



1-Metylo-2-pirolidon

Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego^{1,2,3}

1-Methyl-2-pyrrolidone

Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

dr RENATA SOĆKO

<https://orcid.org/0000-0002-4304-9563>

e-mail: renata.socko@imp.lodz.pl

dr JAN GROMIEC

<https://orcid.org/0002-0002-0550-6655>

Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź, Poland

NDS	40 mg/m ³
NDSch	80 mg/m ³
NDSP	nie ustalono
DSB	2-HMSI (2-hydroksy- <i>N</i> -metylobursztynian): 20 mg/g kreatyniny (próbka moczu pobierana rano po zakończeniu 8-godzinnej zmiany roboczej, tj. 16 h po zakończeniu narażenia)
I	substancja o działaniu uczulającym
Skóra	wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową
Ft	substancja o działaniu szkodliwym na rozrodczość

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 28-29.10.2020 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 18.03.2022 r.

Streszczenie

1-Metylo-2-pirolidon (NMP) występuje w postaci higroskopijnej cieczy. Związek jest wytwarzany i/lub importowany do Europejskiego Obszaru Gospodarczego w dużych ilościach wielkotonażowych (10 000 ÷ 100 000 t/rok). Na stronie ECHA substancję zarejestrowało kilkadziesiąt rejestrujących z różnych państw, m.in. dwóch z Polski. 1-Metylo-2-pirolidon jest stosowany głównie jako rozpuszczalnik w przemyśle podczas produkcji innych chemikaliów oraz w produkcji przemysłowej wyrobów. Ze względu na właściwości 1-metylo-2-pirolidonu stwarzające zagrożenie dla zdrowia człowieka w kwietniu 2018 r. Komisja Europejska ograniczyła jego stosowanie. Ograniczenie numer 71 załącznika XVII do rozporządzenia REACH ma zastosowanie w produkcji, wprowadzania do obrotu i stosowania 1-metylo-2-pirolidonu.

¹ Wartości NDS i NDSch 1-metylo-2-pirolidonu zostały w dniu 18.03.2022 r. przyjęte na 101. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i następnie zostały przedłożone ministrowi właściwemu ds. pracy (wniosek nr 117) w celu ich 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 V etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Projekt nr II.PB.03 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

³ Dokumentacja jest uzupełnieniem publikacji „1-Metylo-2-pirolidon. Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego” opublikowanej w kwartalniku *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* 2011, nr 4(70), s. 71–95.

Ustalono wartości pochodnego poziomu niepowodującego zmian (DNEL) w odniesieniu do narażenia pracowników wynoszą 14,4 mg/m³ w przypadku narażenia drogą inhalacyjną i 4,8 mg/kg mc./dzień w przypadku narażenia przez skórę. Propozycję normatywu higienicznego dla 1-metylo-2-pirolidonu opracowano ponownie ze względu na brak zgodności obowiązującej w Polsce i w UE (NDS 40 mg/m³) z wartością DNEL zalecaną w przepisach rozporządzenia REACH: DNEL_{inh} 14,4 mg/m³, a wyliczoną przez Komitet ds. Oceny Ryzyka. Wprowadzenie normatywu na poziomie wartości DNEL umożliwiłoby stosowanie związku także o stężeniu równym lub większym niż 0,3%. Z dostępnych danych wynika, że w przypadku 1-metylo-2-pirolidonu skutkiem krytycznym jest działanie drażniące na układ oddechowy, skutki chemosensoryczne oraz działanie szkodliwe na rozrodczość. Zaproponowano pozostawić wartość NDS 1-metylo-2-pirolidonu na obowiązującym w Polsce poziomie, tj. 40 mg/m³. Podstawą tej wartości było działanie drażniące na układ oddechowy oraz skutki chemosensoryczne. Ze względu na działanie drażniące związku zaproponowano pozostawienie wartości NDSch 1-metylo-2-pirolidonu na poziomie 80 mg/m³. Proponowane wartości NDS i NDSch są zgodne z wartościami przyjętymi w Unii Europejskiej, zawartymi w dyrektywie 2009/161/UE. Ustalono wartość DSB 1-metylo-2-pirolidonu na poziomie 20 mg 2-HMSI/g kreatyniny. Substancję oznakowano: notacją „skóra”, literą „I” oraz literami „Ft”. Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Słowa kluczowe: 1-metylo-2-pirolidon, toksyczność, narażenie zawodowe, NDS, DNEL, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

Abstract

1-Methyl-2-pyrrolidone (NMP) exists as a hygroscopic liquid. This substance is produced and / or imported to the European Economic Area in large quantities (10.000–100.000 t/year). According to the information on the ECHA website, the substance has been registered under the REACH regulation, inter alia, by two registrants from Poland. NMP is mainly used as an industrial solvent in the production of chemicals and in the industrial production. In April 2018, the European Commission limited the use of NMP due to its properties which are posing a risk to human health. Restriction 71 of Annex XVII to REACH applies to manufacturing, placing on the market and using NMP. The derived no effect level (DNEL) values for worker exposure have been determined to be 14.4 mg/m³ for inhalation exposure and 4.8 mg/kg/day for dermal exposure. The NMP documentation with the proposed NDS value was revised due to the non-compliance of the NDS value applicable in Poland (NDS 40 mg/m³) with the DNEL value recommended by the Risk Assessment Committee: DNEL_{inh} 14.4 mg/m³. Introducing a standard at the level of the DNEL value would allow the use of NMP also in a concentration equal to or greater than 0.3%. For NMP, the critical effect is respiratory irritation, chemosensory effects and reproductive toxicity. It was proposed to keep the NDS NMP value applicable in Poland, i.e. 40 mg/m³. The basis for this value was respiratory irritation and chemosensory effects. Due to the irritating effect of the compound, the TLV value was left equal to 80 mg/m³. The proposed values are consistent with the values adopted in the European Union, contained in Directive 2009/161/EU. The DSB value was established at 20 mg 2-HMSI/g creatinine. The substance was labeled with the notation „skin”, „I” and with the notation „Ft”. This article discusses the problems of occupational safety and health, which are covered by health sciences and environmental engineering.

Keywords: 1-methyl-2-pyrrolidone, toxicity, occupational exposure, MAC, health sciences, environmental engineering.

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

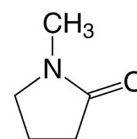
Ogólna charakterystyka substancji

1-Metylo-2-pirolidon (NMP) to organiczny związek chemiczny z grupy laktamów, metylowa pochodna 2-pirolidonu.

Ogólna charakterystyka 1-metylo-2-pirolidonu (EPA 2017; PubChem 2020; SCOEL 2016; SVHC 2011):

– wzór sumaryczny C₅H₉NO

– wzór strukturalny



– SMILES⁴

CN1CCCC1=O

⁴Sposób jednoznacznego zapisu struktury cząsteczek związków chemicznych z wykorzystaniem ciągu znaków ASCII.

<ul style="list-style-type: none"> - nazwa chemiczna 1-metylo-2-pirolidon - nazwy CAS: 2-pyrrolidinone, 1-methyl-2-pyrrolidone - nazwa IUPAC 1-metylpiperolidin-2-one - numer CAS 872-50-4 - numer indeksowy 606-021-00-7 - numer WE 212-828-1 - synonimy: 1-metylo-2-pirolidon; N-metylo-gamma-pirolidon; N-metyl-gamma-butyrolaktam; 1-metyloazacyklopentano-2-on; N-metylo-pirolidinon; N-metylo-alfa-pirolidinon; N-metylo-2-pirolidinon; NSC 4594; Pharmsolve; N 0131; SL 1332; AcsolEx 1; Microposit 2001; M-pirol; MP, 	<p>1-methyl-2-pyrrolidone; N-methyl-gamma-pyrrolidone; N-methyl-gamma-butyrolactone; M-pyrol i 1-methylaza-cyclopentan-2-one.</p> <p>1-Metylo-2-pirolidon ma zharmonizowaną klasyfikację w Unii Europejskiej (rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/648/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie WE nr 1907/2006 ze zm. rozporządzeniem Komisji (WE) nr 790/2009), którą przedstawiono w tabeli 1 i na rycinie 1.</p>
--	--

Tabela 1. Zharmonizowana klasyfikacja oraz oznakowanie 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 (Rozporządzenie ... 2008)

Table 1. Harmonized classification and labeling of 1-methyl-2-pyrrolidone (NMP) in accordance with Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council (Regulation ... 2008)

Międzynarodowa terminologia chemiczna	Klasyfikacja		Oznakowanie	
	klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody haseł ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
1-Metylo-2-pirolidon	Repr. 1B Eye Irrit. 2 Skin Irrit. 2 STOT SE 3	H360D H319 H315 H335	GHS08 GHS07 Dgr	H360 H319 H315 H335

Objaśnienia:

Repr. 1B – działanie szkodliwe na rozrodczość, kategoria zagrożenia 1B.

H360D – może działać szkodliwie na dziecko w łonie matki.

EyeIrrit. 2 – działanie drażniące na oczy, kategoria zagrożenia 2.

H319 – działa drażniąco na oczy.

Skin Irrit. 2 – działanie drażniące na skórę, kategoria zagrożenia 2.

H315 – działa drażniąco na skórę.

STOT SE 3 – działanie toksyczne na narządy docelowe, narażenie jednorazowe, kategoria zagrożenia 3.

H335 – może powodować podrażnienie dróg oddechowych.



GHS08



GHS07

Rycina 1. Piktogramy określone w rozporządzeniu WE nr 1272/2008 (CLP) mają czarny symbol na białym tle z czerwonym obramowaniem, na tyle szerokim, aby było wyraźnie widoczne

Figure 1. Pictograms described in the Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP) have a black symbol on white background with a red border, wide enough to be clearly visible

Właściwości fizykochemiczne

Właściwości fizykochemiczne 1-metylo-2-pirolidonu (NMP), (ECHA 2019; EPA 2017; PubChem 2020; SCOEL 2016; SVHC 2011):

- postać, wygląd bezbarwna, higroskopijna ciecz
- zapach przypominający zapach amin
- masa cząsteczkowa 99 g/mol
- temperatura topnienia -24,4 °C
- temperatura wrzenia 204,3 °C (101,3 kPa)
- temperatura zapłonu 91 °C (DIN 51758)
- temperatura samozapłonu 245 °C (DIN 51794)
- właściwości wybuchowe nie jest wybuchowy
- prężność par: 0,04 kPa w temp. 25 °C;
0,32 hPa w temp. 20 °C
- gęstość 1,028 g/cm³ (w temp. 25 °C)
- współczynnik podziału oktanol-woda (logPow) -0,54 w temp. 25 °C
- lepkość 1,796 mPa · s w temp. 20 °C
- indeks refrakcji 1,469 w temp. 25 °C
- rozpuszczalność w wodzie: całkowicie rozpuszcza się w wodzie; 1000 g/l w temp. 20 °C
- wartość pH 7,7 ÷ 8
- biodegradacja w wodzie łatwo ulega biodegradacji (100%)
- rozpuszczalność w innych rozpuszczalnikach: bardzo dobrze rozpuszcza się w: alkoholach, eterach i octanach, a w mniejszym stopniu w węglowodorach alifatycznych
- współczynniki przeliczeniowe: 1 ppm = 4,12 mg/m³;
1 mg/m³ = 0,24 ppm.

Otrzymywanie, zastosowanie i narażenie zawodowe

1-Metylo-2-pirolidon (NMP) jest otrzymywany w reakcji gamma-butyrolaktonu z metyloaminą

w wysokociśnieniowym reaktorze rurowym (6 ÷ 12 MPa). Reakcja jest egzotermiczna i często przebiega w warunkach adiabatycznych w zakresie temperatur 250 ÷ 400 °C. Powstała mieszanina jest dekompresowana i destylowana. Wydajność otrzymania 1-metylo-2-pirolidonu wynosi zwykle ponad 97% (Harreus i in. 2011). 1-Metylo-2-pirolidon można także otrzymać z acetonu i formaldehydu w warunkach podwyższonego ciśnienia (Lewis 2007).

1-Metylo-2-pirolidon jest wytwarzany i/lub importowany do Europejskiego Obszaru Gospodarczego w dużych ilościach (10 000 ÷ 100 000 t/rok, a w latach 2017-2018 w ilościach 20 000 ÷ 30 000 t/rok). Na stronie ECHA substancję zarejestrowało (w ramach rozporządzenia REACH) kilkudziesięciu rejestrujących z różnych państw, m.in. dwóch z Polski (Specialty Products Poland sp. z o.o. z Warszawy, Avantor Performance Materials Poland z Gliwic), (ECHA 2019).

Ze względu na właściwości 1-metylo-2-pirolidonu stwarzające zagrożenie dla zdrowia człowieka w kwietniu 2018 r. Komisja Europejska ograniczyła jego stosowanie. Ograniczenie numer 71 załącznika XVII do rozporządzenia REACH ma zastosowanie wobec produkcji, wprowadzania do obrotu i stosowania 1-metylo-2-pirolidonu. Zgodnie z tym ograniczeniem *substancja nie może być wprowadzana do obrotu jako substancja w postaci własnej lub w mieszaninach o stężeniu równym lub większym niż 0,3% po dniu 9 maja 2020 r., chyba że producenci, importerzy i dalsi użytkownicy podali w odpowiednich raportach bezpieczeństwa chemicznego i kartach charakterystyki, że wartości pochodnego poziomu niepowodującego zmian (DNEL) w odniesieniu do narażenia pracowników wynoszą 14,4 mg/m³ w przypadku narażenia drogą inhalacyjną i 4,8 mg/kg/dzień w przypadku narażenia przez skórę. Nie może być produkowany lub stosowany jako substancja w postaci własnej lub w mieszaninach o stężeniu równym lub większym niż 0,3% po dniu 9 maja 2020 r., chyba że producenci i dalsi użytkownicy podejmą odpowiednie środki zarządzania ryzykiem i zapewnią odpowiednie warunki operacyjne w celu zapewnienia, aby narażenie pracowników było niższe od wartości DNEL określonych w pkt 1. W drodze odstępstwa od pkt 1 i 2 obowiązki określone w tych punktach mają zastosowanie od dnia 9 maja 2024 r. w odniesieniu do wprowadzenia*

do obrotu w celu stosowania lub w odniesieniu do stosowania jako rozpuszczalnik lub reagent w procesie powlekania drutu.

Ponadto planuje się uznanie 1-metylo-2-pirolidonu za substancję SVHC (substancje wzbudzające szczególnie duże obawy) i wpisanie jej na listę kandydatką w celu uzyskania zezwolenia na jej stosowanie.

1-Metylo-2-pirolidon jest stosowany głównie jako rozpuszczalnik w przemyśle podczas produkcji innych chemikaliów oraz w produkcji przemysłowej wyrobów. W przypadku większości zastosowań związek nie znajduje się w produkcie końcowym, ponieważ usuwa się go w trakcie procesu produkcyjnego i przetwarza ponownie lub usuwa jako odpad (ECHA 2019).

1-Metylo-2-pirolidon jest stosowany również w produkcji chemikaliów, ze względu na jego dużą zdolność do tworzenia roztworu z wysokowydajnymi polimerami, np.: poliuretanem (PU), polianiliną (PANI), poliamidoimidem (PAI), poliimidem (PI), polifluorkiem winylidem (PVDF), polisulfonem (PFS) i polieterosulfonem (PES), a także w procesie przygotowywania: poliparafenylenotereftalamidu (PPTA), polisiarczku fenylenu (PPS) i innych wysokowydajnych tworzyw termoplastycznych (HPTP). W produkcji wyrobów 1-metylo-2-pirolidon jest wykorzystywany do: nakładania cienkiej warstwy polimeru na powierzchnię (pokrywanie powłoką), usuwania polimeru z powierzchni (czyszczenie) lub nadawania polimerowi specjalnego kształtu, np. podczas produkcji membran lub włókien (ECHA 2019).

1-Metylo-2-pirolidon jest stosowany głównie jako rozpuszczalnik w przemyśle podczas produkcji innych chemikaliów, np.: butadienu, acetylenu i węglowodorów aromatycznych. Używany jest w procesach ekstrakcji do czyszczenia produktów ropy naftowej i gazu. Procesy, które wymagają użycia 1-metylo-2-pirolidonu, to odsiarczanie, usuwanie ditlenku węgla, siarczku karbonylu (ECHA 2020). Stosowany jest także do produkcji środków

farmaceutycznych i substancji agrochemicznych. 1-Metylo-2-pirolidon znalazł zastosowanie w przemyśle elektrycznym i elektronicznym (w bateriach litowo-jonowych, bateriach hybrydowych). W przypadku baterii litowo-jonowych związek wykorzystuje się do produkcji katody. Ponadto 1-metylo-2-pirolidon jest używany jako środek do czyszczenia urządzeń procesowych, jako rozpuszczalnik w branży elektronicznej oraz do produkcji płytek obwodów drukowanych (ECHA 2019). Związek jest również rozpuszczalnikiem w procesach produkcji filtrów wody pitnej lub urządzeń do dializy, w procesach produkcji odzieży/włókien polimerowych, np. kasków, kamizelek kuloodpornych itd. Ponadto jest stosowany jako rozpuszczalnik specjalnych emalii w procesie produkcji emaliowanego drutu do uzwojeń, wykorzystywanego np. w: silnikach, silnikach elektrycznych i generatorach, a także jako rozpuszczalnik do szerokiej gamy różnych powłok oraz jako środek czyszczący (obejmuje np. branżę motoryzacyjną, odzieżową, lotniczą i kosmonautyczną oraz produkcję sprzętu laboratoryjnego), (ECHA 2019).

W warunkach pracy zawodowej (produkcja i stosowanie substancji) głównymi drogami narażenia na 1-metylo-2-pirolidon jest droga inhalacyjna (wdychanie par lub aerozoli substancji) i kontakt ze skórą (w wyniku rozprysku substancji, noszenia zabrudzonych środków ochrony osobistej i dotykania zabrudzonych powierzchni). Związek występujący w postaci par w powietrzu może także przenikać do organizmu przez skórę.

