

prof. dr hab. ANDRZEJ SAPOTA  
dr MAŁGORZATA  
SKRZYPIŃSKA-GAWRYSIAK  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
90-151 Łódź  
ul. J. Muszyńskiego 1

# Dinitrotoluen

## – mieszanina izomerów

### Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego\*

NDS: 0,33 mg/m<sup>3</sup>

NDSch: –

NDSP: –

DSB: 2% MetHb

Sk – substancja wchłaniająca się przez skórę

Rakotw. Kat. 2 – substancja rozpatrywana jako rakotwórcza dla człowieka

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 21.06.2005

Weryfikacja dokumentu: marzec 2006

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 23.06.2006

---

**Słowa kluczowe:** dinitrotoluen, działanie toksyczne, narażenie zawodowe, NDS.

**Key words:** dinitrotoluene, toxicity, occupational exposure, MAC.

Dinitrotoluen techniczny (DNT) jest mieszaniną sześciu izomerów o przybliżonym składzie: około 76% 2,4-DNT, 19% 2,6-DNT i około 5% pozostałych izomerów, tj.: 2,3-, 2,5, 3,4- i 3,5-DNT. Związek jest głównie stosowany jako substrat do wytwarzania diizocyjanianu toluenu i diaminotoluenu do produkcji pianek poliuretanowych oraz do produkcji materiałów wybuchowych. Szacuje się, że w Polsce na DNT jest narażonych kilkaset osób.

DNT w znaczących ilościach może wchłaniać się w drogach oddechowych, z przewodu pokarmowego oraz przez skórę.

Nie ma danych w dostępnym piśmiennictwie dotyczących ostrych zatruc tym związkiem u ludzi. Na podstawie wyników badań epidemiologicznych 183 górników narażonych na techniczny DNT przez ponad 20 lat wykazano, u 25% osób z badanej grupy: objawy uszkodzenia wątroby (wzrost aktywności ALAT, AspAT i  $\gamma$ -GTP), niedokrwistość lub problemy z oddychaniem, a u około 50% stwierdzono zwiększone wydalanie z moczem markerów nefrotoksyczności ( $\alpha$ 1-mikroglobuliny,  $\alpha$ -GST). W badaniach większej (500 osób) kohorty stwierdzono występowanie nowotworów nerek (14 przypadków) oraz nowotworów dróg moczowych (6 przypadków).

Wykazano, na podstawie wyników badań toksyczności ostrej, że techniczny DNT należy do związków szkodliwych, zgodnie z klasyfikacją UE. W badaniach na królikach związek nie wykazywał działania drażniącego.

---

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

Metoda oznaczania stężenia dinitrotoluenu w powietrzu na stanowiskach pracy jest zawarta w normach PN-82/Z-04128.03 i PN-Z-041284: 1996.

W badaniach podprzewlekłych przeprowadzonych na szczurach, które otrzymywały w paszy techniczny DNT w dawkach: 37,5; 75 lub 150 mg/kg/dzień przez 4 tygodnie, wykazano, oprócz spadku masy ciała po dwóch większych dawkach DNT, także istotny wzrost poziomu methemoglobiny i retikulocytów we krwi oraz ciałek Heinza w krwinkach czerwonych. Zmiany patologiczne w narządach wewnętrznych obserwowane u samców obejmowały odbarwienia i nieregularności powierzchni wątroby.

Techniczny DNT w badaniach przewlekłych wywoływał nowotwory (głównie wątroby i dróg żółciowych) u szczurów oraz nowotwory nerek u myszy samców. IARC nie zaproponował klasyfikacji mieszaniny izomerów dinitrotoluenu, natomiast dwa izomery 2,4-DNT i 2,6-DNT zaliczył do grupy 2B, czyli związków o możliwym działaniu rakotwórczym dla człowieka.

Przeprowadzono przewlekłe doświadczenie na szczurach, którym podawano w paszy DNT o składzie: około 98,5% 2,4-DNT lub około 1,5% 2,6-DNT. Po najmniejszej zastosowanej dawce (0,57 mg/kg/dzień dla samców i 0,71 mg/kg/dzień dla samic) nie stwierdzono skutków działania toksycznego DNT. Obserwowano jedynie łagodne nowotwory skóry (częstość występowania nieistotna statystycznie) oraz ogniska rozrostowe mięszu wątroby (również nieistotne statystycznie w porównaniu z grupą kontrolną), niemające znaczenia w przeniesieniu tych skutków na ludzi, dlatego najmniejszą stosowaną w tym doświadczeniu dawkę DNT przyjęto za wartość NOAEL związku.

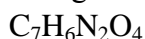
Wychodząc z wartości NOAEL równej 0,57 mg/kg, a także przyjmując odpowiednie współczynniki niepewności, obliczono wartość NDS dinitrotoluenu na poziomie 0,33 mg/m<sup>3</sup>. Zaproponowano, aby normatyw był dodatkowo oznaczony literami: Sk – substancja wchłania się przez skórę oraz Rakotw. Kat. 2 – substancja rozpatrywana jako rakotwórcza dla człowieka. Ze względu na działanie methemoglobinotwórcze związku zaproponowano przyjęcie wartości dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) równej 2% MetHB we krwi jak dla wszystkich substancji methemoglobinotwórczych.

## CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

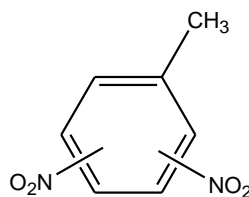
### Ogólna charakterystyka substancji

Ogólna charakterystyka dinitrotoluenu technicznego:

– wzór sumaryczny



– wzór strukturalny



– numer CAS

25321-14-6

– numer WE (EINECS)

246-836-1

– numer indeksowy

609-007-00-9

– synonimy:

benzene, methyl-dinitro-, binitrotoluene, dinitrotoluene, dinitrotoluol, DNT, dinitrophenylmethane i methyl-dinitrobenzene.

Dinitrotoluen techniczny (DNT) jest mieszaniną sześciu izomerów o przybliżonym składzie: około 76% 2,4-DNT, 19% 2,6-DNT i około 5% pozostałych izomerów, tj. 2,3-, 2,5-, 3,4- i 3,5-DNT.

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) dinitrotoluen sklasyfikowano jako produkt niebezpieczny:

- rakotwórczy kategorii 2. (produkt rozpatrywany jako rakotwórczy dla człowieka) ze zwrotem R45 – może powodować raka
- mutagenny kategorii 3. (produkt o możliwym działaniu mutagennym dla człowieka) ze zwrotem R68 – możliwe ryzyko powstania nieodwracalnych zmian w stanie zdrowia
- działający szkodliwie na rozrodczość kategorii 3. (produkt o możliwym działaniu na funkcje rozrodcze człowieka) ze zwrotem R62 – możliwe ryzyko upośledzenia płodności
- toksyczny – T ze zwrotem R23/24/25 – działa toksycznie przez drogi oddechowe, w kontakcie ze skórą i po połknięciu
- szkodliwy – Xn ze zwrotem R48/22 – działa szkodliwie po połknięciu, stwarza poważne zagrożenie zdrowia w następstwie długotrwałego narażenia
- niebezpieczny dla środowiska – N ze zwrotem R51-53 – działa toksycznie na organizmy wodne oraz może powodować długo utrzymujące się niekorzystne zmiany w środowisku wodnym.

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

### **Właściwości fizykochemiczne substancji**

Właściwości fizykochemiczne dinitrotolenu technicznego (ACGIH 2005a; CHEMINFO 2004; HSDB 2005; IUCLID 2000):

- |                                       |   |
|---------------------------------------|---|
| - wygląd i zapach                     | pomarańczowożółte kryształy lub oleista ciecz o charakterystycznym zapachu  |
| - masa cząsteczkowa                   | 182,14  |
| - temperatura topnienia               | 54 ÷ 70 °C  |
| - temperatura wrzenia                 | 250 °C (w temp. > 225 °C zaczyna się rozkładać)   |
| - gęstość                             | 1,52 g/cm <sup>3</sup> w temp. 15 °C; 1,32 g/cm <sup>3</sup> w temp. 71 °C  |
| - prężność pary                       | 0,0024 kPa (0,018 mmHg) w temp. 20 °C   |
| - względna gęstość par                | 6,27 (powietrze = 1)  |
| - temperatura zapłonu                 | 206,7 °C (metoda tygła zamkniętego)   |
| - log Pow                             | 2,18  |
| - rozpuszczalność w wodzie            | 0,27 g/l w temp. 22 °C  |
| - rozpuszczalność w rozpuszczalnikach | dobrze rozpuszcza się w etanolu (1,2 g/100 g w temp. 20 °C), eterze dietylowym (9 g/100 g w temp. 20 °C) i bardzo dobrze rozpuszczalny w acetonie |

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

1 ppm = 7,45 mg/m<sup>3</sup> i 1 mg/m<sup>3</sup> = 0,134 ppm.

## **Produkcja, zastosowanie, narażenie zawodowe**

Dinitrotoluen (DNT) nie występuje w stanie naturalnym. Otrzymywany jest przez nitrowanie toluenu mieszaniną kwasów azotowego(V) i siarkowego(VI). Produktem tej reakcji jest techniczny dinitrotoluen stanowiący mieszaninę izomerów o składzie: 76,5% 2,4-DNT; 18,8% 2,6-DNT; 0,65% 2,5-DNT; 2,4% 3,4-DNT; 1,5% 2,3-DNT i 0,04% 3,5-DNT. Około 0,1% technicznego DNT stanowią zanieczyszczenia, głównie trinitrotoluen, krezole i mononitrotolueny (HSDB 2005).

Dinitrotoluen jest wykorzystywany głównie (powyżej 90% produkcji) jako substrat do wytwarzania diizocyjanianu toluenu i diaminotoluenu, które są stosowane do produkcji pianek poliuretanowych. Ponadto DNT jest stosowany do produkcji materiałów wybuchowych, bezdymnego prochu, amunicji oraz przy produkcji barwników azowych (ACGIH 2005a; HSDB 2005; IARC 1996).

Narażenie zawodowe na DNT jest związane z jego produkcją oraz stosowaniem. Kontrola narażenia pracowników przeprowadzona w amerykańskim zakładzie produkującym DNT wykazała, że wielkości stężeń DNT w strefie oddychania pracowników wahały się w zakresie 0,05 ÷ 0,59 mg/m<sup>3</sup>. Ponadto stwierdzono zanieczyszczenia powierzchni skóry u pracowników (od < 2 do 179,5 µg) oraz powierzchni roboczych (od < 2 do 433,2 µg). Poziomy metabolitów w moczu pracowników były wyższe niż wynika to z narażenia inhalacyjnego, co wskazuje na wchłanianie DNT do organizmu drogą dermalną i prawdopodobnie pokarmową (Levine i in. 1985a). Przeprowadzono także badanie narażenia na DNT pracowników w zakładach produkujących materiały wybuchowe. W strefie oddychania pracowników stężenia DNT wynosiły od stężeń niewykrywalnych do 0,1 mg/m<sup>3</sup>. Pobierano także próby stacjonarne w pobliżu miejsc o największym zapyleniu, które wynosiły od 0,02 do 2,68 mg/m<sup>3</sup> (średnio 0,40 mg/m<sup>3</sup>). Również i w tym badaniu poziom niezmiennego DNT i jego metabolitów w moczu był wyższy niż oczekiwano na podstawie wielkości stężeń DNT w powietrzu, co wskazuje na znaczący udział wchłaniania DNT innymi drogami (Woolen i in. 1985). NIOSH w 1985 r. przeprowadził badanie narażenia pracowników w zakładzie produkującym z DNT toluenodiaminę (TDA). Pobierano próby powietrza w strefie oddychania pracowników oraz próby stacjonarne i stwierdzono, że wielkości stężeń DNT w powietrzu wynosiły od stężeń niewykrywalnych do 0,42 mg/m<sup>3</sup> (NIOSH 1985). W innym badaniu, również w zakładzie produkującym TDA, stężenia technicznego DNT w powietrzu wynosiły 0,026 ÷ 0,89 mg/m<sup>3</sup>, czyli średnio 0,207 mg/m<sup>3</sup> (Ahrenholz, Meyer 1982).

W Polsce nie ma w dostępnym piśmiennictwie danych o wielkościach stężeń mieszaniny izomerów DNT w powietrzu na stanowiskach pracy.

## **DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI**

### **Obserwacje kliniczne. Zatrucia ostre**

Skutki ostrego toksycznego działania dinitrotoluenu (DNT) są związane głównie z tworzeniem methemoglobiny i związanej z tym zmniejszonej wydajności przenoszenia tlenu przez krew, co prowadzi do niedotlenienia organizmu.

Methemoglobinemia objawia się sinicą z towarzyszącymi bólami i zawrotami głowy, wzmożoną drażliwością, sennością, nudnościami, wymiotami i dusznością. W ciężkich stanach może dojść do utraty przytomności, a nawet zgonu (ACGIH 2005a; HSDB 2005; *Tchounwou* i in. 2003).

