



N-Nitrozodietyloamina

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

N-Nitrosodiethylamine

Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

JADWIGA SZYMAŃSKA

<https://orcid.org/0000-0002-3320-008X>

BARBARA FRYDRYCH

<https://orcid.org/0000-0002-9383-5319>

ELŻBIETA BRUCHAJZER

<https://orcid.org/0000-0002-4494-5722>

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Medical University of Lodz, Łódź, Poland

NDS 0,0007 mg/m³ (0,0002 ppm)**NDSch** nie ustalono**NDSP** nie ustalono**DSB** nie ustalono**Carc. 1B** czynnik potencjalnie rakotwórczy dla człowieka

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 18-20.10.2023 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 26.03.2024 r.

Streszczenie

N-Nitrozodietyloamina (NDEA) jest żółtą, oleistą cieczą, wrażliwą na światło. Do źródeł narażenia na nitrozoaminy (w tym NDEA) zaliczamy: tytoń, wyroby gumowe, kosmetyki, pestycydy i niektóre farmaceutyki. Najwyższe poziomy narażenia zawodowego na nitrozoaminy dotyczą przemysłu gumowego. W Polsce w 2021 r. liczba osób narażonych zawodowo na *N*-nitrozodietyloaminę wynosiła 49 (w 6 zakładach pracy). Działanie mutagenne i genotoksyczne *N*-nitrozodietyloaminy obserwowano zarówno w warunkach in vitro, jak i in vivo. Nie znaleziono danych na temat wchłaniania i dystrybucji *N*-nitrozodietyloaminy. Brak jest informacji na temat zatrucia ludzi oraz danych epidemiologicznych dotyczących jedynie *N*-nitrozodietyloaminy. *N*-Nitrozodietyloaminę można zaklasyfikować (ze względu na toksyczność ostrą) do kategorii 3 na podstawie zasad CLP. W badaniach krótkoterminowych *N*-nitrozodietyloamina wywierała działanie hepatotoksyczne. Po wielokrotnym podaniu zwierzętom *N*-nitrozodietyloaminy zanotowano zmiany nowotworowe. W opinii IARC (1987) *N*-nitrozodietyloamina była rakotwórcza dla wszystkich testowanych zwierząt. Na tej podstawie IARC sklasyfikowała ten

¹ Wartość NDS *N*-nitrozodietyloaminy została w dniu 26.03.2024 r. przyjęta na 107. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynniki Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i następnie została przedłożona ministrowi właściwemu ds. pracy (wniosek nr 123) w celu jej wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy.

² Opracowano i wydano na podstawie wyników VI etapu programu wieloletniego „Rządowy Program Poprawy Bezpieczeństwa i Warunków Pracy”, finansowanego w latach 2023-2025 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Projekt nr III.PN.04 pt. „Opracowanie dokumentacji dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego dla 30 czynników chemicznych szkodliwych dla zdrowia, w tym rakotwórczych”. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

związek jako prawdopodobnie rakotwórczy dla ludzi (grupa 2A). W Polsce do tej pory nie ustalono wartości NDS i/lub NDSC dla *N*-nitrozodietylaminy. Przygotowane opracowanie zostało wykonane zgodnie z proponowaną przez Komisję Europejską listą substancji zalecanych do naukowego opracowania i/lub weryfikacji normatywów higienicznych w ramach regulacji polityki bezpieczeństwa i higieny pracy (OSH). Zaproponowano przyjęcie wartości NDS na poziomie 0,0007 mg/m³ (0,0002 ppm) i oznakowanie „Carc 1B” – działanie rakotwórcze kategorii zagrożenia 1B z przypisem „H350 – może powodować raka”. Brak jest podstaw do ustalenia wartości NDSC oraz dopuszczalnej w materiale biologicznym DSB. Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Słowa kluczowe: *N*-nitrozodietylamina, NDEA, rakotwórczość, toksyczność, narażenie zawodowe, NDS.

Abstract

N-Nitrosodiethylamine (NDEA) is a yellow, oily liquid sensitive to light. Sources of nitrosamines exposure (among others NDEA) include tobacco, rubber products, cosmetics, pesticides, and some pharmaceuticals. The highest levels of occupational exposure to nitrosamines are in the rubber industry. In 2021, 49 people were occupationally exposed to NDEA in Poland, in 6 workplaces. The mutagenic and genotoxic activity of *N*-nitrosodiethylamine has been confirmed in both in vitro and in vivo tests. No data on the absorption and distribution of NDEA were found. There is no information on human poisoning and no epidemiological data on *N*-nitrosodiethylamine alone. *N*-Nitrosodiethylamine can be classified for acute toxicity into category 3, according to CLP rules. In short-term studies, NDEA had hepatotoxic effects. Neoplastic lesions were noted after repeated administration to animals. In the opinion of IARC (1987), *N*-nitrosodiethylamine was carcinogenic to all animals tested. On this basis, IARC classified *N*-nitrosodiethylamine as group 2A (probably carcinogenic to humans). In Poland, to date, no MAC and/or STEL values have been established for *N*-nitrosodiethylamine (NDEA). The prepared study was carried out by the European Commission's proposed list of substances recommended for the scientific development and/or revision of hygiene standards within the framework of occupational safety and health (OSH) policy regulations (European Commission 2022). It is proposed to adopt for *N*-nitrosodiethylamine a concentration of 0.0007 mg/m³ (0.0002 ppm) as the MAC value and to include the label “Carc 1B” – carcinogenicity category 1B with the footnote “H350 – may cause cancer”. There is no basis for determining the STEL and BEI values. This article discusses the problems of occupational safety and health, which are covered by health sciences and environmental engineering.

Keywords: *N*-nitrosodiethylamine, NDEA, carcinogenicity, toxicity, occupational exposure, MAC.

Adres do korespondencji/Contact details: Elżbieta Bruchajzer, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Katedra i Zakład Toksykologii, ul. J. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź, e-mail: elzbieta.bruchajzer@umed.lodz.pl

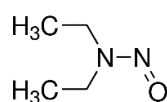
CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

N-Nitrozodietylamina (NDEA) należy do grupy związków chemicznych określanych jako nitrozoaminy, których wspólną cechą jest struktura N – N = O.

Ogólna charakterystyka NDEA (ECHA 2023; PubChem 2023):

- wzór sumaryczny C₄H₁₀N₂O
- wzór strukturalny



- nazwa chemiczna *N*-nitrozodietylamina
- nazwa IUPAC dietylonitrozoamina
- numer CAS 55-18-5

- numer EC 200-226-1
- synonimy: dietylonitrozoamina, *N*-etylo-*N*-nitrozoetanamina, *N*-nitrosodietylamina, *N*-dietylnitrozoamina, dietylnitrosamina, *N,N*-dietylnitrozoamina, *N*-nitrozo-di-*N*-etyloamina, NDEA
- współczynniki przeliczeniowe: 1 ppm = 4,25 mg/m³ (20°C)
1 mg/m³ = 0,24 ppm (20°C).

NDEA nie jest umieszczona w zharmonizowanej klasyfikacji w tabeli 3 załącznika VI do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy

67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Dz. Urz. UE L 353 z 31.12.2008 r., z późn. zm.).

NDEA należy do substancji, dla których dane dotyczące klasyfikacji i oznakowania zostały przedłożone ECHA w ramach rejestracji (na mocy rozporządzenia REACH) lub zgłoszone przez producentów lub importerów (na mocy CLP). Takie zgłoszenia są wymagane dla substancji niebezpiecznych (lub w mieszaninach), a także dla wszystkich substancji podlegających rejestracji, niezależnie od ich zagrożenia.

W tabeli 1 przedstawiono klasyfikację NDEA sugerowaną przez producentów/importerów (ECHA

2024). Przy klasyfikacji działania mutagennego i rakotwórczego podano podwójne oznakowanie:

- Carc. 1A (proponowane przez 3 zgłaszających) oraz Carc. 1B (50 zgłaszających),
- Muta. 1B (proponowane przez 1 zgłaszającego) oraz Muta. 2 (7 zgłaszających),
- H340 (1 zgłaszający) oraz H341 (7 zgłaszających).

NDEA (zgodnie z proponowanym oznakowaniem) może powodować raka oraz wady genetyczne (tab. 1).

Tabela 1. Proponowana klasyfikacja i oznakowanie N-nitrozodietyloaminy (NDEA), (ECHA 2024)

Table 1. Proposed classification and labelling of N-nitrosodiethylamine (NDEA), (ECHA 2024)

Numer indeksowy	Międzynarodowa terminologia chemiczna	Numer WE	Numer CAS	Klasyfikacja		Oznakowanie
				klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	
Niedostępny (tylko zgłoszony w ramach CLP)	nitrosodiethylamine	200-226-1	55-18-5	Acute Tox. 3 Carc. 1A/1B Muta. 1B/2 Aquatic Chronic 3 Flam. Liq. 4 Aquatic Acute 3	H301 H350 H340/H341 H412 H227 H402	GHS08 GHS06 Dgr

- Objaśnienia:
- Acute Tox. 3 – Toksyczność ostra, kategoria 3.
 - Carc. 1A/1B – Rakotwórczość kategoria 1A/1B.
 - Muta. 1B/2 – Działanie mutagenne na komórki rozrodcze, kategoria 1B/2.
 - Aquatic Chronic 3 – Zagrożenie dla środowiska wodnego, kategoria 3.
 - Flam. Liq. 4 – Substancja ciekła łatwopalna, kategoria 4.
 - Aquatic Acute 3 – Zagrożenie dla środowiska wodnego, kategoria 3.
 - H301 – Działa toksycznie po połknięciu.
 - H350 – Może powodować raka.
 - H340 – Może powodować wady genetyczne.
 - H341 – Podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne.
 - H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.
 - H227 – Ciecz palna.
 - H402 – Działa szkodliwie na organizmy wodne.

Hasło ostrzegawcze:
Dgr – Niebezpieczeństwo.



GHS08



GHS06

Rycina 1. Piktogramy określone w klasyfikacji proponowanej przez producentów/importerów zgłaszających związek do ECHA (ECHA 2024)
Figure 1. Pictograms specified in the classification proposed by manufacturers/importers notifying the compound to ECHA (ECHA 2024)

Właściwości fizykochemiczne

Właściwości fizykochemiczne NDEA (ECHA 2023; PubChem 2023; RoC 2021):

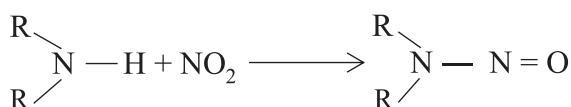
- postać przejrzysta, lekko żółta, oleista ciecz, stabilna w ciemności, wrażliwa na działanie promieniowania, zwłaszcza UV (ulega szybkiej fotolitycznej degradacji)
- masa cząsteczkowa 102,14 g/mol
- temp. wrzenia 172 ÷ 177°C
- temp. zapłonu 62°C
- współczynnik podziału n-oktanol-woda (log K_{ow}) 0,48
- ciśnienie par 114,66 Pa (20°C)
- stała Henry'ego $24 \cdot 10^{-5} \div 30 \cdot 10^{-5}$ Pa/mol/m³ (37°C)
- gęstość d_4^{20} 0,9422 g/cm³ (20°C)
- rozpuszczalność w wodzie 106,0 mg/l (24°C)
- rozpuszcza się w: etanolu, eterze etylowym, słabo w chloroformie.

Występowanie

Nie ma dowodów na to, że *N*-nitrozodietylamina (NDEA) występuje naturalnie w: glebie, powietrzu, żywności lub wodzie.

Laboratoryjna synteza nitrozoamin polega na reakcji prekursorów nitrozoamin (zazwyczaj amin drugorzędowych) z takimi czynnikami nitrozującymi, jak tlenki azotu (ryc. 1), (ECHA 2023; PubChem 2023).

Ogólny schemat reakcji nitrozowania NDEA przedstawiono na rycinie 2.



Rycina 2. Schemat reakcji nitrozowania *N*-nitrozodietylaminy (NDEA)

Figure 2. Reaction scheme for nitrosation of *N*-nitrosodiethylamine (NDEA)

Nitrozoaminy mogą powstawać również w wyniku działania bakterii redukujących azotany (PubChem 2023). Powstają endogennie w naszym organizmie, np. w żołądku i jamie ustnej (Sedlo i in. 2021).

Obecność mieszanin nitrozoamin w środowisku człowieka nadal stanowi problem. Do najbardziej znanych źródeł narażenia na nitrozoaminy (również NDEA) należą: tytoń, wyroby gumowe (rękawiczki, balony, zabawki, smoczki do butelek dla niemowląt, prezerwatywy), produkty higieny osobistej (kremy, balsamy, szampony), płyny do cięcia metali, pestycydy i niektóre farmaceutyki. Nitrozoaminy są również obecne w żywności – mogą one powstawać podczas podgrzewania mięsa do wysokich temperatur. Ponadto nitrozoaminy, w tym NDEA, można także znaleźć w wodzie pitnej, napojach słodowych i alkoholu (AAM 2020; ECHA 2023; EPA 2016; Proksch 2001).

Najwyższe poziomy narażenia na nitrozoaminy dotyczą przemysłu gumowego (Iavicoli, Carelli 2006). Zazwyczaj narażenie to dotyczy mieszanin nitrozoamin w zależności od występujących surowców, chociaż niektóre z nich są zawsze obecne (NDMA – *N*-nitrozodimetyloamina i NDEA).

Zastosowanie

NDEA stosowana jest jako dodatek do benzyny i smarów, przeciwutleniacz, stabilizator w tworzywach sztucznych (HSDB 2009; PubChem 2023).

W przeszłości nitrozoaminy były bezpośrednio stosowane w niektórych gałęziach przemysłu (np. gumowym do wczesnych lat 80. XX wieku). Obecnie praktyka ta została w dużej mierze zaprzestana a obecność nitrozoamin wynika z niezamierzonego ich powstawania w wyniku współistnienia prekursorów (zazwyczaj amin drugorzędowych i czynników nitrozujących) w sprzyjających warunkach (ECHA 2023).

Narażenie

Populacja ogólna

Zanieczyszczenie *N*-nitrozoaminami jest powszechne. Narażenie populacji ogólnej na nitrozoaminy występuje głównie poprzez dietę, ale może nastąpić również innymi drogami, w tym poprzez emisję do powietrza, zanieczyszczone leki lub produkty higieny osobistej (tab. 2), (Gushgari, Halden 2018).

Tabela 2. Źródła narażenia na *N*-nitrozodietylaminę (NDEA)
Table 2. Sources of exposure to *N*-nitrosodiethylamine (NDEA)

Sektor przemysłowy	Proces
Narażenie zawodowe	
Gumowy	obróbka przedwulkanizacyjna (ważenie, mieszanie, formowanie), wulkanizacja, obróbka po wulkanizacji, kąpiele solne, przechowywanie
Obróbka metali	płyny do obróbki metali: stosowanie smarów chłodzących na bazie wody zawierających alkanolaminy i ich reakcja z azotynami w wodzie lub tlenki azotu (NOx) w powietrzu
Skórzany	opalenie wstępne (rozgraniczenie i odczepianie włosów)
Odlewnie (żelazo, stal)	produkcja form
Galwanotechnika	usuwanie metali z powierzchni poprzez zanurzenie artykułu w roztworze zawierającym aminy
Narażenie populacji ogólnej	
Dieta: żywność i woda pitna	spożycie przetworzonego mięsa i jego produktów. Związek obecny w wodzie pitnej, m.in. w stacjach uzdatniania (brak możliwości do zidentyfikowania związku z konkretnymi praktykami oczyszczania lub dystrybucji)
Medycyna	obecność zanieczyszczeń w lekach
Ekspozycja atmosferyczna	tworzenie się w powietrzu lub uwalnianie do powietrza w wyniku działań przemysłowych (np. w pobliżu kopalni węgla lub hut)
Pozostałe	tytoń (dym) i kosmetyki (produkty do włosów oraz kremy do ciała/twarzy)

Badanie żywności pod kątem obecności *N*-nitrozoamin wykazało ich obecność głównie w: piwie, rybach, serach, ziemniakach oraz sosie sojowym.

Pierwsze dowody na obecność *N*-nitrozoamin (*N*-NA) w serach pochodzą z późnych lat 70. XX wieku, kiedy Klein i in. (1978) wykryli znaczne ilości: NDMA, NDEA i NPYR (*N*-nitrozopirolidyna) w różnych rodzajach sera. W produkcji sera, zgodnie z obowiązującym prawodawstwem europejskim, dodatki na bazie azotanów są dozwolone w ilości do 150 mg/kg. Głównymi prekursorami tworzenia *N*-NA w serze są takie aminy *N*-nitrozowane, jak: morfolina, dimetyloamina, trimetyloamina, pirolidyna, piperydina i niektóre aminy biogenne (tj. tyramina, histamina i tryptamina). Biorąc pod uwagę dużą dostępność amin drugo- i trzeciorzędowych w tych produktach, zwłaszcza w serze dojrzewającym, możliwe jest powstawanie *N*-NA, szczególnie w przypadku dodania azotanu sodu lub potasu do mleka serowarskiego (Gloria i in. 1997).

Wielu autorów wskazuje również na obecność *N*-NA (głównie NDMA) w sosie sojowym (Park i in. 2015; Song, Hu 1988). Kim i in. (1985) i Sung i in. (1991) oznaczone w tych produktach poziomy NDMA (wynoszące $\leq 261,34$ $\mu\text{g/kg}$) przypisali wodzie wodociągowej używanej podczas produkcji i prawdopodobnie zawierającej wysoki poziom azotanów. Do tej pory wydaje się to być główną przyczyną pozostałości NDMA w sosie sojowym.

Możliwą obecność *N*-NA (głównie: NDMA, NDEA i NPYR) w warzywach, zwłaszcza warzywach liściastych i marynowanych/solonych, przypisuje się m.in. wysokiemu poziomowi azotanów, azotynów

oraz niskiemu pH (Hamlet, Liang 2017; Iammarino i in. 2014; Song, Hu 1988; Tiedink i in. 1988; Tiedink 1991). W ziemniakach, w zależności od rodzaju gotowania, oznaczone stężenia NDMA i NDEA mieściły się w zakresie $0,6 \div 8,7$ $\mu\text{g/kg}$ (Qajarbeygi i in. 2015). Możliwe zanieczyszczenie wody jest jedynym wyjaśnieniem obecności NDMA i NDEA w napojach bezalkoholowych (Jawad 2012), napojach alkoholowych innych niż piwo (NDMA, NPYR i NMOR), (Park i in. 2015) oraz napojach fermentowanych (NDMA i NPYR), (Kawabata i in. 1980). Wśród tłuszczów najczęściej badanym produktem był olej sojowy, w którym stwierdzono obecność NDMA i NDEA w ilości do 28 $\mu\text{g/kg}$ (Fiddler i in. 1981). Niektóre prace wskazują na możliwą obecność niskich poziomów NDMA i NDEA w oleju spożywczym (Fiddler i in. 1981; Hedler i in. 1979).

W dostępnym piśmiennictwie można znaleźć informacje dotyczące wpływu gotowania, smażenia, grillowania, wędzenia produktów mięsnych na poziomy różnych *N*-NA, w tym NDMA, NDEA, NPYR, NPIP i NDBA. Wyniki tych badań wskazują, że grillowanie i smażenie skutkowało najwyższymi poziomami *N*-NA. Yurchenko i Molder (2007), którzy badali powstawanie *N*-NA w mięsie drobiowym i wieprzowym po grillowaniu i smażeniu, stwierdzili wzrost średnich poziomów: NDMA, NDEA, NPYR, NPIP i NDBA z niewykrywalnego w surowym mięsie do odpowiednio: 1,5 $\mu\text{g/kg}$, 0,7 $\mu\text{g/kg}$, 15,2 $\mu\text{g/kg}$, 1,7 $\mu\text{g/kg}$ i 0,3 $\mu\text{g/kg}$ po gotowaniu. Po obróbce cieplnej ryb (smażenie, pieczenie lub gotowanie na parze) NDMA, NDEA, NDPA, NMOR i NDBA wykryto w ilości do 1,4 $\mu\text{g/kg}$ (IARC 1993).

W mleku (w szczególności w odtłuszczonej mleku suchym) poziomy NDMA dochodziły do 5,3 µg/kg (Scanlan i in. 1994).

Reasumując, większość badań dotyczących wpływu przetwarzania żywności na powstawanie *N*-NA koncentrowała się na produktach mięsnych i rybach. Najczęściej wykrywanymi związkami były: NDMA, NDEA, NPYR i NPIP. Najwyższe stężenie tych *N*-NA występowały w produktach poddanych obróbce w wysokich temperaturach, tj. grilowanie lub smażenie.

Nitrozoaminy mogą również występować w wodzie pitnej. Fan i Lin (2018) wykryli w wodzie pitnej siedem *N*-NA: NMEA, NDEA, NDMA, NDPA, NPYR, NPIP i NDBA.

Inną potencjalną drogą narażenia populacji ogólnej na nitrozoaminy są kosmetyki i produkty do pielęgnacji ciała, tj.: szampony, żele pod prysznic, balsamy do ciała, kremy, toniki. W produktach tych stężenia (m.in. NDEA) przekraczały wartość granicy wykrywalności (LOD), (Lim i in. 2018).

Według szacunków można założyć, że źródła narażenia ludzi na *N*-NA są następujące: palenie tytoniu (21 800 ng/dzień), dieta (żywność, w tym piwo i woda – ok. 3100 ng/dzień) i leki (<100 ng/dzień), (EMA 2020; Gushgari, Halden 2018).

W 2020 r. Europejska Agencja Leków (EMA) opublikowała opinię na temat obecności *N*-NA w lekach z powodu zanieczyszczonych materiałów wyjściowych lub pośrednich w syntezie aktywnych składników leków. W raporcie tym zidentyfikowano możliwe przyczyny, które mogą prowadzić do zanieczyszczenia produktów i wskazano, że poziomy tych zanieczyszczeń w produkcie końcowym nie mogą przekraczać dopuszczalnych limitów, które zostały określone dla poszczególnych *N*-NA na poziomie 96 ng/dzień dla NDMA i NMBA oraz 26,5 ng/dzień dla NDEA, EIPNA, DIPNA, MeNP i NDBA (EMA 2020).

Narażenie zawodowe

Zawodowe narażenie na *N*-NA (w tym NDEA) dotyczy różnych sektorów przemysłu (tab. 2).

Europejska Agencja ds. Substancji Chemicznych wymienia, w których gałęziach przemysłu przewiduje się, że działania (nawet przy użyciu najnowocześniejszej technologii) mogą prowadzić do powstawania i potencjalnego uwalniania rakotwórczych nitrozoamin kategorii 1A lub 1B (ECHA 2014). Są nimi:

- przemysł gumowy,
- przemysł metalowy i przemysł przetwórstwa metali,

- przemysł chemiczny wytwarzający/wykorzystujący aminy drugorzędowe,
- przemysł skórzaný,
- odlewnie i inne.

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) zakwalifikowała przemysł gumowy do grupy 1 czynników rakotwórczych, tzn. czynników o udowodnionym działaniu rakotwórczym dla człowieka (IARC 2012).

Najwyższe poziomy narażenia na nitrozoaminy dotyczą przemysłu gumowego (Iavicolo, Carelli 2006). Zwykle występują mieszaniny nitrozoamin, ale badania wskazują, że NDMA i NDEA są zawsze w nich obecne.

Amerykański Narodowy Instytut Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (NIOSH) zgłosił narażenie na nitrozoaminy pracowników zaangażowanych we wszystkich etapach przetwarzania gumy (mieszanie, kształtowanie i wulkanizację), (OSHA 1989). Narażenie na nitrozoaminy w przetwórstwie gumy zostało sklasyfikowane na trzech poziomach (Straif i in. 2000):

- wysokie narażenie: utwardzanie w kąpielach solnej, wulkanizacja,
- średnie narażenie: procesy po wulkanizacji,
- niskie narażenie: wszystkie inne obszary pracy przed wulkanizacją (np. obsługa surowców, ważenie, mieszanie, mielenie, wytlaczanie, montaż).

W ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat przemysł gumowy ograniczył potencjał tworzenia się nitrozoamin poprzez zastąpienie prekursorów nitrozoamin i czynników nitrozujących. Opracowano np. alternatywne przyspieszacze wulkanizacji. Dostępne są również alternatywne metody wulkanizacji, które zastępują kąpiele solne. Jednak wulkanizacja w kąpielach solnej jest nadal stosowana do produkcji niektórych artykułów gumowych (np. rur, uszczelek), ponieważ uważa się, że daje najlepsze wyniki.

Nitrozoaminy mogą naturalnie migrować na powierzchnię gotowych wyrobów gumowych po utwardzeniu, powodując narażenie podczas wykańczania produktu, przechowywania, transportu i użytkowania.

Za kluczowe czynniki powodujące przekroczenie niemieckich dopuszczalnych i tolerowanych stężeń dla sumy nitrozoamin uznano postępowanie z nowo zwulkanizowanymi wyrobami gumowymi oraz ich przechowywanie w słabo wentylowanych lub zamkniętych pomieszczeniach (Oury i in. 1997; Spiegelhalder 1983).

Narażenie na nitrozoaminy jest również możliwe w przemyśle chemicznym, w szczególności w zakładach produkujących aminy drugorzędowe do użytku przemysłowego (Keen i in. 2000).

Narażenie zawodowe na nitrozoaminy (głównie NDMA, ale także NDEA i NMOR) było także zgłaszane w przemyśle garbowania skór (Breuer, van Gelder 2001; Krstev i in. 2005). Narażenie na nitrozoaminy w ogólnych procesach tekstylnych może również wynikać z produkcji i obsługi tekstyliów pokrytych gumą (IARC 2018).

Nitrozoaminy (takie jak NDEA) mogą powstawać również podczas procesu galwanizacji (ECHA 2023).

W Polsce brak jest ustalonej wartości NDS. Dane o liczbie narażonych na NDEA pochodzą z Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje, Mieszaniny, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Muta-gennym w środowisku pracy (tab. 3), (Centralny Re-jestr... 2021). Łącznie w roku 2021 narażonych było 49 osób, w tym kobiety stanowiły około 84%.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE U LUDZI

Brak jest informacji na temat zatruc ludzi N-nitrozo-dietylaminą (NDEA). O ewentualnych objawach za-trucia tym związkiem można wnioskować na podsta-wie obserwacji pacjentów zatrutych innymi dialkiloni-trozoaminami (np. dimetylonitrozoaminą). Na zatrucie

dialkilonitrozoaminami mogą wskazywać, m.in.: wzrost stężenia bilirubiny, wzrost aktywności enzymów wątro-bowych, skaza krwotoczna oraz rozwój nadciśnienia wrotnego (Bruchajzer i in. 2019; Pedal i in. 1982). Ostra toksyczność dialkilonitrozoamin maleje wraz ze wzros-tem długości łańcucha związku (Shank 1975).

Badania epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie i toksykologicznych bazach naukowych brakuje danych epidemiologicz-nych związanych z narażeniem na samą NDEA.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra i przedłużona

W tabeli 4 podano wartości mediany dawki śmier-telnej (LD₅₀) dla różnych gatunków zwierząt nara-żanych na N-nitrozodietylaminę (NDEA).

NDEA można zaklasyfikować ze względu na toksyczność ostrą drogą pokarmową do kategorii 3 (zgodnie z wytycznymi z rozporządzenia CLP), tzn. jako substancję działającą szkodliwie po po-łknięciu, ponieważ wyznaczone wartości LD₅₀ po dożołądkowym podaniu zwierzętom mieszczą się w zakresie 50 ÷ 300 mg/kg mc.