Na podstawie uzyskanych danych o narażeniu na 1-metylo-2-pirolidon (Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Bydgoszczy oraz Główny Inspektorat Sanitarny za rok 2018 i 2019) nie odnotowano w warunkach zawodowych przekroczenia obowiązującej wartości NDS (40 mg/m³), (GIS 2018; 2019).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne. Działanie ostre i krótkoterminowe

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji na temat toksyczności ostrej 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) u ludzi, a w badaniach na

zwierzętach wykazano niewielką toksyczność ostrą (SCOEL 2016).

Działanie drażniące na oczy

U pracowników przemysłu elektronicznego już po 30 min od narażenia na 1-metylo-2-pirolidon

(NMP) o stężeniu 3 mg/m³ odnotowano podrażnienie oczu i bóle głowy (Beaulieu, Schmerber 1991).

Objawów podrażnienia oczu nie stwierdzono u 6 badanych ochotników narażanych na 1-metylo-2-pirolidon o stężeniach: 10; 25 lub 50 mg/m³ przez 8 h (Jungbauer i in. 2001).

Silne podrażnienie oczu i bóle głowy wystąpiły natomiast u pracowników zakładów przemysłu mikroelektronicznego narażanych na 1-metylo-2-pirolidon o stężeniu 280 mg/m³ (70 ppm), który był podgrzewany do 80 °C (Beaulieu, Schmerber 1991).

Działanie drażniące na układ oddechowy

U 6 badanych ochotników narażanych na 1-metylo-2-pirolidon (NMP) o stężeniach: 10; 25 lub 50 mg/m³ (2,5; 6,25 lub 12,5 ppm) przez 8 h nie stwierdzono zmian w nabłonku nosa oraz istotnych parametrów czynności płuc: FEV1 (natężonej objętości wydechowej jednosekundowej), pojemności życiowej lub nasilonej pojemności wydechowej. Nie stwierdzono także objawów podrażnienia dróg oddechowych. Dwóch badanych ochotników wyczuwało zapach substancji, gdy jej stężenie wynosiło około 50 mg/m³. Badani nie uskarżali się na bóle i zawroty głowy czy nudności (Åkesson, Paulsson 1997).

Działanie drażniące na skórę

Podrażnienie skóry i kontaktowe zapalenie skóry wykazano u 10 z 12 badanych pracowników narażonych na 1-metylo-2-pirolidon (NMP) 8 h dziennie przez 2 dni (Leira i in. 1992).

Leira i in. (1992) odnotowali również podrażnienie skóry u kobiety pracującej bez rękawic roboczych w zakładach produkujących płyty obwodów drukowanych, narażonej na 1-metylo-2-pirolidon przez kilka godzin dziennie.

Åkesson i Jönsson opisali objawy skórne (zaczerwienienie, obrzęk i zgrubienie skóry oraz pęcherze na skórze) u pracowników narażonych na 1-metylo-2-pirolidon drogą skórną podczas usuwania farb (Åkesson, Jönsson 2000a).

Stany zapalne skóry stwierdzono także u 3 pracowników niemających wcześniej kontaktu z 1-metylo-2-pirolidem. Autorzy badania zmiany te przypisali higroskopijnym właściwościom 1-metylo-2-pirolidonu (Jungbauer i in. 2001).

Działanie uczulające na skórę

W dostępnej literaturze nie znaleziono informacji na temat działania uczulającego

1-metylo-2-pirolidonu. Substancja ta nie powodowała żadnych objawów związanych z uczuleniem kontaktowym u osób, u których przeprowadzono testy płatkowe na uszkodzonej powierzchni skóry. U badanych osób wystąpiło jedynie przemijające (od niewielkiego do umiarkowanego stopnia) podrażnienie skóry (Lee i in. 1987).

Narażenie inhalacyjne

Kompleksowe badania przeprowadzono u 15 zdrowych, młodych mężczyzn (ochotników) w celu zbadania możliwych chemosensorycznych skutków zawodowego narażenia na 1-metylo-2-pirolidon (NMP), (van Thriel i in. 2007). Ochotników narażano drogą inhalacyjną na 1-metylo-2-pirolidon przez 8 h, raz w tygodniu, przez 8 tygodni, z przerwą tygodniową między kolejnymi czterema sesjami podczas całego okresu badań. Łącznie, w okresie eksperymentalnym były cztery narażenia na związek. W badaniach zastosowano cztery scenariusze narażenia na związek o stężeniach: 10; 40; 80; 25 mg/m³, w tym szczytowe stężenie o wartości do 160 mg/m³. 1-Metylo-2-pirolidon o stężeniu 10 mg/m³ nie wykazywał działania drażniącego, jedynie zapach był wyczuwalny. Wszystkie cztery warunki narażenia inhalacyjnego badano z dodatkowym obciążeniem fizycznym i bez niego. Obciążenie fizyczne polegało na sześciu 10-minutowych okresach ćwiczeń na ergometrze rowerowym podczas 8-godzinnego okresu narażenia. Działanie chemosensoryczne 1-metylo-2-pirolidonu oceniono, przeprowadzając następujące pomiary: (1) częstości mrugania oczami na podstawie zapisów EMG, (2) ocenę drożności nosa za pomocą rynomanometrii, która polega na pomiarze oporów, jakie panują w jamie nosowej podczas wdechu i wydechu powietrza przez nozdrza, (3) częstości oddechów na podstawie pomiarów elektrofizjologicznych, (4) neurobehawioralne/psychologiczne testy uwagi (chemosensoryczne roztargnienie), (5) subiektywne ostre objawy (w tym odczucie zapachu jako ostrego, skutki zdrowotne wynikające z pobudzenia nerwu trójdzielnego) zgodne ze szwedzkim systemem oceny wyników (SPES), (6) intensywność doznań chemosensorycznych (np. intensywność zapachu, intensywność podrażnienia oczu) w skali LMS, (7) przedstawienie proggu zapachu za pomocą metody olfaktometrii przepływowej (adaptacja i adaptacja krzyżowa, która polega na tym, że węch przyzwyczaja się do jednego zapachu i jest mniej

wrażliwy na drugi zapach). Badanie obejmowało fazę narażenia wyłącznie przez skórę (zastosowanie osłon twarzy zapobiegało wychwytwowi wziewnemu).

Na podstawie wyników badań wykazano, że intensywność zapachu była w średnim stopniu uciążliwa jedynie podczas szczytowych wartości stężeń (160 mg/m^3). Początkowo zapach był uciążliwy, ale z biegiem czasu intensywność zapachu malała w wyniku procesu adaptacji. Częstotliwość mrugania oczami, drożność nosa oraz częstość oddechów nie wykazywały zależności typu dawka-odpowiedź nawet w przypadku zastosowania największego stężenia 1-metylo-2-pirolidonu (160 mg/m^3). W żadnym z zastosowanych testów neurobehawioralnych i psychologicznych nie ujawniono zależności pomiędzy narażeniem na 1-metylo-2-pirolidon a zdolnościami poznawczymi ochotników. Według autorów 1-metylo-2-pirolidon można scharakteryzować jako substancję zapachową bez działania drażniącego nawet podczas zastosowania szczytowego poziomu narażenia (160 mg/m^3), (*van Thriel* i in. 2007).

Wrażliwość ludzi na zapach substancji badano na 16 ochotnikach, którzy byli narażeni na 1-metylo-2-pirolidon przez 8 h, raz w tygodniu, przez 8 tygodni, z przerwą tygodniową między kolejnymi czterema sesjami podczas całego okresu badań. W badaniach zastosowano cztery scenariusze narażenia na związek o stężeniach: 10; 40; 80; 25 i 160 mg/m^3 , w tym szczytowe stężenie o wartości do 160 mg/m^3 . Stężenie 10 mg/m^3 uznano za wyczuwalne, ale niedziałające drażniąco. Intensywność zapachu była w średnim stopniu uciążliwa jedynie podczas szczytowych wartości stężeń. Początkowo zapach był uciążliwy, ale z biegiem czasu był coraz słabiej wyczuwalny. Ani częstotliwość mrugania oczami, ani szybkość oddychania nie wykazywały zależności typu dawka-odpowiedź. W żadnym z zastosowanych testów psychologicznych nie ujawniono zależności między narażeniem

na 1-metylo-2-pirolidon a zdolnościami poznawczymi ochotników podczas narażenia. Według autorów 1-metylo-2-pirolidon jest substancją zapachową bez działania drażniącego w testowanym zakresie stężeń nawet podczas szczytowego poziomu narażenia (160 mg/m^3), (*Bader* i in. 2007).

W badaniu klinicznym przeprowadzonym w Japonii u 15 pracowników czyszczących komponenty roztworem NMP (>90%) zbadano mocz i parametry krwi oraz wpływ na czynności motoryczne i poznawcze pracowników. Pracownicy byli narażani głównie drogą inhalacyjną na 1-metylo-2-pirolidon o stężeniach około $0,61 \text{ mg/m}^3$ ($0,13 \div 0,25 \text{ ppm}$), (8 h, 5 dni). Nie stwierdzono u badanych żadnych objawów związanych z narażeniem na 1-metylo-2-pirolidon w porównaniu do grupy kontrolnej (*Nishimura* i in. 2009).

Podrażnienie oczu i błon śluzowych górnych dróg oddechowych oraz bóle głowy odnotowano u 2 pracowników zatrudnionych w zakładach produkujących kleje (*Bader* i in. 2006). Osoby badane pracowały w narażeniu na 1-metylo-2-pirolidon (około $15,5 \text{ mg/m}^3$ z jednorazowym pikiem do 85 mg/m^3), wykonując prace związane z ręcznym czyszczeniem mieszadeł, zaworów i narzędzi. Wartości oznaczonych stężeń 1-metylo-2-pirolidonu i jego metabolitów zamieszczono w rozdziale „Toksykokinetyka”.

Działanie podprzewlekłe i przewlekłe

W dostępnym piśmiennictwie nie ma informacji na temat zatruc przewlekłych 1-metylo-2-pirolidonem (NMP) u ludzi.

Badania epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono wyników badań epidemiologicznych dotyczących skutków przewlekłego narażenia ludzi na 1-metylo-2-pirolidon (NMP).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra i podostra

Wartości medialnych dawek śmiertelnych (LD_{50}) 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) po podaniu dożołądkowym: szczurom, myszom, królikom i kawii

domowej wynoszą $3500 \div 5130 \text{ mg/kg mc.}$ (*Ansell, Fowler* 1988; *Bartsch* i in. 1976), a po naniesieniu na skórę szczura i królika – $4000 \div 10\,000 \text{ mg/kg mc.}$ (*Bartsch* i in. 1976; *Clark* i in. 1984; *Weisbrod* 1981). Wartość medialnego stężenia (LD_{50})

związku otrzymana w badaniach na szczurach narażanych drogą inhalacyjną tylko przez nos wynosiła $>5100 \text{ mg/m}^3$ (mieszana para i aerozoli o wartości MMAD – masowej mediany aerodynamicznej średnicy równej $4,6 \mu\text{m}$ – frakcja respirabilna 87%), (BASF 1988). Doświadczalne wartości LD_{50} i CL_{50} 1-metylo-2-pirolidonu wyznaczone dla zwierząt doświadczalnych przedstawiono w tabeli 2. Najczęściej wymienianymi skutkami narażenia na 1-metylo-2-pirolidon podawany zwierzętom drogą pokarmową i inhalacyjną jest działanie drażniące na błony śluzowe dróg oddechowych, działanie narkotyczne oraz niespecyficzne objawy toksyczności (Ansell, Fowler 1988; BASF 1988).

Doświadczalne wartości LD_{50} i CL_{50} uzyskane w badaniach na zwierzętach wskazują na niewielką toksyczność ostrą 1-metylo-2-pirolidonu (tab. 2).

Działanie drażniące na skórę

Siłę działania drażniącego 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) na skórę badano u 6 królików nowozelandzkich białych, którym jednorazowo na 24 h nałożono 0,5 ml tej substancji pod opatrunkiem okluzyjnym. U zwierząt stwierdzono niski potencjał drażniący substancji (nieduży stopień zaczerwienienia skóry) zarówno po nałożeniu na nieuszkodzoną, jak i uszkodzoną skórę (Ansell, Fowler 1988; Draize i in. 1944).

U królików, którym na ogoloną skórę naniesiono 50-procentowy wodny roztwór 1-metylo-2-pirolidonu, wystąpiło niewielkie zaczerwienienie skóry po $5 \div 15$ min od aplikacji (Lee i in. 1987).

W przeciwieństwie do tych wyników w innych badaniach przeprowadzonych na królikach odnotowano w miejscu aplikacji 1-metylo-2-pirolidonu ciężką postać rumienia i późniejsze złuszczenie skóry (BASF 1963).

Powtarzana codzienna aplikacja 1-metylo-2-pirolidonu (cztery dawki) na skórę królikom w dawce 450 mg/kg mc. powodowała bolesne i ciężkie przekrwienie skóry oraz tworzenie się strupów. Objawy skórne po dawce 150 mg/kg mc./dzień były mniej nasilone (BASF 1993a).

Aplikacja na nieuszkodzoną lub uszkodzoną skórę królików nierozcieńczonego 1-metylo-2-pirolidonu w dawkach do 1645 mg/kg mc./dzień, przez 20 dni spowodowała jedynie łagodne podrażnienie w miejscu aplikacji (GAF 1990).

Działanie drażniące na oczy

Badanie działania drażniącego 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) na oczy przeprowadzono na królikach nowozelandzkich białych ($n = 9$), którym wprowadzono do worka spojówkowego oka 0,1 ml tej substancji (drugie oko stanowiło kontrolę). Zakroplenie do oka 0,1 ml 1-metylo-2-pirolidonu spowodowało: zapalenie spojówek, zapalenie tęczówki oraz zmętnienie rogówki. Zaobserwowane skutki ustąpiły w ciągu 21 dni po aplikacji. Kiedy narażone oko było płukane przez 30 s po aplikacji skutki narażenia utrzymywały się około 14 dni. Indeks drażnienia dla niepłukanych/płukanych oczu wynosił odpowiednio: 41/35; 40/26; 34/18; 8/1; 4/0 i we wszystkich przypadkach – po 1., 2., 3., 7., 14. i 21. dniu po narażeniu (Draize i in. 1944).

Tabela 2. Wartości LD_{50} i CL_{50} 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) wyznaczone dla zwierząt doświadczalnych (ChemIDplus 2020)

Table 2. LD_{50} and CL_{50} values of 1-methyl-2-pyrrolidone (NMP) determined in experimental animals (ChemIDplus 2020)

Gatunek/szczep zwierząt	Droga podania	Wartość $\text{LD}_{50}/\text{CL}_{50}$
Szczur	dożołądkowa	3914 mg/kg mc.
Mysz	dożołądkowa	5130 mg/kg mc.
Królik	dożołądkowa	3500 mg/kg mc.
Kawia domowa	dożołądkowa	4400 mg/kg mc.
Szczur	inhalacyjna	$> 5100 \text{ mg/m}^3$
Królik	na skórę	8000 mg/kg mc.
Mysz	dootrzewnowa	2310 mg/kg mc.
Mysz	dootrzewnowa	3050 mg/kg mc.
Szczur	dootrzewnowa	2472 mg/kg mc.
Szczur	podskórna	$>2000 \text{ mg/kg}$ mc.
Szczur	dożylna	$80,5 \text{ mg/kg}$ mc.
Mysz	dożylna	$54,5 \text{ mg/kg}$ mc.
Pies	dożylna	$63,3 \text{ mg/kg}$ mc.

Podrażnienie oczu od umiarkowanego do znacznego zgłaszano również w badaniach przeprowadzonych na królikach przez BASF (Ansell, Fowler 1988; BASF 1951; 1963; GAF 1990).

Działanie uczulające na skórę

W zmodyfikowanym teście Draize'a na kawii domowej powtarzane nałożenie 5-procentowego roztworu 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) nie powodowało żadnych objawów uczulenia (Lee i in. 1987).

Objawów uczulenia nie zaobserwowano również u kawii domowej po przeprowadzeniu testu alergicznego śródskórnego. Test obejmował cztery śródskórne wstrzyknięcia 0,1 ml 1-procentowego roztworu 1-metylo-2-pirolidonu w soli fizjologicznej świnkom morskim, a następnie nałożenie 5-procentowego lub 50-procentowego wodnego roztworu 1-metylo-2-pirolidonu. Obserwacje stanu skóry przeprowadzono po 24 i 48 h (du Pont 1976a; 1976b). Naniesienie 50-procentowego roztworu 1-metylo-2-pirolidonu spowodowało niewielki stopień podrażnienia skóry w miejscu aplikacji.

Skutki działania toksycznego 1-metylo-2-pirolidonu w warunkach narażenia podostrego drogą pokarmową i inhalacyjną przedstawiono w tabeli 3.

Droga pokarmowa

Szczury (po 10 zwierząt każdej płci) otrzymywały 1-metylo-2-pirolidon (NMP) w dawkach: 0, 257; 514; 1028 lub 2060 mg/kg mc./dzień, przez 5 dni/tydzień, przez 4 tygodnie. W przypadku samców obserwowano zależne od dawki zmniejszenie masy ciała, które po dawce 1028 lub 2060 mg/kg mc./dzień wynosiło odpowiednio 11 i 16%. Ponadto u 9 zwierząt narażanych na 1-metylo-2-pirolidon w dawce 2060 mg/kg mc./dzień wystąpiło zmniejszenie względnej i bezwzględnej masy jąder. Badaniem histologicznym stwierdzono zmiany w nabłonku kanalików nasiennych polegające na powstawaniu wielojądrzastych komórek olbrzymich oraz zlepianiu się złuszczonej komórek. U obu płci wystąpiło zależne od dawki (1028 i 2060 mg/kg mc./dzień) zwiększenie względnych mas wątroby i nerek oraz zmniejszenie liczby limfocytów. Po największej dawce 1-metylo-2-pirolidonu stwierdzono takie objawy ogólnej toksyczności, jak: drżenie, niepokój, zmierzwiene futro i nasilone reakcje obronne. Wartość NOAEL wyznaczono na poziomie 514 mg 1-metylo-2-pirolidonu/kg mc. (BASF 1978).