### **Obserwacje kliniczne. Zatrucia przewlekłe**

*McGee* i in. (1942) przeprowadzili analizę stanu zdrowia pracowników w zakładach produkujących amunicję narażonych na techniczny dinitrotoluen o dużym stężeniu (brak ilościowych danych o wielkości stężeń). Badaniem objęto 154 pracowników, wśród których 112 uskarżało się na różne dolegliwości, a u 84 wystąpiły wyraźne objawy chorobowe. Najczęstszymi dolegliwościami były: nieprzyjemny „metaliczny” smak (62%), osłabienie (51%), ból głowy (49%), utrata apetytu (47%), zawroty głowy (44%), nudności (37%), bezsenność (37%), bóle kończyn (26%), wymioty (23%) oraz mrowienie i drętwienie kończyn (19%). Ponadto stwierdzano: błądź (36%), sinicę (34%), niedokrwistość (23%), leukocytozę (12%), leukopenię (3,2%) i ostre zapalenie wątroby z żółtaczką (1,4%), (*McGee* i in. 1942).

Podobne objawy występowały u górników stosujących materiały wybuchowe zawierające techniczny DNT. Stwierdzono u nich: bóle głowy, znużenie, zaburzenia smaku i osłabienie mięśniowe. U 25% górników wystąpiły także: oznaki uszkodzenia wątroby, niedokrwistość lub zaburzenia oddychania (*Bruning* i in. 1999). W badanej grupie górników stwierdzono dodatkowo subkliniczne oznaki uszkodzenia kanalików nerkowych (*Bruning* i in. 2001).

### **Badania epidemiologiczne**

*Levine* i in. (1986) przeprowadzili badania epidemiologiczne 2 kohort mężczyzn narażonych na dinitrotoluen (DNT) w latach 1940-1950 przez okres nie krótszy niż 1 miesiąc. Łącznie badaniami objęto 457 osób (156 osób w zakładach produkujących i oczyszczających DNT oraz 301 w zakładach stosujących oczyszczony DNT). Obserwacje obu kohort były prowadzone do 1980 r. Na podstawie wyników tych badań stwierdzono wzrost umieralności ogólnej w porównaniu do populacji generalnej (standaryzowany wskaźnik umieralności SMR = 1,29,  $p \leq 0,001$ ; 164 zgony ogółem). W obu grupach najczęstszą przyczyną zgonów były choroby układu krążenia (87 zgonów, SMR = 1,40,  $p \leq 0,01$ ), w tym choroba niedokrwienno-mięśniowa sercowego – ChNS (64 zgony, SMR = 1,41,  $p \leq 0,01$ ). Największą umieralność stwierdzono po upływie 15 i więcej lat od momentu narażenia (SMR = 1,54,  $p \leq 0,001$ ). Ponadto zgony z powodu ChNS występowały głównie wśród osób intensywnie narażonych lub zatrudnionych przez co najmniej 5 miesięcy (SMR = 2,24 i 2,05 dla poszczególnych kohort,  $p \leq 0,05$ ). W badaniach tych nie stwierdzono wzrostu umieralności z powodu nowotworów złośliwych (SMR = 0,87).

Retrospektywne badania nad śmiertelnością w kohorcie pracowników jednego z zakładów objętych opisanymi badaniami *Levine* i in. przeprowadzili *Stayner* i in. (1992). Obserwacji poddano 4989 pracowników zatrudnionych przez co najmniej 5 miesięcy w okresie od 1949 do 1980 r. i narażonych na DNT przez okres nie krótszy niż 1 dzień. Umieralność w badanej grupie była na poziomie oczekiwanej (747 zgonów, SMR = 1), a umieralność z powodu chorób układu krążenia (w tym ChNS) była poniżej oczekiwanej (253 zgony, SMR = 0,98). Autorzy pracy sugerowali, że różnice między tymi dwoma badaniami mogą wynikać z różnic w wielkości narażenia oraz czasu obserwacji wybranej kohorty.

*Bruning* i in. (1999) prowadzili przez wiele lat (większość ponad 20 lat) badania 183 górników narażonych na techniczny DNT zawarty w materiałach wybuchowych. Większość górników (90%) deklarowała narażenie na dym pochodzący z wybuchów, z czego 60% z nich było na ten dym narażonych codziennie – 60% badanych miało bezpośredni dermalny kontakt z materiałami wybuchowymi zawierającymi DNT przez co najmniej 5 h dziennie. Pozostali górnicy mieli kontakt z tymi materiałami przez około 1 ÷ 2 h dziennie. U 25% osób badanej grupy stwierdzono: objawy uszkodzenia wątroby (wzrost aktywności enzymów wątrobowych w surowicy – AlAT, AspAT i  $\gamma$ -GTP), niedokrwistość lub problemy z oddychaniem.

W kolejnych badaniach części obserwowanej wcześniej kohorty *Bruning* i in. (2001) poddali analizie próbki moczu 161 górników. U 89 z nich stwierdzono zwiększone wydalanie z moczem markerów nefrotoksyczności ( $\alpha$ 1-mikroglobuliny,  $\alpha$ -GST i  $\pi$ -GST). Dla wskaźników uszkodzenia proksymalnych części kanalików nerkowych stwierdzono ponadto zależność skutku od wielkości narażenia na DNT.

Przeprowadzono także badania lekarskie 52 mężczyzn narażonych na techniczny DNT w zakładach produkujących TDA. Średnie stężenie DNT w powietrzu wynosiło 0,207 mg/m<sup>3</sup>. U badanych pracowników nie stwierdzono zmian w enzymach wskaźnikowych uszkodzenia wątroby ani we wskaźnikach uszkodzenia nerek (azot mocznika, kreatynina) we krwi (*Ahrenholtz, Meyer* 1982).

## DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

### Toksyczność ostra

Wartości dawek letalnych mieszaniny izomerów dinitrotoluenu (techniczny DNT) dla zwierząt doświadczalnych zestawiono w tabeli 1. Nie ma danych o wartościach LC<sub>50</sub> dla zwierząt doświadczalnych, a także brak jest informacji o wielkości dawki letalnej po narażeniu przez skórę.

W tabeli 2. zestawiono wartości LD<sub>50</sub> (lub ich zakres) dla poszczególnych izomerów DNT po podaniu związku drogą dożołądkową (HSDB 2005; IARC 1996; ATSDR 1998; Sax's... 2000).

**Tabela 1.**

**Wartości medialnych dawek letalnych technicznego dinitrotoluenu (mieszaniny izomerów) dla zwierząt doświadczalnych**

Gatunek zwierząt	Droga podania	Wartość LD <sub>50</sub> , mg/kg	Uwagi	Piśmiennictwo
Szczur	p.o.	268	obserwacja 48 h	IUCLID 2000
		660	obserwacja 14 dni	IUCLID 2000
		1000	–	IUCLID 2000
Mysz	p.o.	750	–	RTECS 2005
		1100	–	IUCLID 2000
		1250	–	IUCLID 2000
Świnka morska	p.o.	1300	–	RTECS 2005; IUCLID 2000

**Tabela 2.**

**Wartości medialnych dawek letalnych dla poszczególnych izomerów dinitrotoluenu, w mg/kg**

Gatunek zwierząt	2,3-DNT	2,4-DNT	2,5-DNT	2,6-DNT	3,4-DNT	3,5-DNT
Szczur	911	270 ÷ 650	268 ÷ 707	130 ÷ 795	807	216
Mysz	1072	790 ÷ 2240	652 ÷ 1231	621 ÷ 1700	747	607
Świnka morska		1300	1300			

DNT (80% 2,4- i 20% 2,6-DNT) naniesiony w ilości 500 mg na skórę ucha królika na 24 h, a następnie zmyty, nie powodował podrażnienia skóry w okresie do 7 dni obserwacji. Nie obserwowano także podrażnienia oka królika po wprowadzeniu DNT w ilości 50 mg i 7-dniowej obserwacji (IUCLID 2000).

### **Toksyczność podprzewlekła i przewlekła**

W Chemical Industry Institute of Toxicology (CIIT) przeprowadzono podostre, skrinin-gowe badania działania toksycznego dinitrotoluenu (DNT) podawanego szczurom szczepu Fischer 344 (po 10 zwierząt/płeć/grupę) w paszy przez 4 tygodnie. Mieszanina izomerów zawierała: 76,4% 2,4-DNT; 18,8% 2,6-DNT; 2,4% 3,4-DNT; 1,5% 2,3-DNT; 0,7% 2,5-DNT i poniżej 0,1% 3,5-DNT. Obliczone dawki (na podstawie spożycia paszy) wynosiły: 37,5; 75 lub 150 mg/kg/dzień. Na zakończenie doświadczenia wykonano badania hematologiczne, a narządy wewnętrzne poddano oględzinom makroskopowym. Nie stwierdzono, oprócz spadku masy ciała po dwóch większych dawkach DNT, widocznych objawów działania toksycznego związku. Wykazano natomiast we krwi istotny wzrost poziomu methemoglobiny i retikulocytów oraz obecność ciałek Heinza w krwinkach czerwonych. Zmiany patologiczne w narządach wewnętrznych u wszystkich samców obejmowały odbarwienie i nieregularności powierzchni wątroby, a po największej dawce zmiany pojawiały się także w śledzionie (u obu płci) oraz w nerkach (odbarwienie nerek tylko u samców). Obserwowane w tym doświadczeniu skutki zebrano w tabeli 3.

**Tabela 3.**

**Skutki toksyczne podostrego narażenia szczurów na podawany w paszy techniczny dinitrotoluen (mieszaninę izomerów), (CIIT 1977, cyt. za ATSDR 1998 i IUCLID 2000)**

Czas narażenia	Dawka DNT, mg/kg/dzień	Płeć	Objawy działania toksycznego
4 tygodnie	37,5	samce	retikulocytoza i obecność ciałek Heinza odbarwienie i/lub nieregularności powierzchni wątroby
		samice	methemoglobinemia, retikulocytoza i obecność ciałek Heinza

cd. tab. 3.

Czas narażenia	Dawka DNT, mg/kg/dzień	Płeć	Objawy działania toksycznego
4 tygodnie	75	samce	zmniejszenie masy ciała i ilości spożywanego pokarmu anemia, retikulocytoza i obecność ciałek Heinza odbarwienie i/lub nieregularności powierzchni wątroby
		samice	zmniejszenie masy ciała i ilości spożywanego pokarmu anemia, retikulocytoza i obecność ciałek Heinza
	150	samce	zmniejszenie masy ciała i ilości spożywanego pokarmu methemoglobinemia, retikulocytoza i obecność ciałek Heinza odbarwienie i/lub nieregularności powierzchni wątroby odbarwienie, powiększenie i zmiany powierzchni śledziony odbarwienie nerek
		samice	zmniejszenie masy ciała i zmniejszenie ilości spożywanego pokarmu methemoglobinemia, retikulocytoza i obecność ciałek Heinza odbarwienie, powiększenie i zmiany powierzchni śledziony

W Chemical Industry Institute of Toxicology (CIIT) przeprowadzono także 2-letnie badania nad działaniem toksycznym i rakotwórczym technicznego DNT podawanego w paszy szczurom szczepu Fischer 344 obu płci (130 zwierząt/dawkę/płeć). Mieszanina izomerów zawierała: 76,4% 2,4-DNT; 18,8% 2,6-DNT; 2,4% 3,4-DNT; 1,5% 2,3-DNT; 0,7% 2,5-DNT i poniżej 0,1% 3,5-DNT. Obliczone dawki wynosiły: 35; 14 lub 3,5 mg/kg/dzień. Po 26, 52 i 78 tygodniach część zwierząt zabijano i wykonywano badania biochemiczne, a tkanki poddawano ocenie histopatologicznej. Zwierzęta otrzymujące największą dawkę technicznego DNT zabito już po 55 tygodniach narażenia, ze względu na dużą liczbę padłych zwierząt i dużą liczbę nowotworów obserwowanych w tej grupie po 52 tygodniach. U wszystkich zwierząt stwierdzano ogólne objawy zatrucia (chudnięcie, pałakowate wygięcie tułowia i wydęty brzuch), a zmniejszenie masy ciała było istotne i zależne od wielkości dawki we wszystkich grupach. Na podstawie wyników badań hematologicznych wykazano wzrost wielkości stężenia methemoglobiny (już po 26 tygodniach u samców po największej dawce), spadek liczby erytrocytów, zmniejszenie stężenia hemoglobiny, wzrost liczby retikulocytów i leukocytów, wzrost średniej objętości krwinek oraz zmiany morfologiczne w erytrocytach. Aktywność AIAT i fosfatazy alkalicznej (ALP) oraz zawartość azotu mocznikowego (BUN) w surowicy była istotnie większa w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej, zwłaszcza u samców otrzymujących dwie największe dawki, a aktywność ALP u samic po największej dawce dinitrotoluenu była natomiast zmniejszona. Zmiany histopatologiczne narządów wewnętrznych były bardziej nasilone u samców niż u samic. W tabeli 4. zebrano skutki narażenia obserwowane w tym badaniu, a szczegółowy opis wyników działania rakotwórczego DNT przedstawiono w rozdziale: Działanie rakotwórcze.