Tabela 3. Liczba osób narażonych zawodowo na N-nitrozodietylaminę (NDEA) w Polsce (Centralny Rejestr... 2021)
Table 3. Number of persons occupationally exposed to N-nitrosodiethylamine (NDEA) in Poland (Central Registry ... 2021)

Rok	Liczba województw	Liczba zakładów pracy	Liczba narażonych mężczyzn	Liczba narażonych kobiet		Liczba osób narażonych ogółem
				ogółem	<45 lat	
2021	6	6	8	41	26	49

Tabela 4. Mediana dawki śmiertelnej (LD₅₀) N-nitrozodietylaminy (NDEA) dla różnych gatunków zwierząt
Table 4. Median lethal dose (LD₅₀) of N-nitrosodiethylamine (NDEA) across animal species

Droga podania	Gatunek	Wartość LD ₅₀ , mg/kg	Piśmiennictwo
Dożołądkowo	szczur	220	Schmaehli i in. 1964
	szczur	280	Lewis 2004
	kawia domowa	250	Druckery i in. 1967
Dootrzewnowo	kawia domowa	175 ÷ 200	Ton, Fong 1984
	szczur	216	Sax's dangerous... 2004
Podskórnice	chomik chiński	232	Reznik i in. 1976
	chomik europejski	250	Mohri i in. 1972b
	mysz	180	Cardesa i in. 1974
	szczur	195	Althoff i in. 1985
Dożylnie	mysz	132	Simmon i in. 1979
	szczur	216	Heath 1962
		280	Druckery i in. 1967

W tabeli 5 przedstawiono przykłady zmian wskaźników toksyczności po jednorazowym podaniu NDEA.

Bansal i in. (2000) oznaczali wskaźniki uszkodzenia wątroby i stresu oksydacyjnego w surowicy i tkankach szczurów po podaniu jednorazowej dawki NDEA (tab. 5). Najwyższa podana dawka była zbliżona do LD₅₀ wyznaczonej dla NDEA. Badania przeprowadzono po: 6 h, 12 h, 24 h i 48 h od podania związku. W wątrobie znamieny wzrost peroksydacji lipidów (LPO) był obserwowany po wszystkich dawkach NDEA (50 ÷ 200 mg/kg mc.). Zmiany aktywności dysmutazy nadkieskowej (SOD), katalazy (CAT), reduktazy glutationowej (GSH-R) statystycznie istotne były tylko po dawce najwyższej (200 mg/kg mc.). W nerkach najistotniejsze zmiany zanotowano dla GSH-R. Natomiast wpływ NDEA na badane wskaźniki był bardziej zauważalny w surowicy. Zwiększenie aktywności AST, ALT i ALP było statystycznie istotne

po wszystkich dawkach. Autorzy pracy uważają, że NDEA podana w dawce jednorazowej może indukować stres oksydacyjny w tkankach szczurów.

Rajesh i Perumal (2013) po jednorazowym podaniu NDEA (tab. 5) obserwowali badane szczury przez 16 tygodni. W tym czasie nie stwierdzili padnięć zwierząt. Po 16 tygodniach przeprowadzono badania poziomu wskaźników uszkodzenia wątroby (ALT, ALP i GGT), stresu oksydacyjnego (SOD, CAT, GSH-Px, GSH-R, GST, GSH) i kancerogenezy (AFT, CEA). Zanotowane zmiany wskaźników były statystycznie znamienne.

Latief i in. (2016) przeprowadzili ocenę histopatologiczną wątroby szczurów po jednorazowym podaniu NDEA (14 dni po podaniu związku). W wątrobie stwierdzono: stan zapalny, aktywację komórek gwiaździstych, depozyty kolagenu, okołoportalowe i pomostowe zwłóknienia. Natomiast w ocenie makroskopowej wątroby zanotowano: żółtozielone zabarwienie

Tabela 5. Skutki narażenia obserwowane u zwierząt po jednorazowym podaniu N-nitrozodietylaminy (NDEA)
Table 5. Exposure effects observed in animals after a single administration of N-nitrosodiethylamine (NDEA)

Gatunek zwierząt, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Wistar, ♂ n = 6/grupę	1 x i.p. dawki: 0 (kontrola); 50; 100; 200 mg/kg mc. po 50 i 100 mg/kg mc. obserwacja do 24 h; po 200 mg/kg mc. do 48 h	wątroba – zwiększenie względnej masy wątroby (po dawce najwyższej NDEA), zwiększenie peroksydacji lipidów i aktywności SOD (po wszystkich dawkach) oraz GSH-R (po dawce najwyższej), zmniejszenie aktywności CAT (po dawce najwyższej) nerka – zwiększenie aktywności SOD i GSH-R (po wszystkich dawkach) śledziona – zwiększenie względnej masy śledziony (po dawce najwyższej) surowica – zwiększenie aktywności AST, ALT i ALP (po wszystkich dawkach) oraz zwiększenie stężenia BUN i kreatyniny (po dawce najwyższej)	Bansal i in. 2000
Szczury (albinosy), ♂ n = 6/grupę	1 x i.p. dawki: 0 (kontrola); 200 mg/kg mc. obserwacja do 16 tygodni	wątroba – zwiększenie względnej masy i peroksydacji lipidów, zmniejszenie aktywności SOD, CAT, GSH-Px, GSH-R i GST, zmniejszenie stężenia GSH oraz witamin C i E surowica – zwiększenie: aktywności AST, ALT, ALP, GGT oraz poziomu AFP i CEA, zmniejszenie stężenia TB	Rajesh i Perumal 2013
Szczury Wistar (albinosy), ♂ n = 5	1 x i.p. dawka: 1-procentowy roztwór w soli fizjologicznej, podano 10 cm ³ /kg mc., obserwacja 14 dni	wątroba – zwiększenie względnej masy i peroksydacji lipidów, zmniejszenie aktywności SOD i ATPazy surowica - zwiększenie aktywności AST, ALT, ALP i GGT oraz poziomu TSB	Latief i in. 2016
Szczury Wistar, ♂ n = 5/grupę	1 x i.p. dawki: 0 (kontrola); 100 mg/kg mc. obserwacja 7 lub 14 dni	wątroba – zwiększenie peroksydacji lipidów i aktywności COX-2, zmniejszenie aktywności SOD i ATP-azy oraz zmniejszenie poziomu glikogenu	Mukherjee, Ahmad 2018
Szczury Wistar (albinosy), ♂ n = 10/grupę	1 x i.p. dawki: 0 (kontrola); 100 mg/kg mc. obserwacja 7 dni	wątroba, żóładek, okrężnica – zwiększenie poziomu IL-1β, TNF-α, AFP, MDA i NOx oraz zmniejszenie Nrf2 i GSH surowica – zwiększenie aktywności AST i ALT	Mansouri i in. 2019
Myszy BALB/c, ♂ n – brak danych	1 x i.p. dawki: 0 (kontrola); 10 mg/kg mc. obserwacja 24 h	wątroba – zwiększenie aktywności AST, ALT i ALP oraz poziomu LPO i ROS, zmniejszenie aktywności GSH-R, GSH-Px, SOD oraz kompleksu I (oksydoreduktaza NADH-ubichinon) i II (dehydrogenaza bursztynianowa), zmniejszenie poziomu GSH	Shetty i in. 2021

Objaśnienia:
♂ – samiec.
i.p. – podanie dootrzewnowe.
n – liczba zwierząt w grupie.
Objaśnienia pozostałych skrótów w „Wykazie skrótów stosowanych w dokumentacji”.

i obkurczenie narządu, zmiany krwotoczne, blizny i struktury guzkowate. Zmiany oznaczonych wskaźników biochemicznych (statystycznie znamienne), (tab. 5) wskazują na uszkodzenie wątroby i indukcję stresu oksydacyjnego po podaniu szczurom NDEA.

Mukherjee i Ahmad (2018) po jednorazowym podaniu NDEA w dawce 100 mg/kg mc. oznaczali wskaźniki biochemiczne i oceniali histopatologicznie wątrobę szczurów po 7 i 14 dniach od podania związku (tab. 5). Zmiany wskaźników były znamienne statystycznie. Po 14 dniach były one bardziej nasilone niż po 7. W ocenie histopatologicznej zaobserwowano: znaczne uszkodzenie mięszu, naciek neutrofilowy oraz zmiany krwotoczne (o średnim stopniu nasilenia) z wyraźnie poszerzoną żyłą centralną. Zmiany te były bardziej nasilone po 14 dniach od podania NDEA.

Mansour i in. (2019) przeprowadzili ocenę zmian markerów biochemicznych w wątrobie, żołądka i okrężnicy szczurów po jednorazowym podaniu NDEA w dawce 100 mg/kg mc. (tab. 5). Dawkę tę autorzy pracy uznali za nekrogeną. Oznaczenia markerów i ocena histopatologiczna tkanek była

przeprowadzona po 7 dniach po podaniu NDEA. Zmiany markerów zanotowano we wszystkich badanych tkankach i były one statystycznie znamienne różne w porównaniu z grupą kontrolą. Ocenie histopatologicznej poddano wątrobę i zaobserwowano: nacieki zapalne, zwłóknienia i zwyrodnienie hepatocytów.

Shetty i in. (2021) podali myszom NDEA w dawce 10 mg/kg mc. (tab. 5). Zmiany aktywności AST i ALT wskazywały na uszkodzenie wątroby, jednak w badaniach histopatologicznych uszkodzeń narządu nie zanotowano. Zwiększenie poziomu LPO i ROS, zmniejszenie aktywności GSH-R, GSH-Px, SOD oraz zmniejszenie poziomu GSH wskazywały na nasilenie stresu oksydacyjnego w komórkach wątroby. Na zwiększenie stresu oksydacyjnego w mitochondriach komórek wątroby wskazywały również poziomu ROS oraz aktywności kompleksu I i II. W tej pracy to odpowiednio oksydoreduktaza NADH-ubichinonu i dehydrogenaza bursztynianowa.

W tabeli 6 podano skutki narażenia zwierząt po wielokrotnym podaniu NDEA (toksyczność krótkoterminowa).

Tabela 6. Skutki wielokrotnego narażenia zwierząt na N-nitrozodietylaminę (NDEA)

Table 6. Effects of repeated exposure of animals to N-nitrosodiethylamine (NDEA)

Gatunek zwierząt, płeć, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy Swiss (albinosy), ♂ n = 12/grupę	3 × p.o., 1 raz w tygodniu dawki: 0 (kontrola); 100 mg/kg mc. po 12 tygodniach wykonano oznaczenia	wątroba – zmniejszenie aktywności SOD, CAT, GST, GSH-R i poziomu GSH; zwiększenie aktywności ALT, AST, ALP i poziomu MDA; test kometowy limfocytów i komórek wątroby – wydłużenie ogona komety	Bilal i in. 2017
Myszy B6C3F1, ♀ n – brak danych	7 × i.p. dawki: 0 (kontrola), 16, 24, 48 mg/kg mc.; po ostatniej dawce myszy immunizowano, podając 1 × 10 ⁸ sRBC (i.v.) po 4 dniach wykonano oznaczenia	zmniejszenie: masy ciała oraz względnej masy: wątroby, śledziony, grasicy (zmiany zależne od dawki); zahamowanie odpowiedzi przeciwciał zależnych od T-limfocytów po dawkach 24 i 48 mg/kg mc. NOAEL – 16 mg/kg mc.	Kaminski i in. 1989
Szczury Wistar, ♂ n = 5	w wodzie do picia – 0,1 mg/ml przez 21 dni (oznaczenia po ostatniej dawce)	wątroba – zwiększenie peroksydacji lipidów i poziomu białek karbonylowanych; w teście kometowym komórek wątroby - wydłużenie ogona komety; zwiększenie częstości występowania mikrojąder w hepatocytach surowica – zwiększenie aktywności AST, ALT, ALP i LDH	Siddique, Ali 2016
Myszy ICR, ♂ n = 6/grupę	28 × i.p. dawki: 0 (kontrola); 50 mg/kg mc.	zmniejszenie masy ciała wątroba – zwiększenie: względnej masy narządu, aktywności ALT, LDH, COX-2, MMP-9, poziomu HSP-70 i NF-κB; zmniejszenie aktywności SOD i GSHPx osocze – zwiększenie poziomu TBARS	Lee, Lim 2011

Objaśnienia:

♀ – samica.

♂ – samiec.

i.p. – podanie dootrzewnowe.

p.o. – podanie dożołądkowe.

n – liczba zwierząt w grupie.

Objaśnienia pozostałych skrótów w „Wykazie skrótów stosowanych w dokumentacji”.

Bilal i in. (2017) badali wpływ NDEA na wątrobę myszy. Zanotowano statystycznie znamienne zmiany wskaźników uszkodzenia wątroby i stresu oksydacyjnego (tab. 6). Wyniki testu kometowego (wykonanego dla komórek wątroby) wskazują na wzrost uszkodzeń DNA w porównaniu z grupą kontrolną (wydłużenie ogona komety).

Ocenę immunotoksycznego działania szeregu nitrozoamin, w tym NDEA, przeprowadzili Kaminski i in. (1989). Związek podawano w dawkach: 0 (kontrola); 16 mg/kg mc., 24 mg/kg mc. lub 48 mg/kg mc. (tab. 6). Stwierdzono zmniejszenie masy ciała zwierząt i zwiększenie względnej masy: wątroby, śledziony i grasicy. Dla oceny immunotoksyczności NDEA zwierzęta immunizowano, podając dożylnie, jednorazowo 1×10^8 sRBC/mysz (sRBC, *sheep red blood cells* – czerwone krwinki owcy). Odnotowano zahamowanie odpowiedzi przeciwciał zależnych od T-limfocytów po dawkach 24 mg/kg mc. i 48 mg/kg mc. (odpowiednio o 61% i 82%). Dawkę 16 mg NDEA/kg mc. można przyjąć za NOAEL dla działania immunotoksycznego związku. W badaniach histopatologicznych wątroby stwierdzono łagodne zapalenie wątroby (*mild hepatitis*) po dawkach 24 mg NDEA/kg mc. i 48 mg NDEA/kg mc.

Podawanie szczurom NDEA w wodzie do picia przez 21 dni spowodowało statystycznie znamienne zwiększenie aktywności: ALT, AST, ALP i LDH, a także nasilenie peroksydacji lipidów i peroksydacji białek (białka karbonylowane), (Siddique, Ali 2016). Obserwowano również zwiększenie uszkodzeń DNA w komórkach wątroby i limfocytach oraz zwiększoną liczbę mikrojąder po podaniu NDEA.

Poziomy wskaźników kancerogennego działania (HSP-70, MMP-9, NF-κB) zwiększyły się po podawaniu myszom NDEA w dawce 50 mg/kg mc. przez 28 dni (tab. 6), (Lee, Lim 2011).

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Ali i in. (2019) podawali szczurom NDEA drogą dootrzewnową 1 raz w tygodniu przez 8 tygodni (tab. 7). Obserwowali typowe dla uszkodzenia wątroby zmiany wskaźników biochemicznych. W badaniu histopatologicznym stwierdzono raka wątrobowokomórkowego z powiększonymi hiperchromatycznymi jądrami i rozsianą mitozą.

Ze zmianami wskaźników stresu oksydacyjnego i uszkodzenia wątroby szczurów eksponowanych na NDEA przez 16 tygodni (tab. 7) skorelowane były uszkodzenia komórek wątroby. Histopatologicznie zaobserwowano, że komórki utraciły typową budowę: komórki nowotworowe były mniejsze i zawierały ziarnistą cytoplazmę oraz duże hiperchromatyczne jądra (Sivaramakrishnan i in. 2008).

Podawanie szczurom NDEA w wodzie do picia przez 16 tygodni (tab. 7) spowodowało zmiany w obrazie krwi, poziomów wskaźników uszkodzenia wątroby i markerów kancerogenezy (Vidya i in. 2022). Ocenie histopatologicznej poddano wątrobę i nerki szczurów. W wątrobie stwierdzono utratę typowej budowy oraz zmienione nowotworowo hepatocyty. W nerkach zanotowano przekrwienie naczyń krwionośnych i nacieki zapalne.

U narażonych na NDEA szczurów Velu i in. (2016) zanotowali znamienne statystycznie zmiany wskaźników peroksydacji lipidów, stresu oksydacyjnego i uszkodzenia wątroby. Zmiany nowotworowe stwierdzono u wszystkich zwierząt otrzymujących NDEA (tab. 7).

Fukuschima i in. (2002; 2016) badali wpływ niskich stężeń NDEA w wodzie do picia na liczbę ognisk GST-P. Liczba ognisk GST-P (*positive foci*) w wątrobie szczurów oceniana była metodą immunohistochemiczną. Szczury narażane były na NDEA przez okres 16 tygodni. Po dawkach najniższych (stężeniach w wodzie) nie obserwowano zmian w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej. Po stężeniach w wodzie 0,1 ppm i 1,0 ppm (dawkach 0,425 mg/kg mc./dzień i 4,25 mg/kg mc./dzień) wzrost liczby ognisk GST-P był znamienne wyższy niż w grupie kontrolnej. Po najwyższej dawce zmiany były tak nasilone, że nie można było ocenić ich ilościowo. Wzrost ognisk GST-P w wątrobie szczurów uważany jest za wskaźnik zmian przednowotworowych.

Wills i in. (2006) podawali szczurom NDEA w wodzie do picia przez 20 tygodni. Zanotowano znamienne zwiększenie aktywności AST, ALT, LDH i GGT oraz poziomu MDA, zmianom tym towarzyszył spadek poziomu GSH (tab. 7). Istotną obserwacją wynikającą z badań jest znamienne zwiększenie poziomu: Ang-1, Ang-2 i VEGF, wskaźników nowotworzenia. Badania histopatologiczne potwierdziły występowanie zmian w wątrobie – nieregularnie uformowane płytki komórkowe i ogniska komórek zmienionych martwiczo.

Tabela 7. Skutki narażenia obserwowane u zwierząt po wielokrotnym podaniu N-nitrozodietyloaminy (NDEA), (toksyczność podprzewlekła i przewlekła)

Table 7. Exposure effects observed in animals after repeated administration of N-nitrosodiethylamine (NDEA) (subchronic and chronic toxicity)

Gatunek zwierząt, płeć, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury (albinosy), ♂ n = 8/grupę	i.p., 1 × na tydzień w ciągu 8 tygodni dawki: 0 (kontrola); 200 mg/kg mc.	wątroba – zwiększenie względnej masy wątroby, zmniejszenie poziomu glukozy, białka całkowitego i albuminy surowica – zwiększenie aktywności AST, ALT, ALP i GGT	Ali i in. 2019
Szczury Wistar (albinosy), ♂ n = 6/grupę	p.o., przez 16 tygodni w wodzie do picia dawki: 0 (kontrola); 200 mg/kg mc.	zmniejszenie masy ciała wątroba – zwiększenie poziomu MDA, zmniejszenie: aktywności SOD, CAT, GSH-Px, GST, GSH-R i poziomu GSH surowica – zwiększenie aktywności AST, ALT, ALP, LDH, GGT oraz poziomu AFP i CEA, zmniejszenie: aktywności SOD, CAT, GSH-Px, GST, GSH-R i poziomu GSH	Sivaramakrishnan i in. 2008
Szczury (albinosy), ♂ n = 6	p.o., przez 16 tygodni w wodzie do picia stężenie – 0,01%	krew – zwiększenie liczby WBC, zmniejszenie liczby RBC, PLTS i stężenia Hb surowica – zwiększenie aktywności ALP, LDH, GGT, 5'-NT i zmniejszenie aktywności AST, ALT	Vidya i in. 2022
Szczury (albinosy), ♂ n = 6	p.o., przez 16 tygodni w wodzie do picia stężenie – 0,01%	wątroba – zwiększenie: względnej masy wątroby i poziomu TBARS, LOOH, CD surowica – zwiększenie: aktywności AST, ALT, ALP, LDH, GGT, poziomu TBARS i zmniejszenie aktywności SOD, CAT, GSH-Px, GSH-R, GST	Velu i in. 2016
Szczury F344, ♂ grupy badane n = 151 ÷ 326 grupa kontrolna – n = 325	p.o., przez 16 tygodni w wodzie do picia stężenie – 0 (kontrola); 0,0001; 0,001; 0,01; 0,1; 1,0; 10,0 ppm, co odpowiada dawkom: 0 (kontrola); 0,000425; 0,0,00425; 0,0425; 0,425; 4,25; 42,5 mg/kg mc./dzień	wątroba – w zakresie stężeń 0,0001 ÷ 0,01 ppm w wodzie (dawki 0,000425 ÷ 0,0425 mg/kg mc./dzień), nie obserwowano wzrostu liczby ognisk (<i>positive foci</i>) GST-P Po stężeniach 0,1 i 1,0 ppm (dawkach 0,425 i 4,25 mg/kg mc./d) wzrost liczby skupisk GST-P był znamienne wyższy niż w grupie kontrolnej NOAEL – 0,01 ppm (0,0425 mg/kg mc./dzień)	Fukushima i in. 2002; 2016
Szczury Wistar (dowolnej płci) n = 6	p.o., przez 5 dni w tygodniu (20 tygodni) w wodzie do picia stężenie – 0,02%	wątroba – zmniejszenie poziomu GSH i zwiększenie poziomu MDA, Ang-1, Ang-2, VEGF surowica – zwiększenie aktywności AST, ALT, LDH, GGT	Wills i in. 2006

Objaśnienia:
♂ – samiec.
i.p. – podanie dostrzewnowe.
p.o. – podanie dożołądkowe.
n – liczba zwierząt w grupie.
Objaśnienia pozostałych skrótów w „Wykazie skrótów stosowanych w dokumentacji”.

Podsumowanie toksyczności NDEA dla zwierząt:

- NDEA podana jednorazowo szczurom i myszom powodowała znamienne zmiany wskaźników uszkodzenia wątroby (np.: AST, ALT, LDH, GGT) i stresu oksydacyjnego (np.: CAT, SOD, GSH, GSH-R), (tab. 5). Podsumowując, NDEA podana zwierzętom jednorazowo może uszkadzać wątrobę i indukować stres oksydacyjny,
- wydłużenie czasu narażenia zwierząt na NDEA skutkowało również uszkodzeniem wątroby i indukcją stresu oksydacyjnego. Uszkodzenie wątroby w większości przypadków potwierdzone było badaniami

histopatologicznymi. Przedłużenie narażenia spowodowało także uszkodzenie DNA (test kometowy) i zmiany wskaźników kancerogenezy (np.: MMP-9, NF-κB, HSP-70). NDEA może działać jako substancja immunotoksyczna (tab. 6 i 7),

- obserwowane zmiany nie zależały od drogi podania NDEA.

Po wielokrotnym podawaniu zwierzętom NDEA notowane były zmiany nowotworowe, które zostały opisane w podrozdziale „Działanie rakotwórcze na zwierzęta”.

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA
TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Informacje na temat działania genotoksycznego *N*-nitrozodietyloaminy (NDEA) u ludzi dotyczą badań przeprowadzonych przez *Li i in.* (2011). Autorzy badali związek pomiędzy czynnikami uszkadzającymi DNA a średnią długością telomerów w DNA krwi obwodowej. Badanie przeprowadzono wśród 166 osób (Szwecja) narażonych na nitrozoaminy (suma różnych związków, m.in. NDEA) w 8 różnych zakładach zaangażowanych w proces wulkanizacji.

Li i in. (2011) wykazali związek między narażeniem inhalacyjnym na łącznie osiem nitrozoamin (NDMA, NDEA, NMOR, NPIP, NDBA, NPYR, NMEA, NDPA) u pracowników przemysłu gumowego a zmniejszoną długością telomerów w DNA krwi obwodowej.

NDEA była badana pod kątem genotoksyczności zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*, uzyskując w większości badań pozytywne wyniki.

Wyniki badań działania genotoksycznego NDEA przeprowadzonych w warunkach *in vitro* przedstawiono w tabeli 8. Na podstawie wyników badań wykazano zwiększoną częstość występowania mutacji w testach z udziałem bakterii, drożdży

Tabela 8. Działanie genotoksyczne *N*-nitrozodietyloaminy (NDEA) w badaniach przeprowadzonych w warunkach *in vitro*
Table 8. Genotoxic effect of *N*-nitrosodiethylamine (NDEA) in studies conducted in vitro

Rodzaj testu	Organizm testowany	Dawka/ stężenie	Wynik doświadczenia		Piśmiennictwo
			z aktywacją	bez aktywacji	
Mutacje genowe	<i>Salmonella</i> Typhimurium	bd.	+	bd.	<i>Bartsch i in.</i> 1975; 1976; <i>Malling</i> 1974; <i>Sugimura i in.</i> 1976
		0,52 ÷ 25,5 µg/ płytkę	+	–	<i>Aiub i in.</i> 2003
		bd.	+	bd.	<i>El Torkey</i> 1983
	<i>Escherichia coli</i>	bd.	+	bd.	<i>Nakajima i in.</i> 1974
		bd.	–	–	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	bd.	+	–	<i>Brusick, Andrews</i> 1974; <i>Mayer</i> 1971
		bd.	bd.	–	<i>Marquardt i in.</i> 1964
	Komórki V79 chomika chińskiego	50 mM	+	–	<i>Kuroki i in.</i> 1977
		10; 50; 100 i 500 g/ml	+	bd.	<i>Kato i in.</i> 1982
Aberracje chromosomowe	fibroblasty płucne chomika chińskiego	do 1000 µg/ml	+	–	<i>Lee, Lee</i> 1998
	komórki jajnika chomika chińskiego	bd.	+	bd.	<i>Natarajan i in.</i> 1976
Mikrojądra	limfoblasty ludzkie (TK6)	0,05; 0,1; 1,5 i 10 mM	nb.	–	<i>Liviaci in.</i> 2011
Wymiana chromatyd siostrzanych	komórki jajnika chomika chińskiego	bd.	+	bd.	<i>Natarajan i in.</i> 1976
Nieplanowa synteza DNA	szczury (wątroba i krew)	0,0001; 0,001 i 0,01 M	nb.	+	<i>Klaunig i in.</i> 1984
Uszkodzenie DNA	limfoblasty ludzkie (TK6)	0,05; 0,1; 1,5 i 10 mM	+	–	<i>Liviaci in.</i> 2011

Objaśnienia:
(+) – wynik pozytywny.
(–) – wynik negatywny.
bd. – brak danych.
nb. – nie badano.

i komórek ssaków inkubowanych z NDEA z aktywnością metaboliczną. Wzrost częstości aberracji chromosomalnych został zaobserwowany w komórkach jajnika chomika chińskiego. Podobnie jak w przypadku oznaczeń mutacji, pozytywne wyniki były obserwowane w obecności egzogennej aktywności metabolicznej. Badanie w warunkach *in vitro* dotyczące testu mikrojądrowego (wykonane bez aktywacji metabolicznej) dało wynik negatywny. Pozytywne wyniki uzyskano w testach oceniających uszkodzenie DNA. W badaniach w warunkach *in vitro* wykazano, że NDEA indukuje wymianę chromatyd siostrzanych, nieplanową syntezę DNA oraz uszkodzenia DNA (tab. 8).

Wyniki badań w warunkach *in vivo* dostarczyły dodatkowych dowodów na genotoksyczność NDEA. Narażenie na związek spowodowało:

- mutacje w wątrobie, krwi, szpiku kostnym szczurów,
- aberracje chromosomalne w wątrobie szczurów,
- tworzenie mikrojąder w wątrobie i przełyku szczurów, wątrobie i jądrach myszy.

Podsumowując, aktywność mutagenna i genotoksyczna NDEA została zaobserwowana w wielu badaniach w warunkach *in vitro* i *in vivo* u szczurów, myszy, chomików oraz w takich tkankach, jak: wątroba, płuca, nerki, przełyk, szpik kostny, krew. Najczęściej pozytywne wyniki uzyskano w badaniach mutacji genów w warunkach *in vitro* z aktywacją metaboliczną. Pozytywne wyniki zaobserwowano również w badaniach oceniających aberracje chromosomowe, indukcję mikrojąder, wymianę chromatyd siostrzanych oraz uszkodzenia DNA zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*. Na podstawie wyników badań wykazano, że NDEA jest genotoksyczna w obecności aktywacji metabolicznej. Wyniki badań przedstawiono w tabelach 8 i 9.

Buist i in. (2015) uszeregowali związki N-nitrozowe pod względem ich potencjału mutagennego. Potencjał mutagenny został wyrażony na podstawie testu Amesa w ilości rewertantów/μmol. Dla NDEA parametr ten jest najwyższy (330 ÷ 110 000), co klasyfikuje ją jako najbardziej mutagenną nitrozoaminę.

Zgodnie z oczekiwaniami wynikającymi ze znajomości struktury i aktywności, wśród nitrozoamin bardziej genotoksyczne i mutagenne są związki z grupami dimetylowymi i dietylowymi, chociaż

siła działania genotoksycznego/mutagennego nie zawsze odzwierciedla siłę działania rakotwórczego. Uzyskano przekonujące dowody na wysoką mutagenność, jak również rakotwórczość dla NDEA, NDMA i NMEA.