Szczurom CrI:CD.BR (po 5 zwierząt każdej płci) podawano 1-metylo-2-pirolidon z paszą

w dawkach: 0; 2000; 6000; 18 000 lub 30 000 mg/kg przez 28 dni. Średnia dzienna dawka 1-metylo-2-pirolidonu wynosiła: 0; 149; 429; 1234 lub 2019 mg/kg mc./dzień (samce) i 0; 161; 493; 1548 lub 2268 mg/kg mc./dzień (samice). Czystość zastosowanego 1-metylo-2-pirolidonu wynosiła 99,9%. Nie stwierdzono padnięć zwierząt. Zmniejszenie masy ciała oraz przyrostów masy ciała odnotowano u samców po dawce ≥ 1234 mg/kg mc./dzień, a u samic po dawce 2268 mg/kg mc./dzień. U samców, w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej, przyrosty masy ciała podczas całego badania (0 ÷ 28 dni) były zmniejszone o 40 i 72% odpowiednio po dawkach 1234 i 2019 mg/kg mc./dzień. U samic badany parametr był zmniejszony o 52% po największej dawce. Zmniejszenie masy ciała było skorelowane ze zmniejszonym spożyciem paszy. Nieistotne statystycznie zmniejszenie przyrostów masy ciała wystąpiło także u samców po dawce 429 mg/kg mc./dzień i u samic po dawce 1548 mg/kg mc./dzień.

Narażenie miało również wpływ na zmianę kilku badanych parametrów surowicy: u samców nieistotnie statystycznie zmniejszenie stężenia glukozy (w dawce ≥ 1234 mg/kg mc./dzień) i aktywności fosfatazy zasadowej (ALP), (w dawce 2019 mg/kg mc./dzień) oraz nieistotnie statystycznie zmniejszenie białka całkowitego i albuminy, nieistotnie statystycznie zwiększenie poziomu cholesterolu u samców i samic po największej dawce.

U samic i samców narażonych na największą dawkę obserwowano umiarkowaną leukopenię i zmiany histopatologiczne (wielkokomórkowy szpik kostny – *hypo-cellular bone marrow*). Zwyródnienie i zanik jąder wystąpiły u samców, natomiast zanik grasicy u samic. Zmiany te zostały ocenione jako drugorzędne w stosunku do wpływu substancji na masę ciała i ilość przyjmowanego pokarmu. Centrilobularny przerost wątrobowokomórkowy wystąpił tylko u samców i samic narażanych na 1-metylo-2-pirolidon w dwóch największych dawkach (u 5/5 i u 4/5 samców odpowiednio po dawkach 1234 lub 2019 mg/kg mc./dzień; u 3/5 i u 5/5 samic odpowiednio po dawkach 1548 lub 2268 mg/kg mc./dzień). Zmiany te uznano za reakcję adaptacyjną.

Ponadto u samców odnotowano zwyródnienie i/lub zanik kanalików nasiennych jąder (0/5, 0/5, 0/5, 1/5 i 5/5) odpowiednio po dawkach: 0; 149; 429; 1234 lub 2019 mg/kg mc./dzień. Zmianie uległa również masa jąder.

Tabela 3. Toksyczność podostra, podprzewlekła i przewlekła 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) u zwierząt doświadczalnych
Table 3. Subacute, subchronic and chronic toxicity of 1-methyl-2-pyrrolidone (NMP) in experimental animals

Gatunek, płeć zwierząt, warunki doświadczenia	Wartości NOAEL/LOAEL	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Droga pokarmowa			
badania podostre 30-dniowe			
Szczury, grupy po 10 zwierząt każdej płci; intubowane 5 dni/tydz. dawki: 0; 257; 514; 1028 lub 2060 mg/kg mc./dzień	NOAEL: 514 mg/kg mc./dzień toksyczność układowa	dawki: 0; 257; 514 mg/kg mc./dzień – brak objawów zatrucia i przypadków śmiertelnych; dawki 1028 lub 2060 mg/kg mc./dzień: – zmniejszenie masy ciała w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej odpowiednio o 11 i 16% (♂) – u obu płci zależne od dawki zwiększenie względnych mas wątroby i nerek oraz zmniejszenie liczby limfocytów; dawka 2060 mg/kg mc./dzień: – objawy ogólnej toksyczności: drżenie, niepokój, zmierzwione (potargane) futro i reakcje obronne – zmniejszenie względnej i bezwzględnej masy jąder (9 zwierząt) – zmiany w nabłonku kanalików nasiennych i powstawanie wielojądrowych komórek olbrzymich, a także zlepianie się złuszczonej komórki	BASF 1978
Szczury CrI:CD.BR, grupy po 5 zwierząt każdej płci; NMP w paszy w dawkach: 0; 149; 429; 1234 lub 2019 mg/kg mc./dzień (♂) 0; 161; 493, 1548 lub 2268 mg/kg mc./dzień (♀)	NOAEL: 429 mg/kg mc./dzień (♂) 1548 mg/kg mc./dzień (♀) toksyczność układowa	po żadnej z dawek nie stwierdzono śmiertelności wśród zwierząt; dawka 429 mg/kg mc./dzień: – nieistotne statystycznie zmniejszenie przyrostów masy ciała ♂; dawka 1548 mg/kg mc./dzień: – nieistotne statystycznie zmniejszenie przyrostów masy ciała ♀; dawka ≥1234 mg/kg mc./dzień (♂): – zmniejszenie masy ciała oraz przyrostów masy ciała podczas całego badania (0 ÷ 28 dni) – zmniejszenie przyrostów masy ciała ♂ o 40 i 72% odpowiednio po dawkach 1234 i 2019 mg/kg mc./dzień – zmniejszenie przyrostów masy ciała o 52% (2268 mg/kg mc./dzień) skorelowane ze zmniejszonym spożyciem paszy – zmniejszenie stężenia glukozy ≥1234 mg/kg mc./dzień – zmniejszenie aktywności fosfatazy zasadowej (ALP), (2019 mg/kg mc./dzień) – niewielkie zmniejszenie białka całkowitego i albuminy, łagodne zwiększenie stężenia cholesterolu u ♀ i ♂ po największej dawce; dawki: 2019 (♂) i 2268 mg/kg mc./dzień (♀): – umiarkowana leukopenia i zmiany histopatologiczne (wielkokomórkowy szpik kostny – <i>hypo cellular bone marrow</i>) u ♂ i ♀ – zwyrodnienie i zanik jąder u ♂ – zanik grasicy u ♀ – centrilobularny przerost wątrobowokomórkowy u ♂ i ♀ narażanych na NMP w dwóch największych dawkach 5/5 i 4/5 ♂ odpowiednio po dawkach 1234 i 2019 mg/kg mc./dzień i 3/5 i 5/5 ♀ po dawkach odpowiednio 1548 i 2268 mg/kg mc./dzień) w porównaniu do wyniku uzyskanego u zwierząt z grupy kontrolnej i z dwóch grup narażanych na najmniejsze dawki (0/5 ♂ i 0/5 ♀), skutek ten uznano za reakcję adaptacyjną – u ♂ zwyrodnienie i/lub zanik kanalików nasiennych jąder zależny od dawek: 0/5; 0/5; 0/5; 1/5 i 5/5 odpowiednio po dawkach: 0; 149; 429; 1234 i 2019 mg/kg mc./dzień, zmianie uległa również masa jąder	Malek i in. 1997

cd. tab. 3 / Table 3 cont.

Gatunek, płeć zwierząt, warunki doświadczenia	Wartości NOAEL/LOAEL	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy (B6C3F1/CrIBR), po 5 zwierząt każdej płci, NMP w paszy w dawkach: 0; 130; 720; 2130 i 2670 mg/kg mc./dzień (♂) 0, 180, 920, 2970 i 4060 mg/kg mc./dzień (♀)	NOAEL: 720 mg/kg mc./dzień (♂) 2970 mg/kg mc./dzień (♀) zmiany histopatologiczne w nerkach	<ul style="list-style-type: none"> - brak wpływu NMP w zastosowanych dawkach na: masę ciała, ilość spożytego pokarmu i zmiany parametrów hematologicznych zarówno u ♂, jak i u ♀; dawka 4060 mg/kg mc./dzień (♀): - zmniejszenie stężenia fosfatazy zasadowej (ALP) w surowicy; dawka 4060 mg/kg mc./dzień: - zmętnienie i obrzęk nabłonka dystalnych części kanalików nerkowych u 3 ♀; dawka 2670 mg/kg mc./dzień: - zmętnienie i obrzęk nabłonka dystalnych części kanalików nerkowych u 4 ♂; dawka 2130 mg/kg mc./dzień: - zmętnienie i obrzęk nabłonka dystalnych części kanalików nerkowych u 2 ♂ 	<i>Malek i in. 1997</i>
badanie podprzewlekle 90-dniowe			
Szczury CrI:CD, po 10 zwierząt każdej płci, NMP w paszy w dawkach: 0; 169; 433 i 1057 mg/kg mc./dzień (♂) 0, 217, 565 i 1344 mg/kg mc./dzień (♀)	NOAEL: 169 mg/kg mc./dzień (♂) 217 mg/kg mc./dzień (♀) masa ciała i zmiany 3 neurobehawioralnych parametrów (tylko u ♂) w przypadku narażenia na związek w dawce 1344 mg/kg mc./dzień; za pomocą testów neurobehawioralnych oceniano stan mięśni, stan ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego	<ul style="list-style-type: none"> - brak wpływu NMP w zastosowanych dawkach na przeżywalność zwierząt obu płci i badane parametry: hematologiczne, biochemiczne i moczu; dawki 1057 lub 1344 mg/kg mc./dzień: - zmniejszenie: masy ciała, przyrostu masy ciała o 28% ♂ i 25% ♀ w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej, spożycia paszy (podczas 90-dniowego okresu narażenia); dawki 433 lub 565 mg/kg mc./dzień: - zmniejszenie: masy ciała, przyrostu masy ciała, spożycia paszy podczas pierwszej połowy 90-dniowego okresu narażenia; dawki 433 lub 1057 mg/kg mc./dzień (♂): - brak istotnego wpływu na parametry neurobehawioralne, z wyjątkiem zwiększenia rozstawu stóp - częściej występująca mniejsza aktywność mierzona za pomocą testu otwartego pola oraz częstsze zamykanie powiek - badaniem histologicznym nie stwierdzono zmian morfologicznych w obwodowym lub ośrodkowym układzie nerwowym - u ♀ zwiększenie bezwzględnej i względnej masy wątroby zależne od dawek (0/10 po dawkach: 0; 217; 565 mg/kg mc., 6/10 po dawce 1344 mg/kg mc.) - zwiększenie względnej i bezwzględnej masy nerek u obu płci po największej dawce - brak zmian patologicznych w nerkach - wpływ narażenia na względną masę płuc, mózgu (♂ i ♀) i jąder (zwiększenie o 13%) po największej dawce. <p>Powyższym skutkom nie towarzyszyły zmiany morfologiczne</p>	<i>Malley i in. 1999</i>
Myszy B6C3F1, po 20 zwierząt każdej płci, NMP w paszy w dawkach: 0; 277; 619 i 1931 mg/kg mc./dzień	NOAEL: 277 mg/kg mc./dzień wątroba	<ul style="list-style-type: none"> - nie stwierdzono niekorzystnego wpływu narażenia (bez względu na zastosowaną dawkę) na: przeżycie ♀ i ♂, masę ciała, ilość spożytego pokarmu i parametry krwi; dawki 619 lub 1931 mg/kg mc./dzień: - zwiększenie stężenia cholesterolu w surowicy u ♀ oraz zmniejszenie stężenia: trójglicerydów w surowicy, wapnia i aktywności ALP u ♂ po 28 dniach narażenia, ale nie po 90 dniach; - zwiększenie masy wątroby (bezwzględnej i względnej) u ♂ - nieznaczne zwiększenie masy wątroby u ♀ (brak zależności dawka-skutek). 	<i>Malley i in. 1999</i>

cd. tab. 3 / Table 3 cont.

Gatunek, płeć zwierząt, warunki doświadczenia	Wartości NOAEL/LOAEL	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy B6C3F1, po 20 zwierząt każdej płci, NMP w paszy w dawkach: 0; 277; 619 i 1931 mg/kg mc./dzień	NOAEL: 277 mg/kg mc./dzień wątroba	Centrilobularny przerost wątrobowokomórkowy obserwowano po dawce 1931 mg/kg mc./dzień (1/10; 0/10; 2/10 i u 9/10 ♂ odpowiednio po dawkach: 0; 277; 619 lub 1931 mg/kg mc./dzień oraz 1/10; 0/10; 3/10 i 10/10 u ♀ odpowiednio po dawkach: 0; 277; 619 lub 1931 mg/kg mc./dzień) – mimo, że zmiany w wątrobie uważano za proces adaptacyjny, to jednak przypisano je narażeniu na NMP – nie stwierdzono innych zmian histopatologicznych	<i>Malley</i> i in. 1999
Psy beagle po 6 zwierząt każdej płci, NMP w paszy w dawkach: 0; 25; 79 lub 250 mg/kg mc./dzień	NOAEL: 250 mg/kg mc./dzień	– nie stwierdzono żadnych istotnych statystycznie objawów związanych z narażeniem – wraz ze zwiększeniem dawek wystąpił zmniejszony, lecz nieistotny przyrost masy ciała – niewielkie zwiększenie liczby płytek krwi oraz zmniejszenie stężenia cholesterolu w surowicy ♂	<i>Becci</i> i in. 1983
badania przewlekłe powyżej 12 miesięcy			
Szczury Crl:CD, po 62 zwierzęta/płeć/dawkę, NMP w paszy w dawkach: 0; 66,4; 207 i 678 mg/kg mc./dzień (♂) 0; 87,8; 283 i 939 mg/kg mc./dzień (♀)	NOAEL: 207 mg/kg mc./dzień (♂, postępująca nefropatia) 283 mg/kg mc./dzień (♀)	– brak istotnych objawów toksyczności, zmian w narządzie wzroku, różnic w liczbie leukocytów u ♂ i ♀ po zastosowanych dawkach NMP; dawki 678 i 939 mg/kg mc./dzień: – zmniejszenie przyrostu masy ciała oraz ilości przyjmowanego pokarmu u ♂ i ♀ – zmniejszenie masy ciała ♂ i ♀ odpowiednio o 25 i 35% w porównaniu do zwierząt z grup kontrolnych pod koniec dwuletniego okresu narażenia – zmniejszenie przeżywalności ♂ wynikające z przewlekłej, postępującej nefrotoksyczności/mocznicy (32% przeżycia u zwierząt z grup kontrolnych / 24% u narażanych ♂) – istotne zmiany morfologiczne polegające na zwiększeniu częstości występowania małych jąder u ♂ (14/62) – zwiększona kumulacja pigmentu w makrofagach śledziony zarówno u ♂, jak i ♀ – zależne od dawki zwiększenie liczby ♂ z ciężką nefropatią (7/62, 10/62, 12/62, 25/62 odpowiednio po dawkach: 0; 66,4; 207 lub 678 mg/kg mc./dzień) – zwiększenie częstości występowania małych jąder również po mniejszych dawkach: 0; 66,4; 207 wynosiło odpowiednio: 6/62, 6/62, 8/62 – u ♂ zwiększenie ilości płynu w jamie opłucznej – w nerkach przewlekła postępująca nefropatia – u ♂ zwyrodnienie kory nadnerczy, obustronne zwyrodnienie/zanik kanalików nasiennych (15/62, 17/62, 15/62 i 35/62 odpowiednio po dawkach: 0; 66,4; 207 lub 678 mg/kg mc./dzień) – obustronna oligospermia/szczątkowe plemniki w najądrzu (11/62, 14/62, 12/62 i 35/62 odpowiednio po dawkach: 0; 66,4; 207 lub 678 mg/kg mc./dzień) – włóknista osteodystrofia w stawie udowym/kolanowym i mostku	<i>Malley</i> i in. 2001

cd. tab. 3 / Table 3 cont.