**Tabela 4.**

**Skutki toksyczne przewlekłego narażenia szczurów na podawany w paszy dinitrotoluen (mieszaninę izomerów), (CIIT 1982, cyt. za ATSDR 1998; IUCLID 2000; HSDB 2005; Rickert i in. 1984; Tchounwou i in. 2003)**

Płeć	Czas narażenia	Dawka DNT, mg/kg/dzień	Obserwowane skutki toksyczne
Samce	do 104 tygodni	3,5	zmniejszenie masy ciała, pałkowate wygięcie tułowia odbarwienie i wzrost względnej masy wątroby oraz raki wątroby włókniaki tkanki podskórnej
Samice			zmniejszenie masy ciała, pałkowate wygięcie tułowia odbarwienie i wzrost względnej masy wątroby oraz wzrost masy nerek niedokrwistość, retikulocytoza włókniakogruczolak sutka, włókniaki tkanki podskórnej
Samce		14	zmniejszenie przeżywalności, zmniejszenie masy ciała, pałkowate wygięcie tułowia wzrost względnej masy mózgu, płuc, serca, wątroby, nerek i jąder niedokrwistość, retikulocytoza i leukocytoza wzrost aktywności AIAT, ALP i azot mocznika w surowicy martwica hepatocytów, ogniska rozrostu mięszu i raki wątrobowokomórkowe, rozrost dróg żółciowych i marskość żółciowa, raki dróg żółciowych degeneracja jąder i zmniejszenie spermatogenezy śródmiąższowe zapalenie nerek włókniaki i włókniakomięsaki tkanki podskórnej
Samice	do 104 tygodni	14	zmniejszenie przeżywalności, zmniejszenie masy ciała, pałkowate wygięcie tułowia wzrost względnej masy mózgu, płuc, serca, wątroby, nerek i jajników anemia, retikulocytoza i leukocytoza wzrost aktywności AIAT, ALP i azot mocznika w surowicy martwica hepatocytów, ogniska rozrostu mięszu i raki wątrobowokomórkowe, rozrost dróg żółciowych i marskość żółciowa śródmiąższowe zapalenie nerek włókniaki i włókniakomięsaki tkanki podskórnej, gruczolakowłókniaki sutka

cd. tab. 4.

Płeć	Czas narażenia	Dawka DNT, mg/kg/dzień	Obserwowane skutki toksyczne
Samce	do 55 tygodni	35	zmniejszenie przeżywalności, zmniejszenie masy ciała, pałkowate wygięcie tułowia zwiększenie względnej masy mózgu, płuc, serca, wątroby i nerek, zmniejszenie masy jąder niedokrwistość, retikulocytoza, MetHb, hemocyderoza i hematopoeza w obrębie śledziony kardiomiopatia (w 26 tyg.) zwiększenie aktywności AIAT, ALP i azot mocznika w surowicy martwica hepatocytów, ogniska rozrostu mięszu i raki wątrobowokomórkowe, rozrost dróg żółciowych i marskość żółciowa, raki dróg żółciowych degeneracja jąder i zahamowanie spermatogenezy śródmiaższowe zapalenie nerek
Samice			zmniejszenie przeżywalności, zmniejszenie masy ciała, pałkowate wygięcie tułowia wzrost względnej masy mózgu, płuc, serca, wątroby, nerek i jajników niedokrwistość, retikulocytoza, zwiększenie objętości krwinek (MCV) wzrost aktywności AIAT i azot mocznika w surowicy; zmniejszenie ALP martwica hepatocytów, ogniska rozrostu mięszu i raki wątrobowokomórkowe, rozrost dróg żółciowych i marskość żółciowa śródmiaższowe zapalenie nerek

Z opisu powyższych doświadczeń wynika, że techniczny DNT u zwierząt wykazywał głównie działanie hematotoksyczne, hepatotoksyczne i neurotoksyczne, a także działał toksycznie na układ rozrodczy.

W celu porównania występowania tych skutków u zwierząt doświadczalnych po podaniu izomerów 2,4- i 2,6-DNT (głównych składników technicznego DNT) przedstawiono je w tabelach 5. i 6.

**Tabela 5.**

**Obserwowane efekty toksyczne po podaniu w paszy 2,4-dinitrotoluenu (Palaszewska i in. 2004)**

Gatunek zwierząt	Czas narażenia	Dawka, mg/kg/d	Płeć	Skutki hematologiczne	Skutki hepatotoksyczne	Skutki nefrotoksyczne	Piśmiennictwo
Szczury	13 tyg.	34	samce	–	–	–	<i>Lee i in. 1985<sup>a</sup></i>
		38	samice	–	–	–	
		93	samce	retikulocytoza, hemosyderoza śledziony	–	zwiększenie masy nerek	
		108	samice	retikulocytoza, hemosyderoza śledziony	–	zwiększenie masy nerek	
		266	samce	łagodna anemia	–	–	
		145	samice	anemia, retikulocytoza, hemosyderoza śledziony	–	–	
	do 2 lat	0,57	samce	–	ogniska rozrostu mięszu wątroby	–	<i>Lee i in. 1985</i>
		0,71	samice	–	ogniska rozrostu mięszu wątroby	–	
		3,92	samce	zmniejszenie RBC	ogniska rozrostu mięszu watouby i raki	–	
		5,14	samice	–	ogniska rozrostu mięszu watouby i raki	–	
34,5		samce	anemia (po roku)	ogniska rozrostu mięszu watouby i raki	–		
45,3		samice	anemia (po roku)	guzki nowotworowe i raki	–		
Myszy	13 tyg.	47	samce	–	–	–	<i>Hong i in. 1985<sup>b</sup></i>
		47	samice	–	–	–	

cd. tab. 5.

Gatunek zwierząt	Czas narażenia	Dawka, mg/kg/d	Płeć	Skutki hematologiczne	Skutki hepatotoksyczne	Skutki nefrotoksyczne	Piśmiennictwo		
Myszy	do 2 lat	137	samce	–	lekka dysplazja hepatocytów	–	<i>Hong i in. 1985</i>		
		137	samice	–	–	–			
		413	samce	łagodna anemia	dysplazja hepatocytów	–			
				468	samice	łagodna anemia	dysplazja hepatocytów	–	<i>Hong i in. 1985</i>
				14	samce	–	–	nowotwory	
					samice	–	–	–	
				95	samce	MetHb, ciała Heinza	dysplazja hepatocytów	nowotwory	
		900	samice	–	–	–	nowotwory		
			samice	MetHb, ciała Heinza	wyraźna dysplazja hepatocytów	–			
Psy	13 tyg.	1		–	–	–	<i>Lee i in. 1978<sup>a</sup></i>		
		5		–	–	–			
		25		MetHb, anemia, ciała Heinza, hemosyderoza śledziony i wątroby	–	–		obrzęk nerek	
	do 2 lat	0,2		–	–	–	–	<i>Ellis i in. 1985<sup>a</sup></i>	
		1,5		MetHb, ciała Heinza, retikuloocytoza	rozrost dróg żółciowych	–	–		
		10		MetHb, ciała Heinza, retikuloocytoza	rozrost dróg żółciowych	–	–		
		25		MetHb, ciała Heinza	rozrost dróg żółciowych	–	–		

<sup>a</sup> Lee i in. 1985 – czystość 98,5% 2,4- i 1,5% 2,6-DNT; <sup>b</sup> Hong i in. 1985 – czystość 98,5% 2,4- i 1,5% 2,6-DNT; <sup>c</sup> Lee i in. 1978 – czystość 98% 2,4-DNT; <sup>d</sup> Ellis i in. 1985 – czystość 98% 2,4-DNT.

Z przedstawionych danych wynika, że izomer 2,4-DNT wykazuje działanie toksyczne na krew i układ krwiotwórczy, działa też hepatotoksycznie i powoduje nowotwory nerek (tylko u myszy samców). Na podstawie wyników badań stwierdzono także działanie toksyczne związku na układ rozrodczy (*Hong* i in. 1985; *Lee* i in. 1978; 1985) oraz u psów działanie neurotoksyczne łącznie ze zmianami patologicznymi w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), (*Lee* i in. 1978; *Ellis* i in. 1985). Obserwowano także występowanie nowotworów wątroby u szczurów w badaniach przewlekłych, jednakże podawany związek zawierał oprócz 2,4-DNT do 2% izomeru 2,6-DNT.

**Tabela 6.**

**Obserwowane skutki u zwierząt doświadczalnych po podaniu im w paszy izomeru 2,6-dinitrotoluenu (*Tchounwou* i in. 2003)**

Gatunek zwierząt	Czas narażenia	Dawka, mg/kg/d	Płeć	Skutki hematologiczne	Skutki hepatotoksyczne	Skutki nefrotoksyczne	Piśmiennictwo
Szczury	13 tyg.	7	samce	–	–	–	<i>Lee</i> i in. 1976 <sup>a</sup>
		11	samice	–	–	–	
		35	samce	anemia, Met-Hb, ciała He-inza	rozrost przewodów żółciowych	–	
		55	samice	anemia, Met-Hb, ciała He-inza	rozrost przewodów żółciowych	–	
		145	samce	anemia, Met-Hb, ciała He-inza	rozrost przewodów żółciowych	–	
		299	samice	anemia, Met-Hb, ciała He-inza	rozrost przewodów żółciowych	–	
	rok	7	samce		degeneracja hepatocytów, guzki nowotworowe, raki wątrobowo-komórkowe, raki dróg żółciowych	–	<i>Leonard</i> i in. 1987 <sup>b</sup>
	14	samce		degeneracja hepatocytów, guzki nowotworowe, raki wątrobowokomórkowe	–		
Myszy	13 tyg.	11	samce	–	–	–	<i>Lee</i> i in. 1976
		11	samice	–	–	–	
		51	samce	skutki u pojedynczych zwierząt	dysplazja dróg żółciowych	–	
		55	samice	skutki u pojedynczych zwierząt	dysplazja dróg żółciowych	–	

cd. tab. 6.

Gatunek zwierząt	Czas narażenia	Dawka, mg/kg/d	Płeć	Skutki hematologiczne	Skutki hepatotoksyczne	Skutki nefrotoksyczne	Piśmiennictwo
Psy	13 tyg.	289	samce	wyraźne skutki	–	–	<i>Lee i in. 1976</i>
		289	samice	wyraźne skutki		–	
		4		erytropoeza pozaszpikowa anemia, Met- Hb, ciała He- inza		–	
		20		anemia, Met- Hb, ciała He- inza		–	
		100		degeneracja wątroby i rozrost dróg żółciowych	degeneracja wątroby i rozrost dróg żółciowych	–	

<sup>a</sup> *Lee i in. 1976* – nie podana czystość; <sup>b</sup> *Leonard i in. 1987* – oczyszczony 2,6-DNT (dokładna czystość nie podana).

Izomer 2,6-DNT wywoływał u zwierząt, z wyjątkiem działania nefrotoksycznego, podobne działanie toksyczne jak izomer 2,4-DNT, łącznie z upośledzeniem spermatogenezy i objawami działania neurotoksycznego (*Lee i in. 1976*).

## **DZIAŁANIE RAKOTWÓRCZE, MUTAGENNE, EMBRIOTOKSYCZNE, TERATOGENNE, WPLYW NA ROZRODCZOŚĆ**

### **Działanie rakotwórcze**

#### ***Działanie rakotwórcze na ludzi***

W piśmiennictwie znajduje się kilka opracowań dotyczących wyników badań epidemiologicznych nad rakotwórczym działaniem technicznego dinitrotoluenu (DNT) na ludzi.

*Levine i in. (1986)* przeprowadzili badania 2 kohort mężczyzn (457 osób łącznie) narażonych na DNT w latach 1940-1950 (szczegółowy opis w rozdziale: Badania epidemiologiczne). W badaniach tych stwierdzono zwiększenie umieralności ogólnej w porównaniu do populacji generalnej (164 zgony, SMR = 1,29), nie stwierdzono natomiast zwiększenia umieralności z powodu nowotworów złośliwych (22 zgony, SMR = 0,87).

*Stayner i in. (1993)* opublikowali wyniki obserwacji pracowników zatrudnionych w jednym z wcześniej omówionych zakładów. Obserwacji poddano grupę 4989 mężczyzn, zatrudnionych przez co najmniej 5 miesięcy w latach 1949-1980 i narażonych przez przynajmniej 1 dzień na mieszaninę DNT (98% 2,4-DNT i 2% 2,6-DNT). Przeżywalność członków kohorty śledzono do 1982 r. Wartości SMR szacowano na podstawie porównania umieralności w kohorcie narażonych, umieralności w populacji generalnej USA (zewnętrzna populacja referencyjna) oraz umieralności w wewnętrznej grupie referencyjnej, którą stanowiła grupa 7436 osób nienarażonych na DNT i pracujących w tym samym zakładzie. Na podstawie wyników badań stwierdzono, że ogólna śmiertelność zarówno w kohorcie badanej (747 zgonów, SMR = 1,02), jak i w wewnętrznej grupie referencyjnej (1602 zgony, SMR = 1,04) była równa oczekiwanej. Śmiertelność spowodowana nowotworami złośliwymi była natomiast mniejsza od oczekiwanej zarówno u osób narażonych na DNT (128 przypadków, SMR = 0,84), jak i w grupie osób nienarażonych (249 przypadków, SMR = 0,78). Stwierdzono jednak

wzrost częstości występowania raka dróg żółciowych, wątroby i pęcherzyka żółciowego u osób narażonych na DNT (6 przypadków) – standaryzowany wskaźnik zgonów SMR = 2,67,  $p \leq 0,052$  (zewnątrzna populacja referencyjna), standaryzowane ryzyko względne SRR = 3,88,  $p \leq 0,04$  (wewnętrzna populacja referencyjna). W badaniu tym nie wykazano jednak zależności między częstością zgonów z powodu raka wątroby i/lub dróg żółciowych a wielkością narażenia na DNT.