Działanie rakotwórcze

Działanie rakotwórcze u ludzi

Ocenę działania rakotwórczego nitrozoamin (w tym również NDEA) można przeprowadzić na podstawie:

- narażenia inhalacyjnego pracowników (przede wszystkim przemysłu gumowego oraz narażonych na płyny stosowane do obróbki metali),
- narażenia drogą pokarmową po spożyciu skażonej żywności,
- stosowania kosmetyków zawierających nitrozozwiązki,
- przyjmowania zanieczyszczonych leków.

W przemyśle notowane jest narażenie na mieszaninę N-nitrozoamin, która często jest również zanieczyszczona innymi związkami. W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych na temat występowania u ludzi nowotworów w wyniku narażenia zawodowego jedynie na N-nitrozodietylaminę. W takich warunkach trudno jest określić, czy występująca w mieszaninie NDEA odpowiada za powstawanie zmian nowotworowych u ludzi. O ewentualnym działaniu rakotwórczym NDEA w warunkach narażenia zawodowego można wnioskować na podstawie uszkodzenia DNA w kulturach ludzkich limfoblastach (tab. 8) oraz badań na zwierzętach.

Zheng i in. (2019; 2021) przeanalizowali występowanie zmian nowotworowych w trzustce i wątrobie pacjentów amerykańskich szpitali w zależności od zanieczyszczeń spożywanej żywności. Ilość i rodzaje żywności (pochodzenia roślinnego lub zwierzęcego) oceniano na podstawie ankiet wypełnionych przez pacjentów. Żywność pochodzenia roślinnego uważana jest za żywność zawierającą mniej nitrozoamin niż żywność pochodzenia zwierzęcego. Najwyższe stężenia nitrozoamin stwierdzano w: parówkach, bekonie i szynce. W przypadku obu badań grupy kontrolne (tab. 10) stanowiły osoby, u których nie stwierdzano zmian nowotworowych. Do grupy badanej (na podstawie dokumentacji szpitalnej) zaliczono pacjentów ($n = 957$) ze zdiagnozowanym gruczolakiem

Tabela 9. Działanie genotoksyczne N-nitrozodietylaminy (NDEA) w badaniach przeprowadzonych w warunkach in vivo
Table 9. Genotoxic effect of N-nitrosodiethylamine (NDEA) in studies conducted in vivo

Rodzaj testu	Organizm testowany	Dawka/stężenia, czas narażenia	Wynik	Piśmiennictwo
Mutacje genowe	myszy	bd.	–	Propping i in. 1972
		bd.	+	Mailing, Frantz 1973
	szczury (wątroba)	0,1;1; 2 i 10 ppm (woda pitna)	+	Akagii in. 2015
	szczury (krew)	5 i 10 mg/kg/dzień 28 dni (dożołądkowo)	–	Shii in. 2011
	szczury (krew, szpik)	do 12,5 mg/kg/dzień 28 dni (dożołądkowo)	+	Avlasevich i in. 2014
	szczury (krew)	5; 10 lub 15 mg/kg/dzień 28 dni (dożołądkowo)	+	Khanali in. 2018
Aberracje chromosomowe	szczury (wątroba)	bd.	+	Hitachi i in. 1974 Grover, Fischer 1971
	szczury (wątroba)	0,5 ÷ 4,0 mg/kg	+	Horiuchi i in. 1984
Mikrojądra	szczury (wątroba)	3,4; 23,5 lub 55,1 mg/kg (1 × dootrzewnowo)	+	Mehta i in. 1987
	szczury (przełyk)		+	
	myszy (wątroba)	bd.	+	Cliet i in. 1989
	myszy (jądra)	bd.	+	Cliet i in. 1993
	szczury (krew obwodowa)	5 i 10 mg/kg/dzień 28 dni (dożołądkowo)	–	Shii in. 2011
	szczury (wątroba)	6,25 i 12,5 mg/kg 5; 14 lub 28 dni (dożołądkowo)	+	Narumii in. 2012
	szczury (wątroba)	6,25 i 12,5 mg/kg 15 lub 28 dni (dożołądkowo)	+	Hagio i in. 2014
	szczury (krew obw.)		–	
	szczury (szpik)	do 12,5 mg/kg/dzień 28 dni (dożołądkowo)	–	Avlasevich i in. 2014
	szczury (wątroba)	0,1 mg/ml 21 dni (woda do picia)	+	Siddique i Ali 2016
	szczury (wątroba)	5; 10 lub 15 mg/kg/dzień 28 dni (dożołądkowo)	+	Khanali in. 2018
	szczury (krew obw.)		–	
Wymiana chromatyd siostrzanych	chomiki (szpik kostny)	bd.	–	Bayer i in. 1978
Uszkodzenie DNA	szczury (wątroba, krew)	5 i 10 mg/kg/dzień 28 dni (dożołądkowo)	+	Shii in. 2011
	szczury (wątroba, nerki)	6,25 i 12,5 mg/kg 15 lub 28 dni (dożołądkowo)	+	Hagio i in. 2014

Objaśnienia:
(+) – wynik pozytywny.
(–) – wynik negatywny.
bd. – brak danych.
nb. – nie badano.

przewodowym trzustki (*pancreatic ductal adenocarcinomas*), (Zheng i in. 2019). Zwiększone ryzyko zmian w trzustce zależne było zarówno od zawartości NDEA w żywności pochodzenia roślinnego (OR – 1,93; 95% CI – 1,44 ÷ 2,60), jak i pochodzenia zwierzęcego (OR – 1,35; 95% CI – 1,03 ÷ 1,78). Po analizie zawartości NDEA łącznie w żywności pochodzenia roślinnego i zwierzęcego ryzyko wystąpienia raka w trzustce również było zwiększone – OR – 2,28 (95% CI – 1,71 ÷ 3,04), (tab. 10). W przypadku drugiego badania w grupie badanej byli pacjenci ($n = 827$) z rozpoznanym rakiem wątrobowokomórkowym (*hepatocellular carcinoma*), (Zheng i in. 2021). Zwiększone ryzyko wystąpienia raka w wątrobie skorelowane było jedynie

z zawartością NDEA w żywności pochodzenia roślinnego (tab. 10).

Analizę zawartości różnych nitrozoamin (w tym NDEA) w kosmetykach przeprowadzili Lim i in. (2018). NDEA stwierdzono w żelach pod prysznic, szamponach, produktach do stylizacji włosów, balsamach, kremach do rąk i twarzy, tonikach. Na podstawie otrzymanych wyników badań obliczono całonocne ryzyko powstawania raka (LCR – *lifetime cancer risk*). Największe całonocne ryzyko powstania raka zanotowano po stosowaniu kremów do rąk i twarzy $LCR = 0,26 - 0,38 \times 10^{-5}$, po używaniu pozostałych przebadanych kosmetyków ryzyko oceniono na $LCR = 0,14 - 0,66 \times 10^{-6}$.

Tabela 10. Badania epidemiologiczne (*case-control studies*) oceniające występowanie zmian nowotworowych w zależności od zanieczyszczenia żywności N-nitrozodietylaminą (NDEA)

Table 10. Epidemiological studies (*case-control studies*) assessing the incidence of cancerous lesions in relation to food contamination with N-nitrosodiethylamine (NDEA)

Państwo	Grupa badana, n	Grupa kontrolna, n	Lokalizacja nowotworu; ryzyko (95% CI)	Czynniki zakłócające	Piśmiennictwo
USA	957	938	trzustka OR – 2,28 CI – 1,71 ÷ 3,04	wiek, płeć, rasa, wykształcenie, BMI, alkohol, cukrzyca	Zheng i in. 2019
USA	827	1013	wątroba OR – 1,10 CI – 0,72 ÷ 1,69	wiek, płeć, rasa, wykształcenie, BMI, alkohol, palenie, cukrzyca, HCV, HBV, ilość spożywanych kalorii	Zheng i in. 2021

Objaśnienia:
n – liczba zwierząt w grupie.
CI – przedział ufności.
OR – iloraz szans (*odds ratio*).
BMI – wskaźnik masy ciała (*body mass index*).
HCV – wirus zapalenia wątroby typu C.
HBV – wirus zapalenia wątroby typu B.

NDEA wykryto w preparatach Valsartanu (160 mg) w ilości 1,31 µg/tabletkę (Li i in. 2021). Potencjał rakotwórczy NDEA został oszacowany na podstawie badań na zwierzętach (Peto i in. 1984) zgodnie z California Proposition 65 na 36 mg/kg/dzień (OEHHA 1988) oraz przez US EPA na 150 mg/kg/dzień (US EPA 2003). Dla oceny ryzyka powstania dodatkowego raka wątroby przyjęto: oznaczone stężenie NDEA w 1 tabletkce Valsartanu, obliczone obie wartości potencjału rakotwórczego NDEA, liczbę tabletek przyjmowanych przez pacjenta w ciągu dnia (2), czas życia pacjenta (70 lat), okres przyjmowania Valsartanu (6 lat), masa ciała pacjenta (70 kg), (Li i in. 2021). Założono również, że Valsartan jest zanieczyszczony tylko jedną nitrozoaminą. Dla wartości potencjału rakotwórczego 36 mg/kg/dzień dodatkowe ryzyko wynosi 12/100 000, dla potencjału 150 mg/kg/dzień dodatkowe ryzyko wynosi 48/100 000 (Li i in. 2021).

Działanie rakotwórcze na zwierzęta

Badanie działania rakotwórczego NDEA sprawdzono na wielu gatunkach zwierząt i po podaniu różnymi drogami. Bogowski i Bogowski (1981) stwierdzili, że działanie to sprawdzono na 26 gatunkach zwierząt. W tabelach 11-14 przedstawiono przykłady uzyskanych wyników badań.

Po jednorazowym, dożylnym podaniu NDEA w dawkach 1,25 ÷ 160 mg/kg mc. (tab. 11) Mohr i Hilfrich (1972) zaobserwowali gruczolaki i raki w nerkach szczurów zarówno u samic, jak i samców. Po dawkach 1,25 ÷ 20 mg MDEA/kg mc. były to tylko gruczolaki, a po dawkach 40,0 ÷ 160 mg NDEA/kg mc. – gruczolaki i raki. Po dawce 80 mg/

kg mc. u samic stwierdzono również nowotwór złośliwy mezenchymalny.

Samcom i samicom szczurów podawano NDEA w wodzie do picia, zwierzęta otrzymywały dawki w zakresie 0,075 ÷ 0,600 mg/kg mc./dzień przez cały okres życia (tab. 11), (DGF 1991; Druckrey i in. 1963). Złośliwe nowotwory w wątrobie zaobserwowano już po dawce najniższej (0,075 mg/kg/dzień) i były one zależne od dawki NDEA. W przełyku zanotowano raki i brodawczaki, jednak ich liczba nie była zależna od dawki NDEA.

Lijinsky i Taylor (1979) po 30 tygodniach ekspozycji szczurów na NDEA (w wodzie do picia) zanotowali zmiany nowotworowe przede wszystkim w wątrobie (raki i mięsaki), a także w przełyku (raki i brodawczaki) i małżowinach nosowych (rak gruczołowy), (tab. 11).

Podawanie szczurom NDEA w niskiej dawce (14 µg/kg mc./dzień) przez 104 tygodnie wywołało zmiany w wątrobie i przełyku (wiele rodzajów nowotworów) oraz w przedłożądku (brodawczak podstawno-komórkowy), (tab. 11), (Lijinsky i in. 1981). W kolejnym eksperymencie Lijinsky i in. 1981 podawali szczurom NDEA w dwóch dawkach – 0,00848 mg/kg mc./dzień lub 0,0207 mg/kg mc./dzień przez 60 tygodni (tab. 11). Już przy niższej dawce zanotowano wiele rodzajów nowotworów w wątrobie i przełyku. Wyniki te pozwoliły na obliczenie TD₅₀ (najmniejszej dawki toksycznej, która po narażeniu przez całe życie powoduje u zwierząt doświadczalnych istotny statystycznie wzrost częstości występowania nowotworów o 50%): dla przełyku – 0,0207 mg/kg mc./dzień, a dla wątroby – 0,0078 mg/kg mc./dzień (ECHA 2023).

Tabela 11. Działanie rakotwórcze N-nitrozodietyloaminy (NDEA) u szczurów
Table 11. Carcinogenic effects of N-nitrosodiethylamine (NDEA) in rats

Gatunek zwierząt, płeć, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Sprague-Dawley, ♂, ♀ n = 10/grupę	i.v., jednorazowo dawki: 1,25; 2,5; 5; 10; 20; 40; 80; 160 mg/kg mc.	nerki: – samice – łącznie gruczolaki i raki – 1/10; 1/10; 2/10; 0/10; 1/10; 3/10; 6/10; 8/10 – samce – łącznie gruczolaki i raki – 0/10; 1/10; 1/10; 3/10; 0/10; 3/10; 3/10; 3/10 czas przeżycia samic po podanych dawkach – 117; 108; 110; 93; 112; 82; 72; 67 tygodni czas przeżycia samców po podanych dawkach – 99; 98; 105; 98; 81; 77; 87; 61 tygodni	Mohr, Hilfrich 1972
Szczury, ♂, ♀ n = 45, 60 lub 80/grupę	p.o., w wodzie do picia dawki: 0,075 mg/kg mc./dzień (dc. – ok. 65 mg/kg) 0,15 mg/kg/ dzień (dc. – ok. 90 mg/kg), 0,3 mg/kg/ dzień (dc. – ok. 120 mg/kg) 0,6 mg/kg/dzień (dc. – ok. 210 mg/kg) okres narażenia: całe życie	wątroba – nowotwór złośliwy 5/60) przełyk – brodawczak 3/60 wątroba – nowotwór złośliwy 22/45 przełyk – brodawczak 13/45; rak 9/45 wątroba – nowotwór złośliwy 63/80 przełyk – brodawczak 7/80; rak 23/80 wątroba – nowotwór złośliwy 51/60 przełyk – brodawczak 4/60; rak 5/60	Druckrey i in. 1963; DGF 1991
Szczury Sprague-Dawley, ♂, ♀ n = 6/grupę	p.o., w wodzie do picia stężenie: 0,70 mg/l (dc. – 210 mg) czas narażenia: 30 tygodni	samce: wątroba – rak 4/6; mięsak 5/6 przełyk – rak 1/6; brodawczak 4/6 małżowiny nosowe – rak gruczolowy 0/6 samice: wątroba – rak 6/6; mięsak 3/6 przełyk – rak 0/6; brodawczak 1/6 małżowiny nosowe – rak gruczolowy 1/6 kontrolne – brak danych o zmianach nowotworowych	Lijinsky, Taylor 1979
Szczury Fischer, ♀ n = 20/grupę	p.o., w wodzie do picia dawki: 0 (kontrola); 14,8 µg/kg mc. czas narażenia: 104 tygodnie	wątroba – wiele rodzajów nowotworów 7/20 (kontrola – 1/20) przedzółądek – brodawczak podstawno- komórkowy – 5/20 (kontrola – 0/20) przełyk – wiele rodzajów nowotworów – 13/20 (kontrola – 0/20)	Lijinsky i in. 1981
Szczury Fischer, ♀ n = 20/grupę	p.o., w wodzie do picia dawki: 0 (kontrola); 0,00848 mg/kg mc./dzień (dc. – 2,7 mg); 0,0207 mg/kg mc./dzień (dc. – 6,6 mg) czas narażenia: 60 tygodni	przełyk – wiele rodzajów nowotworów: 2/20; 17/20 (kontrola 0/20) TD ₅₀ = 0,0207 mg/kg/dzień wątroba – wiele rodzajów nowotworów: 14/20; 5/20 (kontrola 1/20) tylko raki: 6/20; 3/20 (kontrola 0/20) TD ₅₀ = 0,00787 mg/kg/dzień	Lijinsky i in. 1981; ECHA 2023
Szczury Fischer, ♀ n = 12 ÷ 20/grupę	p.o., w wodzie do picia, 5 dni/tyg. dawki: 0 (kontrola); 0,0044 mg/kg mc./dzień, (dc. – 1,35 mg; 0,0104 mg/kg/dzień (dc. – 3,3 mg); 0,0264 mg/kg/dzień (dc. – 8,4 mg); 0,119 mg/kg/dzień (dc. – 21 mg) 0,538 mg/kg/ dzień (dc. – 54 mg) czas narażenia: 30 tygodni	przełyk – wiele rodzajów nowotworów (rak i brodawczak): 0/20; 3/20; 18/19; 13/20; 10/12 (kontrola 0/20) TD ₅₀ = 0,0255 mg/kg/dzień górny odcinek przewodu pokarmowego (przełyk, przedzółądek, język): 2/20; 11/20; 18/19 (dane tylko dla 3 pierwszych dawek), (kontrola 0/20) wątroba – rak wątrobowokomórkowy: 1/20; 5/20; 5/19; 1/20; 1/12 (kontrola 0/20)	Lijinsky i in. 1981 ECHA 2023

cd. tab. 11 / Table 11 cont.

Gatunek zwierząt, płeć, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Sprague-Dawley, ♂ grupa kontrolna n = 500, grupy badane n = 80	p.o., w wodzie do picia dawka NDEA: 0 (kontrola); 7,14; 22,9; 71,4 µg/kg/dzień czas narażenia: 149 tygodni	przewód pokarmowy – wiele rodzajów nowotworów: 9/80; 7/80; 25/80 (kontrola – 26/500) wątroba – wiele rodzajów nowotworów: 2/80; 3/80; 36/80 (kontrola – 3/500) przełyk – rak/brodawczak: 0/0/80; 0/0/80; 4/17/80 (kontrola – 1/0/500) drogi moczowe – wiele rodzajów nowotworów: 2/80; 1/80; 1/80 (kontrola – 1/500)	Berger i in. 1987
Szczury Colworth, ♀ grupa kontrolna n = 240, grupy badane n = 60	p.o., w wodzie do picia stężenia: 0 (kontrola); 0,033; 0,066; 0,132; 0,264; 0,528; 1,056; 1,584; 2,112; 2,640; 3,168; 4,224; 5,280; 6,336; 8,448; 16,896 ppm, co odpowiada dawkom: 0 (kontrola); 0,002; 0,004; 0,009; 0,018; 0,036; 0,072; 0,107; 0,143; 0,179; 0,215; 0,287; 0,358; 0,430; 0,573; 1,146 mg/kg mc./dzień czas narażenia: 176 tygodni	wątroba (liver cells) – guzy wątrobowokomórkowe: 4/60; 4/60; 3/60; 4/60; 10/60; 31/60; 42/60; 45/60; 45/60; 45/60; 48/60; 50/60; 52/60; 57/60; 45/54 (kontrola – 11/240) TD ₅₀ = 0,0615 mg/kg/dzień wątroba (wewnątrzwątrobowy przewód żółciowy) – zmiany złośliwe i łagodne połączone: 2/60; 0/60; 1/60; 2/60; 1/60; 2/60; 2/60; 2/60; 0/60; 0/60; 0/60; 0/60; 1/60; 0/60; 0/60; 0/54 (kontrola – 4/240) TD ₅₀ = 0,561 mg/kg/dzień wątroba – wszystkie złośliwe nowotwory: 0/60; 2/60; 1/60; 4/60; 4/60; 24/60; 39/60; 37/60; 46/60; 44/60; 47/60; 49/60; 50/60; 56/60; 49/54 (kontrola – 4/240) przełyk – wiele rodzajów nowotworów (łagodne i złośliwe): 0/60; 0/60; 0/60; 0/60; 3/60; 19/60; 21/60; 32/60; 29/60; 42/60; 37/60; 44/60; 41/60; 36/60; 26/54 (kontrola – 0/240) TD ₅₀ = 0,203 mg/kg/dzień	Brantom 1983; ECHA 2023; Peto i in. 1984; 1991a; 1991b
Szczury Colworth, ♂ grupa kontrolna n = 240, grupy badane n = 60	p.o., w wodzie do picia stężenia: 0 (kontrola); 0,033; 0,066; 0,132; 0,264; 0,528; 1,056; 1,584; 2,112; 2,640; 3,168; 4,224; 5,280; 6,336; 8,448; 16,896 ppm, co odpowiada dawkom: 0 (kontrola); 0,001; 0,003; 0,005; 0,011; 0,022; 0,044; 0,065; 0,087; 0,109; 0,131; 0,174; 0,218; 0,261; 0,348; 0,697 mg/kg mc./dzień czas narażenia: 176 tygodni	wątroba (liver cells) – guzy wątrobowokomórkowe: 1/60; 2/60; 3/60; 0/60; 5/60; 9/60; 18/60; 10/60; 21/60; 20/60; 23/60; 27/60; 28/60; 28/60; 47/60 (kontrola – 10/240) TD ₅₀ = 0,0924 mg/kg/dzień wątroba (wewnątrzwątrobowy przewód żółciowy) – zmiany złośliwe i łagodne połączone: 2/60; 0/60; 1/60; 2/60; 0/60; 4/60; 3/60; 1/60; 2/60; 2/60; 2/60; 1/60; 0/60; 0/60; 0/60 (kontrola – 3/240) TD ₅₀ = 0,372 mg/kg/dzień wątroba – wszystkie złośliwe nowotwory: 1/60; 0/60; 6/60; 2/60; 7/60; 9/60; 21/60; 11/60; 20/60; 25/60; 28/60; 28/60; 35/60; 30/60; 48/60 (kontrola – 4/240) przełyk – wiele rodzajów nowotworów (łagodne i złośliwe): 0/60; 0/60; 0/60; 0/60; 3/60; 16/60; 32/60; 37/60; 45/60; 48/60; 41/60; 49/60; 46/60; 47/60; 46/60 (kontrola – 0/240) TD ₅₀ = 0,0949 mg/kg/dzień	Brantom 1983; Peto i in. 1984; 1991a; 1991b; ECHA 2023

Objaśnienia:
♀ – samica.
♂ – samiec.
p.o. – podanie dożołądkowe.
i.v. – podanie dożylnie.
dc. – dawka całkowita.
n – liczba zwierząt w grupie.
TD₅₀ – najmniejsza dawka toksyczna, która po narażeniu przez całe życie powoduje u zwierząt doświadczalnych istotny statystycznie wzrost częstości występowania nowotworów o 50%.
Objaśnienia pozostałych skrótów w „Wykazie skrótów stosowanych w dokumentacji”.

Przez 30 tygodni podawano szczurom NDEA w pięciu różnych dawkach (0,0044 ÷ 0,538 mg/kg mc./dzień), (tab. 11), (Lijinsky i in. 1981). W przełyku wykryto wiele rodzajów nowotworów (brak bardziej szczegółowych informacji), a w wątrobie raka wątrobowo-komórkowego. Uzyskane wyniki pozwoliły na wyliczenie TD₅₀ tylko dla zmian w przełyku – TD₅₀ = 0,0255 mg/kg mc./dzień (ECHA 2023).

Berger i in. (1987) wykazali zwiększony odsetek samców szczurów Sprague-Dawley z nowotworami wątroby, przewodu pokarmowego i dróg moczowych, gdy były one narażone całe życie na najniższą dawkę w tym badaniu, tj. 0,007 mg/kg mc./dzień (podawana w wodzie pitnej). W badaniu tym zastosowano trzy poziomy dawek i 80 samców na grupę dawek przez całe życie zwierząt (tab. 11). Guzy wątroby były gruczolakami

i rakami wątrobowokomórkowymi. Przednowotworowe zmiany w wątrobie były ogniskami eozynofilowymi/jasnokomórkowymi lub mieszanymi komórkami bazofilowymi, które występowały częściej (w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej) po dawce najwyższej – 0,0714 mg/kg/dzień. Dawkę NDEA 0,0229 mg/kg/dzień można przyjąć jako wartość NOAEL dla zmian przednowotworowych (ogniska komórek bazofilowych i eozynofilowych). Nowotwory przewodu pokarmowego to głównie rak płaskonabłonkowy jamy ustnej i żołądka; nie określono histologii guzów dróg moczowych (Berger i in. 1987).

W badaniach przeprowadzonych przez Brantom (1983) oraz Peto i in. (1984; 1991a; 1991b) samcom i samicom szczurów podawano NDEA w wodzie do picia przez 176 tygodni. Badanie to obejmowało 15 poziomów dawek $0,002 \div 1,47$ mg/kg mc./dzień dla samic i $0,001 \div 0,697$ mg/kg mc./dzień dla samców. Zmiany nowotworowe zarówno u samców, jak i samic zanotowane w wątrobie i przełyku (przy najniższych dawkach NDEA) były na poziomie zmian w grupach kontrolnych. W przypadku samic istotne zmiany były po dawkach wyższych niż 0,018 mg/kg/dzień. Dawkę 0,002 mg/kg/dzień można przyjąć za wartość NOAEL, po tej dawce nie notowano zmian w wątrobie (łączna analiza wszystkich nowotworów). W przypadku samców istotne zmiany zaobserwowano po dawkach wyższych niż 0,011 mg/kg/dzień. Dawkę 0,003 mg/kg/dzień można przyjąć za wartość NOAEL – po tej dawce nie notowano zmian w wątrobie (łączna analiza wszystkich nowotworów), (tab. 11). Brantom (1983) opisał histologię guzów wątroby jako guzków wątrobowokomórkowych, gruczolaka i raka, jak również torbielowatego gruczolaka dróg żółciowych. Przy wyższych dawkach częstość występowania guzków wątrobowych i raka wątrobowokomórkowego (HCC) zwiększała się zależnie od dawki (Brantom 1983; ECHA 2023; Peto i in. 1991a; 1991b).

Badania wpływu NDEA na organizmy zwierząt z rzędu naczelnych (małpy, małpiatki) rozpoczęto w latach 60. XX wieku (O’Gara, Kelly 1965; Kelly i in. 1966). Zwierzętom podawano NDEA przez okres od 15 ÷ 26 miesięcy. Zmiany nowotworowe stwierdzano w wątrobie. W następnych latach (inne doświadczenia) makakom i małpiatkom NDEA podawano znacznie dłużej, ekspozycja zwierząt trwała nawet 1030 tygodni (tab. 12), (Adamson 1982; Dalgard i in. 1975; 1976). U badanych zwierząt (obok

zmian w wątrobie) stwierdzono w błonie śluzowej jamy nosowej raka mukoeypidermalnego (rak śluzowo-naskórkowy), (tab. 12).

W ramach długoterminowego programu prowadzonego przez Amerykański Narodowy Instytut Zdrowia NDEA była testowana na: makakach, koczodanach zielonych, hybrydach Rhesus-Cynomolgus i na młodych małpiatkach galago (*Baby bush*), (Adamson, Sieber 1979; 1983; Thorgeirsson i in. 1994). Wyniki badań przedstawiono w tabeli 12. NDEA podawano doustnie makakom przez 5 dni w tygodniu (tab. 12), dawkę stopniowo zwiększano od 10 mg/kg mc. na dobę do 40 mg/kg mc. na dobę. Po średnim okresie utajenia (wynoszącym 38 miesięcy) rak wątrobowokomórkowy rozwinął się u 32 z 40 narażanych zwierząt. Nie było wyraźnych różnic między gatunkami lub samcami i samicami (Adamson, Sieber 1979). W drugim eksperymencie związek podawano dootrzewnowo stopniowo, zwiększając dawkę od 10 mg/kg mc. do 40 mg/kg mc. przez 2 dni w miesiącu (przez pierwsze 6 miesięcy życia). Narażenie kontynuowano do pojawienia się guzów, które określono jako HCC. Nie było różnic w okresie utajenia guza między różnymi gatunkami małp. W trzecim eksperymencie NDEA podawano w dawkach: 0,1 mg/kg; 1 mg/kg; 5 mg/kg; 10 mg/kg; 20 mg/kg lub 40 mg/kg w odstępach 2-tygodniowych (tab. 12). Przy drugiej z najniższych dawek (0,07 mg/kg mc./dzień) u 4 z 11 zwierząt rozwinął się gruczolak wątrobowokomórkowy, podczas gdy w grupie otrzymującej najniższą dawkę (0,007 mg/kg mc./dzień) nie pojawił się żaden nowotwór (tab. 12). Przy wyższych poziomach dawek (dawki: 0,35 mg/kg mc.; 0,7 mg/kg mc.; 1,4 mg/kg mc. lub 2,86 mg/kg mc./dzień) u wszystkich zwierząt rozwinął się rak wątrobowokomórkowy. Zwierzęta narażano na NDEA przez okres ponad 10 lat. Autorzy podali średnią skumulowaną dawkę rakotwórczą na poziomie 2,18 g. W kolejnym badaniu NDEA podawano również dootrzewnowo małpiatkom galago w dawce do 30 mg/kg mc. 14 (*Galago crassicaudatus*, *Bush baby*), (Adamson, Sieber 1979; 1983; Thorgeirsson i in. 1994). U dziesięciu zwierząt rozwinął się rak śluzowo-naskórkowy błony śluzowej nosa, u dwóch – HCC. Średnia skumulowana dawka rakotwórcza wynosiła 0,75 g ($0,3 \div 1,49$ g), natomiast średni czas latencji nowotworu wynosił 22,9 miesiąca ($15 \div 32$ miesięcy), (tab. 12).