Gatunek, płeć zwierząt, warunki doświadczenia	Wartości NOAEL/LOAEL	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy B6C3F1, 50 zwierząt/pleć/dawkę, NMP w paszy w dawkach: 0; 89; 173 i 1089 mg/kg mc./dzień (♂) 0; 115; 221 i 1399 mg/kg mc./dzień (♀)	NOAEL: 173 mg/kg mc./dzień (♂) 221 mg/kg mc./dzień (♀)	<ul style="list-style-type: none"> nie stwierdzono objawów zatrucia negatywnego wpływu NMP w zastosowanych dawkach na ilość przyjmowanej paszy i parametry hematologiczne zarówno u ♀, jak i u ♂; dawka 1089 mg/kg mc./dzień: <ul style="list-style-type: none"> zmniejszenie masy ciała ♂ o 5% pod koniec okresu narażenia istotne zwiększenie bezwzględnych i/lub względnych mas wątroby u ♂ i ♀ po największej dawce, a u ♂ również po dawce 173 mg/kg mc./dzień śródłonkowy przerost wątrobowokomórkowy (0/50, 0/50, 3/50, 43/50 u ♂, odpowiednio po dawkach: 0; 89; 173 i 1089 mg/kg mc./dzień) zmiany masy nerek, jąder, nadnerczy, jajników i mózgu nie były skorelowane z zastosowanymi dawkami i zmianami histologicznymi, dlatego nie wiązano ich z badaną substancją 	Malley i in. 2001
Droga inhalacyjna			
badania podostre 30-dniowe			
Szczury Crl:CD, 15 zwierząt/pleć/stężenie, narażano na NMP (mieszanina par i aerozoli) o stężeniach: 100; 500 lub 1000 mg/m ³ , 6 h/dzień, 5 dni/tydzień przez 4 tygodnie	LOAEL: 1000 mg/m ³ NOAEL: 500 mg/m ³	<ul style="list-style-type: none"> dawki 500 mg/m³ lub 100 mg/m³: <ul style="list-style-type: none"> nie stwierdzono skutków toksycznego działania związku po 4 i po 2 tyg. narażenia; dawka 1000 mg/m³: <ul style="list-style-type: none"> istotne zaburzenia oddychania, śpiączka i śmiertelność zwierząt (8/30) po 5 dniach narażenia zmniejszenie masy ciała po 10 dniach narażenia zwiększenie względnej i bezwzględnej liczby neutrofilii zmniejszenie liczby limfocytów badaniem histopatologicznym u martwych zwierząt stwierdzono ogniskowe zapalenie płuc, hipoplazję i krwotok w szpiku kostnym oraz zanik tkanki limfatycznej w śledzionie i grasicy badane parametry biochemiczne krwi, analiza moczu, masa ciała nie różniły się znacząco od parametrów oznaczonych u zwierząt w grupach kontrolnych 	Lee i in. 1987
badania podprzewlekłe 90-dniowe			
Szczury, 10 zwierząt/pleć/stężenie, narażano (tylko głowa) na NMP (82 ÷ 92% respirabilnych cząstek aerozolu – MMAD 2,1 ÷ 3,5 µm o stężeniach: 0; 500; 1000 lub 3000 mg/ml przez 6 h/dzień, 5 dni/tydzień. Dodatkowe dwie grupy szczurów (10 szczurów/pleć/stężenie) były narażane w identycznych warunkach na NMP o stężeniach 0 lub 3000 mg/m ³ i zabijane po 13 tygodniach narażenia oraz po 4 tygodniach w celu uzyskania informacji na temat odwracalności możliwych skutków	NOAEL: 500 mg/m ³ (♂, ♀)	<ul style="list-style-type: none"> ciemnożółte zabarwienie moczu zależne od stężenia było związane z narażeniem, lecz nie ze zmianami w nerkach (wynikało prawdopodobnie z obecności metabolitu NMP); dawka 1000 mg/m³: <ul style="list-style-type: none"> podrażnienie nosa (tworzenie się skorupy na brzegach nosa); dawka 3000 mg/m³ <ul style="list-style-type: none"> niespecyficzne objawy kliniczne i podrażnienie błon śluzowych dróg oddechowych zmniejszenie masy ciała ♂ o 34% oraz bezwzględnej masy jąder zanik komórek w nabłonku zarodkowym jąder u 4/10 ♂ nieznaczne zwiększenie liczby erytrocytów, poziomu hemoglobiny, hematokrytu i średniej objętości krwinek zwiększenie liczby polimorfojądrzastych neutrofilii i zmniejszenie liczby limfocytów u ♀. Badanie dodatkowej grupy szczurów na koniec 4-tygodniowego okresu narażenia wykazało: <ul style="list-style-type: none"> znacznie mniejszy przyrost masy ciała u ♂ w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej wpływ narażenia na jądra 	BASF 1994

cd. tab. 3 / Table 3 cont.

Gatunek, płeć zwierząt, warunki doświadczenia	Wartości NOAEL/LOAEL	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
badania przewlekłe powyżej 12 miesięcy			
Szczury CD-1 obu płci, 120 zwierząt/płeć/stężenie, narażano całą powierzchnię ciała na NMP w postaci pary o stężeniach 40 lub 400 mg/m ³ przez 4 h dziennie, 5 dni w tygodniu	NOAEL: 500 mg/m ³ (♂, ♀)	dawka 400 mg/m ³ : – niewielki stan zapalny w płucach – zmniejszenie o 6% średniej masy ciała – zwiększona ilość wydalanego moczu o ciemnożółtym zabarwieniu (♂, ♀) – podwyższony hematokryt – wysoki poziom fosfatazy zasadowej w osoczu (różnica ta była widoczna po 18 mies., ale nie po 24 mies. narażenia) – obecność spontanicznych nowotworów i zmiany nienowotworowe związane głównie z wiekiem, ponieważ występowały z taką samą częstością u zwierząt z grup kontrolnych – szczególnie u ♂ wystąpiła przewlekła nefropatia, która także była wynikiem zmian w nerkach starzejących się szczurów (40 i 400 mg/m ³) – brak wpływu narażenia na zwiększenie zachorowalności czy padnięć zwierząt	Lee i in. 1987

Objaśnienia:

♂ – samiec.

♀ – samica.

LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*) – najmniejsza dawka/stężenie badanej substancji, wywołujące objawy szkodliwe u zwierząt doświadczalnych.
NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) – największa dawka/stężenie badanej substancji, niewywołujące objawów szkodliwych u zwierząt doświadczalnych.

Autorzy badań konkludują, że u badanych zwierząt występuje raczej odpowiedź ogólnoustrojowa na substancję niż toksyczne działanie na określone narządy. Wartość NOAEL dla samców ustalono na poziomie 429 mg/kg mc./dzień, natomiast dla samic na poziomie 1548 mg/kg mc./dzień (*Malek* i in. 1997).

Badanie toksyczności podprzewlekłej przeprowadzono na myszach (B6C3F1/CrlBR), (po 5 zwierząt każdej płci), które otrzymywały dawki: 0; 500; 2500; 7500 lub 10 000 mg NMP/kg paszy przez 28 dni. Średnia dzienna dawka 1-metylo-2-pirolidonu wynosiła: 0; 130; 720; 2130 lub 2670 mg/kg mc./dzień w przypadku samców i 0; 180; 920; 2970 lub 4060 mg/kg mc./dzień w przypadku samic. Do badań użyto 1-metylo-2-pirolidonu o czystości 99,9% (*Malek* i in. 1997). Oceniano ilość spożytego pokarmu, masę ciała, przeprowadzono badania hematologiczne, badania biochemiczne, ogólne badanie toksykologiczne oraz badanie mikroskopowe standardowego zestawu tkanek. Padnięcie 1 samca w grupie zwierząt narażanych na 1-metylo-2-pirolidon w dawce 2670 mg/kg mc./dzień wiązano z narażeniem. Badaniem histopatologicznym wykazano zmiany patologiczne w nerkach zwierząt (zmętnienie i obrzęk nabłonka dystalnych części kanalików

nerkowych), które przeżyły do końca doświadczenia. Nie obserwowano wpływu 1-metylo-2-pirolidonu w zastosowanych dawkach na masę ciała, ilość spożytego pokarmu i na zmiany parametrów hematologicznych zarówno u samców, jak i u samic. Wyjątek stanowiła fosfataza zasadowa (ALP) w surowicy samic po dawce 4060 mg/kg mc./dzień (zmniejszenie jej poziomu).

W tym badaniu na podstawie zmian histopatologicznych w nerkach samców ustalono wartość NOAEL na poziomie 720 mg/kg mc./dzień (2500 mg/kg paszy), natomiast w przypadku samic – 2970 mg/kg mc./dzień (7500 mg/kg), (*Malek* i in. 1997).

Droga inhalacyjna

Szczury (Crl:CD), (po 15 zwierząt/płeć/stężenie) narażano na 1-metylo-2-pirolidon (NMP), (mieszanina par i aerozoli) o stężeniach: 100; 500 lub 1000 mg/m³ 6 h/dzień, 5 dni w tygodniu przez 4 tygodnie. Czystość 1-metylo-2-pirolidonu wynosiła 100%. 1-Metylo-2-pirolidon o stężeniu 1000 mg/m³ spowodował u narażanych zwierząt istotne zaburzenia oddychania, śpiączkę i padnięcie. Spośród 30 narażanych szczurów padło 8, a 5 szczurów uśmiercono w ciągu pierwszych 9 dni narażenia. Z powodu trudności w oddychaniu

i padnięć zwierząt narażenie przerwano po 10 dniach, a szczirom, które przeżyły, pozwolono wyzdrowieć przez 2 tygodnie. Po 5 dniach narażenia zwierząt na 1-metylo-2-pirolidon w dawce największej odnotowano zmniejszenie masy ciała. Po 10 dniach narażenia względna i bezwzględna liczba neutrofilów zwiększyła się, natomiast liczba limfocytów uległa zmniejszeniu. Wartości te powróciły do normy po 2 tygodniach od zaprzestania narażenia. Badaniem histopatologicznym u martwych zwierząt stwierdzono: ogniskowe zapalenie płuc, hipoplazję i krwotok w szpiku kostnym oraz zanik tkanki limfatycznej w śledzionie i grasicy. U zwierząt narażanych na 1-metylo-2-pirolidon o stężeniu 100 mg/m³ lub 500 mg/m³ nie stwierdzono skutków toksycznego działania związku po 2 i po 4 tygodniach narażenia. Badane parametry biochemiczne krwi, analiza moczu, masa ciała nie różniły się znacząco od wartości odnotowanych u zwierząt z grupy kontrolnej (Lee i in. 1987). Wyniki tego badania pozwalają przyjąć stężenie 1000 mg/m³ 1-metylo-2-pirolidonu za wartość LOAEL, natomiast stężenie 500 mg/m³ za wartość NOAEL (Lee i in. 1987).

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Skutki działania toksycznego 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) w warunkach narażenia podprzewlekłego i przewlekłego drogą pokarmową i inhalacyjną oceniano w badaniach na gryzoniach (szczurach i myszach) oraz psach. Wyniki badań wskazują, że substancja ta wykazuje raczej działanie ogólnoustrojowe niż ukierunkowane na określone narządy, chociaż wydaje się, że nerki są bardziej na nią wrażliwe. Szczegółowe wyniki przeprowadzonych badań wraz z wartościami NOAEL/LOAEL przedstawiono w tabeli 3.

Badania podprzewlekłe (90-dniowe)

Droga pokarmowa

Szczirom (Crl:CD), (po 10 zwierząt/płeć/dawkę) podawano 1-metylo-2-pirolidon (NMP) z paszą w dawkach: 0; 3000; 7500 lub 18 000 mg NMP/kg przez 90 dni. Odpowiadało to średniej dziennej dawce 1-metylo-2-pirolidonu: 0; 169; 433 lub 1057 mg/kg mc./dzień (samce) i 0; 217; 565 lub 1344 mg/kg mc./dzień (samice). Czystość 1-metylo-2-pirolidonu wynosiła 99,9%. Badania obejmowały: objawy kliniczne, spożycie pokarmu, pomiar masy ciała, badania hematologiczne

i biochemiczne, ocenę okulistyczną oraz badania histopatologiczne. U zwierząt przeprowadzono także testy neurobehawioralne w celu oceny stanu mięśni stanu ośrodkowego oraz obwodowego układu nerwowego.

1-Metylo-2-pirolidon (bez względu na zastosowaną dawkę) nie wpływał na: przeżywalność zwierząt obu płci, badane parametry hematologiczne i biochemiczne, parametry moczu. Masa ciała, przyrost masy ciała i wielkość spożycia były zmniejszone podczas 90-dniowego okresu narażenia na substancję w dawce największej, a także podczas pierwszej połowy narażenia na substancję w dawce średniej. Przyrosty masy ciała zwierząt w całym 90-dniowym okresie narażenia na 1-metylo-2-pirolidon w dawce największej były mniejsze o 28% (samce) i 25% (samice) w porównaniu do przyrostu masy ciała zwierząt z grupy kontrolnej.

Narażenie nie wywołało zaburzeń behawioralnych. U samców po dawkach 433 i 1057 mg/kg mc./dzień 1-metylo-2-pirolidonu stwierdzono zwiększenie rozstawu stóp. Samce narażane na 1-metylo-2-pirolidon w dawce 1057 mg/kg mc./dzień częściej wykazywały mniejszą aktywność mierzoną za pomocą testu otwartego pola oraz częstsze przemykanie powiek. Badaniem histologicznym nie stwierdzono zmian morfologicznych w obwodowym lub ośrodkowym układzie nerwowym.

U samic odnotowano zwiększenie bezwzględnej i względnej masy wątroby, które wiązano ze zwiększoną częstością występowania przerostu wątrobowokomórkowego (wystąpiła martwica centrilobularna, tj. martwica środkowej części zrazika; 0/10 po dawkach: 0; 217 i 565 mg/kg mc./dzień i 6/10 po dawce 1344 mg/kg mc./dzień). Zwiększenie względnej i bezwzględnej masy nerek wystąpiło u obu płci po największej dawce. Nie stwierdzono zmian patologicznych w nerkach. Ponadto wykazano zmiany względnej masy płuc, mózgu (samce i samice) i jąder (wzrost o 13%) po największej dawce. Nie były one związane ze zmianami morfologicznymi (Malley i in. 1999).

Wartość NOAEL wyznaczono na poziomie 169 mg/kg mc./dzień dla samców i 217 mg/kg mc./dzień dla samic (3000 mg/kg paszy dla obu płci) na podstawie wpływu związku na masę ciała i zmiany trzech neurobehawioralnych parametrów (tylko u samców) w przypadku narażenia na związek w największej dawce (Malley i in. 1999).

Myszom B6C3F1 (20 zwierząt/płeć/dawkę) podawano z paszą 1-metylo-2-pirolidon w dawkach: 0; 1000; 2500 lub 7500 mg NMP/kg przez 90 dni. Średnia dzienna dawka 1-metylo-2-pirolidonu wynosiła: 0; 277; 619 lub 1931 mg/kg mc./dzień. Czystość 1-metylo-2-pirolidonu wynosiła 99,9%. Ocena eksperymentalna obejmowała: objawy kliniczne, ilość spożytego pokarmu, pomiar masy ciała, badania hematologiczne, biochemiczne, badanie okulistyczne i badania histopatologiczne.

Nie stwierdzono niekorzystnego wpływu narażenia związku (bez względu na zastosowaną dawkę) na: przeżycie samic i samców, masę ciała, ilość spożytego pokarmu i parametry krwi.

Po 28 dniach narażenia podawany 1-metylo-2-pirolidon w dawce 619 mg/kg mc./dzień i/lub 1931 mg/kg mc./dzień powodował zwiększenie poziomu cholesterolu w surowicy u samic oraz zmniejszenie stężenia trójglicerydów w surowicy i wapnia oraz aktywności ALP u samców. Masa wątroby (bezwzględna i względna) była zwiększona u samców po dawkach 619 i 1931 mg/kg mc./dzień. Natomiast u samic, niezależnie od dawki, względna masa wątroby również była nieznacznie zwiększona, chociaż związek dawka-odpowiedź nie był widoczny.

Centrilobularny przerost wątrobowokomórkowy obserwowano u samców i samic (1/10; 0/10; 2/10 i 9/10 u samców odpowiednio po dawkach: 0; 1000; 2500 lub 7500 mg/kg mc. oraz 1/10; 0/10; 3/10 i 10/10 u samic odpowiednio po dawkach: 0; 1000; 2500 lub 7500 mg/kg mc.). Uważane za proces adaptacyjny zmiany w wątrobie wiązano jednak z narażeniem na 1-metylo-2-pirolidon. Po 28 dniach narażenia nie stwierdzono innych zmian histopatologicznych (Malley i in. 1999).

Wartość NOAEL ustalono na poziomie 277 mg/kg mc./dzień (1000 mg/kg) na podstawie wpływu związku na wątrobę po większej dawce. Przemijające zmiany parametrów biochemicznych obserwowano również po dawce >1000 mg/kg mc. (Malley i in. 1999).

Psy rasy beagle (6 zwierząt/płeć), którym podawano z paszą 1-metylo-2-pirolidon (czystość 99,9%) w dawkach: 0; 25; 79 lub 250 mg/kg mc./dzień przez 90 dni, nie wykazywały żadnych istotnych statystycznie objawów związanych z narażeniem. Wraz ze zwiększeniem dawek wystąpił zmniejszony, lecz nieistotny przyrost masy ciała u zwierząt narażanych. Obserwowano również niewielkie zwiększenie liczby płytek krwi oraz

obniżenie poziomu cholesterolu w surowicy samców. Wartość NOAEL w tym badaniu ustalono na poziomie 250 mg/kg mc./dzień (Becci i in. 1983).

Droga inhalacyjna

Szczury (10 osobników każdej płci na dawkę) narażano (tylko przez głowę) na 1-metylo-2-pirolidon (NMP) o stężeniach: 0; 500; 1000 lub 3000 mg/m³ przez 6 h dziennie, 5 dni/tydzień przez 13 tygodni. Zwierzęta zabijano i badano pod koniec narażenia. Dodatkowe dwie grupy szczurów (10 szczurów na płeć i na poziom stężenia) były narażane w identycznych warunkach na 1-metylo-2-pirolidon o stężeniach 0 lub 3000 mg/m³ i zabijane po 13 tygodniach narażenia oraz po 4 tygodniach w celu uzyskania informacji na temat odwracalności możliwych skutków.

Zastosowany w doświadczeniu 1-metylo-2-pirolidon składał się z (duża część 82 ÷ 92%) respirabilnych cząstek aerozolu (MMAD 2,1 ÷ 3,5 μm; wilgotność względna 52 ÷ 61%).

Wszystkie zastosowane stężenia 1-metylo-2-pirolidonu powodowały ciemnożółte zabarwienie moczu. Podrażnienie nosa (tworzenie się skorupy na brzegach nosa) wystąpiło po podaniu dawki 1000 mg/m³ pod koniec okresu narażenia. 1-Metylo-2-pirolidon o stężeniu 3000 mg/m³ powodował niespecyficzne objawy kliniczne i podrażnienie błon śluzowych dróg oddechowych. U samców masa ciała (34%) oraz bezwzględna masa jąder były znacznie zmniejszone. Zanik komórek w nabłonku zarodkowym jąder wystąpił u 4 na 10 samców. Odnotowano także nieznaczne zwiększenie: liczby erytrocytów, poziomu hemoglobiny, hematokrytu i średniej objętości krwinek.

U samic wzrosła liczba polimorfojądrzastych neutrofilii, natomiast zmniejszyła się liczba limfocytów. Badanie dodatkowej grupy szczurów na koniec 4-tygodniowego okresu narażenia wykazało: znacznie mniejszy przyrost masy ciała u samców w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej. Wpływ narażenia na jądra zarejestrowany u szczurów, które były narażane na 1-metylo-2-pirolidon o stężeniu 3000 mg/m³ i zabijane pod koniec narażenia, został również zarejestrowany w grupie dodatkowej na koniec 4-tygodniowego okresu obserwacji po narażeniu. Wartość NOAEL ustalono na poziomie 500 mg NMP/m³ zarówno u samców, jak i u samic szczurów (BASF 1994).

