/kg m.c./dzień) i miały one znacznie łagodniejszy charakter. Obejmowały nieznaczne uszkodzenie nabłonka plemnikotwórczego, zmniejszenie liczby spermatyd w kanalikach nasiennych i redukcję poziomu nasienia w najądrzach. U samic szczura, podobnie jak w przypadku 2-NT, nie stwierdzono zmian w obrębie narządów płciowych.

Nieco rozbieżne wyniki badań toksycznego wpływu NT na rozrodczość u szczurów opisał *Ciss* i in. (1980). Szczurom obu płci Wistar (n = 10) nitrotolueny podawano przez 3 miesiące drogą dożołądkową w dawkach: 200 mg/kg m.c. 2-NT; 300 mg/kg m.c. 3-NT i 400 mg/kg m.c. 4-NT. Następnie szczury zostały podzielone na cztery grupy (łączono w pary zwierzęta narażane i nienarażane w różnych układach). Z przeprowadzonego eksperymentu wynika, że ze wszystkich badanych izomerów działanie toksyczne na narządy rozrodcze u badanych zwierząt wykazywał tylko 4-NT. U wszystkich narażanych samców stwierdzono atrofię jąder, a także nieznaczną martwicę nabłonka plemnikotwórczego (*Ciss* i in. 1980).

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących potencjalnego działania embriotoksycznego i teratogennego izomerów NT zarówno u ludzi, jak i u zwierząt doświadczalnych.

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie i rozmieszczenie

Na podstawie wyników badań ludzi narażonych na nitrotolueny w przemyśle oraz wyników badań na zwierzętach doświadczalnych wynika, że związek ten wchłania się w

znacznych ilościach w drogach oddechowych oraz z przewodu pokarmowego. Brak jest jednak ilościowych danych dotyczących wydajności wchłaniania tymi drogami.

Nie ma również ilościowych danych na temat wchłaniania NT przez skórę. Z uwagi na fakt, iż 4-NT jest klasyfikowany jako związek potencjalnie toksyczny po narażeniu przez skórę – współczynnik przenikania przez skórę dla wodnego roztworu nasyconego 4-NT wyliczony przez *Fiserovą-Bergerovą* (1990) wynosi 0,1259 mg/cm^2/h, co daje podstawy, aby uznać izomery NT za związki wchłaniające się w znaczących ilościach przez skórę. Monitoring biologiczny pracowników narażonych na różne pochodne nitrowe toluenu (DNT, TNT i NT) wykazał większe ilości metabolitów w moczu niż wynikałoby to ze stężeń tych związków w środowisku pracy, co sugeruje, że przyczyną tego jest istotne wchłanianie przez skórę.

Metabolizm i wydalanie

Metabolizm nitrotoluenu został stosunkowo dobrze poznany w badaniach na szczurach. Brak jest natomiast danych na temat metabolizmu NT u ludzi.

Losy w organizmie wszystkich trzech izomerów (2-, 3-, 4-) nitrotoluenu znakowanego izotopem węgla ^{14}C u szczurów po podaniu dożołądkowym związków badali: *Chism* i in. (1984), *de Bethizy* i *Rickert* (1984), *Chism* i *Rickert* (1985) oraz *Rickert* (1987). Blisko 100% podanej dawki uległo wchłonięciu do ustroju szczura, co wyliczono na podstawie ilościowego pomiaru wydalania związku z moczem i kałem. Główną drogą wydalania dla wszystkich izomerów NT był mocz, z którym w ciągu 72 h wydaliło się od 73 do 86% podanej dawki. Z kałem natomiast wydaliło się od 5 do 13% podanej dawki. Wydalanie z powietrzem wydechowym miało marginalne znaczenie, albowiem drogą tą wydaliły się śladowe ilości badanego związku. Bardzo podobne wyniki badań uzyskano u myszy. Wydalanie NT z moczem u szczurów było jednak znacznie szybsze niż u myszy. Około 90% podanej dawki u szczurów wydaliło się z moczem w ciągu 24 h po podaniu, gdy u myszy około 70% (NTP 1992).