Tabela 12. Rakotwórcze działanie *N*-nitrozodietylaminy (NDEA) u zwierząt z rzędu naczelnych (małpy, małpkiatki)
Table 12. Carcinogenicity of *N*-nitrosodiethylamine (NDEA) in non-human primates (monkeys, apes)

Gatunek zwierząt, liczebność grup badanych	Droga narażenia/ wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Makak rezus, kapucynka pleć – brak danych, <i>n</i> = 15	<i>p.o.</i> dawki: początkowo 2 mg/kg/dzień, wzrastająca do 30 mg/kg/dzień; dc. – 6 ÷ 26 g/zwierzę czas narażenia: do 24 miesięcy	wątroba – rak wątrobowokomórkowy – 6/15	<i>O’Gara, Kelly</i> 1965; <i>Kelly</i> i in. 1966
Koczkodan zielony (<i>Ceropethicus aethiops</i>) pleć – brak danych, <i>n</i> = 2	<i>i.p.</i> dawki: 20 ÷ 40 mg/kg co 2 tygodnie czas narażenia: 26 miesięcy	wątroba – rak wątrobowokomórkowy – 2/2	<i>Kelly</i> i in. 1966
Koczkodan zielony (<i>Ceropethicus aethiops</i>) pleć – brak danych, <i>n</i> = 25	<i>i.p.</i> dawka: 40 mg/kg co 2 tygodnie czas narażenia: > 15 miesięcy	wątroba – wątrobiak i rak wątrobowo-komórkowy – 25/25	<i>O’Gara</i> i in. 1970
Małpkiatki naczelne (<i>Galago crassicaudatus</i>) pleć – brak danych, <i>n</i> = 10 ÷ 14	<i>i.p.</i> dawki: 10 ÷ 30 mg/kg co 2 tygodnie czas narażenia: brak danych	wątroba – rak pierwotny – 2/10 jama nosowa – rak mukoepidermalny – 10/14	<i>Dalgard</i> i in. 1975; 1976
Małpkiatki naczelne (<i>Galago crassicaudatus</i>) ♂, ♀ <i>n</i> = 3 ÷ 13	<i>i.p.</i> dawki: 0 (kontrola); 897 µg/kg/dzień czas narażenia: 137 tygodni	wątroba – rak wątrobowokomórkowy – 2/3 (kontrola – 0/9) błona śluzowa jamy nosowej – rak mukoepidermalny – 10/13 (kontrola – 0/9)	<i>Adamson</i> 1982
Makak krabożerny (<i>Cynomolgus monkey</i>) ♂, ♀ grupa kontrolna – <i>n</i> = 105 grupy badane – <i>n</i> = 3 ÷ 40	<i>i.p.</i> dawki: 0 (kontrola); 6,3; 322; 910; 1350; 2290 µg/kg mc/dzień czas narażenia: 817 tygodni	wątroba – rak wątrobowokomórkowy – 2/7; 3/3; 5/5; 5/5; 38/40 (kontrola – 0/105)	<i>Adamson</i> 1982
Makak rezus ♂, ♀ grupa kontrolna – <i>n</i> = 120 grupy badane – <i>n</i> = 4 ÷ 53	<i>i.p.</i> dawki: 0 (kontrola) ; 7,4; 80; 340; 650; 1590; 2090 µg/kg mc/ dzień czas narażenia: 1019 tygodni	wątroba – rak wątrobowokomórkowy – 0/4; 4/8; 6/6; 5/5; 6/6; 51/53 (kontrola – 0/120)	<i>Adamson</i> 1982
Makak rezus ♂, ♀ grupa kontrolna – <i>n</i> = 102 grupy badane – <i>n</i> = 14	<i>p.o.</i> (dieta) dawki: 0 (kontrola); 6870 µg/kg mc/dzień czas narażenia: 1030 tygodni	wątroba – rak wątrobowokomórkowy – 11/14 (kontrola – 0/102)	<i>Adamson</i> 1982
Makak krabożerny (<i>cynomolgus monkey</i> , Cy) i makak rezus (Rhesus, Rh) ♂, ♀ grupa kontrolna – <i>n</i> = 90 grupa badana – <i>n</i> = 40	<i>p.o.</i> (dieta) dawki: 0 (kontrola); 40 mg/kg mc. 5 dni w tygodniu (tzn. 28,6 mg/kg/ dzień), dc. – samce – Rh – 10,2 g, Cy – 18 g; samice – Rh – 8,8 g, Cy – 7,1 g czas latencji nowotworu: 25 ÷ 52 miesięcy	wątroba – rak wątrobowokomórkowy (HCC) – 32/40 (kontrola – 7/90) najniższa działająca dawka NDEA – 28,6 mg/kg mc./dzień (LOAEL)	<i>Adamson</i> 1989; <i>Thorgeirsson</i> i in. 1994

cd. tab. 12 / Table 12 cont.

Gatunek zwierząt, liczebność grup badanych	Droga narażenia/ wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Makak krabożerny (<i>cynomolgus monkey</i> , Cy) i makak rezus (<i>Rhesus</i> , Rh) ♂, ♀ n = 128	<i>i.p.</i> dawki: 40 mg/kg 2 razy w miesiącu (tzn. 2,7 mg/kg/dzień), dc. – samce Cy – 1,3 g; dla pozostałych zwierząt – 1,1 g czas latencji nowotworu: 17 ÷ 18 miesięcy	wątroba – rak wątrobowokomórkowy – 112/128 najniższa działająca dawka NDEA – 2,7 mg/kg mc./dzień (LOAEL)	<i>Thorgeirsson</i> i in. 1994
Makak krabożerny, makak rezus, koczkodan zielony (<i>African green</i>), hybrydy <i>Rhesus-Cynomolgus</i> , pleć – brak danych n = 10 ÷ 106	<i>i.p.</i> dawki NDEA: 0,1; 1; 5; 10; 20; 40 mg/kg co 2 tyg.; (tzn. 0,007; 0,07; 0,35; 0,7; 1,4; 2,8 mg/kg mc/dzień) dc. – 0,104; 1,78; 2,70; 2,02; 2,4; 1,59 g; średnia dc. – 2,18 g czas latencji nowotworu: 157; 74; 38; 25; 16 miesięcy	wątroba – rak wątrobowokomórkowy – 0/11; 4/11; 10/10; 11/11; 11/11; 106/106 najwyższa niedziałająca dawka NDEA – 0,007 mg/kg mc./dzień (NOAEL) najniższa działająca dawka NDEA – 0,07 mg/kg mc./dzień (LOAEL)	<i>Thorgeirsson</i> i in. 1994
Małpiatki naczelne (<i>Galago crassicaudatus</i>) ♂, ♀ n = 14	<i>i.p.</i> dawki: 0 (kontrola); 10 ÷ 30 mg/kg, dwa razy w miesiącu (tzn. 0,6 ÷ 2 mg/kg mc/ dzień) dc. – 0,3 ÷ 1,49 g czas latencji nowotworu: 15 ÷ 32 miesięcy	wątroba – gruczolak wątrobowokomórkowy – 2/14 błona śluzowa jamy nosowej – rak mukoepidermalny (rak śluzowo – naskórkowy) – 10/14	<i>Adamson, Sieber</i> 1979; 1983; <i>Thorgeirsson</i> i in. 1994
Makak krabożerny n = 130, Makak rezus n = 181, Koczkodan zielony n = 62	kontrola	nowotwory spontaniczne, wiele rodzajów – 3/130; 12/181; 5/62	<i>Thorgeirsson</i> i in. 1994

Objaśnienia:
♂ – samiec.
♀ – samica.
i.p. – podanie dootrzewne.
p.o. – podanie dożołądkowe.
n – liczba zwierząt w grupie.
dc. – dawka całkowita.
Objaśnienia pozostałych skrótów w „Wykazie skrótów stosowanych w dokumentacji”.

Po jednorazowym podskórnym podaniu myszom różnych dawek NDEA i po obserwacji zwierząt przez 55 ÷ 80 tygodni *Cardesa* i in. (1974) stwierdzili zmiany nowotworowe w płucach. Zmiany te były zależne od dawki i statystycznie istotne (tab. 13). Pozostałe zanotowane zmiany nie były zależne od dawki NDEA. Dodatkowo, po dawkach: 8 mg/kg; 16 mg/kg i 32 mg/kg stwierdzono po dwa przypadki guza z komórek ziarnistych i gruczolaka gruczołu sutkowego.

Diwan i *Meier* (1976) podali jednorazowo dootrzewnowo NDEA myszom, trzem różnym szczepom (tab. 13). Po 42 lub 77 tygodniach obserwacji zwierząt zanotowano leukemię oraz zmiany nowotworowe w płucach i wątrobie. U myszy szczepu C57BL/6J zmiany nowotworowe obejmowały

przede wszystkim wątrobę, u pozostałych dwóch szczepów zmiany te były widoczne głównie w płucach. Nie zaobserwowano różnic w toksyczności NDEA między samcami i samicami.

Podawanie myszom (w wodzie do picia, przez całe życie) NDEA w dawkach 2 ÷ 11,5 mg/kg/dzień spowodowało powstanie zmian nowotworowych w: wątrobie, płucach i żołądku (tab. 13), (*Clapp* i in. 1970). W grupie kontrolnej zanotowano wysoki odsetek spontanicznych nowotworów w płucach (63/155; 41%). Po NDEA było ich więcej – maksymalnie 46/57 (81%) przy dawce skumulowanej 572 mg/kg mc. Raka płaskonabłonkowego w żołądku stwierdzano u wszystkich zwierząt już przy dawce skumulowanej 213 mg/kg mc.

Tabela 13. Rakotwórcze działanie N-nitrozodietylaminy (NDEA) u myszy
Table 13. Carcinogenicity of N-nitrosodietylamine (NDEA) in mice

Gatunek zwierząt, płeć, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy Swiss, ♂, ♀ grupa kontrolna – n = 218 grupa badana – n = 40/grupę	s.c., jednorazowo dawki: 0 (kontrola); 2; 4; 8; 16; 32 mg/kg mc.	płuca – guzy (rak i gruczolak): 16/39; 18/38; 24/39; 25/39; 21/40 (kontrola – 33/218) chłoniaki złośliwe: 10/39; 10/38; 20/39; 7/39; 4/40 (kontrola – 70/218) guzy naczyń: 2/39; 5/38; 0/39; 0/39; 3/40 (kontrola – 17/218) mięsak podskórny: 1/39; 0/38; 1/39; 1/39; 0/40 (kontrola – 0/218) czas przeżycia po podaniu NDEA – 55 ÷ 80 tyg.	Cardesa i in. 1974
Myszy AKR/J, SWR/J, C57BL/6J, ♂, ♀ grupa kontrolna – n = 10 ÷ 14/szczep grupa badana – n = 10 ÷ 13/grupę	i.p., jednorazowo dawki: 0 (kontrola); 90 mg/kg mc. czas obserwacji: - AKR/J – 42 tygodnie - SWR/J i C57BL/6J – 77 tygodni	myszy AKR/J: - płuca – gruczolak – 6/25 (kontrola 0/26), białaczka – 17/25 (kontrola 18/26) myszy SWR/J: - płuca – gruczolak – 18/25 (kontrola 5/262), białaczka – 7/25 (kontrola 4/26) myszy C57BL/6J: - wątroba – wątrobiak i gruczolak dróg żółciowych - 7/21 (kontrola – 0/20), białaczka – 2/21 (kontrola – 3/20)	Diwan, Meier 1976
Myszy RF, ♂ grupa kontrolna – n = 162 grupa badana – n = 30 ÷ 125	p.o., w wodzie do picia dawki: 0(kontrola); 2; 3,5; 6; 11,5 mg/kg/dzień, dc. – 57 – 943 mg/kg czas narażenia: całe życie	wątroba – wątrobiak: 17/36; 74/103; 4/24 (dawka 6 mg/kg została powtórzona – 14/16; 37/42) 55/56 (kontrola – 6/139) płuca – gruczolak; 48/62; 70/115; 27/32 (dawka 6 mg/kg została powtórzona – 15/22; 24/42) 46/57 (kontrola – 63/155) żołądek – rak płaskonabłonkowy: 57/62; 115/124; 20/32 (dawka 6 mg/kg została powtórzona – 20/20; 42/42) 56/57 (kontrola – brak danych)	Clapp i in. 1970
Myszy (szczep nieokreślony), ♀ n = 10/grupę	p.o., w wodzie do picia stężenia NDEA: 0 (kontrola); 0,033; 0,066; 0,132; 0,264; 0,528; 1,056; 1,584; 2,112; 2,640; 3,168; 4,224; 5,280; 6,336; 8,448; 16,896 ppm, co odpowiada dawkom: 0 (kontrola); 0,01; 0,02; 0,04; 0,07; 0,14; 0,29; 0,43; 0,58; 0,72; 0,87; 1,15; 1,44; 1,73; 2,31; 4,62 mg/kg/dzień czas narażenia: 25 miesięcy	wątroba – łącznie: rak wątrobowokomórkowy i inne zmiany nowotworowe – 0/10; 0/10; 0/10; 4/10; 4/10; 4/10; 9/10; 12/10; 26/10; 24/10; 20/10; 22/10; 13/10; 5/10; 0/10 (kontrola – 0/10) przełyk i żołądek – guzy złośliwe i niezłośliwe: 0/10; 0/10; 0/10; 0/10; 5/10; 5/10; 4/10; 16/10; 20/10; 20/10; 17/10; 11/10; 18/10; 15/10 (kontrola – 0/10) płuca/oskrzela – zmiany niezłośliwe: 0/10; 0/10; 0/10; 0/10; 2/10; 1/10; 1/10; 1/10; 0/10; 0/10; 0/10; 1/10 (kontrola – 0/10)	Gray i in. 1991

Objaśnienia:
♂ – samiec.
♀ – samica.
n – liczba zwierząt w grupie.
dc. – dawka całkowita.
mc. – masa ciała.
p.o. – podanie dożyłkowe;
i.v. – podanie dożylnie.
Objaśnienia pozostałych skrótów w „Wykazie skrótów stosowanych w dokumentacji”.

Nowotwory wątroby zostały opisane jako wątrobowokomórkowe lub pochodzące z komórek Kupf-fera lub hemangioendotelii. Zmiany w wątrobie były najbardziej widoczne po dawce 11,5 mg/kg/dzień (dawka całkowita – 572 mg/kg mc.), (Clapp i in. 1970).
Samcom i samicom szczurów podawano NDEA w wodzie do picia, zwierzęta otrzymywały dawki

w zakresie 0,075 ÷ 0,600 mg/kg mc./dzień przez cały okres życia.
W innym doświadczeniu myszom podawano NDEA w wodzie do picia przez 25 miesięcy (Gray i in. 1991). Najbardziej czułym skutkiem działania NDEA był rozwój HCC (rak wątrobowokomórkowy), (tab.13) u samic myszy przy dawce 0,07 mg/kg mc. (najniższa dawka działająca). Natomiast najwyższą dawką

niedziałającą było 0,04 mg/kg mc./dzień. W przypadku zmian w przełyku i żołądku najniższa dawka działająca NDEA to 0,29 mg/kg mc./dzień (LOAEL), a w przypadku zmian zanotowanych w oskrzelach i płucach to 0,43 mg/kg mc./dzień (tab. 13). W wielu przypadkach u narażanych myszy obserwowano jednocześnie po kilka zmian u pojedynczego zwierzęcia.

Po jednorazowym, podskórnym podaniu NDEA w różnych dawkach *Mohr* i in. (1966) zaobserwowali u chomików syryjskich występowanie guzów układu oddechowego (tab. 14). Liczba zmian zależna była od wielkości dawki NDEA.

Po podskórnym (raz w tygodniu) podawaniu chomikom NDEA *Montesano* i *Saffiotti* (1968) badali powstawanie zmian nowotworowych w różnych odcinkach układu oddechowego (tab. 14). Zwierzęta były obserwowane do 80. tygodnia eksperymentu. Guzy były stwierdzane przede wszystkim w: jamie nosowej, krtani i tchawicy. Ich powstawanie zależne było od podanej dawki NDEA, najszybciej powstawały zmiany nowotworowe po dawce najwyższej, tj. 48 mg, najpóźniej po dawce – 6 mg. Brak danych o liczbie guzów w grupie kontrolnej.

Ishinishi i in. (1988) badali działanie rakotwórcze pięciu nitrozoamin (NDEA – *N*-nitrozodietylamina, NDMA – *N*-nitrozodimetyloamina, NMOR – *N*-nitrozomorfolina, NPYR – *N*-nitrozopirolidyna, NDPA – *N*-nitrozodipropyloamina). Badane związki podawano dotchawiczo chomikom (raz w tygodniu) przez 15 tygodni (zwierzęta kontrolne otrzymywały dotchawiczo 0,1 ml buforu fosforanowego przez 15 tygodni). Średni czas przeżycia zwierząt w grupie kontrolnej wynosił 550 dni, w grupie otrzymującej NDEA – 402 dni. Po podaniu NDEA stwierdzono u zwierząt 19 przypadków brodawczaka tchawicy i jeden przypadek gruczolaka płuc (tab. 14). Na podstawie uzyskanych wyników badań uszeregowano badane nitrosoaminy na podstawie siły działania rakotwórczego:

NDEA > NDPA > NMOR > NDMA = NPYR

Chomiki były narażone na NDEA w wodzie pitnej (0,003 ÷ 1,75 mg/kg mc./dzień) przez okres do 22 miesięcy. Najczęstszą lokalizacją nowotworu była wątroba, przełyk i tchawica (tab. 14), (*Gray* i in. 1991). Najbardziej czułym punktem końcowym narażenia był rozwój guzów wątroby (autorzy nie podali szczegółów). Najniższą dawką wywołującą zmiany w wątrobie określono dawkę 0,05 mg/kg mc./dzień (LOAEL), a najwyższą

dawkę nie wywołującą zmian – 0,03 mg/kg mc./dzień (NOAEL). W przypadku tchawicy najniższą dawką wywołującą zmiany była dawka 0,27 mg/kg/dzień. U niektórych narażanych zwierząt obserwowano po kilka zmian u pojedynczego zwierzęcia.

Zmiany nowotworowe (przede wszystkim w wątrobie) zaobserwowano również u innych gatunków zwierząt narażanych (drogą pokarmową) na NDEA. W wątrobie świń stwierdzono: wątrobiaka (*Schmahl* i in. 1969), mięsaki siateczkowate (*Schmahl* i in. 1967), naczyniakomięsaka (*Kessler* i in. 2019) lub raka wątrobowokomorkowego (*Li* i in. 2006).

Dwa niezależne badania wykazały indukcję złośliwych guzów wątroby i płuc u samców i samic królików otrzymujących NDEA (brak danych o stężeniach) w wodzie do picia (*Rapp* i in. 1965; *Schmahl, Thomas* 1965).

W kilku badaniach na kawiach domowych otrzymujących NDEA w wodzie pitnej zaobserwowano, że gruczolak i rak wątrobowokomórkowy były indukowane dziennymi dawkami co najmniej 1,2 mg/kg mc. (*Arcos* i in. 1969; *Argus, Hoch-Ligeti* 1963; *Druckrey* i in. 1962; *Lombard* 1965). Odnotowano również występowanie guzów płuc (*Argus, Hoch-Ligeti* 1963).

Podanie (drogą pokarmową, w mleku) NDEA (brak danych o dawce) kotom domowym spowodowało powstanie złośliwych wątrobiaków oraz guzów w przełyku i nerkach (*Schmahl* in. 1978). Raka wątrobowokomórkowego i gruczolakoraka w nerkach zaobserwowano u kurczaków, którym podano domięśniowo NDEA (*Schmahl* i in. 1978).

W opinii IARC (1978) NDEA jest rakotwórcza dla wszystkich testowanych zwierząt: myszy, szczurów, chomików syryjskich, europejskich i chińskich, kawii domowych, królików, psów, myszokoczków, świń, małp, jeży, różnych gatunków ryb, żab i ptaków. Indukuje ona złośliwe i niezłośliwe guzy po podaniu różnymi drogami, tj. pokarmową, parenteralnie, inhalacyjnie i doodbytniczo. Głównymi organami docelowymi są: wątroba, układ oddechowy, górny odcinek przewodu pokarmowego i nerki. NDEA jest rakotwórcza również po podaniu prenatalnym i po dawce jednorazowej. W kilku badaniach wykazano zależność dawka/odpowiedź. W końcowym wniosku IARC (1978) stwierdzono, że istnieje dostateczna ilość dowodów, aby uznać NDEA za czynnik rakotwórczy dla wielu gatunków zwierząt.

Tabela 14. Rakotwórcze działanie N-nitrozodietyloaminy (NDEA) u chomików
Table 14. Carcinogenicity of N-nitrosodietylamine (NDEA) in hamsters

Gatunek zwierząt, płeć, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Chomik syryjski, ♀ n = 20/grupę	s.c., jednorazowo w dawkach: 0,5; 0,75; 1,0; 1,5; 2; 3; 4 mg/zwierzę dc. – 5; 7,5; 10; 15; 20; 30; 40 mg/kg mc. czas narażenia: 25 tygodni	układ oddechowy – guz: 0/20; 5/20; 3/20; 4/20; 6/20; 12/20; 13/20	Mohr i in. 1966
Chomik syryjski, ♂ grupa kontrolna – n = 36 grupy badane – n = 35 ÷ 36/grupę	s.c., 1 raz w tygodniu w dawkach: 0 (kontrola), 6; 12; 24; 48 mg/zwierzę, dc. – 60; 120; 240; 480 mg/kg mc. czas narażenia: 12 tygodni	jama nosowa – guz: 6/35; 25/36; 26/36; 27/36 krtań – guz: 6/35; 18/36; 17/36; 26/36 tchawica – guz: 29/35; 32/36; 34/36; 35/36 oskrzela – guz: 1/35; 1/36; 1/36; 3/36 płuca – guz: 1/35; 0/36; 1/36; 1/36 brak danych o zmianach w grupie kontrolnej	Montesano, Saffiotti 1968
Chomik syryjski, ♂ grupa kontrolna – n = 39 grupa badana – n = 20	dotchawczo, 1 raz w tygodniu w dawkach: 0 (kontrola); 0,1 mg/zwierzę dc. – 1,5 mg czas narażenia: 15 tygodni	tchawica – brodawczak: 19/20 (kontrola – 0/20) płuca – gruczolak: 1/20 (kontrola – 1/20)	Ishinishii in. 1988
Chomiki (szczep nieokreślony), ♀ n = 10/grupę	p.o., w wodzie do picia, stężenia: 0 (kontrola); 0,033; 0,066; 0,132; 0,264; 0,528; 1,056; 1,584; 2,112; 2,640; 3,168; 4,224; 5,280; 6,336; 8,448; 16,896 ppm, co odpowiada dawkom: 0 (kontrola); 0,003; 0,01; 0,02; 0,03; 0,05; 0,11; 0,16; 0,22; 0,27; 0,33; 0,44; 0,55; 0,66; 0,88; 1,75 mg/kg/dzień czas narażenia: 22 miesiące	wątroba – łącznie – guzy złośliwe i niezłośliwe: 0/10; 0/10; 0/10; 0/10; 4/10; 2/10; 4/10; 2/10; 7/10; 10/10; 8/10; 14/10; 6/10; 9/10; 23/10; (kontrola – 0/10) tchawica – guzy złośliwe i niezłośliwe: 0/10; 0/10; 0/10; 0/10; 0/10; 0/10; 1/10; 1/10; 3/10; 5/10; 5/10; 0/10; 8/10 (kontrola – 0/10) przełyk – guzy złośliwe i niezłośliwe: 1/10; 2/10; 0/10; 0/10; 0/10; 0/10; 0/10; 1/10; 2/10; 0/10; 1/10; 0/10; 0/10; 0/10 (kontrola – 0/10)	Gray i in. 1991

Objaśnienia:
♂ – samiec.
♀ – samica.
n – liczba zwierząt w grupie.
dc. – dawka całkowita.
mc. – masa ciała.
p.o. – podanie dożołądkowe;
s.c. – podanie podskórne.

Jakościowa ocena działania rakotwórczego

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) zaliczyła NDEA do grupy 2A (czynnik prawdopodobnie rakotwórczy dla ludzi), (IARC 1987; 2022). Environmental Protection Agency (EPA) zakwalifikowała NDEA do grupy B2 (czynnik prawdopodobnie rakotwórczy dla ludzi), przyjmując za podstawę tej oceny zwiększenie częstości występowania zmian nowotworowych (w wielu narządach) u dwóch gatunków gryzoni i małp po podaniu NDEA różnymi drogami (EPA 1986). W Niemczech (MAK-Commission) związek ten zaliczono do kategorii zagrożenia 2 (substancje, które są rozważane jako rakotwórcze dla ludzi), dodając przypis „Skin” (DFG 2022).

Producenci/improterzy zgłaszający NDEA do ECHA (2024) zaliczali związek najczęściej do kategorii „Carc. 1B” z przypisem „H350 – może powodować raka”.

Ilościowa ocena działania rakotwórczego

W dostępnym piśmiennictwie brak informacji o długoterminowym, inhalacyjnym narażeniu ludzi i/lub zwierząt na NDEA. Za podstawę oceny siły działania rakotwórczego u ludzi przyjęto badania na zwierzętach przeprowadzone przez Peto i in. (1991a; 1991b), (ECHA 2023). Szczurom podawano NDEA w wodzie do picia przez 176 tygodni (tab. 11). Zmiany nowotworowe stwierdzono w wątrobie i przełyku zarówno u samców, jak i samic.

Na podstawie występowania raka wątroby u samic szczurów wyznaczono dawkę BMDL (dolna granica przedziału 95% ufności dla dawki wyznaczającej) równą 0,0142 mg/kg mc./dzień, odpowiadającą 10% BMR (*benchmark response* – dawka wyznaczająca).

Wyznaczona dawka BMDL posłużyła do określenia zależności ryzyka powstawania raka od wielkości ekspozycji (ERR, *exposure-risk relationship*):

1. Przeliczając dane uzyskane w badaniach na szczurach narażanych na NDEA drogą pokarmową na korespondujące stężenie NDEA w powietrzu przyjęto standardową objętość oddechową dla szczurów 0,38 m³/kg mc. w czasie 8 h:

BMDL (inhalacyjna) =
$$= \frac{0,0142 \text{ mg/kg mc./dzień}}{0,38 \text{ m}^3/\text{kg mc.}} = 0,037 \text{ mg/m}^3$$

2. Uwzględniając: czas życia człowieka –75 lat, czas pracy (ekspozycji) – 40 lat, 48 tygodni w roku oraz 5 dni w tygodniu i objętość wdychanego powietrza (korekcja objętości powietrza wdychanego przez pracownika wykonującego lekką pracę – 6,7 m³/10 m³):

BMDL (dla pracownika) =
$$= \frac{0,037 \text{ mg/m}^3 \cdot 75 / 40}{52/48 \text{ tyg.} \cdot 7/5 \text{ dzień} \cdot 6,7/10 \text{ m}^3} = 0,070 \text{ mg/m}^3$$

3. Ryzyko wystąpienia dodatkowego raka wątroby obliczono na poziomie 1 × 10⁻⁵, przyjmując współczynnik niepewności 10 000:

stężenie NDEA = $\frac{0,070 \text{ mg/m}^3}{10\,000}$ =
= 0,000007 mg/m³ (0,0000002 ppm)

Przyjmując zależność liniową dla stężenia NDEA i liczby przypadków raka obliczono ryzyko dla stężeń nitrozoaminy w zakresie 0,00003 ÷ 0,03 mg/m³ (tab. 15).

Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

Dane dotyczące ludzi

W dwóch badaniach epidemiologicznych (Huber i in. 2013; Torfs i in. 1998) analizowano związek pomiędzy spożyciem nitrozoamin w diecie przez matki a częstością występowania wad wrodzonych u ich potomstwa.

Torfs i in. (1998) badali związek między narażeniem matek (droga pokarmowa, dieta) na m.in. związki nitrozowe (azotany, azotyny, nitrozaminy) a ryzykiem wystąpienia *gastroschisis* (wytrzewienie jelit – wrodzona wada ściany brzucha) u ich potomstwa. Autorzy pracy wskazują, że wysokie spożycie nitrozamin było istotnym czynnikiem ryzyka wystąpienia tej wady.

Huber i in. (2013) zbadali związek pomiędzy obecnością azotanów, azotynów i nitrozoamin w diecie matki a kilkoma rodzajami wad wrodzonych (wady cewy nerwowej, rozszczep podniebienia, brak kończyn) u potomstwa. Nie zaobserwowano wzrostu ryzyka wad wrodzonych po ekspozycji na nitrozoaminy.

W dostępnej literaturze nie znaleziono wyników obserwacji po narażeniu na samą NDEA.

Dane dotyczące zwierząt

N-Nitrozodietyloaminę w dawce 5 mg/kg mc./dzień podawano z wodą pitną samicom i samcom szczurów Wistar w dawce dziennej 1 mg/zwierzę.

Tabela 15. Zależność stężenia N-nitrozodietyloaminy (NDEA) w środowisku pracy od przyjętego ryzyka wystąpienia dodatkowego raka wątroby. Szacowanie ryzyka przeprowadzono przy założeniu, że osoba narażona pracowała 8 godzin dziennie, 5 dni w tygodniu przez okres 40 lat (ECHA 2023)

Table 15. Relationship of N-nitrosodiethylamine (NDEA) concentration in the working environment to the assumed risk of additional liver cancer. Risk estimation was performed assuming that the exposed person worked 8 hours per day, 5 days per week for a period of 40 years (ECHA 2023)

Stężenie NDEA w powietrzu		Ryzyko (liczba przypadków na 100 000 narażonych)
mg/m ³	ppm	
0,00003	0,000007	4
0,0003	0,00007	40
0,003	0,0007	400
0,03	0,007	4000

Eksperyment rozpoczęto 35 ÷ 60 dni przed kryciem, a narażenie samic kontynuowano przez cały okres ciąży. Nie zaobserwowano wpływu NDEA na płodność zwierząt i na pokolenie F1. U matek zanotowano zmiany nowotworowe w nerkach – rak (tab. 16), (Sydow 1970).

W innym badaniu podawano jednorazowo, dożołądkowo (sondą) samicom szczurów NDEA w dawce 200 mg/kg mc. w: 3., 9., 10. lub 12. dniu

cięży (tab. 16), (Alexandrov 1974). Zanotowano zmniejszoną przeżywalność płodów (F1), była ona niezależna od dnia podania nitrozoaminy. W drugim eksperymencie (Alexandrov 1974) szczurom podano w 21. dniu ciąży NDEA w dawce 150 mg/kg mc. U matek zaobserwowano guzy nerek, a w pokoleniu F1 zmiany nowotworowe w: nerkach, wątrobie i innych narządach (tab. 16).

Tabela 16. Wpływ narażenia N-nitrozodietylaminy (NDEA) na rozwój płodów (pokolenie F1)
Table 16. Effect of N-nitrosodiethylamine (NDEA) exposure on fetal development (F1 generation)

Gatunek zwierząt, płeć, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Wartość NOAEL, mg/kg mc./dzień		Wartość LOAEL, mg/kg mc./dzień		Piśmiennictwo
			F0	F1	F0	F1	
Szczur Wistar, ♂, ♀ n = 16 ÷ 19 ♀, n _{płodów} = 90 ÷ 149 n (♂) – brak danych	p.o., w wodzie do picia, 1 mg/zwierzę/dzień, czas narażenia: 35, 50 lub 60 dni przed kryciem (♂ i ♀), ♀ – przez okres ciąży	pokolenie F1 – brak zmian rodzice – rak nerek		5	5		Sydow 1970
Szczur (albinos), ciężarne ♀ n = 6 n _{płodów} – brak danych	p.o. (sonda), dawki: 0 (kontrola); 200 mg/kg mc. w 3., 9., 10., 12. dniu ciąży	zmniejszona przeżywalność płodów				200	Alexandrov 1974
Szczur (albinos), ciężarne ♀ brak kontroli n – brak danych	p.o. (sonda), 150 mg/kg mc. w 21. dniu ciąży	pokolenie F1 – u 48% guz nerek, guzy wątroby i innych narządów matki – guzy nerek				150	Alexandrov 1974
Mysz NMRI, ciężarne ♀ n = 15 n _{płodów} (F1) > 7	s.c., dawki: 0 (kontrola) lub 80 ÷ 240 mg/kg/dzień, w dniach ciąży (GD) – 15. ÷ 20. obserwacja F1: 8 lub 12 miesięcy	F1 – gruczolaki płuc i wątrobiaki po 8 mies. obserwacji				80 ÷ 240	Mohr, Althoff 1965
Mysz, ♀ SWR/J ♂ AKR/J n _{płodów} (F1) – 14 ÷ 34	s.c., dawki: 0 (kontrola) lub 50 mg/kg/dzień, 1 raz w dniach ciąży (GD) – 14., 15., 16., 17. lub 18.	F1 – gruczolaki płuc po podaniu NDEA w 16., 17., 18. GD				50	Diwan, Meier 1976
Chomik syryjski (ciężarne) ♀ n = 2 ÷ 8 n _{płodów} – (F1) 8 ÷ 41 brak kontroli	s.c., 2 mg/zwierzę/dzień przez 1 ÷ 7 dni w drugiej połowie ciąży; podanej dawce odpowiada 15,3 mg/kg/dzień dc. – 15,3 ÷ 107,7 mg/kg/dzień	F1 – u 42% brodawczak tchawicy po 25 tyg. od urodzenia F1 – u 68% marskość wątroby po 25 tyg. od urodzenia				15,3 brak danych	Mohr, Althoff 1965; Mohri in. 1966
Chomik syryjski (karmiące) ♀ n = 5	s.c., dawki: 0 (kontrola); 5; 10 lub 20 mg/kg/dzień w dniach 1 ÷ 30 po porodzie	zmniejszona przeżywalność samic i F1, samice – guzy w układzie oddechowym F1 – guzy w układzie oddechowym		5	5 5	5 10	Mohri in. 1972a; 1972b
Chomik syryjski (ciężarne) ♀ n = 6	s.c., dawki: 0 (kontrola) lub 45 mg/kg w 12., 13., 14. lub 15. dniu ciąży s.c. dawki: 0 (kontrola) lub 45 mg/kg w pierwszych 11 dniach ciąży	F1 – u 95% guzy w układzie oddechowym, samice - guzy w układzie oddechowym u kilku zwierząt F1 – brak guzów w układzie oddechowym, samice - guzy w układzie oddechowym u kilku zwierząt		 45	45 45		Mohri in. 1975

cd. tab. 16 / Table 16 cont.

Gatunek zwierząt, płeć, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Wartość NOAEL, mg/kg mc./dzień		Wartość LOAEL, mg/kg mc./dzień		Piśmiennictwo
			F0	F1	F0	F1	
Chomik syryjski (HAN:AURA) (ciężarne) ♀ <i>n</i> > 19 F1 – <i>n</i> > 40, F2 – <i>n</i> > 40	<i>i.p.</i> , dawki: 0 (kontrola) lub 10 mg/kg, 1 raz w 12., 13. lub 14. dniu ciąży	samice – guzy krtani i tchawicy u zwierząt narażanych w 12., 13. lub 14. GD F1 – guzy krtani i tchawicy (łącznie z guzami neuroendo-krynnymi) po narażeniu w 14. GD F2 – chłoniak, rak macicy, krtaniowo-tchawicze guzy neuro-endokrynne po narażeniu 13. lub 14. GD			10	10 10	Mohr i in. 1995

Objaśnienia:
GD (*gestational day*) – dzień ciąży.
F0 – rodzice.
♂ – samiec.
♀ – samica.
n – liczba zwierząt w grupie.
dc. – dawka całkowita.
mc. – masa ciała.
i.p. – podanie dootrzewnowe.
p.o. – podanie dożołądkowe.
s.c. – podanie podskórne.
Objaśnienia pozostałych skrótów w „Wykazie skrótów stosowanych w dokumentacji”.

Autorzy szeregu prac uważają, że NDEA może pojawiać się w mleku narażanych matek w wystarczająco dużych ilościach, aby wywołać powstawanie guzów u potomstwa. *Spielhoffa* i in. (1974) wykazali, że NDEA podawana dootrzewnowo pojawiała się w mleku po 30 minutach, z maksimum po 45 minutach i zanikaniem po 120 minutach. Zmiany nowotworowe pojawiały się w nerkach szczurów F1, gdy matki otrzymywały 4 mg NDEA/kg mc. lub 8 mg NDEA/kg mc. w okresie GD10-21 (podskórnie), (*Wrba* i in. 1967) lub przez zgłębnik 150 mg/kg mc. w GD21 (*Alexandrov* 1974).

Płuca były miejscem powstawania nowotworu u płodów myszy (F1) matek narażanych podskórnie (*s.c.*) na NDEA w dawkach 80 ÷ 240 mg/kg mc/dzień między GD15 a 20 (*Mohr, Althoff* 1965) lub z 50 mg/kg mc. w dniach GD 16, 17 lub 18 (*Diwan, Meier* 1976). Guzy pojawiły się w 8. ÷ 13. miesiącu życia szczurów. Pojedyncza dawka NDEA – 50 mg/kg mc. w GD 14 lub 15 nie powodowała zmian nowotworowych ani u samic ani w pokoleniu F1 (*Diwan, Meier* 1976). W pokoleniu F1 chomików syryjskich rozwinęły się nowotwory dróg oddechowych, gdy matkom podawano dawkę 5 mg/kg mc lub wyższą przez 1 lub więcej dni w drugiej połowie okresu ciąży (tab. 16), (*Mohr, Althoff* 1965; *Mohr* i in. 1966; 1975; 1995).

Chomiki syryjskie otrzymywały podskórnie NDEA w dawkach: 5 mg/kg mc/dzień, 10 mg/kg mc/dzień lub 20 mg/kg mc/dzień od 1. do 30. dnia po

porodzie. Średnia przeżywalność matek i potomstwa uległa zmniejszeniu. Nowotwory dróg oddechowych rozwinęły się w pokoleniu F0 i F1 (tab. 16), (*Mohr* i in. 1972a; 1972b).

Samcom królików podawano (w wodzie pitnej) NDEA w dawce 0,5 mg/kg mc./dzień przez 12 tygodni (zwierzęta kontrolne otrzymywały tylko wodę). Ocena statusu oksydacyjnego w jądrach wykazała istotnie podwyższony poziom wolnych rodników (mierzony jako TBAR – pomiar stężenia substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym), obniżony poziom GSH oraz 17β-HSD (dehydrogenaza 17β-hydroksysteroidowa, która bierze udział w syntezie steroidów w jądrach). Ponadto stwierdzono statystycznie istotnie obniżoną aktywność enzymów antyoksydacyjnych, tj.: GST, SOD i CAT. Odnotowano również obniżenie poziomu testosteronu i estradiolu. W związku z tym autorzy wskazują na istotną rolę NDEA w niepłodności królików. W badaniu histopatologicznym stwierdzono: uszkodzenie kanalików seminiferalnych, zmiany degeneracyjne nabłonka zarodkowego wyściełającego kanaliki seminiferalne oraz degenerację komórek Sertoliego, której towarzyszyło złuszczenie komórek w świetle kanalików seminiferalnych (*Sheweita* i in. 2017).

TOKSYKOKINETYKA

Główne drogi narażenia na nitrozoaminy dotyczą układu oddechowego i skóry. Uważa się, że wysoko lotne nitrozoaminy są przyjmowane przede wszystkim jako gazy śladowe, natomiast nielotne nitrozoaminy są pobierane przez drogi oddechowe jako składnik aerozoli lub pyłu zawieszonego w powietrzu. Przeprowadzone dotychczas badania nad wchłanianiem nitrozoamin przez skórę wskazują, iż mogą one być łatwo wchłaniane tą drogą do organizmu (ECHA 2023).

Wchłanianie

W dostępnej literaturze brak informacji na temat wchłaniania i dystrybucji N-nitrozodietyleaminy (NDEA). Uważa się jednak, że związek ten po podaniu dożołądkowym wchłaniania się z przewodu pokarmowego ze względu na występowanie metabolitów w moczu oraz fakt, że inne nitrozoaminy (np. NDMA, NDPA) są szybko wchłaniane z przewodu pokarmowego (ECHA 2023; Iversen 1980).

Rozmieszczanie

W literaturze nie znaleziono danych dotyczących dystrybucji nitrozoamin u ludzi. Jednakże analiza ilościowa (*post mortem*) 6 nitrozoamin (NDMA, NDEA, NDPA, NDBA, NPIP, NPYR) przeprowadzona u czterech osób wykazała ich obecność w takich organach, jak: mózg, wątroba, nerki, trzustka (Cooper i in. 1987).

Melikian i in. (1981) przeprowadzili badanie mające na celu ustalenie, czy nitrozoaminy są obecne w mleku kobiecym i czy występuje korelacja między ich poziomem a dietą. Analizie na obecność lotnych nitrozoamin poddano próbki płynu z piersi i krwi pobrane od czterech zdrowych kobiet niekarmiących piersią uzyskane 1 h po spożyciu posiłku o wysokiej zawartości azotanów i azotynów. Stwierdzono, że zawierał on łącznie 1200 ng NDMA, 250 ng NDEA, 2600 mg azotanów, 10,5 mg azotynów. N-Nitrozoaminy nie zostały wykryte w próbkach płynu z piersi, ale zarówno N-nitrozodimetyloamina, jak i N-nitrozodietyleamina zostały znalezione w próbkach krwi.

Badania laboratoryjne przeprowadzone na zwierzętach w okresie laktacji (dożołądkowo) eksponowanych na nitrozoaminy wykazały, że związki te mogą przenikać do mleka. Mohr i Althoff (1971) wstrzyknęli podskórnie N-nitrozodietyleaminę

(NDEA) karmiącym chomikom syryjskim, co spowodowało padnięcie 1/3 ich potomstwa. Podanie dootrzewne znakowanego NDEA (35 mg/kg mc.) karmiącym chomikom spowodowało pojawienie się znacznika we krwi i mleku w ciągu odpowiednio 5 min i 45 min (Spielhoff i in. 1974).

Po ekspozycji dożołądkowej (zgłębnik) szczurów na NDEA (Schoental i in. 1974) lub kóz (Juszkiewicz, Kowalski 1974) związek wykryto w mleku w ciągu 2 h.

Juszkiewicz i Kowalski (1974) przeprowadzili badanie na kozach (rasa nieokreślona) w okresie laktacji, którym podali dożołądkowo, jednorazowo NDEA w dawce 20 mg/kg mc. Mierzalne ilości NDEA we krwi pojawiły się już 0,5 h po podaniu, osiągając maksimum po 1 h (5,2 mg/kg tkanki). Gdy zwierzętom podawano coraz większe ilości NDEA (odpowiednio: 1 mg/kg mc.; 2,5 mg/kg mc.; 5 mg/kg mc.; 10 mg/kg mc.; 20 mg/kg mc.; 30 mg/kg mc.), zmierzone poziomy NDEA we krwi po 1 h (maks.) nie były proporcjonalne do podanej dawki (np.: 0,01 mg/kg; 0,72 mg/kg i 5,3 mg/kg tkanki NDEA stwierdzono u zwierząt, którym podano odpowiednio: 1 mg/kg mc.; 5 mg/kg mc. i 20 mg/kg mc.). Wyniki te wskazują na związane z dawką nasycenie klirensu metabolicznego (przypuszczalnie wątrobowego), podobnie jak w przypadku NDMA u gryzoni. W tym samym badaniu określono również wydalanie z mlekiem. Po ekspozycji na NDEA w dawce 30 mg/kg mc. już po 0,5 h wykrywane stężenia związku wynosiły 4,9 mg/kg tkanki, a maks. (14,7 mg/kg tkanki) odnotowano po 4 h. Po 24 h oznaczono jeszcze stężenie 0,008 mg/kg, a śladowe ilości można było jeszcze oznaczyć po 36 h od poddania związku (EFSA 2023).

Rajewsky i Dauber (1970) badali dystrybucję tkankową, wiązanie z białkami osocza i wydalanie z moczem [^3H]-NDEA u dorosłych samców szczurów po jednorazowym podaniu dożołądkowym związku w dawce 16 mg/kg mc. W tkankach stężenia [^3H]-NDEA monitorowano do 240 h – bardzo szybki spadek odnotowano w ciągu pierwszych 8 h, a w pozostałym czasie spadek stężenia był znacznie wolniejszy (co odzwierciedla wiązanie [^3H] ze składnikami komórek o wolniejszym obrocie). Pomiar znacznika izotopowego po 240 h wykazał najwyższe stężenie w wątrobie, a następnie w: nerkach (74% radioaktywności wątroby), śledzionie (40%), jelicie cienkim (18%) i płucach (14%). Tylko 0,3% znacznika było związane z białkami osocza, głównie z alfa-globulinami. Wydalanie [^3H]-NDEA wynosiło 6% i 25% w moczu zbieranym odpowiednio przez 4 h i 24 h (EFSA 2023).

Dystrybucję tkankową NDEA badano techniką autoradiografii u myszy, którym podano dożylnie [^{14}C]-NDEA (2,2 μCi ; 0,8 mg/kg), (Brittebo i in. 1981a). U myszy poddanych eutanazji (1 min i 5 min po podaniu związku) stwierdzono jednorodny rozkład znacznika izotopowego, co wskazuje na zdolność niezmetabolizowanej cząsteczki do swobodnego przechodzenia przez błony biologiczne i dystrybucji do większości tkanek. Jednocześnie stwierdzono wysoki poziom znacznika w błonie śluzowej nosa i tchawicy, drogach oddechowych, przełyku, języku, przedłożądku, a także w wątrobie i korze nerek. U myszy poddanych eutanazji po 30 min, znacznik izotopowy był również obecny w pęcherzach żółciowych i moczowych oraz w tkankach o wysokim obrocie metabolicznym (trzustka, przewód pokarmowy, szpik kostny). W tym samym badaniu sprawdzono, czy podanie inhibitora CYP2E1 (dietyloditiokarbaminianu – DDEC) zmniejszy zakres biotransformacji NDEA. Konsekwencją tej ekspozycji (eutanazja po 15 min od podania NDEA) był 2-krotny wzrost poziomu znacznika w surowicy i spadek w tkankach (4-krotny w płucach, 3-krotny w wątrobie).

Ciężarnym (14. dzień ciąży) chomikom syryjskim podawano podskórnie 100 mg NDEA/kg mc. (Althoff i in. 1977). Zwierzęta następnie uśmiercano, a krew, płyn owodniowy, tkanki łożyska i płodu (nieokreślone) trzech chomików w odstępie czasu od 0,25 h do 5 h pobierano i analizowano pod kątem zawartości NDEA. Maksymalne poziomy (około 5 $\mu\text{g/kg}$) w płynach, tkankach łożyska i tkankach

płodu zostały osiągnięte po 0,5 h, a następnie szybko spadały, przy czym śladowe stężenia (około 0,2 $\mu\text{g/kg}$) były nadal wykrywalne po 5 h.

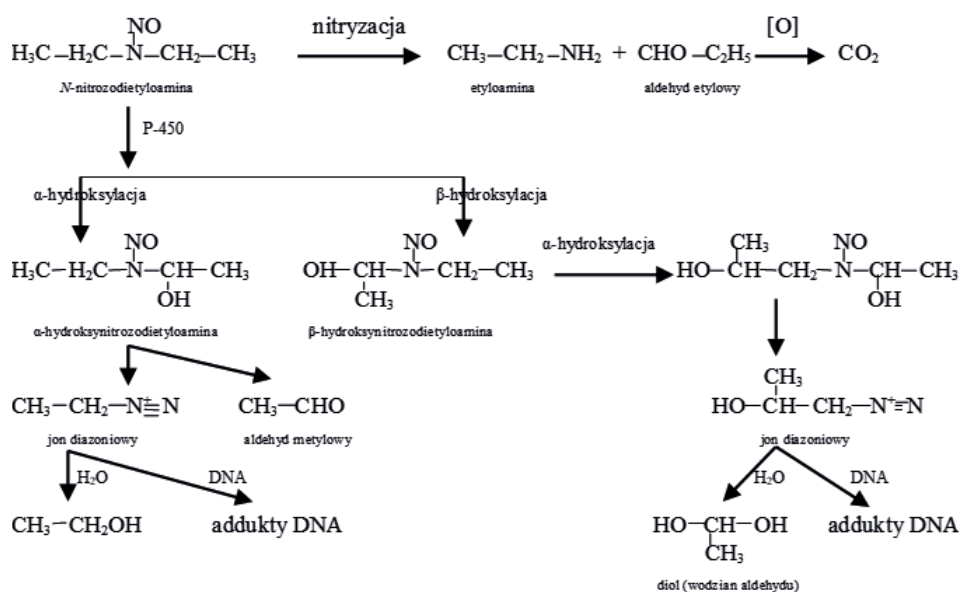
Samicom myszy NMRI wstrzykiwano dożylnie [^{14}C]-NDEA w 12., 14., 16. i 18. dniu ciąży i poddawano eutanazji po 2 min lub 30 min (Brittebo i in. 1981b). Przejście przezłożyskowe [^{14}C]-NDEA do większości tkanek płodu z równomiernym rozkładem zanotowano we wszystkich badanych dniach ciąży. Obecność znacznika izotopowego stwierdzono u płodów z 18. dnia ciąży, ale nie we wcześniejszych etapach ciąży. Szczególnie wysokie jego poziomy zanotowano w płucach (drzewo oskrzelowe) i wątrobie, które są organami docelowymi przezłożyskowej kancerogenezy NDEA u myszy.

Metabolizm

Metabolizm nitrozoamin różni się nieznacznie w zależności od struktury chemicznej. Można wskazać wspólny schemat całej grupy związków (ryc. 2).

Pierwszym etapem jest przede wszystkim utlenianie węgla w pozycji α lub β , katalizowane przez monooksygenazy cytochromu P-450, prowadzące do powstania odpowiedniej α - lub β -hydroksynitrozaminy. Obie są następnie utleniane do aldehydu, natomiast grupa nitrozowa jest przekształcana w jon diazoniowy. Jon ten może reagować z DNA, tworząc addukty lub ulegać solwolizie do odpowiedniego alkoholu (ECHA 2023).

Schemat metabolizmu *N*-nitrozodietylaminy przedstawiono na rycinie 3.



Rycina 3. Schemat metabolizmu *N*-nitrozodietylaminy (NDEA), (ECHA 2023)
Figure 3. Metabolism scheme for *N*-nitrosodiethylamine (NDEA) (ECHA 2023)

Drugi szlak metaboliczny rozpoczyna się od nitryzacji, w wyniku której za pośrednictwem jonu iminowego powstaje amina i aldehyd. Aminy i aldehydy mogą być poddane normalnemu metabolizmowi aż do powstania ditlenku węgla (ECHA 2023).

Wszystkie nitrozoaminy wymagają metabolizmu, aby powodować swoje rakotwórcze działanie (Li i Hecht, 2022). Elektrofile powstające w tych prostych szlakach metabolicznych (zwykle katalizowanych przez enzymy cytochromu P-450) łatwo alkilują DNA, inicjując tym samym proces kancerogenny. Aktywacja metaboliczna NDEA pod kątem działania rakotwórczego jest głównie katalizowana przez CYP2E1 i CYP2A6 (α - i β -hydroksylacja).

Addukty DNA powstające w wyniku metabolizmu NDEA zostały wykryte w badaniach w warunkach *in vivo* po jednorazowym podaniu związku (Singer 1985). Głównymi adduktami z DNA były addukty fosforanowe B1p(Et)B2 – struktury różnych adduktów z DNA opisali Li i Hecht (2022). Należy zauważyć, że 58% adduktów powstałych w wyniku ekspozycji na NDEA (badania w warunkach *in vivo*) powstało przy wodorowo połączonym tlenie. Odpowiednie addukty DNA zostały wykryte w różnych tkankach ludzkich, w tym w DNA leukocytów, dolnych dróg oddechowych, płuc, DNA śliny oraz w ludzkim moczu (w zwiększonej ilości u osób palących). Addukty z DNA powstałe w wyniku narażenia z dietą i tworzenia endogennego wykryto w próbkach wątroby (Li, Hecht 2022).

Wydalenie

Wiele badań dotyczyło oceny wydalania różnych nitrozoamin, uwzględniając różne gatunki zwierząt oraz drogi narażenia. Niezmetabolizowana NDEA (w niewielkiej ilości) oraz jej metabolity są wydalone z moczem (do 90% dawki) jako glukuronid hydroksylowej formy oraz kwas octowy (utleniona forma aldehydu octowego), (ECHA 2023). Wydalanie

z żółcią ma niewielkie znaczenie i zostało udokumentowane dla m.in. NDMA, NDEA (EFSA 2023).

Innym produktem metabolizmu jest ditlenek węgla, który jest wydychany wraz z niezmienioną substancją, szczególnie w przypadku ekspozycji inhalacyjnej (Klein, Schmezer 1984; Philips i in. 1975).

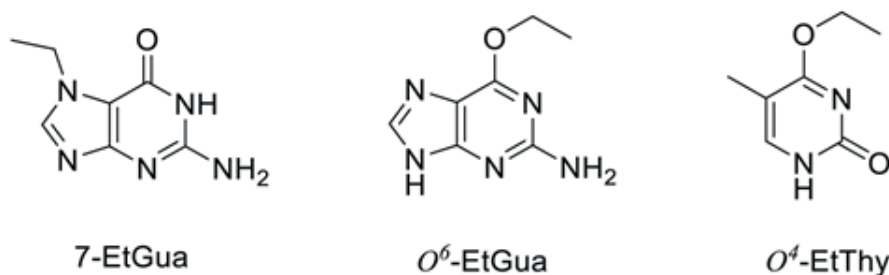
Mechanizm działania toksycznego

N-Nitrozoaminy, aby mogły wywierać działanie toksyczne i rakotwórcze, wymagają aktywacji metabolicznej przez enzymy CYP. Głównymi enzymami zaangażowanymi w metaboliczną aktywację nitrozoamin (m.in. NDEA) są: CYP2E1, CYP2A6 i CYP2A13.

Aktywacja metaboliczna N-nitrozoamin prowadzi do utworzenia różnych jonów diazoniowych (np. metyldiazoniowe, etyldiazoniowe itp.). Jony alkildiazoniowe są prekursorami reaktywnych elektrofilowych jonów karbenowych, które bezpośrednio reagują z DNA, tworząc stabilne addukty głównie z azotem i tlenem guaniny, cytozyny i tymidyny. Struktura i liczba jonów diazoniowych (utworzonych z określonej N-nitrozoaminy) zależy od struktury chemicznej każdej N-nitrozoaminy. W przypadku wysokiego potencjału mutagennego i rakotwórczego niektórych lotnych N-nitrozoamin, kluczowym etapem jest aktywacja metaboliczna poprzez α -hydroksylację, która następnie prowadzi do powstania jonów diazoniowych. Niższa liczba α -hydrogenów w alkilo-N-nitrozoaminach i podstawienie α -hydrogeny może zmniejszyć potencjał mutageny (EMA 2020).

Podstawowym szlakiem metabolizmu NDEA jest α -hydroksylacja prowadząca do powstania diazoniowego jonu etylowego, silnego czynnika etylującego DNA.