Badania przewlekłe powyżej 12 miesięcy

Droga inhalacyjna

W 2-letnich badaniach inhalacyjnych szczury CD-1 obu płci (120 zwierząt każdej płci na stężenie) narażano całą powierzchnię ciała na 1-metylo-2-pirolidon (NMP) w postaci pary o stężeniu 40 lub 400 mg/m³ przez 4 h dziennie, 5 dni w tygodniu (Lee i in. 1987). Wszystkie szczury, które przeżyły, były zabijane pod koniec 24. miesiąca narażenia w celu przeprowadzenia szczegółowych badań histopatologicznych, a wcześniej badań biochemicznych. Ponadto przeprowadzano badania hematologiczne i urologiczne u szczurów (10 zwierząt każdej płci/stężenie) narażanych przez: 1, 3, 6, 12 i 18 miesięcy. Po 2 latach u zwierząt narażanych na związek o stężeniu 400 mg/m³ odnotowano niewielki stan zapalny w płucach oraz zmniejszenie o 6% średniej masy ciała. U samców szczurów narażonych na 1-metylo-2-pirolidon o stężeniu 400 mg/m³ przez 18 miesięcy w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej stwierdzono podwyższony hematokryt i wysoki poziom fosfatazy zasadowej w osoczu. Różnica ta nie była widoczna po 24 miesiącach ekspozycji. Samce szczurów narażanych na związek o stężeniu 400 mg/m³ wydalały większe ilości moczu, a ponadto mocz samców i samic miał ciemnożółte zabarwienie. Badaniem histopatologicznym wykazano obecność spontanicznych nowotworów i zmiany nienowotworowe, które były uważane za związane głównie z wiekiem, ponieważ występowały z taką samą częstością zarówno u zwierząt kontrolnych, jak i narażanych. Po 12 miesiącach narażenia na związek o stężeniu 40 lub 400 mg/m³ wystąpiła przewlekła nefropatia (szczególnie u samców), która także była wynikiem zmian w nerkach starzejących się szczurów (zwłaszcza samców). Nie stwierdzono wpływu narażenia na wzrost zachorowalności czy padnięć zwierząt (Lee i in. 1987).

Droga pokarmowa

Malley i in. (2001) przeprowadzili badania na szczurach Crl:CD (62 szczury/płeć/dawkę), którym podawano z paszą 1-metylo-2-pirolidon (NMP) w dawkach: 0; 1600; 5000 lub 15 000 mg/kg przez 2 lata. Średnie dzienne dawki 1-metylo-2-pirolidonu wynosiły dla samców: 0; 66,4; 207 lub 678 mg/kg mc./dzień i odpowiednio dla samic: 0; 87,8; 283 lub 939 mg/kg mc./dzień. Czystość 1-metylo-2-pirolidonu wynosiła 99,8%. Oceniano

masę ciała, ilość spożytego pokarmu, objawy zatrucia, przeprowadzono również ocenę okulistyczną oraz badanie hematologiczne po: 12, 18 i 24 miesiącach (duża dawka) narażenia. Doświadczenie kończyło się oceną histopatologiczną badanych tkanek i narządów. Zmniejszenie masy ciała i przyrostu masy ciała oraz ilości przyjmowanego pokarmu odnotowano u samców narażanych na 1-metylo-2-pirolidon w dawce 15 000 mg/kg mc. Pod koniec 2-letniego okresu narażenia na 1-metylo-2-pirolidon w dawce 15 000 mg/kg mc. u samców i samic masy ciała były odpowiednio o 25 i 35% mniejsze w porównaniu do masy ciała zwierząt kontrolnych. Skutkiem narażenia (15 000 mg/kg mc.) była zmniejszona przeżywalność samców wynikająca z przewlekłej, postępującej nefrotoksyczności/mocznicy (32% przeżycia u zwierząt kontrolnych / 24% u narażanych samców). Nie stwierdzono żadnych istotnych objawów toksyczności, zmian w narządzie wzroku ani różnic w liczbie leukocytów u samców i samic po żadnej z zastosowanych dawek. Duże zmiany morfologiczne, polegające na zwiększeniu częstości występowania małych jąder, obserwowano u samców po narażeniu na związek w dawce 15 000 mg/kg mc. (14/62). Nieistotnie statystycznie zwiększenie częstości występowania małych jąder odnotowano również po mniejszych dawkach: 0; 1600; 5000 mg/kg mc. i wynosiło ono odpowiednio: 6/62; 6/62; 8/62. Ponadto u narażanych samców występowało zwiększenie ilości płynu w jamie opłucnej, natomiast w nerkach odnotowano przewlekłą, postępującą nefropatię. Badaniem mikroskopowym stwierdzono:

- zwiększoną akumulację pigmentu w makrofagach śledziony zarówno u samic, jak i samców po dawce 15 000 mg/kg mc.,
- zależne od dawki zwiększenie liczby samców z ciężką nefropatią (7/62; 10/62; 12/62; 25/62 odpowiednio po: 0; 1600; 5000 lub 15 000 mg/kg mc.),
- zwyrodnienie kory nadnerczy, zmiany w narządzie rozrodczym samców (patrz rozdział „Działanie embriotoksyczne, teratogenne, wpływ na rozrodczość”),
- włóknistą osteodystrofię w stawie udowym/kolanowym i mostku.

Głównym skutkiem narażenia na 1-metylo-2-pirolidon była przewlekła, postępująca nefropatia u samców. Ustalona w tym doświadczeniu

wartość NOAEL wynosiła 207 mg/kg mc./dzień w przypadku samców i 283 mg/kg mc./dzień w przypadku samic.

Malley i in. (2001) przeprowadzili podobne badania na myszach B6C3F1 (50 zwierząt/płeć/dawkę), którym podawano 1-metylo-2-pirolidon w paszy w dawkach: 0; 600; 1200 lub 7200 mg/kg paszy przez 2 lata. Średnia dzienna dawka 1-metylo-2-pirolidonu wyniosła: 0; 89; 173 lub 1089 mg/kg mc./dzień w przypadku samców i 115; 221 lub 1399 mg/kg mc./dzień w przypadku samic. Czystość 1-metylo-2-pirolidonu wynosiła 99,8%. Oceniano masę ciała, ilość spożytego pokarmu i objawy zatrucia. Badania hematologiczne przeprowadzono po 12 i 18 miesiącach (duża dawka) narażenia. Ponadto przeprowadzono ocenę mikroskopową badanych tkanek i narządów. Nie stwierdzono negatywnego wpływu 1-metylo-2-pirolidonu w zastosowanych dawkach na żaden z badanych parametrów zarówno u samic, jak i samców. Masa ciała samców narażanych na substancję w dużych dawkach była mniejsza o 5% pod koniec okresu narażenia. Bezwzględne i/lub względne masy wątroby były znacznie zwiększone u samców i samic po dawce 7200 mg/kg, a u samców również po dawce 1200 mg/kg. Uważano je za wynik powstania nowotworów wątroby i/lub przerostu wątrobowokomórkowego (0/50; 0/50; 3/50; 43/50 u samców odpowiednio po dawkach: 0; 600; 1200 lub 7200 mg/kg mc.). Odnotowane zmiany masy nerek, jąder, nadnerczy, jajników i mózgu nie były skorelowane z zastosowanymi dawkami i zmianami histologicznymi, dlatego nie wiązano ich z badaną substancją. Zmiany nowotworowe, które rozwinęły się po narażeniu, opisano w rozdziale „Działanie rakotwórcze”. Zmiany nienowotworowe i nowotworowe u myszy obserwowano tylko po największej dawce.

Komitet Europejski (Scientific Committee on Consumer Safety, SCCS) przyjął wartość NOAEL na poziomie 173 mg/kg mc./dzień dla samców i 221 mg/kg mc./dzień dla samic.

Podsumowanie

Zdaniem autorów badań żółte zabarwienie moczu występujące u gryzoni niezależnie od drogi narażenia na 1-metylo-2-pirolidon (NMP) było związane z narażeniem, a nie ze zmianami w nerkach i wynikało prawdopodobnie z obecności metabolitu 1-metylo-2-pirolidonu.

Wyznaczone w tych badaniach wartości NOAEL/NOAEC 1-metylo-2-pirolidonu:

- wartość NOAEL – 169 mg/kg mc./dzień wyznaczona dla samców szczurów w badaniu 90-dniowym na podstawie masy ciała i zmiany trzech parametrów neurobehawioralnych,
- wartość NOAEL – 277 mg/kg mc./dzień wyznaczona dla myszy na podstawie wpływu 1-metylo-2-pirolidonu na wątrobę w badaniu 90-dniowym (Malley i in. 1999),
- wartość NOAEL – 173 mg/kg mc./dzień wyznaczona dla samców myszy i 221 mg/kg mc./dzień wyznaczona dla samic na podstawie skutków układowych w 2-letnim badaniu (Malley i in. 2001),
- wartość NOAEL – 250 mg/kg mc./dzień wyznaczona dla psów na podstawie skutków układowych (masa ciała, parametry biochemiczne) w badaniu 90-dniowym (Becci i in. 1983),
- wartość NOAEC – 500 mg NMP/m³ wyznaczona dla samców i samic szczurów na podstawie skutków układowych w badaniu 90-dniowym (BASF 1994).

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne

W piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat badań działania genotoksycznego 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) u ludzi.

Badania w warunkach in vivo

Nie stwierdzono właściwości klastogennych i aneugenicznych 1-metylo-2-pirolidonu (NMP)

w teście mikrojądrowym, w którym samcom i samicom myszy NMRI podawano jednorazowo drogą pokarmową (przez zgłębnik) 1-metylo-2-pirolidon (NMP) w dawkach: 950; 1900 lub 3800 mg/kg mc. Zwierzęta wykazywały oznaki toksyczności ogólnoustrojowej, o czym świadczył nieregularny oddech, zabarwienie moczu i ogólny zły stan zdrowia (Engelhardt, Fleig 1993).

Nie stwierdzono również działania klastrogenego ani aneugenicznego w teście aberracji chromosomowych (w komórkach szpiku kostnego) chomików chińskich obu płci narażanych jednorazowo drogą pokarmową na 1-metylo-2-pirolidon w dawkach 1900 lub 3800 mg/kg mc. Były to poziomy dawek, które wywoływały objawy toksyczności ogólnoustrojowej (Engelhardt, Fleig 1993).

W teście dominujących mutacji letalnych przeprowadzonym u samców myszy NMRI, którym podawano dootrzewnowo 391 mg 1-metylo-2-pirolidonu/kg mc. raz w tygodniu, przez 8 kolejnych tygodni zaobserwowano u samic, z którymi je kojarzono, wzrost liczby martwych implantów w porównaniu do samic z grupy kontrolnej (BASF 1976).

Badania w warunkach in vitro

W badaniu potencjału mutagennego z użyciem drożdży *Saccharomyces cerevisiae* szczepu D61 ujawniono zdolność 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) zastosowanego w dużych stężeniach (77 230 mmol/l, co odpowiada 7,6 ÷ 23 g/l) do indukowania aneuploidów (Mayer, Goin 1988).

Działania mutagennego 1-metylo-2-pirolidonu nie wykazano w testach Amesa przeprowadzonych w warunkach in vitro na szczepach *Salmonella Typhimurium* przeprowadzonych zarówno z aktywacją metaboliczną, jak i bez aktywacji metabolicznej (nie wykazano wzrostu częstości rewersji mutacji u testowanych szczepów), (Wells i in. 1988).

Wyniki ujemne (wskazujące na niegenotoksyczne działanie 1-metylo-2-pirolidonu) uzyskano również w komórkach ssaków, m.in. w teście przeprowadzonym na mysich komórkach chłoniaka L5178Y, w teście HPRT (transferaza hipoksantyny guaniny fosfory bozylowej) na komórkach CHO oraz w teście nieplanowej syntezy DNA (UDS) ocenianej w pierwotnej hodowli hepatocytów szczura (du Pont 1976b; GAF 1990).

Przedstawione wyniki badań przeprowadzonych zarówno w warunkach in vivo, jak i in vitro wskazują, że 1-metylo-2-pirolidon nie wykazuje właściwości genotoksycznych, które oceniano w hodowlach komórek ssaków testem mikrojądrowym, testem aberracji chromosomowych w komórkach szpiku kostnego chomików, w teście przeprowadzonym na mysich komórkach chłoniaka L5178Y, w teście HPRT oraz w teście nieplanowej syntezy DNA ocenianej w pierwotnej hodowli hepatocytów szczura.

Działanie rakotwórcze

Działanie rakotwórcze u ludzi

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących rakotwórczego działania 1-metylo-2-pirolidonu u ludzi.

Działanie rakotwórcze na zwierzęta

Narażenie drogą pokarmową

W badaniach 2-letnich na szczurach (CrI:CD (SD) BR) nie wykazano działania rakotwórczego 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) podawanego z paszą w dawkach 678 mg/kg mc./dzień (samce) lub 939 mg/kg mc. (samice), (odpowiada to 15 000 ppm) i mniejszych (1600 lub 5000 ppm), (Malley i in. 2001).

Autorzy badania przyjęli 207 mg/kg mc. w przypadku samców szczurów i 283 mg/kg mc. w przypadku samic (5000 ppm) za wartość NOAEL.

Ci sami autorzy w podobnych badaniach (18-miesięcznych) przeprowadzonych na myszach szczepu B6C3F1/CrI:BR, obu płci, stwierdzili u samic i samców otrzymujących 1-metylo-2-pirolidon w dawce największej 1399 (samice)/1089 (samce) mg/kg mc. (7200 ppm) istotne zwiększenie częstości przypadków gruczolaka wątrobowokomórkowego w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej. Ponadto u samców stwierdzono istotne zwiększenie wystąpienia raka wątrobowokomórkowego, który u samic występował sporadycznie. Odnotowano rozrost komórek wątrobowych również u samców myszy otrzymujących z paszą 1-metylo-2-pirolidon w dawce 173 mg/kg mc. (1200 ppm). U narażanych zwierząt, bez względu na zastosowaną dawkę, nie stwierdzono wpływu narażenia na: ilość spożytego pokarmu, masę ciała, liczbę leukocytów i morfologię krwinek czerwonych (Malley i in. 2001). Autorzy badania przyjęli dawkę 89 mg/kg mc. (600 ppm) dla samców myszy i 221 mg/kg mc. (1200 ppm) dla samic myszy za wartość NOAEL.

W innych badaniach u samic myszy otrzymujących 1-metylo-2-pirolidon w dawce 1089 mg/kg mc. również stwierdzono wzrost przypadków raka komórek wątroby (3/50 w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej – 0/50). Zarówno u samców, jak i u samic myszy wystąpiło także zwiększenie liczby przypadków gruczolaka wątrobowokomórkowego. Zdaniem autorów, nowotwór ten powstał na drodze niegenotoksycznej, w wyniku zwiększonej proliferacji komórek wątroby (Parod i in. 2001).

Narażenie drogą inhalacyjną

W badaniu 2-letnim na szczurach Charles River CD (120 samców i 120 samic) narażanych drogą inhalacyjną (całą powierzchnią ciała) na pary 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) o stężeniu 40 lub 400 mg/m³ przez 6 h/dzień, 5 dni/tydzień nie stwierdzono zwiększenia: zachorowalności, częstości występowania nowotworów ani liczby padnięć wśród badanych zwierząt (Lee i in. 1987).

Podsumowanie

Eksperti Komitetu Naukowego (SCOEL) nie uznali wzrostu liczby przypadków raka wątrobowokomórkowego i gruczolaka (Malley i in. 2001; Parod i in. 2001) za podstawę do oceny 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) pod względem działania rakotwórczego, ponieważ myszy charakteryzują się zwiększoną podatnością na rozwój nowotworów wątrobowokomórkowych.

Działanie embriotoksyczne, teratogenne, wpływ na rozrodczość

Badania na ludziach

W literaturze opisano jeden przypadek działania embriotoksycznego 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) u ludzi. Laborantka podczas pierwszych 20 tygodni ciąży była zawodowo narażona na 1-metylo-2-pirolidon, w tym na duże stężenia w wyniku niezamierzonego wycieku substancji. Kobieta była wówczas w 16. tygodniu ciąży i skarżyła się na takie dolegliwości, jak: złe samopoczucie, bóle głowy i nudności, które utrzymywały się do 4. dnia po wypadku. Poronienie nastąpiło w 31. tygodniu ciąży. Nieznana była wielkość stężenia 1-metylo-2-pirolidonu i nie można było ustalić, czy bezpośrednią przyczyną poronienia było narażenie na 1-metylo-2-pirolidon (Solomon i in. 1996).

Badania na zwierzętach

Działanie embriotoksyczne, teratogenne i wpływ na rozrodczość 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) badano na szczurach, myszach i królikach narażanych na związek *per os*, drogą inhalacyjną, dootrzewnowo lub przez skórę.

Płodność

Wyniki badań toksyczności inhalacyjnej 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) podawanego wielokrotnie samcom szczurów wskazują, że substancja ta

powoduje zmniejszenie masy jąder oraz zmiany histopatologiczne polegające na zaniku komórek gametogenicznych w nabłonku plemnikotwórczym (BASF 1978; 1992; 1993b; 1993c; 1994; Malek i in. 1997).