*Bruning* i in. (1999) przeprowadzili badania na grupie 500 górników zatrudnionych w kopalni miedzi na terenie NRD, którzy byli narażeni (inhalacyjnie oraz dermalnie) na techniczny DNT wchodzący w skład materiałów wybuchowych. W badanej kohorcie w latach 1984-1997 stwierdzono:

- 6 przypadków raka dróg moczowych, w tym: 5 raków z komórek nabłonka przejściowego pęcherza i 1 rak z komórek nabłonka przejściowego miedniczki nerkowej

- 14 przypadków nowotworów nerki, w tym: 12 raków jasnokomórkowych nerki i 2 gruczolakoraki barwnikochłonne.

Czas narażenia robotników, u których stwierdzono wymienione wcześniej nowotwory, wynosił  $7 \div 37$  lat, a okres latencji –  $21 \div 46$  lat. Częstość występowania nowotworów dróg moczowych i nerek była dużo większa niż spodziewana na podstawie ogólnej zachorowalności na te nowotwory w NRD – odpowiednio 4,5 i 14,3 razy. Badanych górników podzielono wg wielkości narażenia na DNT na cztery grupy. Nie stwierdzono jednak związku między wielkością narażenia a występowaniem nowotworów nerki, natomiast stwierdzono, że nowotwory dróg moczowych wystąpiły w grupie dużego narażenia na DNT. Autorzy tego badania sugerowali uznanie nabłonka wyściełającego drogi moczowe za tkankę docelową w procesie kancerogenezy przy narażeniu na DNT. Kontynuacja badań *Bruning* i in. (2001), przedstawionych w rozdziale: Badania epidemiologiczne, potwierdziła nefrotoksyczne działanie technicznego DNT na ludzi, co może wiązać się z późniejszym działaniem rakotwórczym związku.

### ***Działanie rakotwórcze na zwierzęta***

W Chemical Industry Institute of Toxicology (CIIT) przeprowadzono 2-letnie badania nad działaniem rakotwórczym technicznego dinitrotoluenu (DNT) podawanego w paszy szczurom Fischer 344 obu płci. Mieszanina izomerów zawierała: 76,4% 2,4-DNT, 18,8% 2,6-DNT, 2,4% 3,4-DNT, 1,5% 2,3-DNT, 0,7% 2,5-DNT i poniżej 0,1% 3,5-DNT. Obliczone dawki wynosiły: 35; 14 lub 3,5 mg/kg/dzień. Zwierzęta otrzymujące największą dawkę technicznego DNT zabito już po 55 tygodniach narażenia, ze względu na dużą liczbę padłych zwierząt w tej grupie. Na podstawie otrzymanych wyników wykazano, że techniczny DNT wywołuje raka wątroby u narażonych zwierząt (pierwsze 2 przypadki raka wątrobowokomórkowego stwierdzono już po 26 tygodniach narażenia u samców otrzymujących największą dawkę DNT). DNT wywoływał, oprócz raka wątroby, także raka dróg żółciowych, lecz tylko u samców. Wyniki otrzymane w tym badaniu przedstawiono w tabeli 7. (*Rickert* i in. 1984).

Tabela 7.

Wyniki badania działania rakotwórczego na wątrobę technicznego dinitrotolenu podawanego w paszy szczurom Fischer 344 (Rickert i in. 1984)

Dawka DNT, mg/kg/d	Czas narażenia	Częstość występowania nowotworów					
		rak wątrobowokomórkowy		ogniska rozrostu mięszu wątroby		rak z komórek przewodów żółciowych	
		samce	Samice	samce	samice	samce	samice
35	26 tyg.	2/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	52 tyg.	10/10	4/10	3/10	8/10	2/10	0/10
	55 tyg.	20/20	11/20	5/20	12/20	3/20	0/20
14	26 tyg.	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	52 tyg.	3/10	0/10	4/10	0/10	0/10	0/10
	78 tyg.	19/20	10/20	11/20	0/20	4/20	0/20
	104 tyg.	22/23	41/68	16/23	53/68	2/23	0/68
3,5	26 tyg.	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	52 tyg.	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	78 tyg.	0/20	0/20	1/20	2/20	0/20	0/20
	104 tyg.	9/70	0/61	11/70	12/61	0/70	0/61
0	104 tyg.	1/61	0/57	9/61	5/57	0/61	0/57

W doświadczeniu tym po 104 tygodniach stwierdzono także:

- po dawce 14 mg/kg/dzień wzrost częstości, w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej, występowania włókniaków i włókniakomięsaków (fibrosarcoma) tkanki podskórnej u obu płci oraz u samic gruczolakowłókniaków sutka
- po dawce 3,5 mg/kg/dzień wystąpienie u samców włókniaków tkanki podskórnej (Tchounwou i in. 2003).

W badaniach przeprowadzonych przez National Cancer Institute (NCI) szczurom szczepu Fischer 344 (po 50 na płęć/dawkę) i myszom B6C3F1 (50/płęć/dawkę) podawano 2,4-DNT o czystości 96% (obecności innych izomerów DNT nie podano). Zwierzętom podawano DNT w paszy przez 78 tygodni, a następnie karmiono zwierzęta z grupy kontrolnej paszą przez 26 tygodni (szczury) lub 13 tygodni (myszy). Stężenia DNT w paszy szczurów wynosiły 80 mg/kg paszy lub 200 mg/kg paszy (co odpowiadało dawkom 5,7 mg/kg/dzień lub 14 mg/kg/dzień), a dla myszy odpowiednio 80 mg/kg paszy lub 400 mg/kg paszy. W badaniu tym u myszy nie zaobserwowano istotnego statystycznie wzrostu częstości występowania nowotworów w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej. U szczurów natomiast stwierdzono:

- u samców zależny od wielkości dawki wzrost częstości występowania włókniaków skóry i tkanek podskórnych (7/49 po dawce mniejszej i 13/49 po dawce większej) w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej
- u samic po dużej dawce wzrost częstości występowania gruczolakowłókniaków sutka (23/50).

Na podstawie wyników badań NCI nie stwierdzono ani u samic, ani u samców wzrostu częstości przypadków nowotworów wątroby (NCI 1978).

W badaniach przeprowadzonych przez Midwest Research Institute (publikowanych przez: Ellis i in. 1979; Hong i in. 1985 i Lee i in. 1985) szczurom szczepu Charles



River CD (po 38 na płęć i dawkę) podawano w paszy przez okres do 2 lat DNT o składzie 98,5% 2,4-DNT lub 1,5% 2,6-DNT. Stosowano stężenia DNT wynoszące: 0 (grupa kontrolna); 15; 100 lub 700 mg/kg paszy, co odpowiadało dawkom: 0; 0,71; 5,14 lub 45,3 mg/kg/dzień dla samic oraz 0; 0,57; 3,92 lub 34,5 mg/kg/dzień dla samców. Po 12 miesiącach po 8 zwierząt z każdej grupy poddano autopsji i stwierdzono ogniska rozrostu mięszu wątroby u 1/8 samców po dawce najmniejszej i 6/7 po dawce największej oraz 7/8 (w tym 1 rak wątrobowokomórkowy) u samic otrzymujących również największą dawkę. W pozostałych grupach nie stwierdzono żadnego przypadku nowotworu. Występowanie nowotworów u zwierząt, które żyły dłużej niż 12 miesięcy, przedstawiono w tabeli 8. (za IARC 1996).

**Tabela 8.**

**Występowanie nowotworów u szczurów otrzymujących dinitrotoluen o składzie 98,5% 2,4-DNT i 1,5% 2,6-DNT**

Nowotwory u samców	Dawka 34,5 mg/kg/dzień	Dawka 3,92 mg/kg/dzień	Dawka 0,57 mg/kg/dzień	Grupa kontrolna
Rak wątrobowokomórkowy	6/27	1/19	0/27	1/25
Ogniska rozrostu mięszu wątroby	2/27	1/19	2/27	1/25
Nowotwory skóry (głównie włókniki)	15/27	3/19	4/27	2/25
Nowotwory u samic	45,3	5,14	0,71	0
Rak wątrobowokomórkowy	10/25	1/26	0/28	0/23
Ogniska rozrostu mięszu wątroby	5/25	2/26	2/28	0/23
Nowotwory sutka (głównie gruczolako- włókniki)	21/25	16/26	1/28	11/23

Ta sama grupa badaczy przeprowadziła również doświadczenie na myszach rasy Swiss CD-1 otrzymujących w paszy DNT (98,5% 2,4-DNT i 1,5% 2,6-DNT) przez okres do 2 lat. Stężenie DNT w paszy wynosiło: 0 (grupa kontrolna); 100; 700 lub 5000 mg/kg paszy, co odpowiadało dawkom: 0; 14; 95 lub około 900 mg/kg/dzień. Po 12 miesiącach poddano autopsji po 8 zwierząt z każdej grupy. Przeżywalność zwierząt otrzymujących największą dawkę zmniejszyła się po 8 miesiącach i wynosiła średnio 9 miesięcy dla samców i 10 miesięcy dla samic. U badanych zwierząt stwierdzono występowanie nowotworów nerki. Częstość występowania nowotworów u samców wynosiła odpowiednio: 10/29 (oraz 2/8 po 12 miesiącach) po największej dawce, 16/19 po dawce średniej, 6/22 po najmniejszej dawce i w grupie kontrolnej 0/24. Tylko u 1 samicy (na 23 narażone) po największej dawce wystąpił nowotwór nerki. Wśród stwierdzonych nowotworów były: gruczolaki torbielowate, gruczolaki torbielowate brodawkujące, raki torbielowate brodawkujące i raki lite zbudowane z nabłonka kanalików nerkowych (Hong i in. 1985).

Przeprowadzono także krótsze (roczne) badanie mające na celu wyjaśnienie, który z izomerów obecnych w technicznej mieszaninie jest odpowiedzialny za powsta-

wanie nowotworów wątroby (Leonard i in. 1987). Szczurom samcom szczepu Fischer 344 (po 28 w grupie) podawano w paszy przez 52 tygodnie odpowiednio: techniczny DNT (76,5% 2,4-DNT; 18,8% 2,6-DNT i 4,7% pozostałych izomerów) w dawce 35 mg/kg/dzień, oczyszczony 2,6-DNT w dawkach 7 lub 14 mg/kg/dzień oraz oczyszczony 2,4-DNT w dawce 27 mg/kg/dzień. W badaniu tym stwierdzono dla technicznego DNT 10/19 ognisk rozrostu mięszu wątroby, 9/19 raków wątrobowokomórkowych i 2/19 raki dróg żółciowych. Oprócz tego u większości zwierząt wystąpiła degeneracja i wakuolizacja hepatocytów oraz ogniska komórek kwaso- i zasadochłonnych u ponad 90% zwierząt. Po podaniu mniejszej dawki izomeru 2,6-DNT stwierdzono: 18/20 ognisk rozrostu mięszu wątroby, 17/20 raków wątrobowokomórkowych, 1/20 gruczolakorak, 2/20 raki dróg żółciowych i 3/20 przerzuty do płuc. Po dawce większej izomeru 2,6-DNT zaobserwowano: 15/19 ognisk rozrostu mięszu, 19/19 raków wątrobowokomórkowych oraz 11/19 przerzutów do płuc. Obserwowane zmiany w hepatocytach były takie same jak po technicznym DNT. Po podaniu izomeru 2,4-DNT tylko u jednego szczura stwierdzono guzek nowotworowy wątroby. Zmiany w hepatocytach były podobne jak po poprzednich izomerach. Jakkolwiek IARC uważa te badania za ograniczone ze względu na małą liczebność grup, krótki czas i badania histopatologiczne tylko wątroby i płuc, to jednak na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że za działanie rakotwórcze technicznego DNT może być odpowiedzialny izomer 2,6-DNT.

W IARC nie zaproponowano klasyfikacji mieszaniny izomerów dinitrotoluenu, natomiast dwa izomery 2,4-DNT i 2,6-DNT zaliczono do grupy 2B, czyli związków o możliwym działaniu rakotwórczym dla człowieka, a izomer 3,5-DNT do grupy 3., czyli związków nieklasyfikowanych jako rakotwórcze dla ludzi (IARC 1996).

W ACGIH mieszaninę izomerów DNT zaliczono do grupy A3, czyli związków o potwierdzonym działaniu rakotwórczym dla zwierząt i nieznanym znaczeniu dla człowieka (ACGIH 2005a). US EPA zaklasyfikowała mieszaninę 2,4- i 2,6-DNT do grupy B2 jako prawdopodobny kancerogen dla człowieka (IRIS 2003).