Ogólny wzór etylacji DNA jest bardzo podobny do schematu obserwowanego w przypadku N-nitrozodimetyloaminy (DMA), ale addukty występu-



Rycina 4. Główne addukty powstałe w wyniku metabolizmu N-nitrozodietylaminy (NDEA)
Figure 4. Main adducts resulting from the metabolism of N-nitrosodiethylamine (NDEA)

jące w największej ilości to: N⁷-Et-Gua, O⁶-Et-Gua i O⁴-Et-Thy (ryc. 4). W przypadku β-hydroksylacji i wtórnej α-hydroksylacji NDEA, generowany 2-hydroksymetylodiazon może tworzyć takie addukty, jak N⁷-HOEt-Gua. Uszkodzenia DNA są uważane za główną przyczynę rakotwórczego działania związków N-nitrozowych. Przewlekłe narażenie szczurów na NDEA prowadziło do akumulacji w wątrobie lub przełyku (O⁶-Et-Gua i O⁴-Et-Thy), które uważa się za ważne w procesie kancerogenezy NDEA (Verna i in. 1996).

Podsumowując:

- aktywacja metaboliczna jest kluczowa w określaniu zakresu tworzenia adduktów nitrozoamin z DNA,
- mechanizm ten zależy od dostępności enzymów CYP. Poziomy enzymów (zwłaszcza CYP2E1) różnią się w zależności od gatunku (szczur/chomik/człowiek), a także narządu. Różnice w zależności od gatunku prowadzą do różnych wyników eksperymentalnych zarówno w badaniach w warunkach in vivo, jak i in vitro. Gatunki o wyższym poziomie enzymów wątrobowych mogą być bardziej wrażliwymi gatunkami testowymi,
- różne poziomy odpowiednich enzymów w różnych narządach wpływają na podatność tych narządów na powstawanie nowotworów,
- obecność grup hydroksylowych znacząco wpływa na stabilność i rozpuszczalność nitrozoamin. α-Hydroksylowane dialkilo-N-nitrozoaminy mają w warunkach fizjologicznych okres półtrwania do 10 s, następnie ulegają spontanicznemu rozkładowi do aldehydu lub (ostatecznie) wodorotlenku diazoniowego, który reaguje głównie z wodą, a następnie jest usuwany z organizmu (ale reaguje również z DNA). W związku z tym miejsce w organizmie, w którym zachodzi α-hydroksylacja może wpływać na miejsce nowotworu narządu (Cross, Ponting 2021).

ZIAŁANIE ŁĄCZNE

Opisane w literaturze przykłady łącznego działania N-nitrozodietyleaminy (NDEA) i różnych czynników modyfikujących dotyczą obserwacji u zwierząt i wskazują zarówno na możliwość zwiększenia toksycznego działania NDEA, jak i zmniejszania uszkodzeń narządów (najczęściej wątroby), powstających pod jej wpływem.

Szczurom, samcom szczepu Wistar podawano jednocześnie octan ołowiu (PA), (w paszy) i NDEA (w wodzie do picia) 5 dni w tygodniu przez 26 tygodni (Nogueira 1987). Grupami kontrolnymi były zwierzęta otrzymujące tylko jeden ze związków. Raka płuc zaobserwowano po podaniu NDEA (dwa razy więcej przypadków po łącznym podaniu NDEA i PA). Liczba przerzutów w płucach oraz brodawczaków w przełyku również była większa w grupie zwierząt otrzymujących łącznie NDEA i PA niż otrzymujących tylko NDEA. W grupie szczurów narażanych tylko na PA nie obserwowano zmian nowotworowych. W nerkach stwierdzono występowanie komórek zasadochłonnych, chromofobowych i onkocytnych. Największą ich liczbę zanotowano w grupie zwierząt narażonych jednocześnie na NDEA i PA.

Camus i in. (1993) wykazali, że metabolizm NDMA i NDEA jest hamowany przez kumarynę. Wyniki uzyskane przez autorów wskazują, że kumaryna hamowała metabolizm nitrozoamin o 60 ÷ 95%. Wartości IC₅₀ były niższe, natomiast maksymalne zahamowanie było wyższe w mikrosomach myszy leczonych pochodną pirazolu niż w mikrosomach kontrolnych, szczególnie w przypadku NDEA. Spowodowane jest to indukcją Cyp2a-5 i interakcją między kumaryną a nitrozoaminami na poziomie enzymatycznym. Specyficzne przeciwciała przeciwko Cyp2a-5 hamowało więcej mikrosomalnej dealkilacji NDEA (do 90%) niż NDMA (do 40%).

Mori i in. (1987) wykazali hamujący wpływ rozpuszczalników organicznych na mutagenność N-nitrozodialkiloamin. Badania przeprowadzono przy użyciu testu Ames na *Salmonella* Typhimurium TA100 w obecności frakcji S9 (wątroba szczura). Aktywność mutagenna N-nitrozodimetyloaminy, N-nitrozodietyleaminy, sześciu pochodnych N-nitrozopropyleaminy i N-nitrozo-2,6-dimetylomorfoliny była znacznie zmniejszona przez dodanie do mieszaniny inkubacyjnej dimetylosulfotlenku, dimetyloformamidu, acetonu, 95% etanolu lub acetonitrylu, które są zalecane jako rozpuszczalniki w tym teście. Autorzy pracy sugerują, że skutek hamujący jest wynikiem zakłócenia procesu aktywacji metabolicznej.

W tabeli 17 podano przykłady czynników zmniejszających toksyczność NDEA. Skutki narażenia obserwowane po łącznym podaniu NDEA i czynnika modyfikującego porównywano z wynikami zanotowanymi w grupach zwierząt eksponowanych tylko na NDEA.

Tabela 17. Zmiany wskaźników toksyczności po łącznym podaniu N-nitrozodietyloaminy (NDEA) i czynników modyfikujących
Table 17. Changes in toxicity indicators after combined administration of N-nitrosodiethylamine (NDEA) and modifying agents

Gatunek zwierząt, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury (albinosy), ♂ n = 6	1 × i.p., dawki NDEA: 0 (kontrola); 200 mg/kg mc. tydzień przed podaniem NDEA rozpoczęto podawanie (p.o.) ekstraktu z liści kolcorośli w dawkach 200 i 400 mg/kg/ dzień przez 16 tygodni	wątroba: – zwiększenie względnej masy – zmniejszenie peroksydacji lipidów – – zwiększenie aktywności SOD, CAT, GSH-Px, GSH-R i GST – zwiększenie stężenia GSH oraz wit. C i E w porównaniu z grupą otrzymującą tylko NDEA surowica: – powrót – aktywności AST, ALT, ALP i GGT oraz poziomu AFP i CEA, stężenia TB do wartości kontrolnych po podaniu ekstraktu w dawce 400 mg/kg/dzień	Rajesh, Perumal 2013
Szczury Wistar (albinosy), ♂ N = 10	p.o., ekstrakt z imbiru (GE), dawki: 108 i 216 mg/kg/dzień, przez 28 dni; po 21 dniach 1 × i.p., NDEA – 100 mg/kg mc.	wątroba, żołądek, okrężnica: – zmniejszenie poziomu IL-1β, TNF-α, AFP, MDA, NOx i ekspresji COX-2 – zwiększenie Nrf2 i GSH surowica: – zmniejszenie aktywności AST i ALT w porównaniu z grupą otrzymującą tylko NDEA	Mansouri i in. 2019
Myszy BALB/c, ♂ n = brak danych	2 × i.p., mito-TEMPO, 7 dni przed i w dniu podania NDEA dawka NDEA – 10 mg/kg mc. (1 × i.p.)	wątroba: – zmniejszenie aktywności AST i ALT oraz poziomu LPO i ROS – zwiększenie aktywności GSH-R, GSH-Px, SOD oraz kompleksu I i II w porównaniu z grupą otrzymującą tylko NDEA	Shetty i in. 2021
Szczury (albinosy), ♂ n = 8	i.p., 1 raz na tydzień w ciągu 8 tygodni w dawkach (NDEA): 0 (kontrola); 200 mg/kg mc., równocześnie podawano (p.o.) ekstrakt z owoców paulowni omszonej (500 mg/kg mc.)	wątroba: – zwiększenie względnej masy wątroby, poziomu glukozy, białka całkowitego i albuminy surowica: – zmniejszenie aktywności AST, ALT, ALP i GGT w porównaniu z grupą otrzymującą tylko NDEA	Ali i in. 2019
Szczury Wistar (albinosy), ♂ n = 6	p.o. przez 16 tygodni podawano NDEA w wodzie do picia (200 mg/kg mc.), równocześnie podawano w paszy morin (500 ppm)	zwiększenie masy ciała wątroba: – zmniejszenie poziomu MDA – zwiększenie aktywności: SOD, CAT, GSH-Px, GST, GSH-R i poziomu GSH surowica: – zmniejszenie aktywności: AST, ALT, ALP, LDH, GGT oraz poziomu AFP i CEA – zwiększenie aktywności: SOD, CAT, GSH-Px, GST, GSHR i poziomu GSH w porównaniu z grupą otrzymującą tylko NDEA	Sivaramakrishnan i in. 2008
Szczury (albinosy), ♂ n = 6	p.o. przez 16 tygodni podawano NDEA w wodzie do picia, stężenie – 0,01%; po 10 tygodniach rozpoczęto podanie ekstraktu z melona (p.o., 500 mg/kg mc.) i preparat zawierający nano- cząstki Ag (i.p., 100 µg/kg mc.)	krew: – zmniejszenie liczby WBC – zwiększenie liczby RBC, PLTS i stężenia Hb surowica: – zmniejszenie aktywności ALP, LDH, GGT, 5'-NT oraz poziomu AFP i CEA – zwiększenie aktywności AST, ALT w porównaniu z grupą szczurów otrzymującą tylko NDEA	Vidya i in. 2022
Szczury (albinosy), ♂ n = 6	p.o., przez 16 tygodni podawano NDEA w wodzie do picia (stężenie 0,01%) oraz wyciąg z psianki żółtojagodowej (p.o., sonda; dawki: 75; 150 lub 300 mg/kg mc.)	wątroba: – zmniejszenie względnej masy wątroby oraz poziomu: TBARS, LOOH, CD surowica: – zmniejszenie aktywności: AST, ALT, ALP, LDH, GGT i poziomu TBARS – zwiększenie aktywności : SOD, CAT, GSH-Px, GSH-R, GST w porównaniu z grupą narażoną tylko na NDEA	Velu i in. 2016

cd. tab. 17 / Table 17 cont.

Gatunek zwierząt, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Wistar (dowolnej płci) n = 6	p.o., przez 5 dni w tygodniu przez 20 tygodni podawano NDEA (w wodzie do picia, stężenie 0,02%); tydzień przed 1. dawką NDEA rozpoczęto podawanie wyciągu z wężówki pogiętej i podawano jednocześnie z NDEA	wątroba: – zwiększenie poziomu GSH – zmniejszenie poziomu MDA, Ang-1, Ang-2, VEGF surowica: – zmniejszenie aktywności: AST, ALT, LDH, GGT w porównaniu z grupą narażoną tylko na NDEA	Wills i in. 2006

Objaśnienia:
♂ – samiec.
n – liczba zwierząt w grupie.
dc. – dawka całkowita.
mc. – masa ciała.
i.p. – podanie dootrzewnowe.
p.o. – podanie dożołądkowe.
Objaśnienia pozostałych skrótów w „Wykazie skrótów stosowanych w dokumentacji”.

Rajesh i Perumal (2013) badali wpływ ekstraktu z liści kolcorośli (*Smilax zeylanica*) na wątrobę szczurów narażonych na NDEA (tab. 17). Autorzy pracy uważają, że potencjalny efekt ochronny badanego ekstraktu w stosunku do uszkodzonej przez NDEA wątroby szczura polega na zwiększeniu i stabilizacji układu antyoksydacyjnego oraz na zmiataniu wolnych rodników (*free radical scavenging activity*).

Wpływ wyciągu imbiru (GE) na stres oksydacyjny, powstawanie stanu zapalnego i proliferację komórek w wątrobie, żołądka i okrężnicy szczurów po podaniu NDEA badali Mansour i in. (2019). Wyniki badań przedstawiono w tabeli 17. NDEA spowodowała w badanych narządach i surowicy szczurów statystycznie znamienne zmiany aktywności/poziomów IL-1β, TNF-α, AFP, MDA, NOx, COX-2, Nrf2, GSH, AST i ALT (tab. 5) w porównaniu z grupą kontrolną. Ochronny efekt GE w stosunku do uszkodzonych po podaniu NDEA wątroby, żołądka i okrężnicy był spowodowany aktywnością antyproliferacyjną (poprzez działanie Nrf2) badanego wyciągu (Mansour i in. 2019).

Badanie ochronnego działania mito-TEMPO przeprowadzili Shetty i in. (2021). Mito-TEMPO to ukie-runkowany na mitochondria mimetyk dysmutazy ponadtlenkowej (SOD). Związek ten łączy antyoksy-dacyjny nitroksyd piperydyny (TEMPO) z lipofilowym kationem trifenylofosfonianowym. Może on w wielu tkankach (w tym w wątrobie) wychwytywać nadtlénki. Uzyskane wyniki badań wskazują, że ochronny efekt

mito-TEMPO polega na jego wpływie na początkową fazę powstawania nowotworu zainicjowaną działaniem NDEA (Shetty i in. 2021), (tab. 17).

Po podaniu szczurom łącznie NDEA i ekstrak-tu z owoców pauwołwni omszonej (*Pauwołwnia tomentosa*) (tab. 17) zanotowano zmniejszenie ak-tywności AST, ALT, ALP i GGT w surowicy w po-równaniu z grupą zwierząt otrzymujących tylko NDEA (Ali i in. 2019).

Sivaramakrishnan i in. (2008) przeprowadzili badania, w których szczurom narażanym na NDEA w wodzie do picia podawali jednocześnie w paszy fla-wonoid morin w stężeniu 500 ppm przez 16 tygodni (tab. 17). Morin to 3,5,7,2',4'-pentahydroksyflawon występujący w roślinach z rodziny morwowate (np. migdałowiec zwyczajny, figowiec pospolity). Uważa się, że związek ten może m.in. działać jako antyok-sydant, inhibitor oksydazy ksantynowej, białkowej kinazy C oraz proliferacji komórkowej, a także jako induktor apoptozy. Autorzy pracy w podsumowaniu stwierdzają, że morin zapobiegała peroksydacji lipi-dów, uszkodzeniu komórek wątroby i działała jako antyoksydant w przypadku narażania szczurów na NDEA (Sivaramakrishnan i in. 2008).

Szczury otrzymywały przez 16 tygodni NDEA w wodzie do picia (0,01% NDEA) w stężeniu, które jest uważane za stężenie NDEA indukujące powsta-wanie raka wątrobowokomórkowego (Vidya i in. 2022). Podanie ekstraktu z melona i preparatu Ag znacząco zredukowało zmiany w strukturze wątro-by i nerek (tab. 17), (Vidya i in. 2022).

Ekstrakt z liści psianki żółtojagodowej (*Solanum xanthocarpum*) zapobiegał uszkodzeniu wątroby i peroksydacji lipidów, a także ochraniał system antyoksydacyjny i potencjał przeciwnowotworowy szczurów narażonych na NDEA (Velu i in. 2016). Na to ochronne działanie ekstraktu z liści psianki wskazują oznaczenia wskaźników uszkodzenia wątroby (tab. 17). Ekstrakt roślinny podawano w 3 różnych stężeniach, obserwowane zmiany były zależne od tych stężeń. Po podaniu szczurom 300 mg ekstraktu/kg mc. mierzone parametry powracały do poziomu wartości kontrolnych. W badaniach histopatologicznych wątroby zwierząt narażanych jedynie na NDEA notowano: utratę struktury narządu, zmiany degeneracyjne hepatocytów i nowotworowe. Podanie ekstraktu z liści psianki powodowało zależny od dawki powrót do normalnej struktury wątroby szczurów (Velu i in. 2016).

Wills i in. (2006) badali działanie antyangiogenne ekstraktów z wężówki pogiętej (*Lygodium flexuosum*) na szczurach narażonych na NDEA w stężeniach powodujących wystąpienie zmian nowotworowych (tab. 17). Autorzy pracy (Wills i in. 2006) uważają, że szczególnie istotny jest fakt znaczącego zmniejszenia poziomów Ang-1, Ang-2 i VEGF zanotowany w grupie zwierząt otrzymujących łącznie NDEA i ekstrakt z wężówki. Zmniejszenie to było statystycznie istotne w porównaniu z wynikami uzyskanymi w grupie otrzymującej tylko NDEA. Korzystne (lecnicze) działanie wyciągu z wężówki potwierdza również ocena histopatologiczna wątroby szczurów.

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Dane na temat zależności skutku działania toksycznego N-nitrozodietylaminy (NDEA) od wielkości narażenia są ograniczone. Dotyczą one tylko badań na zwierzętach i odnoszą się głównie do uszkodzeń wątroby i działania rakotwórczego.

Kamiński i in. (1989) podawali myszom NDEA w dawkach: 16 mg/kg mc., 24 mg/kg mc. lub 48 mg/kg mc. i oceniali wpływ tej ekspozycji na odpowiedzi przeciwciał zależnych od T-limfocytów (tab. 6). Stopień zahamowania odpowiedzi przeciwciał był zależny od podanej dawki nitrozoaminy. Dawkę 16 mg/kg mc. przyjęto za NOAEL.

NDEA podawana była w wodzie do picia szczurom przez 30 tygodni (tab. 11). Lijinski in. (1981)

zanotowali zmiany nowotworowe w przewodzie pokarmowym i wątrobie, jednak zależność liczby zmian nowotworowych (łącznie raki i brodawczaki) od dawki stwierdzono tylko w przełyku. Po podaniu dawki najniższej (0,0044 mg/kg/dzień) nie zanotowano zmian nowotworowych.

Berger i in. (1987) narażali szczury przez 149 tygodni. NDEA podawali zwierzętom w wodzie do picia w dawkach: 7 µg/kg/dzień, 14 µg/kg/dzień; 22,9 µg/kg/dzień; 71,4 µg/kg/dzień (tab. 11). Zmiany nowotworowe (wiele nowotworów łącznie) zanotowali w przewodzie pokarmowym i wątrobie po wszystkich dawkach (były zależne od dawki nitrozoaminy).

Szeroko zakrojone badania rakotwórczego działania NDEA przeprowadzili Brantom (1983) oraz Peto i in. (1991a; 1991b), (tab. 11). Szczurom podawali w wodzie do picia NDEA w 16 różnych dawkach przez 176 tygodni. Występowanie zmian nowotworowych oceniali w wątrobie i przełyku, liczba zmian była zależna od podanej dawki. W wątrobie zarówno u samców, jak i samic zmiany łagodne i złośliwe występowały po wszystkich dawkach. W przełyku po 4 najniższych dawkach ($0,001 \div 0,011$ mg/kg/dzień) nie zanotowano zmian nowotworowych. Po dawkach 0,022 mg/kg/dzień i wyższych liczba zmian była zależna od dawki NDEA.

Thorgeirsson i in. (1994) podawali NDEA (*i.p.*) makakom i koczokodanom (tab. 12) w 6 różnych dawkach. W wątrobie zwierząt stwierdzano raka wątrobowokomórkowego po dawkach 0,07 mg/kg/dzień i wyższych. Po podaniu dawki najniższej (0,007 mg/kg/dzień) nie zaobserwowano zmian nowotworowych. Najwyższa niedziałająca (w tym eksperymencie) dawka NDEA to 0,007 mg/kg mc./dzień (NOAEL), natomiast najniższa działająca dawka NDEA to 0,07 mg/kg mc./dzień (LOAEL).

Myszom podawano w wodzie do picia NDEA w 15 różnych stężeniach (tab. 13), (Gray i in. 1991). Zmiany nowotworowe stwierdzano w wątrobie oraz przełyku i żołądku, były one zależne od poziomu narażenia na NDEA, ale tylko w pewnym zakresie dawek. W wątrobie, gdzie oceniano łącznie występowanie raka wątrobowokomórkowego i innych zmian nowotworowych po 3 najniższych dawkach nie stwierdzono takich zmian, w zakresie dawek $0,07 \div 1,44$ mg NDEA/kg/dzień notowane zmiany były zależne od dawki. W przełyku i żołądku, gdzie oceniano łącznie występowanie guzów złośliwych i niezłośliwych po 5 najniższych dawkach nie

stwierdzano takich zmian, natomiast w zakresie dawek 0,29 ÷ 1,44 mg NDEA/kg/dzień obserwowane zmiany były zależne od podanej dawki.

Po jednorazowej dawce NDEA podanej chomikom (tab. 14) stwierdzono guzy w układzie oddechowym (Mohr i in. 1966). Po dawce najniższej (0,5 mg/zwierzę) nie obserwowano zmian w układzie oddechowym. Natomiast po dawkach: 0,75 mg/zwierzę; 1 mg/zwierzę; 1,5 mg/zwierzę; 2 mg/zwierzę; 3 mg/zwierzę lub 4 mg/zwierzę liczba zmian (guzów) była zależna od podanej dawki.

Gray i in. (1991) podawali chomikom w wodzie do picia NDEA w 15 różnych stężeniach. W wątrobie, gdzie oceniano łącznie występowanie guzów złośliwych i niezłośliwych po 4 najniższych dawkach (0,003 ÷ 0,03 mg/kg/dzień) i dawce najwyższej (1,75 mg/kg/dzień) nie zanotowano zmian nowotworowych (tab. 14). W zakresie dawek 0,05 ÷ 0,88 mg NDEA/kg/dzień notowane zmiany były zależne od dawki nitrozoaminy.

Wyniki badań Brantoma (1983) oraz Peto i in. (1991a; 1991b) przyjmowane są za podstawę dla szacowania ryzyka powstawania raka w wątrobie u ludzi i propozycji obliczeń normatywów higienicznych (Blum i in. 2023).

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

Istniejące wartości NDS i ich podstawy

Do tej pory nie ustalono wartości NDS/TWA, ani wartości DSB dla N-nitrozodietiloaminy (NDEA).

W Austrii ustalono wartości TRK (lub TRC) dla mieszaniny N-nitrozoamin. W Niemczech obowiązują wartości techniczne (TRC, wartości referencyjne), jednak również dotyczą one mieszaniny N-nitrozoamin (tab. 18), (IFA 2022). W Niemczech wartości te dotyczą mieszaniny rakotwórczych N-nitrozoamin (kategoria rakotwórczości 1B). W skład mieszaniny zaliczono: N-nitrosodibutyloaminę, N-nitrozodietiloaminę, N-nitrozoetylofenyloaminę, 2,2'-(nitrozoimino)bisetanol, N-nitrozodimetyloaminę, N-nitrozometyloetyloaminę, N-nitrozoetylofenyloaminę, N-nitrozomorfolinę, N-nitrozopiperidynę, N-nitrozodipropyloaminę, N-nitrozodipropyloaminę i N-nitrozopirolidynę (TRGS 552 2018).

Wartości techniczne nie są ustalane w oparciu o kryteria zdrowotne, jedynie na podstawie możliwości technicznych przestrzegania ustalonej wartości TRC/TRK. Wartości te definiowane są jako najniższe stężenie substancji rakotwórczej (w postaci gazu, par lub aerozoli), które można osiągnąć przy zachowaniu zasady state-of-the-art (Skowroń, Czerczak 2013).

Istniejące propozycje wartości NDS i ich podstawy

Poniżej podano projekty normatywów higienicznych dla NDEA zaproponowanych w opracowaniu ECHA (2023) i Blum i in. (2023).

Na podstawie prac Peta i in. (1991a; 1991b) przeprowadzono ocenę ryzyka powstawania raka wątroby po narażeniu na NDEA przez 8 h/dzień, 5 dni w tygodniu przez okres 40 lat (tab. 15), (ECHA 2023). W Polsce ryzyko powstawania dodatkowego raka jest akceptowalne na poziomie 10⁻³ ÷ 10⁻⁴. Analizując dane zawarte w tabeli 15 wartość NDS dla NDEA powinna się mieścić w granicach

Tabela 18. Wartości techniczne stężeń mieszaniny N-nitrozoamin obowiązujące w różnych państwach (IFA 2022)
Table 18. Technical values of N-nitrosamine mixture concentrations applicable in various countries (IFA 2022)

Państwo	Wartość TRK		Wartość chwilowa		Uwagi
	ppm	mg/m ³	ppm	mg/m ³	
Austria	–	0,0025	–	0,01	wartość TRK (<i>Technische Richtkonzentration</i>) – zalecane stężenie techniczne (wartość techniczna)
Niemcy	–	0,0002 ¹ 0,0005 ² 0,001 ³	–	–	1) wartość referencyjna reprezentująca stan techniki w zakresie pracy z płynami do obróbki metali, lotnych inhibitorów korozji (VCI), przemysłu chemicznego (nieopisane poniżej), odlewni 2) wartość referencyjna reprezentująca stan techniki dla przemysłu chemicznego – praca z aminami, przemysłu oponiarskiego – wulkanizacja 3) wartość referencyjna reprezentująca stan wiedzy dla przemysłu chemicznego (produkcja włókien poliakrylo-nitrylowych), przemysłu oponiarskiego (magazynowanie technicznych wyrobów gumowych), przemysłu skórzanego

0,03 ÷ 0,00003 mg/m³ (0,007 ÷ 0,000007 ppm). Przy tych stężeniach NDEA w powietrzu należałoby oczekiwać 4 ÷ 40 dodatkowych przypadków raka wątroby na 100 000 ludzi. Jednocześnie po analizie dostępnych danych autorzy opracowania ECHA (2023) rekomendują, aby jako wartość OEL dla NDEA przyjąć 0,2 µg/m³ (0,0002 mg/m³; 0,000047 ppm).

Blum i in. (2023) również na podstawie prac Peto (1991a; 1991b) zaproponowali obliczenie OEL wg wzorów podanych poniżej. Podstawą tych obliczeń są wartości BMDL₁₀.

$$\begin{aligned} \text{OEL I} &= \frac{\text{PoD} \cdot 70 [\text{kg}]}{10\,000 \cdot \text{WLT} \cdot 10 [\text{m}^3]} = \\ &= \frac{\text{BMDL}_{10} [\mu\text{g/kg/dzień}] \cdot 70 [\text{kg}]}{10\,000 \cdot 0,125 \cdot 10 [\text{m}^3]} = \\ &= \frac{\text{BMDL}_{10} [\mu\text{g/kg/dzień}] \cdot 70 [\text{kg}]}{12\,500 [\text{m}^3]} = \\ &= \frac{14,6 \cdot 70 [\text{kg}]}{12\,500 [\text{m}^3]} = 0,082 \mu\text{g/m}^3 \approx 0,1 \mu\text{g/m}^3 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{OEL II} &= \frac{\text{PoD} \cdot 70 [\text{kg}]}{\text{CAFs} \cdot 10 [\text{m}^3]} = \\ &= \frac{\text{BMDL}_{10} [\mu\text{g/kg/dzień}] \cdot 70 [\text{kg}]}{600 \cdot 10 [\text{m}^3]} = \\ &= \frac{\text{BMDL}_{10} [\mu\text{g/kg/dzień}] \cdot 70 [\text{kg}]}{6000 [\text{m}^3]} = \\ &= \frac{14,6 \cdot 70 [\text{kg}]}{6000 [\text{m}^3]} = 0,170 \mu\text{g/m}^3 \approx 0,2 \mu\text{g/m}^3 \end{aligned}$$

Objaśnienia:

PoD (*point of departure*) – BMDL₁₀ = 14,6 µg/kg mc./dzień (Blum i in. 2023).

WLT (*working-lifetime*) – przyjęto, że człowiek pracujący 8 h/dzień, 5 dni w tygodniu, 240 dni w roku przez 40 lat spędza w pracy 1/8 życia (12,5% lub 1/8 życia = 0,125).

CAFs – sumaryczny współczynnik szacunkowy (10 000).

AF – współczynnik modyfikujący (600).

Na podstawie prac Peto i in. (1991a; 1991b) przyjęto wartość BMDL₁₀ równą 14,6 µg/kg/dzień, a obliczone wartości OEL dla NDEA wynoszą odpowiednio: OEL I – 0,1 µg/m³ oraz OEL II – 0,2 µg/m³. Blum i in. (2023) proponują przyjąć za wartość OEL dla NDEA – 0,2 µg/m³. Autorzy pracy (Blum i in. 2023)

zaproponowali również obliczenie OEL, przyjmując za podstawę TD₅₀ – 17,7 µg/kg/dzień i sumaryczny współczynnik szacunkowy – 50 000. Obliczona na tej podstawie wartość OEL dla NDEA to 0,02 µg/m³. W podsumowaniu Blum i in. (2023) stwierdzają, że do najbardziej toksycznych nitrozoamin należy zaliczyć NDEA oraz nitrozopiperydynę (NPIP). Dla obu amin zaproponowano OEL na poziomie 0,02 µg/m³. Dla NDMA zaproponowano OEL na poziomie 0,5 µg/m³ (Blum i in. 2023).