Zmniejszenie masy jąder i zmiany histopatologiczne odnotowali także Malley i in. (2001) u szczurów Crl:CD (62 sztuki/dawkę), którym podawano 1-metylo-2-pirolidon z paszą w dawkach: 0; 1600; 5000 lub 15 000 mg NMP/kg przez 2 lata. Średnie dzienne dawki 1-metylo-2-pirolidonu wynosiły u samców: 0; 66,4; 207 lub 678 mg/kg mc./dzień. Zmiany morfologiczne polegające na zwiększeniu częstości występowania małych jąder obserwowano u samców po narażeniu na związek w dawce 15 000 mg/kg mc. (14/62). Nieistotnie statystycznie zwiększenie częstości występowania małych jąder odnotowano również po mniejszych dawkach: 0; 1600; 5000 mg/kg i wynosiło ono odpowiednio: 6/6; 6/62; 8/62. Ponadto stwierdzono obustronne zwyrodnienie/zanik kanalików nasiennych (15/62; 17/62; 15/62 i 35/62 odpowiednio po dawkach: 0; 1600; 5000 i 15 000 mg/kg), obustronną oligospermie/szczątkowe plemniki w najądrzu (11/62; 14/62; 12/62 i 35/62 odpowiednio po dawkach: 0; 1600; 5000 i 15 000 mg/kg).

Utratę komórek gametogenicznych w nabłonku plemnikotwórczym odnotowali również inni autorzy (Sitarek, Stetkiewicz 2005) u szczurów narażanych *per os* na 1-metylo-2-pirolidon. Szczury otrzymywały substancję w dawkach: 100; 300 lub 1000 mg/kg mc./dzień przez 10 tygodni przed kojarzeniem i 2 tygodnie po zakończeniu okresu kojarzenia płciowego. Zmiany te wystąpiły tylko u samców narażanych na związek w największej dawce (1000 mg/kg mc.).

W badaniu inhalacyjnym samce szczurów Wistar (24 zwierzęta) były narażane na pary 1-metylo-2-pirolidonu o stężeniu 618 mg/m³ przez 90 dni. Nie stwierdzono wpływu substancji na: gonady, morfologię spermy i liczbę plemników (Fries i in. 1992).

Badanie toksykokinetyczne przeprowadzone na szczurach, którym podawano znakowany radioaktywnie 1-metylo-2-pirolidon wykazało najwyższy poziom radioaktywności właśnie w jądrach, w których odzyskano 0,9% podanej dawki (Wells, Digenis 1988).

Toksyczność rozwojowa

Wykazano, że 1-metylo-2-pirolidon (NMP) przenika przez barierę łożyskową, zachowując równowagę między krwią płodową a matczyną (Ravn-Jonsen i in. 1992).

Narażenie drogą pokarmową

Wpływ 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) na reprodukcję analizowano w badaniu wielopokoleniowym przeprowadzonym na szczurach, którym podawano z paszą substancję w dawkach: 50; 160 lub 500 mg/kg mc./dzień. 1-Metylo-2-pirolidon podany w największej dawce powodował: zwiększenie częstości występowania martwych urodzeń, zmniejszenie masy ciała rodziców i spożycia pokarmu oraz zmniejszenie płodności samców i samic (EXXON 1991). Ze względu na fetotoksyczne działanie 1-metylo-2-pirolidonu w dawce 500 mg/kg mc., dawkę tę zmniejszono do 350 mg/kg mc. i była ona podawana do końca doświadczenia. Po dawce 350 mg/kg mc. odnotowano zmniejszenie: przeżywalności i tempa wzrostu płodów w pokoleniu F1 oraz masy jąder u samców. Wyżej wymienionych skutków nie stwierdzono w przypadku zastosowania dawki 50 lub 160 mg/kg mc./dzień.

1-Metylo-2-pirolidon w dawce 350 mg/kg mc./dzień nie spowodował toksyczności u matek i nie wpływał na przeżywalność młodych. Wartość NOEL dla skutków rodzicielskich i rozrodczych wynosiła 350 mg/kg mc./dzień, a dla wzrostu i rozwoju potomstwa 160 mg/kg mc./dzień.

W badaniach przeprowadzonych na królikach, którym 1-metylo-2-pirolidon podawano przez zgłębnik do żołądka w dawkach: 55; 175 lub 540 mg/kg mc./dzień, pomiędzy 6. a 18. dniem ciąży stwierdzono toksyczność rozwojową. Po dawce 540 mg/kg mc./dzień wystąpił wzrost zniszczeń zarodków po implantacji, zmiany morfologiczne płodów, wzrost liczby przypadków z nieprawidłowościami sercowo-naczyniowymi oraz nieprawidłowościami kości czaszki (GAF 1991). Wartość NOAEL dla toksyczności rozwojowej wynosiła 175 mg/kg mc./dzień. Toksyczność dla samic ciężarnych wyrażała się zmniejszeniem przyrostów masy ciała i występowała u zwierząt otrzymujących 1-metylo-2-pirolidon w dawce 175 lub 540 mg/kg mc./dzień.

Działanie fetotoksyczne wykazano także w badaniach na myszach otrzymujących drogą pokarmową 1-metylo-2-pirolidon w dawkach: 0; 1055 lub 2637 mg/kg mc./dzień, pomiędzy 11.

a 15. dniem ciąży. Odnotowano: zwiększenie częstości resorpcji, zwiększenie częstości występowania form skarłowaciałych, zmniejszenie masy i długości płodów oraz zwiększenie częstości występowania wad rozwojowych, w tym rozszczep podniebienia występujący w przypadku zastosowania największej dawki 1-metylo-2-pirolidonu (Zeller, Peh 1970). Narażenie na substancję w dawce mniejszej nie spowodowało skutków fetotoksycznych. W badaniu tym nie podano szczegółów dotyczących toksyczności 1-metylo-2-pirolidonu dla samic ciężarnych.

Wpływ narażenia na 1-metylo-2-pirolidon drogą pokarmową wykazano w badaniach na szczurach Sprague-Dawley, którym substancję podawano przez zgłębnik do żołądka w dawkach: 0; 125; 250; 500 lub 750 mg/kg mc. Objawy toksyczności dla samic manifestowały się istotnym zmniejszeniem przyrostów masy ciała i ilości spożytego pokarmu przez ciężarne samice otrzymujące 1-metylo-2-pirolidon w dawce 500 mg/kg mc. i większej. W grupie otrzymującej dawkę 250 mg/kg mc. związku zarówno przyrosty masy ciała (w dniach między 6. a 21. dniem ciąży), jak i całkowity przyrost masy ciała zmniejszył się o około 10% (w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej) i był związany ze spadkiem masy ciała płodu. W przypadku masy ciała płodów występowała zależność dawka-skutek. Narażenie zwierząt na 1-metylo-2-pirolidon w dawce 250 mg/kg mc./dzień spowodowało zmniejszenie masy ciała płodów o 10%, w dawce 500 mg/kg mc./dzień – o 30%, a w dawce 750 mg/kg mc./dzień o 47% w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej. 1-Metylo-2-pirolidon w dawce 500 lub 750 mg/kg mc./dzień spowodował istotny wzrost częstości występowania takich wad rozwojowych, jak: obrzęk tkanki podskórnej, atrezja odbytu, zniekształcenia w obrębie tkanek miękkich (pnia tętniczego) i szkieletu (złanie lub nie wykształcenie łuków kręgów szyjnych), (Saillenfait i in. 2002).

W badaniu przeprowadzonym na szczurach, które w okresie organogenezy narażane były *per os* na 1-metylo-2-pirolidon w dawce 332 lub 997 mg/kg mc., wykazano, że większe dawki 1-metylo-2-pirolidonu, często nietoksyczne dla samic ciężarnych, działały fetotoksycznie, a nawet teratogennie. Istotną statystycznie śmiertelność wewnątrzmaciczną stwierdzono po podaniu substancji w większej dawce. U młodych zwierząt,

które przeżyły, występowały wady wrodzone (Solomon i in. 1996).

Ciężarnym samicom szczura podawano codziennie zgłębnikiem do żołądka 1-metylo-2-pirolidon w dawkach: 0; 40; 125 lub 400 mg/kg mc./dzień, pomiędzy 6. a 15. dniem ciąży. 1-Metylo-2-pirolidon podany w największej dawce był toksyczny dla ciężarnych samic i wykazywał działanie fetotoksyczne w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej. U ciężarnych samic wystąpiło zmniejszenie przyrostu masy ciała, natomiast u płodów zmniejszenie masy ciała oraz zwiększenie liczby przypadków zahamowania rozwoju płodu (EXXON 1992). Podanie samicom w tych samych warunkach doświadczalnych 1-metylo-2-pirolidonu w dawce 997 mg/kg mc./dzień, pomiędzy 6. a 15. dniem ciąży spowodowało zwiększenie liczby resorpcji (95%) i deformacji u 8 z 15 płodów, które przeżyły, zmniejszenie masy łożyska i płodu oraz zmniejszenie długości płodu (BASF 1971).

Narażenie drogą inhalacyjną

W dwupokoleniowym badaniu rozrodczości, szczury (10 samców i 20 samic) narażano (całe ciało) na pary 1-metylo-2-pirolidonu o stężeniach: 0; 41; 206 lub 478 mg/m³ (wilgotność powietrza 40 ÷ 60%) przez 6 h/dzień, 7 dni w tygodniu, przez minimum 14 tygodni (Solomon i in. 1995). Samce narażano od 34. dnia życia do końca okresu godowego (około 100 dni), natomiast samice około 143 dni do momentu odstawienia, ale z przerwą od 20. dnia ciąży do 4. dnia po porodzie. Zwierzęta łączono w pary po 12-tygodniowym okresie narażania, a następnie badano rodziców i ich potomstwo pod kątem niekorzystnego wpływu 1-metylo-2-pirolidonu na rozrodczość. Nie odnotowano wpływu narażenia na zdolności reprodukcyjne zwierząt po żadnym z zastosowanych stężeń. W pokoleniu F1 u młodych zwierząt, których rodzice narażano na związek o stężeniu 478 mg/m³, wystąpiło istotne zmniejszenie masy ciała utrzymujące się do 21. dnia życia zwierząt. 1-Metylo-2-pirolidon zastosowany w mniejszych stężeniach nie powodował zaburzeń rozwoju potomstwa, nie wpływał na rozrodczość oraz nie działał toksycznie na ciężarne samice. Narażane samice młodych wykazały zmniejszoną wrażliwość na bodziec dźwiękowy. Wyznaczona w doświadczeniu wartość NOAEL dla działania substancji na rozrodczość i działania toksycznego na ciężarne samice wynosiła 206 mg/m³ (Solomon i in. 1995). W dalszej części doświadczenia ci sami

autorzy przeprowadzili badanie toksyczności rozwojowej po narażeniu szczurów drogą inhalacyjną w pokoleniu F2.

W 70. dniu po porodzie wyselekcjonowano z każdego miotu po jednej samicy i jednym samcu, które następnie kojarzono z nienarażanymi dorosłymi osobnikami płci przeciwnej w celu wytworzenia pokolenia F2. U płodów, których rodzice narażano na związek o stężeniu 478 mg/m³, wystąpiło istotne zmniejszenie masy ciała. Nie stwierdzono wpływu narażenia na: wskaźniki ciąży, liczbę szczurów żywych urodzonych w jednym miocie, ciała żółte, całkowitą liczbę implantacji, liczbę martwych płodów, wzrost częstości resorpcji, wielkość miotów lub występowanie wad rozwojowych płodów.

Nie stwierdzono działania embriotoksycznego, fetotoksycznego ani teratogennego 1-metylo-2-pirolidonu u potomstwa samic ciężarnych szczurów narażonych (całe ciało) na substancję o stężeniach: 0; 100 lub 360 mg/m³ [0, 25 lub 90 ppm] przez 6 h dziennie, pomiędzy 6. a 15. dniem ciąży (Lee i in. 1987). Nie zaobserwowano także toksycznego działania na ciężarne samice.

Ciężarne samice szczura narażano drogą inhalacyjną (przez całe ciało) na pary 1-metylo-2-pirolidonu o stężeniu 680 mg/m³ (170 ppm) 6 h/dzień, pomiędzy 4. a 20. dniem ciąży. Stwierdzono zwiększenie przedimplantacyjnej śmiertelności zarodków w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej. Narażenie jednak nie miało wpływu na liczbę zagnieżdżeń przypadających na samice i liczbę żywych płodów. U potomstwa narażanych samic obserwowano opóźnienie procesu kostnienia kości czaszki, kręgow szyjnych, mostka, kości śródstopia i kości palców.

U ciężarnych samic nie zaobserwowano skutków działania toksycznego 1-metylo-2-pirolidonu (Fries i in. 1992; Hass i in. 1995).

U samców szczurów Wistar narażonych na pary 1-metylo-2-pirolidonu o stężeniu 618 mg/m³ przez 90 dni nie stwierdzono ujemnego wpływu narażenia na: gonady, morfologię spermy i liczbę plemników (Fries i in. 1992).

W innych badaniach ciężarne samice szczura narażano przez całe ciało na pary 1-metylo-2-pirolidonu w o stężeniach: 0; 125; 250; 500 mg/m³ (0; 30; 60 lub 120 ppm) 6 h dziennie, pomiędzy 6. a 20. dniem ciąży (Saillenfait i in. 2003). 1-Metylo-2-pirolidon zastosowany w największym stężeniu powodował u ciężarnych samic istotne statystycznie

zmniejszenie przyrostu masy ciała i spożycia pokarmu, a zastosowany o stężeniu 250 mg/m³ powodował niewielkie zmniejszenie przyrostu masy ciała. Związek w żadnym z zastosowanych stężeń nie wpływał niekorzystnie na przeżywalność zarodków/płodów ani nie działał teratogennie. Niewielkie objawy działania fetotoksycznego (zmniejszona masa płodu) stwierdzono po stężeniu 250 mg/m³ (5,52±0,4 g vs. 5,81±0,39 g w grupie kontrolnej).

W badaniu neurobehawioralnym badano skutki teratogenne 1-metylo-2-pirolidonu u potomstwa ciężarnych samic szczura narażanych (całe ciało) na pary substancji o stężeniu 622 mg/m³ (156 ppm), przez 6 h dziennie, pomiędzy 7. a 20. dniem ciąży. Wyniki większości testów behawioralnych były podobne u zwierząt narażonych i kontrolnych bądź wykazywały niewielkie odchylenia. Na przykład zdolności poznawcze szczurów badane za pomocą labiryntu wodnego Morrisa wskazywały na wydłużenie czasu potrzebnego do odnalezienia bezpiecznej dla zwierząt platformy w labiryncie. Potomstwo ciężarnych samic wykazywało nieco mniejszą masę ciała i niewielkie opóźnienie w osiągnięciu pewnych etapów rozwoju (Hass i in. 1994).

Ciężarne króliki narażano (przez głowę) na pary 1-metylo-2-pirolidonu o stężeniach: 0; 200; 500 lub 1000 mg/m³ (50; 125 lub 250 ppm), przez 6 h dziennie, pomiędzy 7. a 19. dniem po zapłodnieniu. Stwierdzono nieznaczną toksyczność rozwojową przy braku toksyczności dla samic ciężarnych. U potomstwa, którego matki były narażane na największą dawkę, wystąpiły dodatkowe żebra. Wartość NOAEL dla toksyczności rozwojowej i dla działania toksycznego na samice ciężarne wynosiła 500 mg/m³ (BASF 1993d).

Narażenie drogą dermalną

Ciężarnym samicom szczura pomiędzy 6. a 15. dniem ciąży aplikowano codziennie na skórę 1-metylo-2-pirolidon (NMP) w dawkach: 75; 237 lub 750 mg/kg mc./dzień. Badania zarodków/płodów pobranych od samic w 20. dniu ciąży, narażanych na 1-metylo-2-pirolidon (NMP) w największej dawce, wykazały: wzrost częstości resorpcji zarodków, zmniejszenie masy ciała płodów, nieprawidłowości szkieletowe, w tym nieprawidłowości w budowie mostka, żeber, kości potylicznych i kości gnykowej. Nie stwierdzono nieprawidłowości w zakresie tkanek miękkich. Ponadto odnotowano zmniejszenie przyrostów masy ciała samic ciężarnych. Wyniki badania wskazują, że wartość

NOAEL 1-metylo-2-pirolidonu, jeśli chodzi o skutek toksyczny dla samic ciężarnych i toksyczności rozwojowej, wynosi 237 mg/kg mc./dzień (Becci i in. 1982).

W badaniach na samicach królika, którym aplikowano na skórę 40-procentowy roztwór wodny 1-metylo-2-pirolidonu w dawkach: 100; 300 lub 1000 mg/kg mc., przez 6 h dziennie, pomiędzy 7. a 19. dniem po zapłodnieniu, stwierdzono wystąpienie dodatkowych żeber u potomstwa samic narażanych na największą dawkę substancji. Ustalona w tym doświadczeniu wartość NOAEL 1-metylo-2-pirolidonu dla toksyczności rozwojowej wynosi 300 mg/kg mc./dzień (BASF 1993a).

Narażenie drogą dootrzewnową

Badania dootrzewnowe przeprowadzone na myszach narażanych na 1-metylo-2-pirolidon (NMP) w dawkach 14 ÷ 166 mg/kg mc. pomiędzy 7. a 11. dniem ciąży wykazały toksyczność rozwojową wywołaną badaną substancją. Wśród zarejestrowanych objawów stwierdzono: zaburzenie procesu wykształcania głowy (w którym mózg znajduje się na zewnątrz czaszki), otwarte powieki, mafoocze (mikroftalmia), rozszczep podniebienia, wady kończyn (oligodaktylia), krótkie lub skrócone ogony, zrośnięcie kręgów szyjnych, skolioza w odcinku szyjnym i w piersiowym oraz zrośnięcie żeber. Ponadto zanotowano zmniejszoną masę ciała płodów (BASF 1970; Schmidt 1976). Ze względu na nieodpowiednią metodę narażenia i brak szczegółowych informacji na temat toksyczności ciężarnych samic nie można wyciągnąć wniosków z tych badań.

U myszy, którym 1-metylo-2-pirolidon podano dootrzewnowo (630 ÷ 1570 mg/kg mc.), pomiędzy 11. a 15. dniem ciąży wystąpił zależny od dawki wzrost częstości resorpcji, mniejsza masa i długość płodów oraz rozszczep podniebienia, pomimo że dawki te nie były toksyczne dla ciężarnych samic (EPA 1998).