Główne metabolity wszystkich trzech izomerów nitrotoluenu, które zidentyfikowano w moczu szczurów i myszy po podaniu dożołądkowym w dawce 200 mg/kg m.c., przedstawiono w tabeli 13.

Tabela 13.

Metabolity 2-, 3- i 4-nitrotoluenu zidentyfikowane w moczu samców szczurów i myszy po podaniu dożołądkowym w dawce 200 mg/kg m.c. (NTP 2002a,b)

	2-Nitrotoluen	3-Nitrotoluen	4-Nitrotoluen
Szczury	kwas *o*-nitrobenzoesowy (29%)	kwas *m*-nitrobenzoesowy (21%)	kwas *p*-nitrobenzoesowy (28%)
	glukuronid *o*-nitrobenzylu (14%)	kwas *m*-nitrohipurowy (24%)	kwas *p*-nitrohipurowy (13%)
	S-(*o*-nitrobenzylo)-*N*-acetylocysteina (12%)	kwas *m*-acetaminoben- zoesowy (12%)	kwas *p*-acetamino-benzoesowy (27%)
Myszy	kwas *o*-nitroben-zoesowy (38%)	kwas *m*-nitrohipurowy (52%)	kwas *p*-nitrohipurowy (20%)
	glukuronid *o*-nitrobenzylu (24%)	kwas *m*-nitrobenzoesowy (19%)	glukuronid 2-metylo-5-nitrofenylu (13%) siarczan 2-metylo-5-nitrofenylu (19%)

Metabolizm NT przebiega dwutorowo – w pierwszym ulega utlenieniu grupa metylowa, w drugim grupa nitrowa ulega redukcji. Obydwa tory przemiany prowadzą do metabolicznej aktywacji działania toksycznego NT. W wyniku biotransformacji tworzą się reaktywne metabolity, które są zdolne do reakcji z makrocząsteczkami w ustroju człowieka. Redukcja prowadzi do wytworzenia reaktywnych pośrednich metabolitów – pochodną nitrozową, następnie pochodną hydroksyloaminową i końcowego produktu, jakim jest odpowiednia amina. Podczas utleniania powstają: alkohol nitrobenzylowy, a końcowym produktem tego toru przemiany jest kwas nitrobenzoesowy. Utlenianie grupy metylowej NT do alkoholu przebiega przy udziale cytochromu P-450. Następnie powstały alkohol benzylowy ulega sprzęganiu z kwasem glukuronowym i wydaleniu z żółcią. W jelitach pod wpływem flory bakteryjnej glukuronid ulega następnie hydrolizie i redukcji grupy nitrowej – powstaje alkohol aminonitrobenzylowy, który ulega ponownie wchłanianiu do krwi i wątroby, gdzie grupa aminowa ulega utlenieniu do hydroksyloaminy i sprzęganiu z kwasem siarkowym, tworząc siarczan. Rozkład estru prowadzi do powstania wysokoelektrofilnego jonu nitroniowego (lub karboniowego), które reagują łatwo z DNA lub innymi biologicznymi związkami (HSDB 2005). Taki przebieg metabolizmu potwierdzają badania przeprowadzone przez innych badaczy. Wszystkie trzy izomery ulegają przemianie do odpowiedniego alkoholu benzylowego i kwasu benzoesowego. Izomery 3- i 4-NT ulegają łatwo reakcjom sprzęgania z glicyną, tworząc dalej odpowiedni kwas hipurowy, lub ulegają przemianie poprzez redukcję grupy nitrowej do aminowej i acetylację. Dla izomeru 2-NT głównym metabolitem jest glukuronid alkoholu 2-nitrobenzylowego.