W Polsce wszystkie możliwe izomery DNT i techniczny DNT zostały sklasyfikowane jako substancje rakotwórcze kategorii 2., czyli związki rozpatrywane jako rakotwórcze dla człowieka (Rozporządzenie... 2004).

## Działanie mutagenne

Wyniki otrzymane z badań działania mutagennego w warunkach in vitro technicznego dinitrotoluenu (DNT) zebrano w tabeli 9.

**Tabela 9.**

**Wyniki badań mutagenności i genotoksyczności technicznego dinitrotoluenu (badania w warunkach in vitro)**

Rodzaj testu	Gatunek/szczep/typ	Stężenie	Aktywacja	Wynik	Piśmiennictwo
Ames (mutacje pierwotne)	<i>Salmonella typhimurium</i> TM677	do 500 µg/ płytkę	- +	+ +	<i>Couch</i> i in. 1981
Ames (mutacje powrotne)	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	do 1000 µg/ płytkę	- +	+ +	<i>Couch</i> i in. 1981 (za IUCLID 2000)

cd. tab. 9.

Rodzaj testu	Gatunek/szczep/typ	Stężenie	Aktywacja	Wynik	Piśmiennictwo
Nieplanowa synteza DNA	hepatocyty szczura	do 18 µg/ml	–	–	<i>Bermundez i in.</i> 1979
Mutacje genowe hprt locus	komórki jajnika chomika chińskiego	364 µg/ml	– +	–	<i>Abernethy, Couch</i> 1982
Mutacje genowe tk locus	komórki chłoniaka myszy	100 µg/ml	– +	–	<i>Styles, Cross</i> 1983
Transformacja nowotworowa	komórki zarodka chomika syryjskiego	do 10 µg/ml	nie podano	–	<i>Holen i in.</i> 1990
Zahamowanie komunikacji międzykomórkowej	komórki zarodka chomika syryjskiego, linia BPNi	100 µg/ml	nie podano	+	<i>Holen i in.</i> 1990
	komórki V79 płuc chomika chińskiego	182 µg/ml	–	–	<i>Dorman, Boreiko</i> 1983

W warunkach *in vitro* techniczny DNT wykazywał słabe działanie mutagenne w testach bakteryjnych, zarówno z aktywacją metaboliczną, jak i bez aktywacji metabolicznej, natomiast nie wykazywał aktywności mutagennej w badaniach na komórkach ssaków i nie powodował także nieplanowej syntezy DNA. Jedynie po narażeniu na związek o dużych stężeniach wystąpiło zahamowanie komunikacji wewnątrzkomórkowej w komórkach zarodka chomika syryjskiego.

W tabeli 10. przedstawiono wyniki badania przeprowadzonego w warunkach *in vivo* działania mutagennego i genotoksycznego technicznego DNT.

**Tabela 10.**

**Wyniki badań mutagenności i genotoksyczności technicznego dinitrotoluenu (badania *in vivo*)**

Rodzaj testu	Gatunek/szczep/płec	Dawka, mg/kg	Droga podania	Wynik	Piśmiennictwo
Nieplanowa synteza DNA	hepatocyty szczura, samca Fischer 344 (jałowego)	1 · 100	<i>per os</i>	–	<i>Mirsalis i in.</i> 1982
	hepatocyty szczura, samca Fischer 344 (CRASF)	1 · 100	<i>per os</i>	+	
	hepatocyty szczura, obu płci, Fischer 344	1 · 100 1 · 200	<i>per os</i>	+	<i>Mirsalis, Botterworth</i> 1982
	hepatocyty szczura, samca Alderly Park	1 · 100 1 · 200	<i>per os</i>	+	<i>Ashby i in.</i> 1985
	hepatocyty szczura, samca Fischer 344	1 · 25 ÷ 200	<i>per os</i>	+	
	hepatocyty szczura, samca Fischer 344	1 · 100	<i>per os</i>	+	<i>Hamilton, Mirsalis</i> 1987
	hepatocyty szczura, samca Fischer 344	1 · 35 1 · 125 1 · 250	<i>per os</i>	+	<i>Mirsalis i in.</i> 1989

cd. tab. 10.

Rodzaj testu	Gatunek/szczep/płeć	Dawka, mg/kg	Droga podania	Wynik	Piśmiennictwo
Test plamkowy	myszy, samice T	1 · 100	i.p.	–	<i>Soares, Lock</i> 1980
	myszy, samice C57BL/6J	1 · 100	i.p.	–	
Test mikrojądrowy	myszy, samce (CBA+ BalbC0F1)	1 · 200 1 · 400	i.p.	–	<i>Ashby</i> i in. 1985
Wymiana chromatyd siostrzanych	szczury, samce Fischer 344	1 · 100	<i>per os</i>	+	<i>Klingerman</i> i in. 1982
Test dominujących mutacji letalnych	Myszy, samce DBA/2J	2 · 250	<i>per os</i>	–	<i>Soares, Lock</i> 1980
		2 · 250	i.p.	–	

W badaniach wykonanych w warunkach *in vivo* techniczny DNT wywoływał nieplanową syntezę DNA w hepatocytach szczurów jedynie w obecności flory bakteryjnej. Powodował także wymianę chromatyd siostrzanych w limfocytach szczurów. Testy plamkowe, mikrojądrowe i dominujących mutacji letalnych u myszy dały wyniki negatywne.

Dwa podstawowe składniki technicznego DNT, czyli izomery 2,4- i 2,6-DNT, tworzyły addukty z DNA hepatocytów myszy i szczurów po dożołądkowym (*Rickert* i in. 1983; *George* i in. 1996; 1998) i dootrzewnowym (*La, Froines* 1992) podaniu tych izomerów. Ilości tworzonych adduktów z DNA były proporcjonalne do podanej dawki DNT, lecz 2,6-DNT wykazywał większe powinowactwo do DNA niż 2,4-DNT (*Rickert* i in. 1983).

W Polsce mieszaninę izomerów dinitrotoluenu zaklasyfikowano do substancji mutagennych kategorii 3., czyli substancji o możliwym działaniu mutagennym dla człowieka (Rozporządzenie ... DzU nr 201 z 2005, poz. 1674).

### Działanie embriotoksyczne i teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

Wyniki badań dotyczących wpływu dinitrotoluenu (DNT) na funkcje rozrodcze u ludzi są niejednoznaczne.

*Arenholtz* (1980) przeprowadził badania pracowników (9 osób narażonych na techniczny DNT, 12 wcześniej pracujących w narażeniu na DNT i 9 nienarażonych) i stwierdził zmniejszenie liczby plemników u mężczyzn narażonych na DNT w porównaniu z mężczyznami z grupy kontrolnej. Wyniki tych badań nie są jednak przekonujące ze względu na zbyt małą grupę badaną.

Bardziej szczegółowe badania przeprowadzone przez *Hamill* i in. (1982) na grupie 84 pracowników narażonych na techniczny DNT (i toluenodiaminę) oraz 119 pracowników nienarażonych nie wykazały różnic w liczbie plemników, ich morfologii oraz poziomie follikulostymuliny w obu grupach badanych. Nie stwierdzono także wzrostu częstości poronień u żon narażonych pracowników. Również w badaniach prowadzonych przez *Levine* i in. (1985b) w trzech różnych zakładach chemicznych na grupach odpowiednio: 91, 207 i 235 pracowników nie stwierdzono wpływu narażenia na DNT na ich funkcje rozrodcze. Podobnie w badaniach *Ahrenholza* i *Meyera* (1982) nie stwierdzono różnic między osobami z grupy kontrolnej a narażonymi na DNT (średnie stężenie 0,207 mg/m<sup>3</sup>) w ilości plemników i ich morfologii.

*Price* i in. (1985) badali wpływ technicznego DNT (76% 2,4-DNT) na skutki embriotoksyczne i teratogenne u szczurów szczepu Fischer 344. Ciężarnym samicom od 7. do 20. dnia ciąży podawano DNT dożołądkowo w dawkach: 0 (kontrola czysta); 14; 35; 37,5; 75; 100 lub 150 mg/kg. Kontrolę pozytywną stanowiły zwierzęta otrzymujące hydroksymocznik w dawce 200 mg/kg. Padnięcia matek w grupach badanych wynosiły odpowiednio: 0 (kontrola czysta i pozytywna); 4,5; 7,7; 0; 0; 4,3 i 46,2 w grupie otrzymującej największą dawkę. W grupie otrzymującej dawkę 100 mg/kg profil hematologiczny w 20. dniu ciąży wskazywał na toksyczne działanie DNT. Ponadto u matek otrzymujących większe dawki stwierdzono wzrost względnej masy wątroby i śledziony. Nie zaobserwowano natomiast istotnych zmian w przeżywalności płodów, liczby męskich płodów w miocie, średniej wadze urodzeniowej i wymiarach płodów. Nie stwierdzono także istotnego wzrostu płodów z wadami wrodzonymi. Jedynie w grupie otrzymującej największą dawkę (150 mg/kg) wystąpił wzrost śmiertelności płodów (49,6%), nie był on jednak istotny statystycznie w porównaniu z grupą kontrolną (16,8%).

W badaniach przewlekłych prowadzonych przez CIIT (opisanych wcześniej) u szczurów samców otrzymujących techniczny DNT (w dawkach 14 lub 35 mg/kg/dzień) obserwowano zahamowanie spermatogenezy i zanik nabłonka plemnikotwórczego. Podobne skutki stwierdzono także po podaniu izomerów 2,4-DNT.

*Bloch* i in. (1988) podawali szczurom (po 10 zwierząt w grupie) 2,4-DNT w paszy o stężeniach: 0; 0,1 lub 0,2% (wielkości dawek nie podano). U zwierząt otrzymujących większą dawkę stwierdzono znaczne zaburzenia spermatogenezy, zmiany w nabłonku plemnikotwórczym oraz wakuolizację wraz z powiększeniem mitochondriów i retikulum endoplazmatycznego komórek Steroliego. Stwierdzono także podwyższony poziom follikulostymuliny i hormonu luteinizującego, natomiast poziom nasienia w najądrzach był zmniejszony.

Szkodliwy wpływ izomerów DNT na komórki Steroliego wykazano także na podstawie wyników badań przeprowadzonych w warunkach *in vitro*. Wszystkie badane izomery (2,3-DNT, 2,4-DNT, 2,6-DNT i 3,4-DNT) były cytotoksyczne dla szczurzych komórek Steroliego (*Reader, Foster* 1990).

W Polsce DNT został sklasyfikowany jako substancja działająca szkodliwie na rozrodczość kategorii 3., o możliwym działaniu na funkcje rozrodcze człowieka (Rozporządzenie... 2005).

## **TOKSYKOKINETYKA**

### **Wchłanianie i rozmieszczenie**

Można stwierdzić, na podstawie wyników badań ludzi narażonych na techniczny dinitrotoluen (DNT) w przemyśle oraz badań na zwierzętach doświadczalnych, że związek ten wchłania się w znacznych ilościach w drogach oddechowych oraz z przewodu pokarmowego. Nie ma jednak w dostępnym piśmiennictwie ilościowych danych na temat wydajności wchłaniania tymi drogami.

Nie ma również ilościowych danych na temat wchłaniania DNT przez skórę. Monitoring biologiczny pracowników narażonych na DNT wykazał większe ilości metabolitów w moczu niż wynikałoby to ze stężeń DNT w środowisku pracy. Autorzy tych badań (*Woollen* i in. 1985; *Levine* i in. 1985a) uznali, że przyczyną tego jest istotne

wchłanianie DNT przez skórę. Ponadto, dla związku pokrewnego *p*-nitrotoluenu, istnieją dane klasyfikujące go jako związek potencjalnie toksyczny po narażeniu przez skórę (*Fiserova-Bergerova* 1990). Informacje te dają podstawy, aby techniczny DNT uznać za związek wchłaniający się w znaczących ilościach przez skórę.

## **Metabolizm i wydalanie**

### ***Metabolizm i wydalanie u ludzi***

Identyfikację metabolitów dinitrotoluenu w moczu ludzi narażonych zawodowo na techniczny dinitrotoluen (DNT) przeprowadzili *Turner* i in. (1985). Próby moczu od 17 ochotników zbierano przez trzy doby i następnie poddano ekstrakcji oraz analizie metodą GC-MS. Analiza jakościowa i ilościowa wykazała obecność w moczu następujących substancji: niezmieniony 2,4- i 2,6-DNT, kwas 2,4- i 2,6-dinitrobenzoesowy, glukuronid alkoholu 2,4- i 2,6-dinitrobenzylowego, kwas 2-amino-4-nitrobenzoesowy i kwas 2-(*N*-acetylo)amino-4-nitrobenzoesowy. Pod względem ilościowym głównymi metabolitami były kwas 2,4-dinitrobenzoesowy i kwas 2-amino-4-nitrobenzoesowy, które łącznie stanowiły 74 ÷ 86% wszystkich metabolitów (i niezmienionych DNT) zidentyfikowanych w moczu. Na podstawie wyników badań wykazano, że maksimum wydalania wszystkich zidentyfikowanych związków wystąpiło pod koniec zmiany roboczej. Wyliczone przez autorów dla całej puli metabolitów okresy połowicznego wydalania z moczem wynosiły od 1 do 2,7 h, natomiast wyliczone dla poszczególnych metabolitów 0,8 ÷ 4,5 h. Autorzy wykazali ponadto, że jakościowy tor przemiany DNT nie odbiega od toru przemiany tego związku u zwierząt doświadczalnych, natomiast wystąpiły znaczne różnice ilościowe.