Podsumowanie

Na podstawie przeglądu piśmiennictwa stwierdzono, że opisane skutki toksyczności rozwojowej, obejmującej skutki fetotoksyczne, embriotoksyczne oraz teratogenne, występują u potomstwa ciężarnych samic narażanych na 1-metylo-2-pirolidon (NMP) *per os* (z głębnik), przez skórę, drogą inhalacyjną i drogą dootrzewnową.

Wyniki badań toksyczności rozwojowej zwierząt doświadczalnych narażanych na 1-metylo-2-pirolidon przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Wyniki badań toksyczności rozwojowej (działanie embriotoksyczne, teratogenne, wpływ na rozrodczość) zwierząt doświadczalnych narażonych na 1-metylo-2-pirolidon (NMP)**Table 4.** Results of developmental toxicity studies (embryotoxic, teratogenic, reproductive effects) in experimental animals exposed to 1-methyl-2-pyrrolidone (NMP)

Gatunek zwierząt, rodzaj badań	Narażenie, mg/kg mc./dzień lub mg/m ³	Toksyczność		Wartość NOAEL/LOAEL	Piśmiennictwo
		fetotoksyczność	toksyczność dla samic ciężarnych		
Droga pokarmowa					
Szczury, badanie dwupokoleniowe	0 50 160 500 zmniejszono do 350	brak brak brak zmniejszenie liczby potomstwa	brak brak brak brak	NOAEL dla rozrodzości i płodności: 350 mg/kg mc./dzień, dla toksyczności rozwojowej: 160 mg/kg mc./dzień	EXXON 1991
Szczury, badanie wielopokoleniowe, NMP podawano z paszą	0 50 160 500 zmniejszono do 350	brak brak brak zwiększenie martwych urodzeń działanie fetotoksyczne	brak brak brak zmniejszenie masy ciała		EXXON 1991
Szczury, badanie toksyczności rozwojowej, podanie NMP przez zgłębnik w objętości 5 ml/kg, między 6. ÷ 15. dniem ciąży	0 40 125 400	brak brak brak zmniejszona masa płodów i skartowacięte płody	brak brak brak zmniejszony przyrost masy ciała	NOAEL dla toksyczności rozwojowej i dla matek: 125 mg/kg mc./dzień	EXXON 1992
Szczury, badanie toksyczności rozwojowej, podanie NMP między 6. ÷ 15. dniem ciąży	0 332 997	brak zmniejszona masa płodów i zwiększenie liczby resorpcji	zmniejszona masa łożyska i zmniejszona masa ciała matek	LOAEL dla toksyczności dla matek i płodów: 332 mg/kg mc./dzień	Solomon i in. 1996
Szczury, badanie toksyczności rozwojowej, podanie NMP między 6. ÷ 20. dniem ciąży	0 125 250 500 750	brak brak zmniejszenie masy płodów wady wrodzone wady wrodzone	brak brak brak zmniejszona masa ciała zmniejszony przyrost masy ciała	NOAEL dla toksyczności dla matek: 250 mg/kg mc./dzień, NOAEL dla toksyczności rozwojowej: 125 mg/kg mc./dzień	Saillefait i in. 2002
Myszy, badanie toksyczności rozwojowej, podanie NMP między 11. ÷ 15. dniem ciąży	0 1055 lub 2637	brak wzrost częstości resorpcji, wady wrodzone	brak	toksyczność rozwojowa i toksyczność dla matek są niewystarczające do wyznaczenia wartości NOAEL/LOAEL	Zeller, Peh 1970
Królik, badanie toksyczności rozwojowej, podanie NMP między 6. ÷ 18. dniem ciąży	0 55 175 540	brak brak brak wzrost częstości resorpcji, wady wrodzone	brak brak zmniejszony przyrost masy ciała zmniejszony przyrost masy ciała	NOAEL dla toksyczności dla matek: 55 mg/kg mc./dzień, NOAEL dla toksyczności rozwojowej: 175 mg/kg mc./dzień	GAF 1991

cd. tab. 4 / Table 4 cont.

Gatunek zwierząt, rodzaj badań	Narażenie, mg/kg mc./ dzień lub mg/m ³	Toksyczność		Wartość NOAEL/LOAEL	Piśmiennictwo
		fetotoksyczność	toksyczność dla samic ciążarnych		
Droga dermalna					
Szczury, badanie toksyczności rozwojowej, podanie dermalne między 6. ÷ 15. dniem ciąży	0 75 237 750	brak brak brak wzrost częstości resorpcji, opóźnione kostnienie	brak brak brak brak zmniejszenie przyrostu masy ciała	NOAEL dla toksyczności dla matek: 237 mg/kg mc./dzień, NOAEL dla toksyczności rozwojowej: 237 mg/kg mc./dzień	<i>Beccii</i> in. 1982
Królik, badanie toksyczności rozwojowej, podanie dermalne między 7. ÷ 19. dniem ciąży, 40-procentowy roztwór wodny	0 100 300 1000	brak brak brak wzrost częstości występowania zarodków z wadami szkieletu	brak brak brak brak	NOAEL dla toksyczności rozwojowej: 300 mg/kg mc./dzień	BASF 1993d
Droga inhalacyjna					
Szczury, badanie dwupokoleniowe, narażenie inhalacyjne (całe ciało), 6 h/dzień/7 dni/tydzień	0 mg/m ³ 41 mg/m ³ 206 mg/m ³ 478 mg/m ³	brak brak brak zmniejszenie masy ciała młodych	brak brak brak brak zmniejszenie odpowiedzi na dźwięk	NOAEL dla toksyczności dla matek i dla toksyczności na rozrodczość: 206 mg/m ³ LOAEL dla toksyczności reprodukcyjnej: 478 mg/m ³	<i>Solomon</i> i in. 1995
Szczury, badania toksycznego działania NMP na jądra i nasienie, narażenie inhalacyjne (całe ciało), 6 h/dzień, 7 dni/tydzień przez 90 dni	0 mg/m ³ 618 mg/m ³	brak brak wpływu na gonady i nasienie	–	NOAEL dla toksyczności reprodukcyjnej: 618 mg/m ³	<i>Fries</i> i in. 1992
Szczury, badania toksycznego działania NMP na jądra i nasienie, narażenie inhalacyjne (całe ciało), 6 h/dzień, 7 dni/tydzień, między 4. ÷ 20. dniem ciąży	0 mg/m ³ 680 mg/m ³	brak fetotoksyczność, wady wrodzone	brak brak	LOAEL dla toksyczności reprodukcyjnej: 680 mg/m ³	<i>Fries</i> i in. 1992
Szczury, badanie toksyczności rozwojowej, narażenie inhalacyjne (całe ciało), między 4. ÷ 20. dniem ciąży, 6 h/dzień	0 mg/m ³ 680 mg/m ³	brak brak wpływu na liczbę zagnieżdżonych zarodków w macicy przypadających na samicę, brak wpływu na częstość żywych urodzeń, opóźnienie procesu kostnienia	brak brak	NOAEL dla toksyczności dla matek i dla toksyczności rozwojowej: 680 mg/m ³	<i>Hass</i> i in. 1994
Szczury, badanie toksyczności rozwojowej, narażenie inhalacyjne (całe ciało), między 7. ÷ 20. dniem ciąży, 6 h/dzień	0 mg/m ³ 622 mg/m ³	brak nieistotne statystycznie zmniejszenie masy ciała, nieistotne statystycznie neurobehawioralne skutki	brak brak	NOAEL dla toksyczności dla matek i dla toksyczności rozwojowej: 622 mg/m ³	<i>Hass</i> i in. 1995

cd. tab. 4 / Table 4 cont.

Gatunek zwierząt, rodzaj badań	Narażenie, mg/kg mc./dzień lub mg/m ³	Toksyczność		Wartość NOAEL/LOAEL	Piśmiennictwo
		fetotoksyczność	toksyczność dla samic ciężarnych		
Szczury, badanie toksyczności rozwojowej, narażenie inhalacyjne (całe ciało), między 6. ÷ 15. dniem ciąży, 6 h/dzień	0 mg/m ³ 100 mg/m ³ 360 mg/m ³	brak brak brak	brak śpiączka i nieregularny oddech podczas pierwszych 3 dni narażenia na oba stężenia	NOAEL dla toksyczności dla matek: 100 mg/m ³ , dla toksyczności rozwojowej: 360 mg/m ³	Lee i in. 1987
Szczury, badanie toksyczności rozwojowej, narażenie inhalacyjne (całe ciało), między 6. ÷ 20. dniem ciąży, 6 h/dzień	0 mg/m ³ 125 mg/m ³ 250 mg/m ³ 500 mg/m ³	brak brak brak zmniejszenie masy ciała płodów	brak brak zmniejszenie przyrostu masy ciała, zmniejszenie spożycia pokarmu, zmniejszenie przyrostu masy ciała	NOAEL dla toksyczności dla matek: 125 mg/m ³ , dla toksyczności rozwojowej: 250 mg/m ³	Saillenfait i in. 2003
Królik, badanie toksyczności rozwojowej, narażenie inhalacyjne (całe ciało), między 7. ÷ 19. dniem ciąży, 6 h/dzień	0 mg/m ³ 200 mg/m ³ 500 mg/m ³ 1000 mg/m ³	brak brak brak niewielka fetotoksyczność	brak brak brak niewielkie zmniejszenie masy macicy	NOAEL dla toksyczności dla matek i dla toksyczności rozwojowej: 500 mg/m ³	BASF 1993d
Droga dootrzewnowa					
Myszy, badanie toksyczności rozwojowej, podanie NMP między 11. ÷ 15. dniem ciąży	0 630 1570	brak wzrost częstości resorpcji i wad wrodzonych	brak	LOAEL dla toksyczności rozwojowej: 630 mg/kg mc./dzień	U.S. EPA 1998
Myszy, badanie toksyczności rozwojowej, podanie NMP między 7. ÷ 11. dniem ciąży	14 ÷ 166	zmniejszenie masy ciała zarodków, wady wrodzone	brak	LOAEL dla powtarzanych dawek: 74 mg/kg mc./dzień	Schmidt 1976

Czasami skutki teratogenne obserwowano u potomstwa nawet wtedy, gdy ciężarnym samicom myszy, szczura lub królika podawano substancję w dawkach nietoksycznych lub mało toksycznych dla matek (zwiększenie śmiertelności wewnątrzmacicznej, zwiększenie częstości martwych urodzeń i mniejsza masa urodzeniowa).

Istnieją także doniesienia wskazujące, że za toksyczność rozwojową 1-metylo-2-pirolidonu odpowiedzialny może być jego metabolit – 2-pirolidon (Carnerup i in. 2005; 2006).

Najmniejsze wartości NOAEL dla toksyczności rozwojowej, ustalone w opisanych badaniach, wynoszą: 250 mg/m³ dla narażenia inhalacyjnego,

125 mg/kg mc. dla narażenia *per os* i 237 mg/kg mc. dla narażenia dermalnego (tab. 4).

Przedstawione wyniki badań uzasadniają urzędową klasyfikację 1-metylo-2-pirolidonu jako substancji działającej szkodliwie na rozrodczość kategorii zagrożenia 1B ze zwrotem zagrożenia H360D – może działać szkodliwie na dziecko w łonie matki.

Najmniejsze wartości NOAEL w badaniach na zwierzętach doświadczalnych dla toksyczności rozwojowej przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 5. Najmniejsze wartości NOAEL wyznaczone w badaniach na zwierzętach dla toksyczności rozwojowej**Table 5.** Animal studies lowest NOAEL value for developmental toxicity

Gatunek zwierząt	Droga narażenia	Wartość NOAEL	Piśmiennictwo
Szczur Królik	dermalna	237 mg/kg mc./dzień 300 mg/kg mc./dzień	BASF 1993d; <i>Becci</i> i in. 1982
Szczur Królik	pokarmowa	125 mg/kg mc./dzień 175 mg/kg mc./dzień	GAF 1991; <i>Saillenfait</i> i in. 2002
Szczur Królik	inhalacyjna	250 mg/m ³ 6 h 500 mg/m ³ 6 h	BASF 1993d; <i>Saillenfait</i> i in. 2003

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie i rozmieszczenie

Właściwości fizyczne 1-metylo-2-pirolidonu (NMP), (dobra rozpuszczalność w polarnych i niepolarnych rozpuszczalnikach) wskazują na łatwe przenikanie substancji przez błony biologiczne i skórę (*Åkesson, Jönsson* 1997; 2000a; 2000b; *Åkesson, Paulsson* 1997; *Åkesson* i in. 2004; *Akrill* i in. 2002; *Bader* i in. 2008; *Jönsson, Åkesson* 2003; *Payan* i in. 2003; *Ursin* i in. 1995).

Bader i in. (2007) wykazali, że wchłanianie 1-metylo-2-pirolidonu w postaci par przez skórę oraz przez zanieczyszczoną odzież i zanieczyszczone powierzchnie stanowi około 30% całkowitej wchłoniętej dawki.

Badania przeprowadzone u 12 ochotników narażonych drogą dermalną na 300 mg 1-metylo-2-pirolidonu wykazały, że około 67,9% testowanej substancji wchłonęło się przez skórę (*Ligocka* i in. 2003).

Badanie przenikania 1-metylo-2-pirolidonu (w gramach na metr kwadratowy) przez skórę (próbki skóry o powierzchni około 0,64 cm²) kobiet poddanych operacjom plastycznym pozwoliło wyznaczyć średnią stałą przenikania substancji – 171±59 g/m²/h. Uzyskany wynik dowodzi, że 1-metylo-2-pirolidon należy do związków, które dobrze przenikają przez skórę również w warunkach in vitro (*Ursin* i in. 1995).

Wchłanianie 1-metylo-2-pirolidonu badano u 4 ochotników (mężczyzn), których narażano na roztwór wodny oraz nierozcieńczony 1-metylo-2-pirolidon drogą dermalną. Substancję o różnych stężeniach наносzono na skórę wierzchniej części jednej ręki, pod opatrunek okluzyjny. Wyznaczone w badaniu średnie wchłanianie 1-metylo-2-pirolidonu przez skórę wynosiło 5,4±1,5 mg/cm²/h dla 2-godzinnego

narażenia na nierozcieńczony 1-metylo-2-pirolidon a 6,5±2,0 mg/cm²/h dla 30 min narażenia. Po rozcieńczeniu 1-metylo-2-pirolidonu do 50% nastąpiło zmniejszenie wchłaniania do 0,9±0,5 mg/cm²/h (*Keener* i in. 2007).

Jednorazowa 6-godzinna aplikacja na skórę ochotników (obu płci) 300 mg nierozcieńczonego 1-metylo-2-pirolidonu wykazała maksymalne stężenie badanej substancji w osoczu 3 h po aplikacji (*Åkesson, Jönsson* 2000b). W przypadku aplikacji na skórę 50-procentowego, wodnego roztworu 1-metylo-2-pirolidonu u 6 mężczyzn wykazano maksymalne poziomy tej substancji w osoczu 8 h po aplikacji (*Åkesson* i in. 2004). Wyniki wskazały na opóźnione wchłanianie 1-metylo-2-pirolidonu w wodnych roztworach.

Bader i in. (2008) wyznaczyli średnią wartość wchłaniania przez skórę wynoszącą 5,5 mg/cm²/h, która wskazywała na istotną rolę skóry w narażeniu na tę substancję. Wynik ten uzyskano po przeprowadzeniu na 7 ochotnikach, którym naniesiono na skórę 1045 mg związku pod opatrunek okluzyjny na 2 h. Po aplikacji na powierzchnię 12 cm² skóry szczura znakowanego węglem [¹⁴C] 1-metylo-2-pirolidonu w dawkach 0,2 lub 2 mg/cm² 50% związku uległo wchłonięciu, a po dawce 20 mg/cm² – 75% (RTI 1990).

W badaniach przeprowadzonych w warunkach in vivo i in vitro na szczurach Sprague-Dawley (samce) wykazano, że wchłanianie 1-metylo-2-pirolidonu przez skórę jest wprost proporcjonalne do dawki związku i zależy od grubości skóry. Zdaniem autorów badania, wchłanianie 1-metylo-2-pirolidonu zachodzi na drodze dyfuzji pasywnej. Maksymalne wchłanianie 1-metylo-2-pirolidonu po dawce 10 lub 20 mg/cm² · h w warunkach in vivo wynosiło odpowiednio 20 i 40 μl/cm²,

a szybkość wchłaniania zmniejszyła się wraz ze wzrostem stopnia rozcieńczenia czystej substancji. Podobne wyniki uzyskano w badaniach *in vitro* po naniesieniu na skórę znakowanego [¹⁴C] 1-metylo-2-pirolidonu (25 ÷ 400 µl/cm²). Użycie rozpuszczalników w preparacie zawierającym 1-metylo-2-pirolidon wzmagało wchłanianie tej substancji (Payan i in. 2003).

Badanie przeprowadzone w warunkach *in vitro* przez Dicka i in. (2001) zostało ocenione przez Swedish Criteria Group for Occupational Standards jako odpowiednie do oceny wchłaniania 1-metylo-2-pirolidonu przez skórę (Johanson, Rauma 2008; Scientific... 2014). Wyliczona szybkość wchłaniania nierozcieńczonego związku wynosiła 10 mg/cm² skóry/h. Przeliczając wartość na powierzchnię 2000 cm² skóry (co odpowiada zarówno dłoniom, jak i przedramionom) i 1 h narażenia uzyskujemy wartość 20 000 mg (20 g)/h. Oszacowano, że wielkość wchłoniętej dawki drogą skórną była 10 razy większa niż wchłonięta w ciągu 8 h drogą inhalacyjną.

Wchłanianie 1-metylo-2-pirolidonu badano u 16 ochotników w warunkach obciążenia pracą. Testowane stężenia 1-metylo-2-pirolidonu wynosiły: 10; 40 lub 80 mg/m³. Podawane były 2 razy po 4 h z 30 min przerwy w narażeniu. Wyniki uzyskane z badań wskazują, że umiarkowane obciążenie pracą zwiększało ilość wchłoniętego 1-metylo-2-pirolidonu o około jedną trzecią. Różnice między oszacowanym a obserwowanym poziomem metabolitów w moczu wskazują na znaczący udział absorpcji 1-metylo-2-pirolidonu przez skórę. Ten fakt wraz z wpływem fizycznego obciążenia pracą należy wziąć pod uwagę podczas analizowania wartości DSB dla 1-metylo-2-pirolidonu (Bader i in. 2006).