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Głównym skutkiem toksycznego działania nitrotoluenu jest działanie methemoglobinotwórcze. Mechanizm powstawania skutków hematologicznych wywoływanych przez NT jest podobny jak w przypadku innych aromatycznych pochodnych aminowych czy nitrowych. Związki te utleniają żelazo w hemoglobinie, w wyniku czego powstaje methemoglobina. Prawdopodobnie czynnikiem utleniającym jest pochodna hydroksyloaminowa, która powstaje podczas redukcji związków nitrowych do aminowych. W organizmie istnieją mechanizmy naprawcze, pozwalające w ograniczonym zakresie na redukcję methemoglobiny; kiedy jednak ich wydolność zostanie przekroczona, methemoglobinemia może prowadzić do skutków wtórnych, w tym niedotlenienia. Obecność methemoglobiny powoduje także tworzenie agregatów produktów rozpadu hemoglobiny, tzw. ciałek Heinza. Wysokie poziomy methemoglobiny są usuwane na drodze katabolizmu krwinek czerwonych, co prowadzi do anemii. Organizm kompensuje rozpad czerwonych krwinek poprzez wzmożone wytwarzanie erytrocytów, co powoduje zwiększenie liczby retikulocytów we krwi. Jeżeli dawka toksyczna nie jest zbyt duża, taki mechanizm kompensacyjny wystarcza, a u osób narażonych na związki methemoglobinotwórcze obserwuje się normalny poziom erytrocytów i retikulocytozę. Kiedy wytwarzanie czerwonych ciałek krwi nie może dłużej zrekompensować hemolizy krwinek, rozwija się niedokrwistość hemolityczna (ATSDR 1998).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

Stwierdzono, że alkohol etylowy może zwiększać działanie methemoglobinotwórcze nitrotoluenu u ludzi (*Tchounwou* i in. 2003).

ZALEŻNOŚĆ EFEKTU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Nie można, ze względu na brak ilościowych danych o stężeniach nitrotoluenu, określić zależności skutku toksycznego u ludzi od wielkości narażenia.

W tabelach (6. ÷ 9.) przedstawiono zależność skutków od wielkości narażenia zwierząt doświadczalnych (szczury i myszy) na wszystkie izomery nitrotoluenu podane drogą pokarmową.

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

Istniejące wartości NDS i ich podstawy

W tabeli 14. przedstawiono przykładowe odpowiedniki wartości NDS dla różnych izomerów nitrotoluenu obowiązujące w różnych państwach.

Tabela 14.

Normatywy higieniczne mieszaniny izomerów nitrotoluenu w środowisku pracy w różnych państwach (CHEMINFO 2004; CIOP 2005; ACGIH 2005a; 2005b; Rozporządzenie… DzU nr 217 z 2002 r., poz. 1833, ze zm. DzU nr 212 z 2005 r., poz. 1769; RTECS 2005)

Państwo/organizacja/ instytucja	Normatyw higieniczny		Uwagi
	NDS, mg/m^3	NDSCh, mg/m^3	
Austria (2006)			
2-NT	–	–	grupa 2 rakotw.Sk
3-NT i 4-NT	11	44	Sk
Dania (2002)	12	–	Sk
2-NT, 3-NT i 4-NT			
Holandia	6	–	Sk
3-NT			
Irlandia (2002)			
2-NT, 3-NT i 4-NT	30	60	Sk
Niemcy (2005)	28	–	
3-NT i 4-NT			Sk
Niemcy (2008)	–	–	grupa 2 rakotw., Sk
2-NT			grupa 3B, Sk
3- i 4-NT	-	-	
Nowa Zelandia (2001)			
2-NT, 3-NT i 4-NT	11	–	–
Polska (2005)	3	9	Sk, Ft
3-NT i 4-NT			
Szwecja (2005)	6	11	Sk
2-NT, 3-NT i 4-NT			
USA:			
2-NT, 3-NT i 4-NT:	11	–	Sk; BEI_M
– ACGIH (1982)	11	–	Sk
– NIOSH	30	–	Sk
– OSHA			

W Niemczech w 2005 r. wartość NDS (MAK) przyjęto tylko dla dwóch izomerów (3- i 4-) nitrotoluenu na poziomie 28 mg/m^3, natomiast dla 2-nitrotoluenu wartości MAK nie ustalono i zaliczono ten izomer do grupy III B (DFG 2005). W 2008 r. usunięto te wartości, gdyż 2-nitrotoluen zaliczono do grupy 2 rakotwórczości (substancje przypuszczalnie rakotwórcze dla ludzi), a 3- i 4-nitrotoluen do grupy 3B (substancje, dla których wyniki badań w warunkach in vitro lub badań na zwierzętach wskazywały na działanie rakotwórcze, ale są one niewystarczające do zaklasyfikowania substancji do wyższej grupy rakotwórczości i konieczne jest prowadzenie dalszych badań). Również w Polsce i w Austrii wartość NDS przyjęto tylko dla dwóch izomerów nitrotoluenu (3- i 4-NT) na poziomie odpowiednio 3 i 11 mg/m^3.