W innych badaniach przeprowadzonych przez *Woollen* i in. (1985) badaniom poddano 28 pracowników (8 kobiet i 20 mężczyzn) narażonych na techniczny DNT. Stężenia DNT mierzone metodą dozymetrów indywidualnych wynosiły 0,03 ÷ 0,1 mg/m<sup>3</sup>, natomiast pomiar metodą stacjonarną wykazał średnie stężenie 0,4 mg/m<sup>3</sup> (0,02 ÷ 2,68 mg/m<sup>3</sup>). W moczu badanych pracowników oznaczano stężenia kwasu 2,4-dinitrobenzoesowego. W próbkach moczu pobranych przed rozpoczęciem pracy były one bardzo małe lub poniżej granicy wykrywalności, natomiast w próbkach pobranych pod koniec dnia pracy średnie stężenie tego metabolitu wynosiło 17 mg/l moczu. Wyliczony okres połowicznego zaniku (eliminacji) wyniósł 2 ÷ 5 h. W znacznie mniejszych ilościach stwierdzono w moczu także obecność kwasów: 2-amino-4-nitro-, 4-amino-2-nitro- i 2-amino-6-nitrobenzoesowych. Nie wykryto natomiast obecności alkoholu 2,4- i 2,6-dinitrobenzylowego zidentyfikowanego w moczu zwierząt doświadczalnych narażonych na DNT. Ponieważ poziom metabolitów w moczu przekraczał spodziewane stężenia przy oznaczanych poziomach DNT w środowisku pracy, autorzy uznali, że przyczyną tego zjawiska jest dodatkowe, istotne wchłanianie tego związku przez skórę.

Wchłanianie technicznego DNT przez skórę potwierdziły również wyniki badania *Levine* i in. (1985a) przeprowadzonego na 17 pracownikach (3 kobiety i 17 mężczyzn). Autorzy stwierdzili w moczu badanych pracowników obecność glukuronidów alkoholu dinitrobenzylowych i wykazali znaczące ilościowe różnice związane z płcią (kobiety 33,3% i mężczyźni 9,5%) zawartości wszystkich metabolitów.

Obecność niezmienionego 2,4-DNT i 2,6-DNT w moczu (średnie stężenia wynosiły odpowiednio 2 i 9  $\mu\text{g/l}$  moczu) u dwóch pracowników zatrudnionych w wytwórni materiałów wybuchowych wykazali *Bader* i in. (1998), a u robotników narażanych zawodowo na czysty i techniczny DNT głównym zidentyfikowanym metabolitem był kwas 2,4-dinitrobenzoesowy (*Angerer, Weismantel* 1998).

### ***Metabolizm i wydalanie u zwierząt***

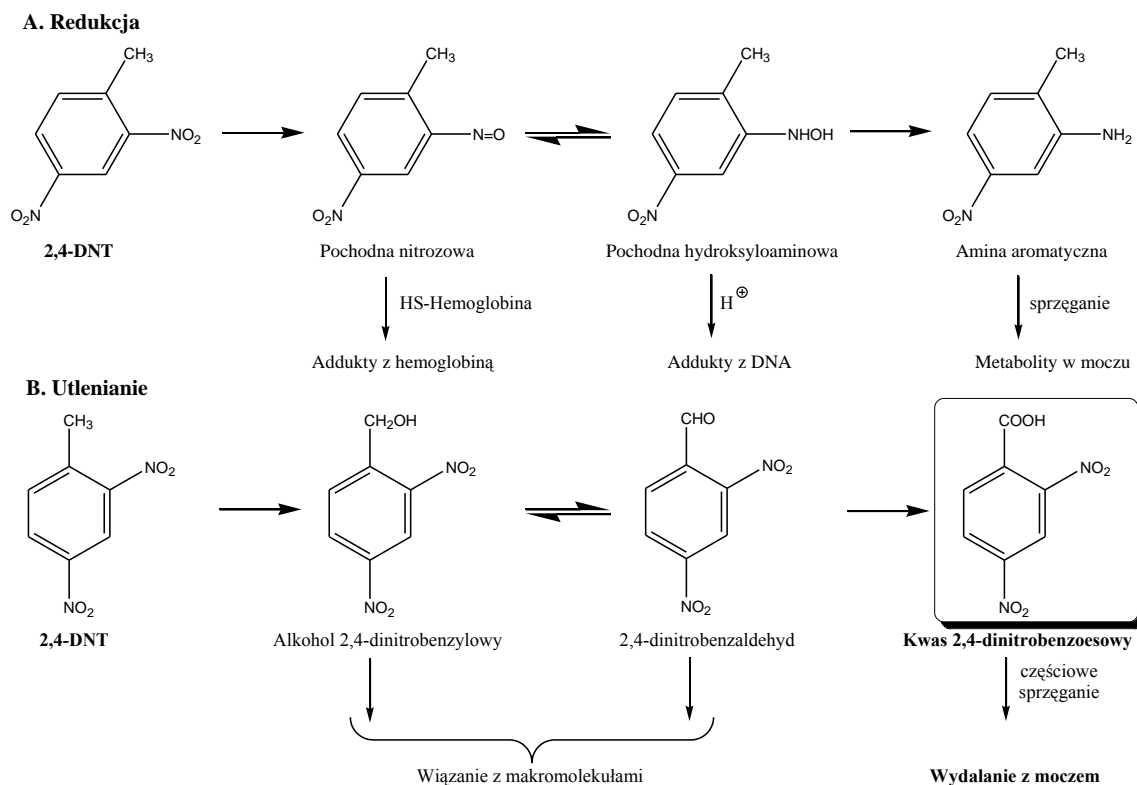
Dystrybucję 2,4-dinitrotoluenu (DNT) w organizmie i wydalanie go badano u szczurów po jednorazowym, dożołądkowym podaniu [ $^3\text{H}$ ]-2,4-dinitrotoluenu (wielkości dawki nie podano). Ponad 21% podanej dawki wydalono z kałem w ciągu doby, a po trzech dobach około 27%. Z moczem wydalono około 14% podanej dawki w ciągu pierwszej doby i tylko śladowe ilości w dalszych dniach. Po 7 dniach wydalono się łącznie z kałem i moczem około 46% podanej dawki (*Mori* i in. 1977).

Badano również wydalanie i metabolizm 2,4-DNT u myszy po jednorazowym, dożołądkowym i dootrzewnowym podaniu związku w dawce 100 mg/kg. Po podaniu dootrzewnowym wydalanie z moczem było bardzo szybkie (70% podanej dawki w ciągu 4 h), gdy po podaniu dożołądkowym tylko 28,5%, ale po dalszych 4 h wydalanie wzrosło do 66% podanej dawki. Wydalanie z kałem było minimalne i wynosiło około 2,1% podanej dawki dla obu dróg podania (*Schut, Dixit* 1985).

W innych badaniach wykazano, że po jednorazowym, dożołądkowym podaniu szczurom [ $^{14}\text{C}$ ]-DNT w dawce 10 mg/kg wydalono się około 50% podanej dawki z moczem w ciągu 72 h i około 20% z kałem (*Long, Rickert* 1982).

Metabolizm DNT przebiega dwutorowo – w pierwszym ulega utlenieniu grupa metylowa, a w drugim grupy nitrowe ulegają redukcji (rys. 1). Obydwa tor przemiany prowadzą do metabolicznej aktywacji działania toksycznego DNT. W wyniku biotransformacji tworzą się reaktywne metabolity 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 dinitrobenzylowy i wysokoreaktywny dinitrobenzaldehyd, a końcowym produktem tego toru przemiany jest kwas 2,4-dinitrobenzoesowy. Obydwa tor przemiany wytwarzają metabolity o właściwościach mutagennych (*Angerer, Weismantel* 1998).

Utlennianie grupy metylowej DNT do alkoholu przebiega przy udziale cytochromu P-450. Powstały alkohol benzylowy ulega następnie sprzężeniu z kwasem glukuronowym i wydalaniu z żółcią. W jelitach pod wpływem flory bakteryjnej glukuronid ulega hydrolizie i redukcji jednej grupy nitrowej – powstaje alkohol aminonitrobenzylowy, który ulega ponownie wchłanianiu do krwi i wątroby, gdzie grupa aminowa ulega utlenieniu do hydroksyloaminy i sprzężeniu 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 także wyniki badań przeprowadzonych przez innych badaczy.



**Rys. 1.** Schemat metabolizmu technicznego dinitrotoluenu (DNT)

Szczurom, które zostały poddane zabiegowi wprowadzenia kanuli do przewodów żółciowych, podano dożołądkowo 2,4- $^{14}\text{C}$ -DNT w jednorazowej dawce: 35; 63 lub 100 mg/kg (samce) i 35 mg/kg (samice). U samców około 25% podanej dawki wydalono się z żółcią w ciągu doby, natomiast u samic – około 18%. Identyfikacja związków wydanych z żółcią wykazała, że blisko 90% stanowił glukuronid 2,4-dinitrobenzylu (*Medinsky, Dent 1983*).

Po jednorazowym podaniu szczurom dożołądkowo 2,4-DNT i 2,6-DNT w dawce 75 mg/kg zidentyfikowano w moczu glukuronid 2,4-dinitrobenzylu (około 11% podanej dawki) i glukuronid 2,6-dinitrobenzylu (około 18%). Po podaniu 2,4-DNT zidentyfikowano także: kwas 2-amino-4-nitrobenzoesowy, kwas 4-amino-2-nitrobenzoesowy i kwas 4-*N*-acetyloamino-2-nitrobenzoesowy, a ponadto 4-amino-2-nitrotoluen i 2,4-dinitrobenzen. Po podaniu 2,6-DNT wykryto natomiast 2-amino-6-nitrotoluen i 2,6-dinitrobenzen. Wyniki badań wykazały różnice w przemianie obydwu związków u szczura (*Mori i in. 1996*).

## MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Mechanizm działania toksycznego dinitrotoluenu (DNT) jest związany z jego bioaktywacją do aktywnych metabolitów. Metabolizm DNT rozpoczyna się w wątrobie, gdzie jest utleniany przez cytochrom P-450 i następnie sprzęgany z kwasem glukuronowym, w wyniku czego powstaje jako główny metabolit glukuronid alkoholu dinitrobenzylowego, który jest wydalany z żółcią lub moczem. Glukuronid wydalany z żółcią podlega biotransformacji przy udziale mikroflory jelitowej – następuje hydroliza (rozprzęganie),



a następnie pod wpływem nitroreduktazy redukcja do odpowiedniego alkoholu aminonitrobenzylowego. Rozprężone metabolity są ponownie wchłaniane i transportowane do wątroby przez krążenie wątrobowo-jelitowe. W wątrobie nowo utworzona grupa aminowa podlega *N*-hydroksylacji przez cytochrom P-450 i sprzężeniu z kwasem siarkowym. To sprzężenie jest niestabilne i może się rozkładać, tworząc jon karbonyowy lub nitroniowy, które mogą wiązać się z makrocząsteczkami wątroby (także z DNA), co z kolei może prowadzić do mutacji i powstawania nowotworów wątroby (ATSDR 1998).

Powyższy mechanizm nie tłumaczy jednak powstawania nowotworów o innej lokalizacji niż wątroba.

*Bruning* i in. (2002) tłumaczą powstawanie nowotworów dróg moczowych (zwłaszcza pęcherza moczowego) u ludzi narażonych na DNT wydalaniem z moczem metabolitów aminoaromatycznych, np. mutagennego kwasu 2-amino-4-nitrobenzoesowego. Metabolit ten, jak i inne aminy aromatyczne, częściowo ulega acetylacji, która uważana jest za etap detoksykacji. We wszystkich stwierdzonych przypadkach nowotworów dróg moczowych u ludzi byli oni „wolnymi acetylatorami” w odniesieniu do NAT-2, co potwierdza, że mechanizm powstawania raka dróg moczowych pod wpływem DNT jest taki sam, jak dla innych „klasycznych” amin aromatycznych.

Mechanizm powstawania skutków hematologicznych wywoływanych przez DNT 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 Heintza. Wysokie poziomy methemoglobiny są usuwane na drodze katabolizmu krwinek czerwonych, co prowadzi do niedokrwistości. Organizm kompensuje rozpad czerwonych krwinek przez wzmożone wytwarzanie erytrocytów, a to powoduje zwiększenie liczby retikulocytów we krwi. Jeżeli dawka toksyczna nie jest zbyt duża, wówczas taki mechanizm kompensacyjny wystarcza, a u osób narażonych na związki methemoglobinoformujące obserwuje się normalny poziom erytrocytów i retikulocytozę. Kiedy wytwarzanie czerwonych ciałek krwi nie może dłużej zrekompensować hemolizy krwinek, wówczas rozwija się niedokrwistość (ATSDR 1998).

## DZIAŁANIE ŁĄCZNE

Stwierdzono, że alkohol etylowy może zwiększać działanie methemoglobinoformujące dinitrotoluenu (DNT) u ludzi (*Tchounwou* 2003).