Podstawy proponowanych wartości NDS i NDSch

W Polsce do tej pory nie ustalono wartości NDS i/lub NDSch dla N-nitrozodietylaminy (NDEA). Przygotowane opracowanie zostało wykonane zgodnie z proponowaną przez Komisję Europejską listą substancji zalecanych do naukowego opracowania i/lub weryfikacji normatywów higienicznych w ramach regulacji polityki bezpieczeństwa i higieny pracy (OSH), (European Commission 2022).

Podstawą proponowanej wartości NDS dla NDEA są badania przeprowadzone przez Brantom (1983), Peto i in. (1991a; 1991b) oraz Thorgeirssona i in. (1994).

Brantom (1983) oraz Peto i in. (1991a; 1991b) podawali samcom i samicom szczurów NDEA w wodzie do picia przez 176 tygodni. Badanie to obejmuje 15 poziomów dawek od 0,002 mg/kg mc./dzień do 1,47 mg/kg mc./dzień dla samic i od 0,001 mg/kg mc./dzień do 0,697 mg/kg mc./dzień dla samców. Zmiany nowotworowe zarówno u samców, jak i samic zanotowane w wątrobie i przełyku przy najniższych dawkach NDEA były na poziomie zmian w grupach kontrolnych. W przypadku samic istotne zmiany były po dawkach wyższych niż 0,002 mg/kg/dzień (NOAEL), a w przypadku samców po dawkach wyższych niż 0,003 mg/kg/dzień (NOAEL), (tab. 11). Przy wyższych dawkach częstość występowania guzków wątrobowych i HCC (raka wątrobowokomórkowego) zwiększała się zależnie od dawki (Brantom 1983; ECHA 2023; Peto i in. 1991a; 1991b). Wartości NOAEL dla samców i samic szczurów nieznacznie się różnią. Poniżej przedstawiono obliczenia wartości NDS dla NDEA.

Na podstawie badań (Brantom 1983; Peto i in. 1991a; 1991b) oraz analizy uzyskanych w tych badaniach wyników przez ECHA (2023) zaproponowano poniższe wyliczenie wartości NDS dla NDEA. Ekwiwalentne dzienne stężenie dla

człowieka pobrane w ciągu 8 h (C), w miligramach na metr sześcienny, można ocenić następująco:

$$C = \frac{NOAEL \cdot W}{V}$$

$$C = \frac{NOAEL \cdot 70 \text{ kg}}{V}$$

gdzie:

W – masa człowieka, 70 kg,

V – objętość powietrza wdychanego przez człowieka w ciągu 8 h, 10 m³.

Zatem:

$$C = \frac{NOAEL (\text{samice}) \cdot 70 \text{ kg}}{10 \text{ m}^3} =$$

$$= \frac{0,002 \text{ mg/kg/dzień} \cdot 70 \text{ kg}}{10 \text{ m}^3} =$$

$$= \frac{0,14}{10 \text{ m}^3} = 0,014 \text{ mg/m}^3$$

$$C = \frac{NOAEL (\text{samce}) \cdot 70 \text{ kg}}{10 \text{ m}^3} =$$

$$= \frac{0,003 \text{ mg/kg/dzień} \cdot 70 \text{ kg}}{10 \text{ m}^3} =$$

$$= \frac{0,21}{10 \text{ m}^3} = 0,021 \text{ mg/m}^3$$

Wartość NDS obliczono na podstawie wzoru:

$$NDS = \frac{C}{UF}$$

Przyjęto następujące współczynniki niepewności (UF):

A = 2, różnice wrażliwości osobniczej człowieka (do 2),

B = 2 współczynnik związany z różnicami wynikającymi z drogi podania (do 10),

C = 1, współczynnik związany z przejściem z badań krótkoterminowych do przewlekłych (do 3),

D = 1, współczynnik związany ze stosowaniem wartości LOAEL zamiast wartości NOAEL (do 3),

E = 5, współczynnik modyfikacyjny (dotyczy oceny eksperta nt. kompletności danych oraz potencjalnych skutkach odległych) (do 5), (Czerczak 2004).

$$NDS = \frac{0,014 \text{ mg/m}^3}{2 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 5} = \frac{0,014 \text{ mg/m}^3}{20} =$$

$$= 0,0007 \text{ mg/m}^3$$

$$NDS = \frac{0,021 \text{ mg/m}^3}{2 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 5} = \frac{0,021 \text{ mg/m}^3}{20} =$$

$$= 0,00105 \text{ mg/m}^3$$

Thorgeirsson i in. (1994) podawali dootrzewowo NDEA makakom i koczokodanom w dawkach: 0,1; 1; 5; 10; 20 lub 40 mg/kg w odstępach 2-tygodniowych (tab. 12). Odpowiadało to dawkom: 0,007; 0,07; 0,35; 0,7; 1,4 lub 2,8 mg/kg/dzień. Przy drugiej najniższej dawce (0,07 mg/kg/dzień) u 4 z 11 zwierząt rozwinął się rak wątrobowo-komórkowy, podczas gdy w grupie otrzymującej najniższą dawkę (0,007 mg/kg/dzień) nie zano- towano żadnych zmian (tab. 12). Przy wyższych poziomach dawek u wszystkich zwierząt rozwinął się gruczolak (tj. przy dawkach: 0,35; 0,7; 1,4 lub 2,86 mg/kg mc./dzień wywołane przez NDEA zmiany chorobowe odpowiednio u wszystkich małp – 10, 11, 11 i 106). Zwierzęta narażano na NDEA przez okres do 10 lat.

Ekwiwalentne dzienne stężenie dla człowieka pobrane w ciągu 8 h (C), w miligramach na metr sześcienny, można ocenić następująco:

$$C = \frac{NOAEL \cdot 70 \text{ kg}}{V}$$

$$C = \frac{NOAEL \cdot 70 \text{ kg}}{10 \text{ m}^3} =$$

$$= \frac{0,007 \text{ mg/kg/dzień} \cdot 70 \text{ kg}}{10 \text{ m}^3} =$$

$$= \frac{0,49}{10 \text{ m}^3} = 0,049 \text{ mg/m}^3$$

Wartość NDS obliczono na podstawie wzoru:

$$NDS = \frac{C}{UF}$$

Przyjęto następujące współczynniki niepewności (UF):

A = 2, różnice wrażliwości osobniczej człowieka (do 2),

B = 3, (podanie i.p.), współczynnik związany z różnicami wynikającymi z drogi podania (do 10),

- C = 1, współczynnik związany z przejściem z badań krótkoterminowych do przewlekłych (do 3),
- D = 1, współczynnik związany ze stosowaniem wartości NOAEL (do 3),
- E = 5, współczynnik modyfikacyjny (dotyczy oceny eksperta o kompletności danych oraz potencjalnych skutkach odległych – do 5), (Czerczak 2004).

$$\text{NDS} = \frac{0,049 \text{ mg/m}^3}{2 \cdot 3 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 5} = \frac{0,049 \text{ mg/m}^3}{30} = 0,00163 \text{ mg/m}^3$$

Proponuje się przyjąć dla N-nitrozodietyleaminy wartość NDS równą 0,0007 mg/m³ (0,0002 ppm) i umieścić oznakowanie „Carc 1B” – działanie rakotwórcze kategorii 1B z przypisem „H350 – może powodować raka”. Klasyfikacja jest zgodna z bazą danych wykazu klasyfikacji i oznakowania proponowaną przez podmioty zgłaszające do ECHA (2024). Ryzyko wystąpienia dodatkowego raka wątroby przy tej wartości będzie 1/1000 pracowników (1,14 × 10⁻³), (ECHA 2023). Brak jest podstaw do ustalenia wartości NDSch i DSB.

Wykaz skrótów stosowanych w dokumentacji

♀	samica				w sprawie klasyfikacji, oznakowania oraz pakowania substancji i mieszanin... (ang. <i>Classification, Labelling and Packaging</i>)
♂	samiec				
5'NT	5'-nuleotydaza (ang. 5'- <i>nucleotidase</i>)				
ACGIH	Amerykańska Konferencja Państwowych Higienistów Przemysłowych (ang. American Conference of Governmental Industrial Hygienists)	COX-2			cyklooksygenaza
		dc.			dawka całkowita
		DFG			Deutsche Forschungsgemeinschaft
AFP	α-feto proteina	DNA			kwas dezoksyrybonukleinowy
ALP	fosfataza alkaliczna	DSB			dopuszczalne stężenie biologiczne
ALT	aminotransferaza alaninowa	ECHA			Europejska Agencja ds. Substancji Chemicznych (ang. European Chemicals Agency)
Ang-1					
i Ang-2	angiopoetyna 1 i 2 (ang. <i>angiopoietin 1/2</i>)	EMA			Europejska Agencja Leków (ang. European Medicines Agency)
AST	aminotransferaza asparaginianowa	EPA			Agencja Ochrony Środowiska (ang. Environmental Protection Agency)
ATP-ase/					
ATP-aza					
(Ca2+/Mg2+)	adenozynotrifosfataza	GD			dzień ciąży (ang. <i>gestational day</i>)
BEI	dopuszczalne stężenie biologiczne – DSB (ang. <i>biological exposure index</i>)	GGT			gamma glutamylotransferaza
		GSH			zredukowany glutation
		GSH-Px			peroksydaza glutationowa
BMDL	dolny limit dawki wyznaczającej (ang. <i>benchmark dose lower limit</i>)	GSH-R			reduktaza glutationowa
		GST-S			transferaza glutationowa
BMI	wskaźnik masy ciała (ang. <i>body mass index</i>)	Hb			hemoglobina
		HBV			wirus zapalenia wątroby typu B (ang. <i>hepatitis B virus</i>)
BUN	azot mocznikowy we krwi	HCC			rak wątrobowokomórkowy (ang. <i>hepatocellular carcinoma</i>)
CAT	katalaza	HCV			wirus zapalenia wątroby typu C (ang. <i>hepatitis C virus</i>)
CD	dieny sprzężone (ang. <i>conjugated diens</i>)				
CEA	antygen karcynoembrionalny (ang. <i>carcinoembryonic antygen</i>)	HSP-70			białko szoku termicznego (ang. <i>heat shock protein 70</i>)
Cl	przedział ufności	IARC			Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (ang. International Agency for Research on Cancer)
CLP	rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady nr 1272/2008				

IC ₅₀	połowa maksymalnego stężenia hamującego (ang. <i>inhibitory concentration</i>)	NIOSH	Narodowy Instytut Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (ang. National Institute for Occupational Safety and Health)
IL-1β	interleukina 1 β		
i.p.	podanie dootrzewnowe	NMEA	N-nitrozometyloetyloamina (ang. <i>N-nitrosomethylethylamine</i>)
IUPAC	Międzynarodowa Unia Chemii Czystej i Stosowanej (ang. International Union of Pure and Applied Chemistry)	NMOR	N-nitrozomorfolina (ang. <i>N-nitrosomorpholine</i>)
i.v.	podanie dożylnie	N-NA	N-nitrozoaminy
kompleks I	oksydoreduktaza NADH-ubichinon	NOAEL	najwyższy poziom, przy którym nie obserwuje się efektów szkodliwych (ang. <i>no observed adverse effect level</i>)
kompleks II	dehydrogenaza bursztynianowa		
LC ₅₀	mediana stężenia śmiertelnego (dla 50% osobników)	NOx	metabolity tlenku azotu (ang. <i>nitric oxide metabolites</i>)
LD ₅₀	mediana dawki śmiertelnej (dla 50% osobników)	NPIP	N-nitrozopiperydyna (ang. <i>N-nitrosopiperidine</i>)
LOAEL	najniższy poziom, przy którym obserwuje się efekty szkodliwe (ang. <i>lowest observed adverse effect level</i>)	NPYR	N-nitrozopirolidyna (ang. <i>N-nitrosopyrrolidine</i>)
LOD	granica wykrywalności (ang. <i>limit of detection</i>)	Nrf2	jądrowy czynnik transkrypcyjny pochodzenia erytroidalnego typu 2 (ang. <i>nuclearerythroid 2-related factor</i>)
LOOH	wodoronadtlenki lipidów (ang. <i>lipidhydroperoxides</i>)	O4-Et-Thy	O4-etylotymidyna (ang. <i>O4-ethylthymidine</i>)
MAC	najwyższe dopuszczalne stężenie (ang. <i>maximum allowable concentration; maximum admissible concentration; maximum acceptable concentration</i>)	O6-Et-Gua	O6-etyloguanina (ang. <i>O6-ethylguanine</i>)
MAK	najwyższe dopuszczalne stężenie w powietrzu strefy roboczej (niem. <i>Maximale Arbeitsplatz-Konzentrationen</i>)	OEHHA	Biuro Oceny Zagrożeń Zdrowia Środowiskowego (ang. Office of Environmental Health Hazard Assessment)
mc.	masa ciała	OEL	dopuszczalna wartość narażenia zawodowego (ang. <i>occupational exposure limits</i>)
MDA	aldehyd dimalonowy	OEL	limit narażenia zawodowego, dopuszczalna wielkość narażenia zawodowego, najwyższe dopuszczalne stężenie (ang. <i>occupational exposure limit</i>)
MMP-9	metaloproteinaza macierzy 9 (ang. <i>matrix metalloproteinase 9</i>)	OR	iloraz szans (ang. <i>odds ratio</i>)
N7-Et-Gua	N7-etyloguanina (ang. <i>N7-ethylguanine</i>)	OSH	bezpieczeństwo i higiena pracy (ang. Occupational Safety and Health)
NDBA	N-nitrozodibutyloamina (ang. <i>N-nitrosodibutylamine</i>)	OSHA	Administracja Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (ang. Occupational Safety and Health Administration)
NDEA	N-nitrozodietyloamina (ang. <i>N-nitrosodiethylamine</i>)		
NDELA	N-nitrozodietanolamina (ang. <i>N-nitrosodiethanolamine</i>)	PLTS	płytki (ang. <i>platelets</i>)
NDMA	N-nitrozodimetyloamina (ang. <i>N-nitrosodimethylamine</i>)	p.o.	podanie dożołądkowe
NDPA	N-nitrozodipropyloamina (ang. <i>N-nitrosodipropylamine</i>)	RBC	czerwone ciała krwi; krwinki czerwone; erytrocyty (ang. <i>Red Blood Cells</i>)
NDS	najwyższe dopuszczalne stężenie	REACH	rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1907/2006 regulujące kwestie stosowania chemikaliów poprzez ich rejestrację i ocenę oraz udzielanie zezwoleń i wprowadzanie do obrotu, zmienione przez
NDSch	najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe		
NF-κB	jądrowy czynnik transkrypcyjny NF kappa B (ang. <i>nuclear Factor</i>)		

	rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 (CLP) (ang. <i>Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals</i>)			zależy od skuteczności wielu procesów immunologicznych, w tym wychwytu i prezentacji antygeny, pomocy komórek T, aktywacji komórek B i wytwarzania przeciwciał (ang. <i>T-dependent antibody response</i>)
ROS	reaktywne formy tlenu			
s.c.	podanie podskórne			
SCE	wymiana chromatyd siostrzanych (ang. <i>sister chromatyd exchange</i>)	TLV-STEL		najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe (ang. <i>threshold limit value-short-term exposure limit</i>)
SOD	dysmutaza nadtlenkowa			
SOD	dysmutaza ponadtlenkowa	TLV-TWA		najwyższe dopuszczalne stężenie ważone czasem (ang. <i>threshold limit value – time-weighted average</i>)
sRBC	czerwone krwinki owcy (ang. <i>sheep red blood cells</i>)			
STEL	najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe (ang. <i>short term exposure limit</i>)	TNF-α		czynnik martwicy nowotworu (ang. <i>tumor necrosis factor</i>)
STEL	najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe (ang. <i>short term exposure limit</i>)	TRC		wartości techniczne (ang. <i>technical reference concentrations</i>)
$t_{1/2}$	biologiczny okres półtrwania	TRK		zalecane stężenie techniczne (wartość techniczna), (niem. <i>Technische Richtkonzentration</i>)
TB	białko całkowite			
TBARS	związki reagujące z kwasem tiobarbiturowym	TSB		bilirubina całkowita
TD ₅₀	najmniejsza dawka toksyczna substancji chemicznej, która przy narażeniu trwającym całe życie wywołuje u zwierząt doświadczalnych istotny statystycznie wzrost częstości występowania nowotworów o 50%	VEGF		czynnik wzrostu śródbłónka naczyń (ang. <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>)
TDAR	zależna od komórek T odpowiedź przeciwciał. Badanie to jest miarą funkcji immunologicznej, która	WBC		białe ciała krwi; krwinki białe, leukocyty (ang. <i>white blood cells</i>)
		WHO		Światowa Organizacja Zdrowia (ang. <i>World Health Organization</i>)

PIŚMIENNICTWO

AAM, The Association for Accessible Medicines (2020). White paper: Nitrosamines - an industry position paper based on risk, <https://accessiblemeds.org/resources/reports/white-paper-nitrosamines-industry-position-paper-based-risk> [dostęp: czerwiec 2023].

Adamson R.H. (1982). Organ and species specificity. *Chemical Carcinogenesis* 129, 156 [cyt. za: ECHA 2023].

Adamson R.H. (1989). Induction of hepatocellular carcinoma in nonhuman primates by chemical carcinogens. *Cancer Detection and Prevention* 14, 215–219 [cyt. za: EFSA 2023].

Adamson R.H., Sieber S.M. (1979). The use of nonhuman primates for chemical carcinogenesis studies. Book: regulatory aspects of carcinogenesis and food additives: the Delaney clause. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 2, 275–302 [cyt. za: EFSA 2023].

Adamson R.H., Sieber S.M. (1983). Chemical carcinogenesis studies in nonhuman primates. *Basic Life Sciences*, 24, 129–156, https://doi.org/10.1007/978-1-4684-4400-1_7 [cyt. za: EFSA 2023].

Aiub C.A.F., Pinto L.F.R., Felzenszwalb I. (2003). N-Nitrosodietylamine mutagenicity at low concentrations. *Toxicol. Lett.* 145, 36–45.

Akagi J.I., Toyoda T., Cho Y.M. i in. (2015). Validation study of the combined repeated-dose toxicity and genotoxicity assay using gpt delta rats. *Cancer Science* 406, 529–541.

Alexandrov V.A. (1974). Embryotoxic and transplacental oncogenic action of symmetrical dialkyl nitrosamines on the progeny of rats. *Bull. Exp. Biol. Med.* 78, 1308–1310 [cyt. za: EFSA 2023].

Althoff J., Fehst H.J., Mohr U. (1985). The influence of metabolic liver defects on diethylnitrosamine (NDEA) – carcinogenesis in Gunn rats. *Exp. Pathol.* 27, 171–178.

Althoff J., Grandjean C., Pour P. (1977). Transplacental effect of nitrosamines in Syrian Hamsters. IV. Metabolites of Dipropyl- and Dibutyl nitrosamine. *Z. Krebsforsch. Klin. Onkol.* Cancer Res. Clin. Oncol. 90, 119–126 [cyt. za: EFSA 2023].

Argus M.F., Hoch-Ligeti C. (1963) Induction of malignant tumours in the guinea-pig by oral administration of diethylnitrosamine. *J. Nat. Cancer Inst.* 30, 533–543 [cyt. za: ECHA 2023].

- Avlasevich S.L., Phonethepswath S., Labash C. i in. (2014). Diethylnitrosamine genotoxicity evaluated in Sprague Dawley rats using Pig-a mutation and reticulocyte micronucleus assays. *Environ. Mol. Mutagen.* 55(5), 400–406.
- Bansal A.K., Trivedi R., Soni G.L. i in. (2000). Hepatic and renal oxidative stress in acute toxicity of N-nitrosodiethylamine in rats. *Ind. J. Exp. Biol.* 38, 916–920.
- Bartsch H., Camus A., Malaveille C. (1976). Comparative mutagenicity of N-nitrosamines in a semi-solid and in a liquid incubation system in the presence of rat or human tissue fractions. *Mutat. Res.* 37, 149–162.
- Bartsch H., Malaveille C., Montesano R. (1975). Differential effect of phenobarbitone, pregnenolone-16-carbonitrile and aminoacetonitrile on dialkylnitrosamine metabolism and mutagenicity in vitro. *Chem. Biol. Interact.* 10, 377–382.
- Bayer U. (1978). The in vivo induction of sister chromatid exchanges in the bone marrow of the Chinese hamster II. N-nitrosodiethylamine (DEN), and N-isopropyl- α -(2-methylhydrazino)-p-toluamide (Natulan), two carcinogenic compounds with specific mutagenicity problems. *Mutat. Res.* 56(3), 305–309.
- Berger M.R., Schmahl D., Zerban H. (1987). Combination experiments with very low doses of three genotoxic N-nitrosamines with similar organotropic carcinogenicity in rats. *Carcinogenesis* 8, 1635–1643.
- Blum K., FitzGerald R., Wilks M.F. i in. (2023). Use of the benchmark-dose (BMD) approach to derive occupational exposure limits (OELs) for genotoxic carcinogens: N-nitrosamines. *J. Appl. Toxicol.* 43, 1183–1200.
- Bogowski P., Bogowski S. (1981). Animal species in which N-nitroso compounds induce cancer. *Int. J. Cancer* 27, 471–474.
- Brantom P.G. (1983). Dose-response relationships in nitrosamine carcinogenesis (University of Surrey), <https://openresearch.surrey.ac.uk/esploro/outputs/doktoral/Dose-Response-Relationships-in-Nitrosamine-Carcinogenesis/99512967702346#file-0> [dostęp: lipiec 2023].
- Breuer D., van Gelde R. (2001). Nitrosamine in arbeitsbereichen – ein gelöstes problem? *Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft* 61, 1/2 Januar/Februar 49.
- Brittebo E.B., Lofberg B., Tjalve H. (1981a). Sites of metabolism of N-nitrosodiethylamine in mice. *Chem. Biol. Interact.* 34, 209–221.
- Brittebo E.B., Ljndgren A., Tjalve H. (1981b). Foetal distribution and metabolism of N-nitrosodiethylamine in mice. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 48, 355–363.
- Bruchajzer E., Frydrych B., Szymańska J. (2019). N-Nitrozodimetyloamina. Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wartości narażenia zawodowego. *Podst. Met. Oceny Środow. Pr.* 3(101), 65–119.
- Brusick D., Andrews H. (1974). Comparison of the genetic activity of dimethylnitrosamine, ethyl methanesulfonate, 2-acetylaminofluorene and ICR170 in *Saccharomyces cerevisiae* strains D3, D4 and D5 using in vitro assays with and without metabolic activation. *Mutat. Res.* 26, 491–500.
- Buist H.E., Devito S., Goldbohm R.A. i in. (2015). Hazard assessment of nitrosamine and nitramine by-product of amine-based CCS: Alternative approaches. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 71, 601–623.
- Camus A.M., Geneste O., Honkakoski P. i in. (1993). High variability of nitrosamine metabolism among individuals: role of cytochromes P450 2A6 and 2E1 in the dealkylation of N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiethylamine in mice and humans. *Mol. Carc.* 7, 268–275.
- Cardesa A., Pour P., Althoff J. i in. (1974). Comparative studies of neoplastic response to a single dose of nitroso compounds. *Z. Krebsforsch.* 81, 229–233.
- Centralny Rejestr Danych o Narażeniu na Substancje, Mieszaniny, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym (2021). IMP, Łódź [dane niepublikowane].
- Clapp N.K., Craig A.W., Toya R.E. (1970) Diethylnitrosamine oncogenesis in RF mice as influenced by variations in cumulative dose. *Int. J. Cancer* 5, 119–123.
- Cllet I., Fournier E., Melcion C. i in. (1989). In vivo micronucleus test using mouse hepatocytes. *Mutat. Res.* 216(6), 321–326.
- Cllet I., Melcion C., Cordier A. (1993). Lack of predictivity of bone marrow micronucleus test versus testis micronucleus test: comparison with four carcinogens. *Mutat. Res.* 292(2), 105–111.
- Cooper C.V. (1987). Gas chromatographic/mass spectrometric analysis of extracts of workplace air samples for nitrosamines. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 48, 265–270.
- Cross K.P., Ponting D.J. (2021). Developing structure-activity relationships for N-nitrosamine activity. *Comput. Toxicol.* 20, 100186.
- Czerczak S. (2004). Zasady ustalania wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń chemicznych czynników szkodliwych w środowisku pracy. *Podst. Met. Oceny Środow. Pr.* (42), 5–18.
- Dalgard D.W., Correa P., Sieber J.M. i in. (1976). Induction of tumors in non-human primates with N-nitrosodiethylamine (Abstract No. 690). *Fed. Proc.* 35, 329 [cyt. za: IARC 1978].
- Dalgard D.W., Correa P., Waalkes T.P. i in. (1975). Induction of mucoepidermoid carcinoma in prosimians with N-nitrosodiethylamine (Abstract No. 346). *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* 16, 87 [cyt. za: IARC 1978].
- DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft (1991). Occupational Toxicants. N-Nitrosamines. Critical Data Evaluation of MAK Values and Classification of carcinogenes. VCH Verlagsgesellschaft mbh, Weinheim, FRG, 1, 261–289.
- DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft (2022). MAK- und BAT-Werte-Liste 2022. Mitteilung 58.
- Diwan B.A., Meier H. (1976). Transplacental carcinogenic effects of diethylnitrosamine in mice. *Naturwissenschaften* 63 [cyt. za: EFSA 2023].
- Druckrey H., Preussman R., Ivankovic S. i in. (1967). Organotropic carcinogenic effects of 65 different N-nitroso compounds on BD rats. *Z. Krebsforsch.* 69, 103–201.
- Druckrey H., Schildbach A., Schmähl D. i in. (1963). Quantitative Analyse der carcinogenen Wirkung von Diäthylnitrosamin. *Arzneimittel-Forsch.* 13, 841–851 [cyt. za IARC 1978].
- Druckrey H., Steinhoff D. (1962). Erzeugung von leberkrebs an Mederschweinchen. *Naturwissenschaften* 49, 497–498.