W USA ustalono w ACGIH i NIOSH wartość TLV dla wszystkich izomerów nitrotoluenu na poziomie 11 mg/m^3, natomiast w OSHA ustanowiono wartość NDS (PEL) na poziomie 30 mg/m^3.

Wartość NDSCh dla izomerów 3- i 4-NT przyjęta w Polsce wynosi 9 mg/m^3 (rozporządzenie ministra pracy i polityki społecznej z dnia 29 listopada 2002 r.), a w Austrii 44 mg/m^3. Natomiast w Irlandii i w Szwecji wartość NDSCh obowiązująca dla wszystkich trzech izomerów nitrotoluenu wynosi odpowiednio 60 i 11 mg/m^3.

Uzasadnienie wartości TLV przez ACGIH

Wartość TLV (dla mieszaniny izomerów nitrotoluenu) została ustalona przez analogię do aniliny lub nitrobenzenu, dla których najbardziej charakterystycznym objawem działania toksycznego jest methemoglobinemia. Ustalona wartość miała zabezpieczyć pracowników przed działaniem methemoglobinotwórczym i skutkami niedotlenienia, a także przed możliwością uszkodzenia: wątroby, nerek i wpływem na rozrodczość, co obserwowano u zwierząt doświadczalnych.

Oznakowanie „skin" wprowadzono w 1982 r. i jest ono obowiązujące. Nie było wystarczających danych, aby wprowadzić oznakowanie, że związek jest rakotwórczy (ACGIH 2005a). Nitrotoluen jest substancją, dla której jest zalecana taka sama wartość DSB jak dla innych związków o działaniu methemoglobinotwórczym.

Podstawy proponowanej wartości NDS

Głównymi skutkami narażenia na nitrotoluen jest działanie hemato-, hepato- i nefrotoksyczne obserwowane u zwierząt doświadczalnych.

Zarówno w badaniach 13-tygodniowych, jak i 2-letnich dwa izomery nitrotoluenu 2-NT i 4-NT były badane przez NTP (2002) w eksperymentach przewlekłych (105 tygodni) na dwóch gatunkach zwierząt (myszy i szczury). W badaniach tych wykazano m.in. działanie rakotwórcze (różne typy nowotworów), szczególnie dla izomeru 2-nitrotoluenu. Z analizy rodzaju i liczby obserwowanych nowotworów można wnioskować, że ten typ nowotworów nie jest związany z narażeniem zawodowym człowieka i nie może być podstawą do analizy ryzyka.

Ze względu na brak eksperymentów, w których podawano mieszaninę wszystkich trzech izomerów, do wyliczenia wartości NDS przyjęto wyniki 2-letniego badania dla najbardziej toksycznego izomeru, tj: 2-nitrotoluenu. W tym eksperymencie 2-NT podawano przez 105 tygodni szczurom obu płci w paszy o stężeniach: 625; 1250 lub 2000 ppm. Stężenie najmniejsze (625 ppm w paszy) odpowiadające dawce 25 mg/kg m.c./dzień u samców i 30 mg/kg m.c./dzień u samic przyjęto za wartość LOAEL (tab. 6).

Ze względu na fakt, iż samce były znacznie bardziej wrażliwe na działanie NT niż samice, do obliczeń wartości NDS przyjęto za wartość LOAEL dawkę 25 mg/kg m.c./dzień ustaloną dla samców.

Wartość NDS obliczono, wychodząc z wartości LOAEL = 25 mg/kg, a także przyjmując następujące współczynniki niepewności:

– A = 2 – współczynnik związany z wrażliwością osobniczą człowieka
– B = 2 – współczynnik związany z drogą podania (w paszy) i różnicami międzygatunkowymi
– C = 1 – do wyznaczenia przyjęto dane z badania przewlekłego
– D = 2 – zastosowano wartość LOAEL
– E = 2 – współczynnik modyfikacyjny, uwzględniający potencjalne skutki odległe działania NT.