## ZALEŻNOŚĆ EFEKTU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Ze względu na brak danych ilościowych o stężeniach dinitrotoluenu (DNT) nie można określić zależności efektu toksycznego u ludzi od wielkości narażenia.

Dla zwierząt doświadczalnych (szczury) zależność skutków od wielkości narażenia na techniczny DNT przedstawiono w tabelach 3. i 4.

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

### Istniejące wartości NDS i ich podstawy

W tabeli 11. przedstawiono przykładowe odpowiedniki wartości NDS dla mieszaniny izomerów dinitrotoluenu obowiązujące w różnych państwach.

**Tabela 11.**

**Normatywy higieniczne mieszaniny izomerów dinitrotoluenu w środowisku pracy w różnych państwach** (ACGIH 2005a; ACGIH 2005b; CHEMINFO 2004; Rozporządzenie... 2002)

Państwo/organizacja/ Instytucja	Normatyw higieniczny		Uwagi
	NDS, mg/m <sup>3</sup>	NDSCh, mg/m <sup>3</sup>	
Dania	1,5	–	Sk
Niemcy	–	–	Sk
Wielka Brytania	1,5	5,0	Sk
Szwecja	1 (0,15 ppm)	2 (0,3 ppm)	Sk
Polska (2002 r.)	1,0	5,0	Sk
USA:			
– ACGIH (1997)	0,2	–	Sk; BEIM; A3
– NIOSH	1,5	–	Sk
– OSHA	1,5	–	Sk

W Niemczech nie ustalono wartości MAK i TRK dla dinitrotoluenu (DFG 2005).

W Polsce wartość NDS dla mieszaniny izomerów dinitrotoluenu na poziomie 1 mg/m<sup>3</sup> ustalono w 1982 r., a wartość NDSCh na poziomie 5 mg/m<sup>3</sup> w 1985 r. Obowiązujące wartości NDS i NDSCh dla mieszaniny izomerów dinitrotoluenu to odpowiednio – 1 mg/m<sup>3</sup> i 5 mg/m<sup>3</sup> (Rozporządzenie... 2002).

### Uzasadnienie wartości TLV przez ACGIH

Obowiązująca w latach 1946-1991 wartość TLV dla mieszaniny izomerów dinitrotoluenu (DNT) wynosząca 1,5 mg/m<sup>3</sup> była oparta na podobieństwie jego działania i innych aromatycznych nitropochodnych (nitrobenzen i dinitrobenzen), dla których pierwszym, najbardziej charakterystycznym objawem toksycznego działania jest methemoglobinaemia. Ustalona wartość miała zabezpieczać pracowników przed niewielkiego stopnia niedokrwistością i innymi skutkami (ze strony układu nerwowo-mięśniowego, wątroby, nerek i wpływu na rozrodczość), które stwierdzono u zwierząt doświadczalnych po dawkach DNT większych niż 5 mg/kg/dzień podanych drogą pokarmową (Rickert i in. 1984). Oznakowanie „Skin” wprowadzono w 1961 r. i jest ono obowiązujące.

W 1992 r. zmniejszono wartość TLV do 0,15 mg/m<sup>3</sup> i dodano adnotację A2 (podejrzewany o działanie rakotwórcze u ludzi) na podstawie informacji, że narażenie na izomery DNT może zwiększać ryzyko chorób serca i zaburzać funkcje rozrodcze u pracowników (NIOSH 1985; Levine i in. 1986). Nowsze dane epidemiologiczne (Stayner i in. 1993) wskazywały, że klasyfikacja A2 nie jest uzasadniona, dlatego zaproponowano

klasyfikację A3 (substancja o potwierdzonym działaniu rakotwórczym dla zwierząt i nieznanym znaczeniu dla ludzi) na podstawie występowania nowotworów wątroby i innych raków u szczurów i myszy narażonych na techniczny DNT (NIOSH 1985; NCI 1978; Rickert i in. 1984; Leonard i in. 1987). Monitoring biologiczny pracowników narażonych na techniczny DNT (Woollen i in. 1985; Levine i in. 1985a) dał dodatkowe dane potwierdzające zasadność oznakowania „Skin”. Obecnie rekomendowaną wartość 0,2 mg/m<sup>3</sup> TLV wprowadzono, wychodząc z założenia, że nie ma istotniej różnicy w stopniu ochrony pracowników narażonych na techniczny DNT o stężeniu 0,15 czy 0,2 mg/m<sup>3</sup>.

DNT jest substancją, dla której jest zalecana ta sama wartość dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) jak i dla innych związków o działaniu met-hemoglobinowym.

### Podstawy proponowanej wartości NDS

Głównymi skutkami narażenia na dinitrotoluen jest działanie hemato-, hepato- i nefrotoksyczne obserwowane zarówno u ludzi, jak i u zwierząt doświadczalnych.

Istnieje tylko jedno przewlekłe (do 2 lat) doświadczenie, w którym szczurom podawano w paszy DNT o składzie około 80% 2,4-DNT lub około 20% 2,6-DNT (CIIT 1982). Po najmniejszej stosowanej dawce 3,5 mg/kg/dzień u zwierząt wystąpiły objawy działania toksycznego: zmieniony wygląd, niedokrwistość u samic, wzrost względnej masy wątroby, łagodne nowotwory tkanki podskórnej oraz u samców ogniska rozrostu mięszu wątroby i raki wątroby. Z tego względu dawki tej nie można przyjąć za wartość LOAEL.

Istnieje natomiast przewlekłe (do 2 lat) doświadczenie przeprowadzone także na szczurach, którym podawano w paszy DNT o innym składzie, tj. około 98,5% 2,4-DNT lub około 1,5% 2,6-DNT (Lee i in. 1985). Po najmniejszej stosowanej dawce (0,57 mg/kg/dzień dla samców i 0,71 mg/kg/dzień dla samic) obserwowano jedynie łagodne nowotwory skóry (częstość występowania nieistotna statystycznie) oraz (również nieistotne statystycznie w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej) ogniska rozrostowe mięszu wątroby, które nie mają znaczenia w przeniesieniu tych skutków na ludzi. Innych skutków działania toksycznego DNT nie stwierdzono. Z tego względu najmniejsza stosowana w tym doświadczeniu dawka DNT może być traktowana jako wartość NOAEL.

Wartość NDS dinitrotolenu dla 8-godzinnego czasu pracy obliczamy, przyjmując wartość NOAEL = 0,57 mg/kg i następujące współczynniki niepewności:

- $A = 2$ , współczynnik związany z wrażliwością osobniczą człowieka
- $B = 2$ , współczynnik związany z drogą podania (*per os*) i różnicami międzygatunkowymi
- $C = 1$ , badanie przewlekłe
- $D = 1$ , stosowanie wartości NOAEL
- $E = 3$ , współczynnik modyfikacyjny uwzględniający potencjalne odległe skutki działania związku,

$$C = \frac{\text{NOAEL} \cdot 70 \text{ kg}}{10 \text{ m}^3} = \frac{0,57 \cdot 70 \text{ kg}}{10 \text{ m}^3} = 3,99 \text{ mg/m}^3,$$

$$\text{NDS} = \frac{3,99 \text{ mg/m}^3}{2 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 3} = 0,33 \text{ mg/m}^3.$$

Autorzy dokumentacji proponują przyjęcie wartości  $0,33 \text{ mg/m}^3$  za wartość NDS dla mieszaniny izomerów dinitrotoluenu. Nie ma podstaw do ustalenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) dinitrotoluenu.

Ze względu na dane pochodzące z monitoringu biologicznego pracowników narażonych na techniczny DNT, które wskazują na istotne wchłanianie tego związku przez skórę (Woolen 1985; Levine i in. 1985a), normatyw należy dodatkowo oznaczyć literami Sk – substancja wchłania się przez skórę. Ze względu na działanie methemoglobino-twórcze mieszaniny izomerów dinitrotoluenu, proponujemy przyjęcie również wartości DSB równej 2% MetHB we krwi, którą przyjęto dla wszystkich substancji methemoglobino-twórczych.

W ostatnich latach pojawiły się doniesienia o występowaniu raka nerek i dróg moczowych u pracowników narażonych na techniczny DNT (Bruning i in. 1999). Rak nerek był obserwowany także u myszy samców narażanych na DNT (o składzie około 98,5% 2,4-DNT i około 1,5% 2,6-DNT) w paszy przez okres 2 lat. Na podstawie wyników tego doświadczenia Pałaszewska i in. (2004) oszacowali wielkość ryzyka powstania raka nerek w narażeniu na 2,4-DNT (główny składnik mieszaniny izomerów DNT). Wartość ta wynosi  $7,2 \cdot 10^{-3}$  dla 40-letniego zatrudnienia w narażeniu na związek o stężeniu  $0,5 \text{ mg/m}^3$ . Na podstawie tak przyjętego modelu ryzyko wystąpienia raka nerek po 40-letnim narażeniu na DNT o stężeniu równym proponowanej wartości NDS ( $0,33 \text{ mg/m}^3$ ) wyniesie  $4,78 \cdot 10^{-3}$ .

Zgodnie z rozporządzeniem ministra zdrowia z 2004 r. (DzU nr 280, poz. 2771) związek sklasyfikowano jako „Rakotw. Kat. 2”, co oznacza substancję rakotwórczą dla człowieka.

## **ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWSKAZANIA 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, nerki, układ krążenia i układ nerwowy.

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

### **Zakres badań okresowych**

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na wątrobę, nerki, układ krążenia i układ nerwowy.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, retikulocyty, stężenie methemoglobiny we krwi, w zależności od wskazań badanie na obecność ciałek Heinza w erytrocytach, badania czynności wątroby (bilirubina w surowicy krwi, AIAT, AspAT, GGTP), badanie ogólne moczu oraz stężenie kreatyniny w surowicy krwi i EKG.

Częstotliwość badań okresowych: co rok lub co 2 lata.

U w a g a

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

### **Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej**

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na wątrobę, nerki, układ krążenia i układ nerwowy.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, retikulocyty, stężenie methemoglobiny we krwi, w zależności od wskazań badanie na obecność ciałek Heinza w erytrocytach, badania czynności wątroby (bilirubina w surowicy krwi, AIAT, AspAT, GGTP), badanie ogólne moczu oraz stężenie kreatyniny w surowicy krwi i EKG.

### **Narządy (układy) krytyczne**

Krwinki czerwone, wątroba, nerki, układ krążenia i układ nerwowy.

### **Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia**

Niedokrwistość, methemoglobinemia wrodzona i nabyta, choroby przebiegające z upośledzeniem funkcji wątroby, choroby przebiegające z upośledzeniem funkcji nerek, choroba niedokrwienności serca oraz choroby układu nerwowego.

U w a g a

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy.

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

Tekst ekspozycyjny – oznaczenie methemoglobiny we krwi. Wartość DSB – 2% Met HB we krwi.

W narażeniu na izomery DNT nie wolno zatrudniać pracowników młodocianych i kobiet w ciąży, ponieważ izomery te są sklasyfikowane jako substancje rakotwórcze kategorii 2 (związki rozpatrywane jako rakotwórcze dla człowieka).

## PIŚMIENNICTWO

- Abernethy D.J., Couch D.B.* (1982) Cytotoxicity and mutagenicity of dinitrotoluenes in Chinese hamster ovary cell. *Mutat. Res.* 103, 53–59.
- ACGIH (2005a) TLV Documentation. Dinitrotoluene [komputerowa baza danych].
- ACGIH (2005b) Guide to occupational exposure values.
- Ahrenholtz S.H.* (1980) Health hazard evaluation determination. Report HE 79-113-728. NIOSH [cyt. za *Tchounwou* 2003].
- Ahrenholz S.H., Meyer C.R.* (1982) Health hazard evaluation report No HETA-81-295-1155. NIOSH (cyt. za ATSDR 1998).
- Angerer J., Weismantel A.* (1998) Biological monitoring of dinitrotoluene by gas chromatographic-mass spectrometric analysis of 2,4-dinitrobenzoic acid in human urine. *J. Chromatogr. B* 713, 313–322.
- Ashby J.* i in. (1985) Non-genotoxicity of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) to the mouse bone marrow and the rat liver: implications for its carcinogenicity. *Arch. Toxicol.* 58, 14–19.
- ATSDR (1998) Toxicological profile for 2,4-dinitrotoluene and 2,6-dinitrotoluene (update). US Department of Health and Human Services.
- Bader M.* i in. (1998) Analysis of nitroaromatic compounds in urine by gas chromatography-mass spectrometry for the biological monitoring of explosives. *J. Chromat. B.* 710, 91–99.
- Bermudez E.* i in. (1979) The effect of 2,4-diaminotoluene and isomers of dinitrotoluene on unscheduled DNA synthesis in primary rat hepatocytes. *Environ. Mutagen.* 1, 391–398.
- Bloch E.* i in. (1988) Reproductive toxicity of 2,4-dinitrotoluene in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 94, 466–472.
- Bruning T.* i in. (1999) Occurrence of urinary tract tumors in miner highly exposed to dinitrotoluene. *J. Occup. Environ. Med.* 41, 144–149.
- Bruning T.* i in. (2001) Pathological excretion patterns of urinary proteins in miners highly exposed to dinitrotoluene. *J. Occup. Environ. Med.* 43, 610–615.
- Bruning T.* i in. (2002) Nephrotoxicity and nephrocarcinogenicity of dinitrotoluene: new aspects to be considered. *Rev. Environ. Health* 17, 163–172.
- CHEMINFO (2004) Dinitrotoluene. Chemical Profiles Created by CCOHS [komputerowa baza danych].
- CIIT Docket 22397 (1997) A thirty day toxicology study in Fischer 344 rats given dinitrotoluene, technical grade. Chemical Industry Institute of Toxicology, Research Triangle Park, USA.
- CIIT Docket 12362 (1982) 104 Week toxicology study in rats, dinitrotoluene. Final Report. Chemical Industry Institute of Toxicology, Research Triangle Park, USA.
- Couch D.B.* i in. (1981) The mutagenicity of dinitrotoluenes in *Salmonella typhimurium*. *Mutat. Res.* 90, 373–383.
- Czynniki szkodliwe w środowisku pracy. Wartości dopuszczalne (2007) Warszawa, CIOP.
- DFG (2005) List of MAK and BAT Values.
- Dorman B.H., Boreiko C.J.* (1983) Limiting factors of the V79 cell metabolic cooperation assay for tumor promoters. *Carcinogenesis* 4, 873–877.