- ECHA (2014). European Chemicals Agency. Decision on substance evaluation pursuant to Article 46(1) of Regulation (EC) No 1907/2006 for 2,2'-iminodiethanol-Cas No 111-42-2 (EC No 203868-0) [cyt. za: ECHA 2023].
- ECHA, European Chemicals Agency (2023). Committee for Risk Assessment (RAC): Opinion on scientific evaluation of occupational exposure limits for nitrosoamines. Annex I in support of the Committee for Risk Assessment (RAC) for evaluation of limit values for nitrosoamines at the workplace. ECHA/RAC/OEL-O-0000007382-75-01/F, 30 November 2023.
- ECHA, European Chemicals Agency (2024). Dane dotyczące oznakowania i klasyfikacji NDEA przez podmioty rejestrujące/zgłaszające.
- EFSA (2023). Panel on Contaminants in the Food Chain (EFSA CONTAM Panel).
- El Torkey N.M. (1983). Assay of the mutagenicity of the carcinogens dimethylnitrosamine (DMN) and diethylnitrosamine (DEN) in salmonella typhimurium. Egypt. J. Genet. Cytol. 12(2), 303–315.
- EMA, European Medicines Agency (2020). Nitrosamine impurities in human medicinal products. EMA/369136/2020.
- EPA, U.S. Environmental Protection Agency (1986). Health and environmental effects profile for nitrosamines. Prepared by the Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office, Cincinnati, OH for the Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC.
- EPA, U.S. Environmental Protection Agency (2016). Six-year review 3 technical support document for nitrosamines. EPA-810R16009A, <https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-12/documents/810r16009.pdf> [dostęp: maj 2023].
- European Commission (2022). Commission Staff working document: List of substance to be scientifically assessed for the purposes of Article 18a, third paragraph, of Directive (EU) 2004/37/EC on presenting an action plan to achieve new or revised occupational exposure limits values for at least 25 substances, groups of substances or process-generated substances.
- Fan C.C., Lin T.F. (2018). N-nitrosamines in drinking water and beer: detection and risk assessment. Chemosphere 200, 48–56.
- Fiddler W., Pensabene J.W., Kimoto W.I. (1981). Investigations of edible oils for volatile Nitrosamines. J. Food Sci. 46, 603–605.
- Fukushima S., Min Gi M., Kakehashi A. i in (2016). Qualitative and quantitative approaches in the dose–response assessment of genotoxic carcinogens. Mutagenesis 31, 341–346.
- Fukushima S., Wanibuchi H., Keiichirou Morimura K. i in. (2002). Lack of a dose-response relationship for carcinogenicity in the rat liver with low doses of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline or N-nitrosodiethylamine. Jpn. J. Cancer Res. 93, 1076–1082.
- Gloria M.B.A., Vale S.R., Vargas O.L., i in. (1997). Influence of nitrate levels added to cheesemilk on nitrate, nitrite, and volatile nitrosamine contents in Gruyere Cheese. J. Agric. Food Chem. 45, 3577–3579.
- Gray R., Peto R., Brantom P. i in. (1991). Chronic nitrosamine ingestion in 1040 rodents: the effect of the choice of nitrosamine, the species studied, and the age of starting exposure. Cancer Res. 51, 6470–6491.
- Grover S., Fischer P. (1971). Cytogenetic studies in Sprague-Dawley rats during the administration of a carcinogenic nitroso compound diethylnitrosamine. Europ. J. Cancer. 7, 77–82.
- Gushgari A.J., Halden R.U. (2018). Critical review of major sources of human exposure to N-nitrosamines. Chemosphere 210, 1124–1136.
- Gushgari A.J., Halden R.U. (2018). Critical review of major sources of human exposure to N-nitrosamines. Chemosphere 210, 1124–1136.
- Hagio S., Furukawa S., Abe M. i in. (2014). Repeated dose liver micronucleus assay using adult mice with multiple genotoxicity assays concurrently performed as a combination test. J. Toxicol. Sci. 39(3), 437–445.
- Hamlet C.G., Liang L. (2017). An Investigation to establish the types and levels of N-nitroso compounds (NOC) in UK consumed foods. Food Standards Agency, London, UK [cyt. za: EFSA 2023].
- Heath D.F. (1962). The decomposition and toxicity of dialkyl nitrosamines in rats. Biochemical Journal 85, 72–91.
- Hedler L., Schurr C., Marquardt P. (1979). Determination of volatile N-nitroso compounds in various samples of edible vegetable oils and margarine (commercially available products). Journal of the American Oil Chemists' Society 56, 681.
- Hitachi M., Yamada K., Takayama S. (1974). Diethylnitrosamine-induced chromosome changes in rat liver cells. J. Natl. Cancer Inst. 53, 507–516.
- Horiuchi T., Ito K., Suzuki M. i in. (1984). Sensitive induction of chromosome aberrations in the in vivo liver cells of rats by N-nitrosodiethylamine. Mutat. Res. Letters 140(4), 181–185.
- HSDB, Hazardous Substances Data Bank (2009). National library of medicine. N-Nitrosodiethylamine, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/4001> [dostęp: kwiecień 2023].
- Huber Jr J.V., Brender J.D., Zheng Q. i in. (2013). Maternal dietary intake of nitrates, nitrites and nitrosamines and selected birth defects in offspring: a case-control study. Nutr. J. 12, 34–44.
- Iammarino M., Di Taranto A., Cristino M. (2014). Monitoring of nitrites and nitrates levels in leafy vegetables (spinach and lettuce): a contribution to risk assessment. J. Sci. Food Agric. 94, 773–778.
- IARC, International Agency for Research on Cancer (1978). N-Nitrosodiethylamine. Monogr. Eval. Carcinog. Risk. Chem. Man. 17, 83–124.
- IARC, International Agency for Research on Cancer (1987). Monograph. Evaluation of carcinogenic risks to humans. vol. 7, supplement 7. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs volumes 1 to 42 [cyt. za: ECHA 2023].
- IARC, International Agency for Research in Cancer (1993). Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to humans, vol. 56. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Lyon (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK51357>) [dostęp: maj 2023].
- IARC, International Agency for Research in Cancer (2012). Monographs vol. 100F: Chemical agents and related occupations.

- IARC, International Agency for Research in Cancer (2018). Occupational exposure in rubber-manufacturing industry.
- IARC, International Agency for Research in Cancer (2022). Monographs of the identification of carcinogenic hazards to humans. Agents classified by the IARC Monographs, vol. 1–131.
- IFA (2022). GESTIS International Limit Values. *N*-Nitrosodi-*n*-propylamine, https://limitvalue.ifa.gduv.de/WsbFarm_ueli-ste2.aspx [dostęp: czerwiec 2022].
- Ishinishi N., Tanaka A., Hisanaga A. i in. (1988). Comparative study on the carcinogenicity of *N*-nitrosodiethylamine, *N*-nitrosodimethylamine, *N*-nitrosomorpholine, *N*-nitrosopyrrolidine and *N*-nitrosodi-*n*-propylamine to the lung of Syrian golden hamsters following intermittent installations to the trachea. *Carcinogenesis* 9, 947–950.
- Iversen O.H. (1980). Tumorigenicity of *N*-nitroso-diethyl-, -dimethyl and -diphenyl-amines in skin painting experiments. A study utilising the tetrazolium test and skin applications on hairless mice. *Eur. J. Cancer* 16(5), 695–698.
- Jawad I.M. (2012). Estimation of nitrite, nitrate and *N*-nitrosamines in selected food samples. *Pakistan J. Nutr.* 11, 481–483.
- Juszkiewicz T., Kowalski B. (1974). Passage of nitrosamines from rumen into milk in goats. 9. IARC Scientific Publications Lyon 173–176 [cyt. za: EFSA 2023].
- Kaminski N.E., Jordan S.D., Page D. i in. (1989). Suppression of humoral immune responses by dialkyl nitrosamines: structure-activity relationships. *Fundam. Appl. Toxicol.* 12, 321–332.
- Katoh Y., Tanaka M., Takayama S. (1982). Higher efficiency of hamster hepatocytes than rat hepatocytes for detecting dimethylnitrosamine and diethylnitrosamine in hepatocyte-mediated Chinese hamster V79 cell mutagenesis assay. *Mutat. Res.* 105(4), 265–269.
- Kawabata T., Uibu J., Ohshima H. i in. (1980). Occurrence, formation and precursors of *N*-nitroso compounds in the Japanese diet. *IARC Sci. Pub.* 31, 481–492.
- Keen C., Guiver R., Chambers H. (2000). Survey of occupational exposure to nitrosamines – interim report. HSL internal report OMS/2000/03 [cyt. za: ECHA 2023].
- Kelly M.G., O’Gara R.W., Adamson R.H. i in. (1966). Induction of hepatic cell carcinomas in monkeys with *N*-nitrosodiethylamine. *J. Nat. Cancer Inst.* 36, 323–351.
- Kessler S.M., Leber B., Hoppstädter J. i in. (2019). Diethylnitrosamine (DNA) recapitulates formation of hepatic angiosarcoma in pigs. *PLoS One* 16, 14(5).
- Khanal S., Singh P., Avlasevich S.L. i in. (2018). Integration of liver and blood micronucleus and Pig-a gene mutation endpoints into rat 28-day repeat-treatment studies: proof-of-principle with diethylnitrosamine. *Mutat. Res.* 828, 30–35.
- Kim M.S., Koh M.S., Kwon T.Y. (1985). Changes of nitrosamine-related-compounds by salt concentration and nitrate-content during the Korean native soy sauce fermentation. *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr.* 14, 329–338.
- Klaunig J.E., Goldblatt P.J., Hinton D.E. i in. (1984). Carcinogen induced unscheduled dna synthesis in mouse hepatocytes. *Toxicol. Pathol.* 12(2), 119–125.
- Klein D., Lafont P., Keshawariz A. (1978). Influence of micro-organisms on the formation of nitrosamines. *Annales de la nutrition et de l’alimentation* 32, 425–435 [cyt. za: EFSA 2023].
- Klein R.G., Schmezer P. (1984). Quantitative measurement of the exhalation rate of volatile *N*-nitrosamines in inhalation experiments with anaesthetised Sprague-Dawley rats. *IARC Sci. Publ.* 57, 513–517.
- Krsteš S., Dosemeci M., Lissowska J. i in. (2005). Occupational and risk of stomach cancer in Poland. *Occup. Environ. Med.* 62, 318–324.
- Kuroki T., Drevon C., Montesano R. (1977). Microsome-mediated mutagenesis in V79 Chinese hamster cells by various nitrosamines. *Cancer Res.* 37(4), 1044–1050.
- Latief U., Husain H., Mukherjee D. i in. (2016). Hepatoprotective efficacy of gallic acid during Nitrosodiethylamine-induced liver inflammation in Wistar rats. *J. Bas. Appl. Zool.* 76, 31–41.
- Lee B.H., Lee S.J. (1998). In vitro chromosome aberration assay using human bronchial epithelial cells. *J. Toxicol. Environ. Health Part A* 55(5), 325–329.
- Lee J., Lim K.T. (2011). Inhibitory effect of phytylglycoprotein (24 kDa) on hepatocarcinogenesis in *N*-nitrosodiethylamine-treated ICR mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 63, 840–848.
- Li H., Jönsson B.A.G., Lindh C.H. i in. (2011). *N*-nitrosamines are associated with shorter telomere length. *Scand. J. Work Environ. Health* 37(4), 316–324.
- Li X., Zhou X., Guan Y. i in. (2006). *N*-Nitrosodiethylamine-induced pig liver hepatocellular carcinoma model: radiological and histopathological studies. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 29, 420–428.
- Li Y., Hecht S.S. (2021). Metabolic activation and DNA interactions of carcinogenic *N*-nitrosamines to which humans are commonly exposed. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 4559–4606.
- Lijinsky W., Reuber M.D., Riggs C.W. (1981) Dose response studies of carcinogenesis in rats by nitrosodiethylamine. *Cancer Research* 41, 4997–5003 [cyt. za: ECHA 2023].
- Lijinsky W., Taylor H.W. (1979). Carcinogenicity of methylated derivatives of *N*-nitrosodiethylamine and related compounds in Sprague-Dawley rats. *J. Natl. Cancer Inst.* 62, 407–410.
- Lim D.S., Roh T.H., Kim M.K. i in. (2018). Risk assessment of *N*-nitrosodiethylamine (NDEA) and *N*-nitrosodietanolamine (NDELA) in cosmetics. *J. Toxicol. Environ. Health, Part A.* 81, 465–480.
- Liviac D., Creus A., Marcos R. (2011). Genotoxic evaluation of the non-halogenated disinfection byproducts nitrosodimethylamine and nitrosodiethylamine. *J. Hazard Mater.* 185(2-3), 613–618.
- Lombard C. (1965). Hepatocancerisation du cobaye par la diethylnitrosamine en injection sous-cutanée. *Bull. Cancer* 52, 389–410 [cyt. za: ECHA 2023].
- Mailing H.V., Frantz C.N. (1973). In vitro versus in vivo metabolic activation of mutagens. *Environ. Health Perspect.* 6, 71–82.
- Mansour D.F., Abdallah H.M.I., Ibrahim B.M.M. i in. (2019). The carcinogenic agent diethylnitrosamine induce early oxidative stress, inflammation and proliferation in rat liver, stomach and colon: protective effect of ginger extract. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 20, 2551–2561.
- Marquardt F., Zimmermann F.K., Schwaier R. (1964). Die Wirkung krebserzeugender Nitrosamine und Nitrosamide auf das Adenin-6-45 Rückmutationssystem von *Saccharomyces cerevisiae*. *Z. Vererbungsl.* 95, 82–96.

- Mayer V.W. (1971). Mutagenicity of dimethylnitrosamine and diethylnitrosamine for *Saccharomyces* in an in vitro hydroxylation system. *Molec. Gen. Genetics* 112, 289–294.
- Mehta R., Silinskas K.C., Zucker P.F. i in. (1987). Micronucleus formation induced in rat liver and esophagus by nitrosamines. *Cancer Lett.* 35(3), 313–320.
- Melikian A.A., Lavole E., Hoffmann D. i in. (1981). Volatile Nitrosamines: analysis in breast fluid and blood of non-lactating women. *Fd. Cosm. Toxicol.* 19, 757–759.
- Mohr U., Althoff J. (1965). The Transplacental action of the carcinogen, Di-Ethylnitrosamine (DENA), in the mouse. *Z Krebsforsch.* 67, 152–155 [cyt. za: EFSA 2023].
- Mohr U., Althoff J. (1971). Carcinogenic activity of aliphatic nitrosamines via the mothers milk in the offspring of Syrian golden hamsters. *Proc. Soc. Biol. Med.* 136, 1007.
- Mohr U., Althoff J., Authaler A. (1966). Diaplacental effect of the carcinogen diethylnitrosamine in the golden hamster. *Cancer Res.* 26, 2349–2352 [cyt. za: EFSA 2023].
- Mohr U., Althoff J., Emminger A. i in. (1972a). Effect of nitrosamines on nursing Syrian goldenhamster. *Cancer Res.* 26, 2349–2352 [cyt. za: EFSA 2023].
- Mohr U., Althoff J., Page N. (1972b). Tumors of the respiratory system induced in the common European hamster by *N*-diethylnitrosamine. *J. Nat. Cancer Inst.* 49, 595–597.
- Mohr U., Emura M., Kamino K. i in. (1995). Increased risk of cancer in the descendants of syrian hamsters exposed prenatally to diethylnitrosamine (DEN). *Int. J. Cancer* 63, 86–91.
- Mohr U., Hilfrich J. (1972). Effect of a single dose of *N*-diethylnitrosamine on the rat kidney. *J. Nat. Cancer Inst.* 49, 1729–1731 [cyt. za: ECHA 2023].
- Mohr U., Reznik-Schuller H., Reznik G. i in. (1975). Transplacental effects of diethylnitrosamine in Syrian hamsters as related to different days of administration during pregnancy. *J. Nat. Cancer Inst.* 55, 681–683.
- Montesano R., Saffiotti U. (1968). Carcinogenic response of the respiratory tract of Syrian Golden hamsters to different doses of diethylnitrosamine. *Cancer Res.* 28, 2197–2210.
- Mori Y., Yamazaki H., Konishi Y. (1987). Mutagenicity of *N*-nitrosodiethanolamine in the Salmonella/microsome test. *Mutat. Res.* 192, 91–94.
- Mukherjee D., Ahmad R. (2018). Resveratrol attenuates Nitrosodiethylamine-induced liver injury in anti-inflammatory manner via regulating cyclooxygenase-2. *J. Food Biochem.* 42, 1–9.
- Nakajima T., Tanaka A., Tojyo K. (1974). Effect of metabolic activation with rat liver preparations on the mutagenicity of several *N*-nitrosamines on a streptomycin dependent strain of *Escherichia coli*. *Mutat. Res.* 26, 361–366.
- Narumi K., Ashizawa K., Takashima R. i in. (2012). Development of a repeated-dose liver micronucleus assay using adult rats: An investigation of diethylnitrosamine and 2,4-diaminotoluene. *Mutat. Res.* 747, 234–239.
- Natarajan A.T., Tate A.D., Van Buul P.P. i in. (1976). Cytogenetic effects of mutagens/carcinogens after activation in a microsomal system in vitro I. Induction of chromosome aberrations and sister chromatid exchanges by diethylnitrosamine (DEN) and dimethylnitrosamine (DMN) in CHO cells in the presence of rat liver microsomes. *Mutat. Res.* 37(1), 83–90.
- Nogueira E. (1987). Rat renal carcinogenesis after chronic simultaneous exposure to lead acetate and *N*-nitrosodiethylamine. *Virchows Arch. B* 53, 365–374.
- OEHA (1988). Risk-specific intake levels for the Proposition 65 Carcinogen: *N*-Nitrosodiethylamine; Oakland, CA, USA [cyt. za: Li i in. 2021].
- O'Gara R.W., Adamson R.H., Dalgard D.W. (1970). Induction of tumors in subhuman primates by two nitrosamine compounds (Abstract No. 236) *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* 11, 60 [cyt. za: IARC 1978].
- O'Gara R.W., Kelly M.G. (1965). Induction of hepatomas in monkeys given *N*-nitrosodiethylamine (DENA) (Abstract No. 195). *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* 6, 50 [cyt. za: IARC 1978].
- OSHA, Occupational Safety and Health Administration (1989). *N*-Nitrosodiethylamine.
- Oury B., Limasset J.C., Protois J.C. (1997). Assessment of exposure to carcinogenic *N*-nitrosamines in the rubber industry. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 70, 261–271.
- Park J.E., Seo J.E., Lee J.Y. i in. (2015). Distribution of seven *N*-nitrosamines in food. *Toxicol. Res.* 31(3), 279–288.
- Pedal I., Besserer K., Goerttler K. (1982). Fatal Nitrosamine Poisoning. *Arch. Toxicol.* 50, 101–112.
- Peto R., Gray R., Brantom P. i in. (1984). Nitrosamine carcinogenesis in 5120 rodents: chronic administration of sixteen different concentrations of NDEA, NDMA, NPYR and NPYP in the water of 4440 inbred rats, with parallel studies on NDEA alone of the effect of age of starting (3, 6 or 20 weeks) and of species (rats, mice or hamsters). *IARC Sci. Publ.* 57, 627–665.
- Peto R., Grey R., Brantom P. i in. (1991a). Effects on 4080 rats chronic ingestion of *N*-nitrosodiethylamine or *N*-nitrosodimethylamine: A detailed dose-response study. *Cancer Res.* 51, 6415–6451.
- Peto R., Grey R., Brantom P. i in. (1991b). Dose and time relationships for tumor induction in the liver and esophagus of 4080 inbred rats by chronic of *N*-nitrosodiethylamine or *N*-nitrosodimethylamine. *Cancer Res.* 51, 6452–6469.
- Proksch E. (2001). Review Toxicological evaluation of nitrosamines in condoms. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 204, 103–110.
- Propping P., Rohrborn G., Buselmaier W. (1972). Comparative investigations on the chemical induction of point mutations and dominant lethal mutations in mice. *Molec. Gen. Genet.* 117, 197–209.
- PubChem (2023). *N*-Nitrosodiethylamine, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/N-Nitrosodiethylamine> [dostęp: maj 2023].
- Qajarbeygi P., Ahmadi M., Hoseini A.H. i in. (2015). Evaluation of *N*-nitrosamine formation in routine potato cooking. *Bio-tech. Health Sci.* 2(3), 29–33.
- Rajesh V., Perumal P. (2013). Chemopreventive and antioxidant activity by *Smilax zeylanica* leaf extract against *N*-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis in wistar albino rats. *Orient Pharm. Exp. Med.* 14(2).
- Rajewsky M.F., Dauber W. (1970). Distribution of bound tritium from 3H-diethylnitrosamine in rat tissues. *Int. J. Cancer* 5, 389–393.

- Rapp H.J., Carleton J.H., Crisler C. i in. (1965). Induction of malignant tumours in the rabbit by oral administration of diethylnitrosamine. *J. Nat. Cancer Inst.* 34, 453-458 [cyt. za: ECHA 2023].
- Reznik G., Mohr U., Kmoch N. (1976). Carcinogenic effects of different nitroso-compounds in Chinese hamsters. I. Dimethylnitrosamine and *N*-dimethylnitrosamine. *Brit. J. Cancer* 33, 411-418.
- RoC (2021). 15th Report on Carcinogens. *N*-Nitrosodiethylamine.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006. *Dz. Urz. UE L* 353 z 31.12.2008 r.
- Sax's dangerous properties of industrial materials (2004). 11th Edition. [Red.] R.J. Lewis Sr. Wiley-Interscience, Wiley&Sons, Hoboken, NJ. p. 2708 [cyt. za: PubChem].
- Scanlan R.A., Barbour J.F., Bodyfelt F.W. i in. (1994). *N*-Nitrosodimethylamine in nonfat dry milk. In: Loepky RN and Michejda CJ (eds). Nitrosamines and related *N*-Nitroso compounds, Chemistry and Biochemistry. ACS Symposium Series Vol. 553. American Chemical Society, Washington, DC. pp. 34-41. [cyt. za: EFSA 2023].
- Schmähl D., Osswald H., Goerttler K. (1969). Cancerogenen Wirkung von Diäthylnitrosamin bei Schweinen. *Z. Krebsforsch.* 72, 102-104.
- Schmähl D., Osswald H., Mohr U. (1967). Hepatotoxische und cancerogenen Wirkung von Diäthylnitrosamin bei Schweinen. *Naturwissenschaften* 54, 341.
- Schmähl D., Thomas C. (1965). Erzeugung von Leberkrebs beim Kaninchen durch Diäthylnitrosamin. *Naturwissenschaften* 53, 165.
- Schmähl D., Thomas C., Scheld G. (1964). The toxic and carcinogenic effects of diethylnitrosamine in rats during simultaneous treatment with a liver protective agent. *Arzneimittelforschung* 14, 1167-1168 [cyt. za: ECHA 2023].
- Schmähl D., Habs M., Ivankovic S. (1978). Carcinogenesis of *N*-nitrosodiethylamine (DNA) in chickens and domestic cats. *Int. J. Cancer* 22, 552-557.
- Schoental R. i in. (1974). Carcinogens in rat milk. Transfer of ingested diethylnitrosamine into milk by lactating rats. *Br. J. Cancer* 30, 238-240.
- Sedlo I., Kolonić T., Tomić S. (2021). Presence of nitrosamine impurities in medicinal products. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 72, 1-5.
- Shank R.C. (1975). Toxicology of *N*-Nitroso Compounds. *Toxicol. App. Pharmacol.* 31, 361-368.
- Shetty S., Anushree U., Kumar R. (2021). Mitochondria-targeted antioxidant, mito-Tempo mitigates initiation phase of *N*-Nitrosodiethylamine-induced hepatocarcinogenesis. *Mitochondrion* 58, 123-130.
- Sheweita S.A., El Banna Y.Y., Balbaa M. i in. (2017). *N*-Nitrosamines induced infertility and hepatotoxicity in male rabbits. *Environ. Toxicol.* 32(9), 2212-2220.
- Shi J., Kršmanovic L., Bruce S. i in. (2011). Assessment of genotoxicity induced by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene or diethylnitrosamine in the Pig-a, micronucleus and Comet assays integrated into 28-day repeat dose studies. *Environ. Mol. Mutagen.* 52, 711-720.
- Siddique Y.H., Ali F. (2016). Protective effect of epigallocatechin gallate against *N*-nitrosodiethylamine (NDEA) induced toxicity in rats. *Cogent Biology* 2, 1141451.
- Simmon V.F., Rosenkranz H.S., Zeiger E. i in., (1979). Mutagenic activity of chemical carcinogens and related compounds in the intraperitoneal host-mediated assay. *JNCI: J. Natl. Cancer Inst.* 62(4), 911-918.
- Singer B. (1985). In vivo formation and persistence of modified nucleosides resulting from alkylating agents. *Environ. Health Perspect.* 62, 41-48.
- Sivaramakrishnan V., Shilpa P.N.M., Kumar V.R.P. (2008). Attenuation of *N*-nitrosodiethylamine-induced carcinogenesis by a novel flavonol. *Morin. Chem. Biol. Interactions* 171, 79-88.
- Skowroń J., Czerczak S. (2013). Zasady ustalania dopuszczalnych poziomów narażenia dla czynników rakotwórczych w środowisku pracy w Polsce i w krajach Unii Europejskiej. *Med. Pr.* 64, 541-563.
- Song P.J., Hu J.F. (1988). *N*-Nitrosamines in chinese foods. *Food Chem. Toxicol.* 26, 205-208.
- Spielhoff R., Bresch H., Hönig M. i in. (1974). Milk as transport agent for diethylnitrosamine in Syrian goldenhamsters. *J. Natl. Cancer Inst.* 53, 281-282.
- Straif K., Weiland S.K., Bungers M. i in. (2000). Exposure to high concentrations of nitrosamines and cancer mortality among a cohort of rubber workers, *Occup. Environ. Med.* 57(3), 180-187.
- Sugimura T., Yahagi, T., Nagao M. i in. (1976). Validity of mutagenicity tests using microbes as a rapid screening method for environmental chemicals, in R. Montesano, H. Bartsch and L. Tomatis (eds.), Screening Tests in Chemical Carcinogenesis, Lyon, International Agency for Research on Cancer, IARC Scientific Publications No. 12, 61-104 [cyt. za: ECHA 2023].
- Sung N.J., Klausner K.A., Hotchkiss J.H. (1991). Influence of nitrate, ascorbic acid, and nitrate reductasemicroorganisms on *N*-nitrosamine formation during Korean-style soy sauce fermentation. *Food Addit. Contam.* 8, 291-298.
- Sydow G. (1970). Transplacental teratogenic, carcinogenic and mutagenic effect of diethylnitrosamine (DNA) following oral administration in rats. *Arch. Geschwulstforsch* 36(4), 331-3344.
- Thorgeirsson U.P., Dalgard D.W., Reeves J. (1994). Tumor incidence in a chemical carcinogenesis study of nonhuman primates. *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 19, 130-151.
- Tiedink H.G. (1991). Occurrence of indole compounds in some vegetables: toxicological implications of nitrosationwith emphasis on mutagenicity. Wageningen University and Research [cyt. za: EFSA 2023].
- Tiedink H.G., Daviews J.A.R., van Broekhoven L.V. (1988). Formation of mutagenic *N*-nitroso compounds in vegetable extracts upon nitrite treatment: a comparison with the glucosinolate content. *Food Chem. Toxicol.* 26, 947-954.
- Ton C.C.T., Fong L.Y.Y. (1984). The effects of ascorbic acid deficiency and excess on the metabolism and toxicity of

N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiethylamine in the guinea pig. *Carcinogenesis* 5(4), 533–536.

Torfs C.P., Lam P.K., Schaffer D.M. i in. (1998). Association between mothers' nutrient intake and their offspring's risk of gastroschisis. *Teratology* 58(6), 241–250.

TRGS 552 (2018). Technische Regein für Gefahrstoffe. Krebs-erzeugende N-Nitrosamine der Kat 1A and 1B.

Velu P., Vijayalakshmi A., Iyappan P. i in. (2016). Evaluation of antioxidant and stabilizing lipid peroxidation nature of *Solanum xanthocarpum* leaves in experimentally diethylnitrosamine induced hepatocellular carcinogenesis. *Biomed. Pharmacother.* 84, 430–437.

Verna L., Whysner J., Williams G.M. (1996). N-nitrosodiethylamine mechanistic data and risk assessment: bioactivation, DNA-adduct formation, mutagenicity, and tumor initiation. *Pharmacol. Ther.* 71(1–2), 57–81.

Vidya R., Kalaivani K., Amudha P. (2022). Therapeutic potential of Cucumis Melo (L). Fruit extract and its silver nanoparticles against DEN induced hepatocellular cancer in rats. *Appl. Biochem. Biotech.* 194(1), 368–381.

Wills P.J., Suresh V., Arun M. i in. (2006). Antiangiogenic effect of *Lygodium flexuosum* against N-nitrosodiethylamine-induced hepatotoxicity in rats. *Chem. Biol. Interac.* 164, 25–38.

Wrba H., Pielsticker K., Mohr U. (1967). Die diaplazentar-carcinogene Wirkung von diäthylnitrosamin bei Ratten. *Naturwissenschaften* 54, 47 [cyt. za: ECHA 2023].

Yurchenko S., Molder U. (2007). The occurrence of volatile N-nitrosamines in Estonian meat products. *Food Chemistry* 100, 1713–1721.

Zheng J., Daniel C.R., Hatia R.I. (2021). Dietary N-nitroso compounds and risk of hepatocellular carcinoma: a US-based study. *Hepatology* 74, 3161–3173.

Zheng J., Stuff J., Tang H. (2019). Dietary N-nitroso compounds and risk of pancreatic cancer: results from a large case-control study. *Carcinogenesis* 40, 254–262.

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA W NARAŻENIU NA *N*-NITROZODIETYLOAMINĘ

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

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na układ oddechowy i wątrobę.
Badania pomocnicze: AST, ALT, GGTP.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na układ oddechowy i wątrobę.
Badania pomocnicze: AST, ALT, GGTP.
Częstotliwość badań okresowych: co 2 – 4 lata.

U w a g a

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

Narządy (układy) krytyczne

Wątroba.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Zaawansowana niewydolność wątroby.

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.