Stężenie nitrotoluenu w powietrzu równoważne wartości LOAEL dla 8-godzinnego czasu pracy wyniesie:

$$C = \frac{\text{LOAEL} \cdot 70\ \text{kg}}{10\ \text{m}^3} = \frac{25 \cdot 70\ \text{kg}}{10\ \text{m}^3} = 175\ \text{mg/m}^3,$$

stąd wartość NDS nitrotoluenu będzie wynosiła:

$$\text{NDS} = \frac{175\ \text{mg/m}^3}{2 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 2} = 10{,}94\ \text{mg/m}^3 \approx 11\ \text{mg/m}^3.$$

Proponujemy przyjęcie wartości NDS równej 11 mg/m^3. Zaproponowana wartość NDS dotyczy poszczególnych izomerów NT, tj.: 2-, 3- i 4-NT oraz mieszaniny wszystkich trzech izomerów.

Ze względu na brak działania drażniącego NT nie ma podstaw do wyznaczenia wartości NDSCh. Normatyw należy oznaczyć literami „Sk" – substancja wchłania się przez skórę.

Ze względu na działanie methemoglobinotwórcze NT wartość dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) przyjęto na poziomie 2% methamoglobiny (MetHB) we krwi, tak jak dla wszystkich substancji methemoglobinotwórczych.

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

dr n. med. EWA WĄGROWSKA-KOSKI
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na wątrobę i nerki.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, retikulocyty, badania czynności wątroby (bilirubina w surowicy krwi, AIAT i AspAT), badanie ogólne moczu oraz stężenie kreatyniny w surowicy krwi.

Zakres badań okresowych

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na wątrobę i nerki.
Badania pomocnicze: morfologia krwi, retikulocyty, stężenie methemoglobiny we krwi, w zależności od wskazań badanie na obecność ciałek Heinza w eurocytach, badania czynności wątroby (bilirubina w surowicy krwi, AIAT i AspAT), badanie ogólne moczu oraz stężenie kreatyniny w surowicy krwi.

Częstotliwość badań okresowych: co 2 ÷ 3 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

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na wątrobę i nerki.
Badania pomocnicze: morfologia krwi, retikulocyty, stężenie methemoglobiny we krwi, w zależności od wskazań badanie na obecność ciałek Heinza w eurocytach, badania czynności wątroby (bilirubina w surowicy krwi, AIAT i AspAT), badanie ogólne moczu oraz stężenie kreatyniny w surowicy krwi.

Narządy (układy) krytyczne

Krwinki czerwone, wątroba i nerki.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Niedokrwistość, methemoglobinemie wrodzone i nabyte, choroby przebiegające z upośledzeniem funkcji wątroby oraz choroby przebiegające z upośledzeniem funkcji nerek.

U w a g a

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy.
O przeciwwskazaniach podczas zatrudnienia powinien decydować lekarz sprawujący opiekę profilaktyczną, biorąc pod uwagę wielkość i okres trwania narażenia zawodowego oraz ocenę stopnia zaawansowania i dynamikę zmian chorobowych.
Test ekspozycyjny – oznaczanie methemoglobiny we krwi; wartość DSB – 2% Met Hb we krwi.

PIŚMIENNICTWO

Abshire A.D., Hughes C.S. (1982) Toluene [W:] Chemical economics handbook. CA: SRI International 300.7202z – 300.7203a [cyt. za NTP 2002a, b].

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (1991) Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices. 6th ed. Cincinnati, OH 1131–1133 [cyt. za IARC 1996].

ACGIH (2005a) TLV Documentation. Dinitrotoluene [komputerowa baza danych].

ACGIH (2005b) Guide to occupational exposure values.

Ahlborg G. i in. (1985) Urinary screening for potentially genotoxic exposures in a chemical industry. Br. J. Ind. Med. 42, 691–699 [cyt. za IARC 1996].

Ahlborg G. i in. (1988) Diazo-positive metabolites in urine from workers exposed to aromatic nitro-amino compounds. Int. Arch. Occup. Environ. Health 60, 51–54.

Booth G. (1991) Nitro compounds, aromatic [W:] Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. 5th rev. ed., vol. A17. New York, Vch Publishers 411–455 [cyt. za IARC 1996].