Dyrektywa Rady 67/548/EWG z dnia 27 czerwca 1967 r. o ujednoczeniu 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.

*Ellis H.V.* i in. (1979) Mammalian toxicity of munition compounds. Phase III: Effects of Lifetime Exposure. Part I: 2,4-dinitrotoluene. Report AD AO77 692, Midwest Research Institute (cyt. za *Tchounwou* 2003).

*Ellis H.V.* i in. (1985) Subchronic and chronic toxicity studies of 2,4-dinitrotoluene. Part I. Beagle dogs. *J. Am. Coll. Toxicol.* 4, 233–242.

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

*George S.E.* i in. (1996) Hepatic DNA adducts and production of mutagenic urine in 2,6-dinitrotoluene-treated B6C3F1 male mice. *Cancer Lett.* 102, 107–111.

*George S.E.* i in. (1998) Modulation of 2,6-dinitrotoluene genotoxicity by alachlor treatment of Fischer 344 rats. *Environ. Mol. Mutagen.* 31, 274–281.

*Hamill P.V.* i in. The epidemiologic assessment of male reproductive hazard from occupational exposure to TDA and DNT. *J. Occup. Med.* 24, 985–993.

*Hamilton C.M., Mirsalis J.C.* (1987) *Mutat Res.* 189, 341–347 [cyt. za IUCLID 2000].

*Holen I.* i in. (1990) Effects of dinitrotoluenes on morphological cell transformation and intracellular communication in Syrian hamster embryo cells. *J. Toxicol. Environ. Health* 29, 89–98.

*Hong C.B.* i in. (1985) Subchronic and chronic toxicity studies of 2,4-dinitrotoluene. Part III. CD-1 mice. *J. Am. Coll. Toxicol.* 4, 257–269.

HSDB (2005) Dinitrotoluene. Hazardous Substances Data Bank [komputerowa baza danych NLM].

IARC (1996) Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Vol. 65. Printing processes and printing inks, carbon black and some nitro compounds. Lyon, IARC.

IRIS (2003) 2,4-/2,6-Dinitrotoluene mixture. Integrated Risk Information System.

IUCLID (2000) Data set. Dinitrotoluene. European Commission.

*Klingerman A.D.* i in. (1982) The use of rat and mouse lymphocytes to study cytogenic damage after in vivo exposure to genotoxic agents. [W:] Indicators of genotoxic exposure. CSH Press.

*La D.K., Froines J.R.* (1992) Comparison of DNA adduct formation between 2,4- and 2,6-dinitrotoluene by <sup>32</sup>P-postlabelling analysis. *Arch. Toxicol.* 66, 633–640.

*Lee C.C.* i in. (1976) Mammalian toxicity of munition compounds. Phase II. Effects of multiple doses. Part III: 2,6-Dinitrotoluene. Kansas City, Midwest Research Institute [cyt. za *Tchounwou* 2003].

*Lee C.C.* i in. (1978) Mammalian toxicity of munition compounds. Phase II. Effects of multiple doses. Part II: 2,4-Dinitrotoluene. Kansas City, Midwest Research Institute [cyt. za *Pałaszewska* i in. 2004].

*Lee C.C.* i in. (1985) Subchronic and chronic toxicity studies of 2,4-dinitrotoluene. Part II. CD rats. *J. Am. Coll. Toxicol.* 4, 243–256.

*Lee C.C.* i in. (2003) Mammalian toxicity of munition compounds. Phase II. Effects of multiple doses. Part III: 2,6-Dinitrotoluene. Kansas City, Midwest Research Institute [cyt. za *Tchounwou* 2003].

- Leonard T.B.* i in. (1987) Dinitrotoluene isomer-specific hepatocarcinogenesis in F344 rats. *J. Natl. Cancer Inst.* 79, 1313–1319.
- Levine R.J.* i in. (1985a) Assessing exposure to dinitrotoluene using a biological monitor. *J. Occup. Med.* 27, 627–638.
- Levine R.J.* i in. (1985b) Fertility of workers exposed to dinitrotoluene and toluenediamine at three chemical plants. [W:] Toxicity of nitroaromatic compounds. Hemisphere Pub. Corp. New York.
- Levine R.J.* i in. (1986) Heart disease in workers exposed to dinitrotoluene. *J. Occup. Med.* 28, 811–816.
- Long R.M., Rickert D.E.* (1982) Metabolism and excretion of 2,6-dinitro[14C]toluene in vivo and in isolated perfused rat livers. *Drug Metab. Dispos.* 10, 455–458.
- McGee L.C.* i in. (1942) Metabolic disturbances in workers exposed to dinitrotoluene. *Am. J. Digest. Dis.* 9, 329–332 [cyt. za IARC 1996].
- Medinsky M.A., Dent J.G.* (1983) Biliary excretion and enterohepatic circulation of 2,4-dinitrotoluene metabolites in Fischer 344 rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 68, 359–366.
- Mirsalis J.C., Butterworth B.E.* (1982) Induction of unscheduled DNA synthesis in rat hepatocytes following in vivo treatment with dinitrotoluene. *Carcinogenesis* 3, 241–245.
- Mirsalis J.C.* i in. (1982) Detection of genotoxic carcinogens in the in vivo-in vitro hepatocyte DNA repair assay. *Environ. Mutagen.* 4, 553–562.
- 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. Mutagen.* 14, 155–164.
- Mori M.* i in. (1977) Studies on the metabolism and toxicity of dinitrotoluenes – on excretion and distribution of tritium-labelled 2,4-dinitrotoluene in the rat. *Radioisotopes* 26, 780–783.
- Mori M.A.* i in. (1996) Further studies on the urinary metabolites of 2,4-dinitrotoluene and 2,6-dinitrotoluene in the male Wistar rat. *Xenobiotica* 26, 79–88.
- NCI, National Cancer Institute (1978) Bioassay of 2,4-dinitrotoluene for possible carcinogenicity. Technical report series no54. Department of Health, Education and Welfare.
- NIOSH (1985) Dinitrotoluenes (DNT). Current Intelligence Bulletin 44. DHHS (NIOSH) Pub. No 85-109 [cyt. za ACGIH 2005a].
- Pałaszewska A.* i in. (2004) 2,4-Dinitrotoluen. Wytyczne Szacowania Ryzyka Zdrowotnego dla Czynników Rakotwórczych. Łódź, IMP 1(18), 25–56.
- Price C.J.* i in. (1985) Teratologic evaluation of dinitrotoluene in the Fischer 344 rat. *Fundam. Appl. Toxicol.* 5, 948–961.
- Reader S.C.J., Foster R.M.D.* (1990) The in vitro effects of four isomers of dinitrotoluene on rat steroli and Steroli-germ cell cocultures: germ cell detachment and lactate and pyruvate production. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 106, 287–294.
- Rickert D.E.* i in. (1983) Hepatic macromolecular covalent binding and intestinal disposition of [14C]dinitrotoluenes. *J. Toxicol. Environ. Health* 11, 555–567.
- Rickert D.E., Butterworth B.E., Popp J.A.* (1984) Dinitrotoluene: acute toxicity, oncogenicity, genotoxicity and metabolism. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 13, 217–234.
- Rozporządzenie ministra pracy i polityki społecznej z dnia 29 listopada 2002 roku w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU nr 217, poz. 1833, ze zm. DzU 2005 r., nr 212, 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 nr 280, poz. 2771.

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.

RTECS (2005) Toluene, -dinitro-. Registry of Toxic Effects of Chemical Substances.

Sax's Dangerous properties of industrial materials (2000) Wiley, Inc.

*Schut H.A.* i in. (1985) In vivo and in vitro metabolism of 2,4-dinitrotoluene in strain a mice. *Biochem. Pharmacol.* 34, 969–976.

*Soares E.R., Lock L.F.* (1980) Lack of an indication of mutagenic effects of dinitrotoluenes and diaminitoluenes in mice. *Environ. Mutagen.* 2, 111–124.

*Stayner L.T.* i in. (1992) Cardiovascular mortality among munitions workers exposed to nitroglycerin and dinitrotoluene. *Scand. J. Work Environ. Health* 18, 34–43.

*Stayner L.T.* i in. (1993) Excess hepatobiliary cancer mortality among munitions workers exposed to dinitrotoluene. *J. Occup. Med.* 35, 291–296.

*Styles J.A., Cross M.F.* (1983) Activity of 2,4,6-trinitrotoluene in an in vitro mammalian gene mutation assay. *Cancer Lett.* 20, 103–108.

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

*Turner M.J.* i in. (1985) Identification and quantification of urinary metabolites of dinitrotoluenes in occupationally exposed humans. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 80, 166–174.

*Woollen B.H.* i in. (1985) Dinitrotoluene. An assessment of occupational absorption during manufacture of blasting explosives. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 55, 319–330.

ANDRZEJ SAPOTA, MALGORZATA SKRZYPIŃSKA-GAWRYSIAK

## Dinitrotoluene

### A b s t r a c t

Technical dinitrotoluene (DNT) is a mixture of six isomers composed of 2,4-DNT (approx. 76%), 2,4-DNT (approx. 19%) and the remaining isomers, i.e. 2,3-, 2,5-, 3,4- and 3,5-DNT (approx. 5%). It is mostly applied as a substrate in the production of toluene diisocyanate and diaminitoluene used in the manufacturing of polyurethane foams and explosives. It has been estimated that in Poland there are several hundred DNT-exposed persons.

Dinitrotoluene may be absorbed via the pulmonary and gastrointestinal tracts or through the skin.

In the available literature there are no data on acute DNT intoxication in humans. Based on epidemiological studies it has been reported that in a group of 183 miners exposed to technical DNT for 20 years, 25% showed symptoms of liver damage (increased activity of ALAT, AspAT, and  $\gamma$ -GTP), anemia and respiratory problems, whereas in 50% of the miners an increased excretion of nephrotoxic markers with urine ( $\alpha$ 1-microglobulin,  $\alpha$ -GST) was observed. The study carried out on a larger (500 persons) cohort revealed 14 cases of kidney cancer and 6 cases of cancer of urinary tracts.

Based on the studies of acute toxicity, it has been shown that, according to EU classification, technical DNT is a harmful compound. The studies performed on rabbits did not show any irritation signs in rabbits.

The studies carried out on rats which were administered technical DNT in three doses (37.5, 75 and 150 mg/kg/day) for four weeks revealed, besides body weight loss after two higher doses, a significant increase in the levels of methemoglobin and reticulocytes in blood, as well as in Heinz-body red blood cell counts. Pathologic changes in internal organs observed in male rats comprised depigmentation and irregularities on the surface of the liver.

In the studies of chronic effects, technical DNT induced cancers mostly of the liver and bile ducts in rats and kidney cancer in male mice. The International Agency for Research on Cancer (IARC) has not proposed any classification of DNT isomer mixture; however, it categorized two isomers 2,4- and 2,6-DNT in group 2B – possibly carcinogenic to humans.

A long-term experiment has been carried out on rats given DNT in fodder in the mixture of approx. 98.5% of 2,4-DNT and 1.5% of 2,6-DNT. After the lowest dose (0.57 mg/kg/day for males and 0.71 mg/kg/day for females) of this compound no toxic effects were observed. Only benign neoplasms of the skin (statistically insignificant incidence) and the foci of liver parenchyma proliferation (also statistically insignificant compared to controls) were found, but insignificant as regards the extrapolation of these effects to humans. Therefore, the lowest DNT dose has been adopted as the value of its no-observed adverse effect level (NOAEL).

Taking the value of NOAEL equal 0.57 mg/kg, as well as respective coefficients of uncertainty, the maximum admissible concentration (MAC) for DNT was calculated at the level of 0.33 mg/m<sup>3</sup>. It has been suggested that DNT should be additionally marked with “Sk” – skin-absorbed substance and “Carcinogenic, category 2”. In view of the methemoglobinogenic property of this compound, MetHb concentration of 2% in blood as BEI value was proposed.