The Merck Index (1989) [Red.] S. *Budavari*. 11th ed. Rahway, NJ, Merck & Co. 1051.

Butterworth B.E. i in. (1989) Use of primary cultures of human hepatocytes in toxicology studies. Cancer Res. 49, 1075–1084 [cyt. za IARC 1996].

Chemical Information Services (1994) Directory of World Chemical Producers 1995/96, Oceanside, NY, 530 [cyt. za IARC 1996].

CHEMINFO (2004) Chemical Profiles Created by Canadian Centre for Occupational Health and Safety.

Chism J.P., Rickert D.E. (1985) Isomer- and sex-specific bioactivation of mononitrotoluenes. Role of enterohepatic circulation. Drug Metab. Dispos. 13, 651–657.

Chism J.P., Turner M.J., Jr. Rickert D.E. (1984) The metabolism and excretion of mononitrotoluenes by Fisher 344 rats. Drug Metab. Dispos. 12, 596–602.

Ciss M. i in. (1980) Toxicological study of nitrotoluenes:acute and subacute toxicity. Dakar Medical. 25 (4), 303–311 [cyt. za IARC 1996].

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 (2005) Wartości dopuszczalne. Warszawa, CIOP.

deBethizy J.D., Rickert D.E. (1984) Metabolism of nitrotoluenes by freshly isolated Fisher 344 rat hepatocytes. Drug Metab. Dispos. 12, 45–50.

DFG (2003) List of MAK and BAT Values.

Doolittle D.J., Sherrill J.M., Butterworth B.E. (1983) Influence of intestinal bacteria, sex of the animal, and position of the nitro group on the hepatic genotoxicity of nitrotoluene isomers *in vivo*. Cancer Res. 43, 2836–2842 [cyt. za IARC 1996].

Dunlap K.L. (1981) Nitrotoluenes [W:] Kirk-Othmar encyclopedia of chemical technology. 3rd ed., vol. 15. New York, Wiley and Sons 925–933.

Dyrektywa Rady 67/548/EWG z dnia 27 czerwca 1967 r. o ujednoliceniu ustaw, rozporządzeń i innych przepisów prawnych i administracyjnych dotyczących klasyfikacji, pakowania i oznakowania niebezpiecznych substancji chemicznych wraz z późniejszymi zmianami do 29 ATP włącznie (dyrektywa Komisji 2004/73/WE z dnia 29 kwietnia 2004).

Fiserova-Bergerova V. i in. (1990) Dermal absorption potential of industrial chemicals: criteria for skin notation. Am. J. Ind. Med. 17, 617–635.

Furukawa A., Ohuchida A., Wierzba K. (1989) In vivo mutagenicity tests on polyploid inducers. Environ. Mol. Mutagen. 14 (suppl. 15), 63–64 [cyt. za NTP 2002a, b].

Galloway S.M. i in. (1987) Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells: evaluation of 108 chemicals. Environ. Mol. Mutag. 10 (suppl. 10), 1–175 [cyt. za IARC 1996].

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). Dinitrotoluene [komputerowa baza danych NLM].

IARC, International Agency for Research on Cancer (1996) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 65. Printing processes and printing inks, carbon black and some nitro compounds. Lyon, France.

Ishidate M., Jr Harnois M.C., Sofuni T. (1988) A comparative analysis of data on the clastogenicity of 951 chemical substances tested in mammalian cell cultures. Mutat. Res. 195, 151–213 [cyt. za IARC 1996].

IUCLID (2000) International Uniform Chemical Information Database [komputerowa baza danych].

Kawai A. i in. (1987) Mutagenicity of aliphatic and aromatic nitro compounds. Jpn. J. Ind. Health 29, 34–54 [cyt. za NTP 2002a, b].

Linch A.L. (1974) Biological monitoring for industrial exposure to cyanogenic aromatic nitro and amino compounds. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 35, 426–432.

Lysy H.H. i in. (1988) Suuuression of humoral immunity by mono-nitrotoluenes (a structural activity study). The Toxicologist 8, 322.

Marquardt H. i in. (1970) Genetic activity of aromatic amines and their derivatives: induction of mitotic conversion in the yeast *Saccharomyces cerevisiae.* Z. Krebsforsch. 74, 412–433 [cyt. za IARC 1996].

Mirsalis J.C. i in. (1989) Measurement of unscheduled DNA synthesis and S-phase synthesis in rodent hepatocytes following in vivo treatment: testing of 24 compounds. Environ. Mol. Mutag. 14, 155–164 [cyt. za IARC 1996].

Miyata R. i in. (1981) Metabolic activation of *p*-nitrotoluene and trichloroethylene by rat-liver S9 ar mouse-liver S9 fractions in *Salmonella typhimurium* strains. Eisei Shikendo Hokoku 99, 60–65 [cyt. za IARC 1996].

Morrissey R.E. i in. (1988) Evaluation of rodent sperm, vaginal cytology, and reproductive organ weight data from National Toxicology Program thirteen-week studies. Fundam. Appl. Toxicol. 11, 343–358 [cyt. za NTP 1992].

NTP, National Toxicology Programm (1992) Technical Report on Toxicity studies of *o*-, *m*-, and *p*-nitrotoluene (CAS Nos.: 88-72-2, 99-08-1, 99-99-0) administered in dosed feed to F344/N rats and B6C3F$_1$ mice. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institute of Health N.H. Publication No. 93-3346.

NTP, National Toxicology Programm (2002a) Technical Report on the Toxicology and carcinogenesis studies of o-nitrotoluene (CAS No. 88-72-2) in F344/N rats and B6C3F$_1$ mice (feed studies). US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institute of Health N.H. Publication No. 02-4438.

NTP, National Toxicology Programm (2002b) Technical Report on the Toxicology and carcinogenesis studies of p-nitrotoluene (CAS No. 99-99-0) in F344/N rats and B6C3F$_1$ mice (feed studies). US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institute of Health N.H. Publication No. 02-4432.

Ohuchida A., Furukawa A., Yoshida R. (1989) Micronucleus test of polyploidy inducers. Mutat. Res. 216, 371–372 [cyt. za NTP 2002a,b].

Rickert D.E. (1987) Metabolism of nitroaromatic compounds. Drug Metab. Rev. 18, 23–53.

Rickert D.E., Chism J.P., Kedderis G.L. (1986) Metabolism and carcinogenicity of nitrotoluenes. Adv. Exp. Med. Biol. 179, 536–571.

Rickert D.E. i in. (1984) Hepatic macromolecular covalent binding of mononitrotoluenes in Fisher-344 rats. Chem. Biol. Interactions 52, 131– 139.

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 217 z 2002 poz. 1833, ze zm: DzU nr 212 z 2005 r., poz. 1769.

Rozporządzenie ministra zdrowia z dnia 1 grudnia 2004 r. w sprawie substancji, preparatów, czynników lub procesów technologicznych o działaniu rakotwórczym lub mutagennym w środowisku pracy. DzU 280 poz. 2771.

Rozporządzenie ministra zdrowia z dnia 28 września 2005 r. w sprawie wykazu substancji niebezpiecznych wraz z ich klasyfikacją i oznakowaniem. Załącznik, DzU nr 201, poz. 1674.

RTECS, Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (2005) Cincinnati, National Institutes for Occupational Safety and Health.

Sax`s Dangerous properties of industrial materiale (2000) John Wiley & Sons. Inc.

Shimizu M., Yano E. (1986) Mutagenicity of mono-nitrobenzene derivatives in the Ames test and rec assay. Mutat. Res. 170, 11–22 [cyt. za IARC 1996].

Spanggord R.J. i in. (1982) Mutagenicity in *Salmonella typhimurium* and structure-activity relationships of wastewater components emanating from the manufacture of trinitrotoluene. Environ. Mutag. 4, 163–179 [cyt. za IARC 1996].

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].

Tchounwou P.B. i in. (2003) Environmentol toxicology and health effects associated with dinitrotoluene exposure. Rev. Environ. Health 18, 203–229.

Tokiwa H., Nakagawa R., Ohnishi Y. (1981) Mutagenic assay of aromatic nitro compounds with *Salmonella typhimurium.* Mutat. Res. 91, 321–325 [cyt. za IARC 1996].

Working P.K., Butterworth B.E. (1984) An assay to detect chemically induced DNA repair in rat spermatocytes. Environ. Mutag. 6, 273–286 [cyt. za IARC 1996].

ANDRZEJ SAPOTA, ANNA KILANOWICZ

Nitrotoluene

A b s t r a c t

Nitrotoluene (NT) is a mixture of three isomers: 2-, 3- and 4-NT; it does not occur in a natural form. NT is used in the production of azo and sulfur dies for cotton, wool, silk, leather and paper. It is also used in the agriculture, photographic and pharmaceutical industries, as well as in the production of rubber.

There are neither documented data on acute and chronic toxicity, nor epidemiological data on NT-exposed persons.

The animal (rats and mice) studies of acute toxicity have revealed the following ranges of DL_{50} values after *per os* administration of isomers: 891÷2463 mg/kg body mass (b.m.) for 2- and 3-NT and 1960÷7100 mg/kg b.m. for 4-NT.

Studies of subacute toxicity (13 weeks), performed on two species of rodents (mice and rats) of both genders, showed that 2-NT is the most toxic isomer.

Thirteen weeks of 2-NT exposure caused an insignificant decrease in the number of erythrocytes and in the concentration of hemoglobin, an enhanced number of reticulocytes and leucocytes, a diminished mean volume of erythrocytes and an augmented concentration of methemoglobins. All the isomer concentrations induced functional disorders in the liver, spleen and kidneys. Most of the exposed animals showed lesions in the liver, mainly manifested by hypertrophy and vacuolization of hepatocytes, and single inflammatory foci mostly composed of eosinophils. In addition, a significantly increased proliferation of hematopoietic cells in the spleen and bone marrow was observed.

A long-term (2-year) study, carried out by the NTP (2002) on mice and rats (of both genders) exposed to 2-NT and 4-NT, have revealed a significantly higher toxicity of 2-NT than that of 4-NT. In both mice and rats, 2-NT decreased body mass gain. Moreover, subcutaneous skin carcinoma, liver (hepatocellular) adenoma and mammary cancer were revealed on histopathological examination. In addition, mesothelioma of the tunica vaginalis testis and lungs were observed in males. A carcinogenic effect of 2-NT has also been found in mice of both genders, the observed neoplastic lesions were located in the circulatory system, large intestine and liver. Only single cases of subcutaneous carcinoma in male and clitoral carcinoma in female rats were found after 4-NT administration. In mice, carcinogenic effects of 4-NT administration were observed only in males (alveolar/bronchiolar carcinoma). Having analyzed the type and number of the observed carcinomas, it can be concluded that this type of neoplasms due to occupational exposure should not occur in humans and it cannot provide the basis for risk assessment.

In 1996, in view of insufficient evidence that 2-NT is carcinogenic to humans on the basis of a 13-week experiment, IARC categorized nitrotoluene into group 3 — not classifiable as to its carcinogenicity to humans (the results of a 2-year study of 2- and 4-NT performed on rats and mice by NTP were published in 2002).

Bearing in mind that no investigations on NT toxicity have been carried out to date, the results of a 2-year experiment for the most toxic isomer (2-NT) have been taken as a basis for calculating the MAC value. In this experiment, 2-NT was administered to the rats (both genders) in their diet at three concentrations: 625, 1250 or 2000 ppm for 105 weeks. The lowest dose (625 ppm) that corresponded to 25 mg/kg body mass/day for males and 30 mg/kg body mass/day for females was accepted as the LOAEL value. Considering that males were much more sensitive to 2-NT effects than females, a dose of 25 mg/kg b.m./day set for males as the LOAEL value, was taken as a basis for the calculation of the MAC value. Having assumed four coefficients of uncertainty, the MAC value for NT was calculated at the level of 11 mg/m^3. The recommended MAC values apply to individual NT isomers (2-NT, 3-NT and 4-NT) and to their mixture as a whole.

It has been suggested to mark NT with "Sk" — skin absorbed substance, and in view of its methemoglobinogenic effect, to adopt 2% MetHb in blood as the biological exposure index (BEI), like for all methemoglobinogenic substances.