Badania przeprowadzone u ludzi wykazały, że 1-metylo-2-pirolidon jest szybko wchłaniany również po narażeniu drogą inhalacyjną (Bader i in. 2007; 2008; Jönsson, Åkesson 2003).

Wchłanianie 1-metylo-2-pirolidonu drogą inhalacyjną badano u 6 ochotników (mężczyzn) narażanych w komorze ekspozycyjnej przez 8 h na związek o stężeniach: 10; 25 lub 50 mg/m³. Wyniki badania wykazały szybkie wchłanianie związku oraz bardzo dużą korelację pomiędzy stężeniem 1-metylo-2-pirolidonu w powietrzu a stężeniem 2-HMSI w osoczu i w moczu. Podczas trwania narażenia stężenie 2-HMSI zwiększało

się w obu badanych kompartmentach (Jonsson, Åkesson 2003).

Badania przeprowadzone u 3 ochotników (mężczyzn), którym podano doustnie 100 mg 1-metylo-2-pirolidonu wskazują na niepełne wchłanianie substancji z przewodu pokarmowego (Åkesson, Jönsson 1997).

Rozmieszczanie

Rozmieszczenie znakowanego izotopem [¹⁴C] lub [³H] 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) badano w tkankach szczura. Zwierzętom podano jednorazowo dożylnie 1-metylo-2-pirolidonu w dawce 45 mg/kg mc. Najmniejszy poziom znacznika stwierdzono w pęcherzu moczowym, tarczycy i przysadce mózgowej, natomiast największy w wątrobie, następnie w: jelitach, gonadach męskich, żołądku, nerkach, płucach, mózgu, sercu, trzustce i śledzionie (Wells, Digenis 1988).

W badaniu inhalacyjnym (narażenie całą powierzchnią ciała) przeprowadzonym na szczurach, którym podawano przez 6 h 1-metylo-2-pirolidon o stężeniu 618 mg/m³ wykazano, że związek ten przechodzi przez barierę łożyskową, a następnie powstaje równowaga pomiędzy krwią płodu a krwią samicy (Ravn-Jonsen i in. 1992).

Metabolizm i wydalanie

Głównymi metabolitami 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) są 5-hydroksy-*N*-metylo-2-pirolidon (5-HNMP) i 2-hydroksy-*N*-metylobursztynian (2-HMSI). 5-HNMP powstaje w wyniku procesu hydroksylacji 1-metylo-2-pirolidonu. Powstały metabolit ulega utlenieniu do *N*-metylobursztynianu (MSI), a następnie jest hydroksylowany do 2-hydroksy-*N*-metylobursztynianu (2-HMSI), (Åkesson, Jönsson 1997; 2000c; Jönsson, Åkesson 2003). Zdaniem autorów jednym z głównych metabolitów zarówno u ludzi, jak i u zwierząt jest 2-pirolidon (2-P), (Carnerup i in. 2005; 2006).

Metabolizm 1-metylo-2-pirolidonu badano u 3 ochotników, którym jednorazowo doustnie podano po 100 mg badanego związku, a następnie przez 9 kolejnych dni zbierano od nich mocz. Jakościowej i ilościowej oceny metabolitów w moczu dokonano przy użyciu chromatografii gazowej z detekcją masową. Analiza próbek moczu wykazała obecność: niezmienionej formy 1-metylo-2-pirolidonu (0,8%), 5-hydroksy-*N*-metylo-2-pirolidonu

(44%), *N*-metylobursztynianu (0,4%) i 2-hydrokso-*N*-metylo-bursztynianu (20%). Nie stwierdzono natomiast połączeń w formie glukuronianów ani też siarczanów (Åkesson, Jönsson 1997).

Metabolizm 1-metylo-2-pirolidonu badano u 4 ochotników, którym наносzono na skórę wierzchniej części jednej ręki pod opatrunk okluzyjny roztwory 1-metylo-2-pirolidonu. Zastosowano różne stężenia związku oraz różny czas narażenia. Mocz badanych pobierano: przed narażeniem, podczas narażenia i po narażeniu w celu analizy pod kątem głównych metabolitów 1-metylo-2-pirolidonu, tj. 5-HNMP i 2-HMSI. Po 2 h po narażeniu na nierozcieńczony 1-metylo-2-pirolidon stężenia metabolitów w moczu gwałtownie wzrosły. W przypadku 5-HNMP stężenie osiągnęło maksimum po 4 – 5 h, a w przypadku 2-HMSI – po 26 – 29 h. Aplikacja 1-metylo-2-pirolidonu w postaci wodnych roztworów spowodowała opóźnienie wystąpienia piku 5-HNMP o około 6 h w porównaniu z nierozcieńczoną substancją (Kener i in. 2007).

Wydalenie z moczem 1-metylo-2-pirolidonu i jego metabolitów badano u ochotników obu płci po jednorazowej, 6-godzinnej aplikacji 300 mg nierozcieńczonego związku na skórę. Wykazano, że 22 ÷ 24% całkowitej dawki wydalane jest z moczem (Åkesson, Jönsson 2000b). Średnie maksymalne poziomy 5-HNMP w osoczu obserwowano po 4 h u kobiet, a po 6 h u mężczyzn, podczas gdy poziomy MSI i 2-HMSI w osoczu osiągały wartości szczytowe odpowiednio po 8 i 24 h. W innym badaniu autorzy porównali farmakokinetykę 50-procentowego roztworu wodnego 1-metylo-2-pirolidonu naniesionego na skórę 6 ochotnikom płci męskiej z wynikami uzyskanymi podczas stosowania nierozcieńczonego związku (Åkesson i in. 2004). Badaniem stwierdzono maksymalne poziomy 1-metylo-2-pirolidonu 8 h po naniesieniu na skórę, MSI po 12 h i 2-HMSI po 24 ÷ 30 h.

Akrill i in. (2002) oznaczali poziomy wydalanego 5-HNMP u 2 ochotników narażonych przez 15 min na wodne roztwory 1-metylo-2-pirolidonu (jedna ręka zanurzona w roztworze 5 ÷ 25%). W próbkach moczu pobieranego przez 48 h stwierdzono największe stężenie 5-HNMP po 10 h. Okres półtrwania 5-HNMP wynosił około 11 h, co potwierdza opóźnione wchłanianie 1-metylo-2-pirolidonu i przedłużony okres półtrwania związku i jego metabolitów obserwowany przez

Åkessona i in. (2004) po narażeniu drogą skórą w porównaniu z inhalacyjną drogą narażenia, szczególnie w przypadku wodnych roztworów 1-metylo-2-pirolidonu. Na podstawie przedstawionych danych można oszacować, że 15-minutowe narażenie na 15-procentowy wodny roztwór 1-metylo-2-pirolidonu jest równoważne wchłonięciu drogą oddechową 10 mg/m³ 1-metylo-2-pirolidonu (Akrill i in. 2002).

Metabolizm 1-metylo-2-pirolidonu badano u 6 ochotników (mężczyzn) narażanych drogą inhalacyjną na ten związek o stężeniach: 10; 25 lub 50 mg/m³ przez 8 h (Jönsson, Åkesson 2003). W badaniu oznaczano poziomy: 1-metylo-2-pirolidonu, 5-HNMP, MSI i 2-HMSI w moczu i w osoczu. Autorzy badania wykazali bardzo dużą korelację pomiędzy stężeniem 1-metylo-2-pirolidonu w powietrzu a stężeniem 2-HMSI w osoczu i w moczu. Podczas trwania narażenia stężenie 2-HMSI zwiększało się w obu badanych kompartmentach. Maksymalne stężenie metabolitu wystąpiło po 15 h po zakończeniu narażenia na 1-metylo-2-pirolidon, a biologiczny okres półtrwania wyniósł 18 h. Według autorów badania 2-HMSI jest odpowiednim biomarkerem oceny narażenia na 1-metylo-2-pirolidon. Poziomy w osoczu i w moczu tego markera mogą być stosowane jako wskaźnik narażenia na 1-metylo-2-pirolidon powyżej 3 dni.

W symulowanych warunkach pracy przeprowadzono badanie z udziałem 16 ochotników w celu oznaczenia wydalanego *N*-metylo-2-pirolidonu. Testowane stężenia 1-metylo-2-pirolidonu wynosiły: 10; 40 i 80 mg/m³ i były podawane 2 razy po 4 h. Przerwa w narażeniu na związek wynosiła 30 min. Ponadto przetestowano scenariusz narażenia uwzględniający szczytowe narażenie (wartość wyjściowa 25 mg/m³, maksimum 160 mg/m³ podawane 4 razy po 15 min, średnia ważona w czasie – 72 mg/m³). W podobnych warunkach narażenia badano wpływ aktywności fizycznej (umiarkowane obciążenie pracą na ergometrze rowerowym 75 W przez 6, a następnie 10 min) na ilość wchłoniętego i wydalonego 1-metylo-2-pirolidonu. W celu określenia związku między narażeniem a biomarkerami analizowano czas osiągnięcia szczytowych stężeń oraz biologiczne okresy półtrwania 1-metylo-2-pirolidonu i jego głównych metabolitów – 5-HNMP i 2-HMSI w moczu. Analiza wyników wykazała ścisłą korelację między badanymi parametrami

w moczu a stężeniami 1-metylo-2-pirolidonu w powietrzu. Po narażeniu na 1-metylo-2-pirolidon o stężeniu 80 mg/m^3 w warunkach spoczynku maksymalne stężenia badanych parametrów w moczu wynosiły $2400 \text{ } \mu\text{g NMP/l}$, 117 mg 5-HNMP/g kreatyniny i 32 mg 2-HMSI/g kreatyniny. W warunkach obciążenia pracą badane parametry wynosiły odpowiednio: 3400 ; 150 i 44 mg/g kreatyniny. Półokres eliminacji 1-metylo-2-pirolidonu, 5-HNMP i 2-HMSI z moczem wynosił odpowiednio: $3,8$; $7,4$ i 24 h . Wyniki uzyskane na podstawie badań wskazują, że umiarkowane obciążenie pracą zwiększało ilość wchłoniętego 1-metylo-2-pirolidonu o około jedną trzecią (Bader i in. 2007).

Ścisłą korelację między stężeniem 1-metylo-2-pirolidonu w powietrzu a stężeniem tej substancji w osoczu i w moczu stwierdzono u 6 ochotników narażanych inhalacyjnie na 1-metylo-2-pirolidon o stężeniach: 10 ; 25 lub 50 mg/m^3 przez 8 h . Po zakończeniu narażenia średni półokres zaniku 1-metylo-2-pirolidonu w osoczu wynosił około 4 h ($2,9 \div 5,8 \text{ h}$), a w moczu około $4,5 \text{ h}$ ($3,5 \div 6,6 \text{ h}$). W ciągu 44 h oznaczono w próbkach moczu niezmienny 1-metylo-2-pirolidon w ilości około 2% wchłoniętej dawki. Okresy półtrwania metabolitów 1-metylo-2-pirolidonu HNMP, MSI i 2-HMSI wyniosły odpowiednio: 6 , 8 i 16 h przy 100% procentowym wydalaniu z moczem. Stosunek 1-metylo-2-pirolidonu do jego metabolitów w moczu wynosił: 2% NMP, 60% 5-HNMP, $0,1\%$ MSI i 37% 2-HMSI (Åkesson, Paulsson 1997).

Wydalanie 1-metylo-2-pirolidonu badano u 7 ochotników, którym naniesiono na skórę 1045 mg substancji pod opatrunek okluzyjny na 2 h . Próbkę moczu pobierano: przed narażeniem, podczas narażenia i 72 h po narażeniu. W pierwszej godzinie po narażeniu stężenie 1-metylo-2-pirolidonu gwałtownie rosnęło, a jego maksymalna wartość wynosiła $1,836 \pm 863 \text{ } \mu\text{g/l}$. Półokres wydalania z moczem wynosił $3,2 \text{ h}$. Około $0,5\%$ wchłoniętej dawki 1-metylo-2-pirolidonu zostało wydalone w postaci niezmienniczej (Bader i in. 2005).

Badania przeprowadzone u 16 ochotników, mężczyzn, narażanych inhalacyjnie na 1-metylo-2-pirolidon o stężeniach: 10 ; 40 ; 80 lub 25 mg/m^3 (stężenie pikowe 160 mg/m^3) wykazały, że substancja ta jest wydalana z moczem w postaci 5-HNMP i 2-HMSI oraz w formie macierzystej w stosunku odpowiednio: 61 : 33 : $1,2$. Półokres

eliminacji metabolitów i substancji macierzystej z moczem wynosił odpowiednio: 24 ; $3,8$ i $7,4$ (Bader, van Thriel 2006).

Monitoring i biomonitoring przeprowadzono u 7 pracowników fabryki klejów oraz u 3 osób wykonujących pomiary na miejscu (Bader i in. 2006). Pomiary stężeń 1-metylo-2-pirolidonu w powietrzu środowiska pracy wykonano na podstawie pomiarów stacjonarnych i dozometrii indywidualnej. Stężenie 1-metylo-2-pirolidonu i jego głównych metabolitów, tj. 5-HNMP i 2-HMSI, oznaczono w próbkach moczu pobranych od narażonych osób przed zmianą i po zmianie roboczej. Wartości stężeń 1-metylo-2-pirolidonu na większości stanowisk pracy wynosiły $0,2 \div 3,0 \text{ mg/m}^3$. Na stanowisku ręcznego czyszczenia: mieszadeł, zaworów i narzędzi stężenie 1-metylo-2-pirolidonu wynosiło około $15,5 \text{ mg/m}^3$ z jednorazowym pikem do 85 mg/m^3 . Stężenia 1-metylo-2-pirolidonu i 5-HNMP w próbkach moczu (pobranych od 5 pracowników fabryki i 3 osób, wykonujących pomiary na miejscu) wynosiły poniżej $125 \text{ } \mu\text{g/g}$ kreatyniny (NMP) i 15 mg/g kreatyniny (5-HNMP). U 2 pracowników fabryki zatrudnionych na stanowisku ręcznego czyszczenia: mieszadeł, zaworów i narzędzi odnotowano duże stężenia 1-metylo-2-pirolidonu w moczu (472 i $711 \text{ } \mu\text{g/g}$ kreatyniny) oraz 5-HNMP ($33,5$ i 124 mg/g kreatyniny). Drugi metabolit 2-HMSI oznaczono w czterech próbkach pobranych po zmianie roboczej ($1,6 \div 14,7 \text{ mg/g}$ kreatyniny). Wyniki tego badania wskazują na stosunkowo niewielkie wartości stężeń 1-metylo-2-pirolidonu w powietrzu środowiska pracy w zakładzie. Zwiększone wchłanianie 1-metylo-2-pirolidonu wystąpiło jedynie na stanowisku ręcznego czyszczenia: mieszadeł, zaworów i narzędzi.

Metabolizm 1-metylo-2-pirolidonu badano u 12 ochotników narażonych drogą dermalną na 300 mg 1-metylo-2-pirolidonu (Ligocka i in. 2003). Największe ilości 5-HNMP zostały wydalone z moczem w ciągu $6 \div 12 \text{ h}$ po narażeniu ($12,6\%$ dawki). Drugim metabolitem był 2-HMSI, który osiągnął pik po 2 badanych okresach, tj. $12 \div 24 \text{ h}$ po narażeniu ($3,3\%$ dawki) i $36 \div 48 \text{ h}$ po narażeniu ($3,2\%$ dawki). Autorzy badania wykazali również znaczący związek między aktywnością CYP2E1 mRNA w limfocytach krwi obwodowej a poziomem oznaczonych w moczu metabolitów i zasugerowali, że przy interpretacji wyników

monitoringu biologicznego narażenia na 1-metylo-2-pirolidon należy wziąć pod uwagę aktywność tego enzymu u badanych osób (Ligocka i in. 2003).

Podobnie u zwierząt głównym metabolitem 1-metylo-2-pirolidonu jest 5-HNMP, którego poziom zależy od aktywności enzymu CYP2E1. Ligocka i in. (2003) wykazali w badaniach na szczurach, którym naniesiono na skórę 40 mg NMP/kg, że wydalanie 5-HNMP było istotnie zredukowane u szczurów potraktowanych wcześniej dietyldiokarbaminianem – inhibitorem CYP2E1. Wynik ten potwierdza, że CYP2E1 bierze udział w metabolizmie 1-metylo-2-pirolidonu.

Szczurom podawano znakowany [¹⁴C] lub [³H] 1-metylo-2-pirolidon w formie iniekcji w dawce 45 mg/kg. Analiza próbek materiału biologicznego z użyciem HPLC wykazała, że 1-metylo-2-pirolidon charakteryzuje szybka faza dystrybucji, następnie wolna eliminacja z około 7-godzinnym okresem połowicznego zaniku w osoczu po podaniu izotopu znakowanego [¹⁴C] i około 10-godzinnym okresem po podaniu izotopu znakowanego [³H]. W ciągu 12 h z moczem wydzieliło się 70% pobranej dawki 1-metylo-2-pirolidonu (Wells, Digenis 1988).

5-Hydroksy-*N*-metylo-2-pirolidon jest związkiem zalecanym jako odpowiedni biomarker do oceny

wielkości narażenia na 1-metylo-2-pirolidon (Ligocka i in. 2002).

Podsumowanie

1-Metylo-2-pirolidon (NMP) dobrze wchłania się do organizmu drogą inhalacyjną i dermalną zarówno w postaci ciekłej, jak i w postaci par, a w mniejszym stopniu drogą pokarmową, co zostało wykazane w badaniach na ochotnikach i w badaniach doświadczalnych na zwierzętach. Po wchłonięciu 1-metylo-2-pirolidonu do organizmu największe jego ilości stwierdzono w: wątrobie, jelitach, gonadach męskich, żołądku, nerkach, płucach, mózgu, sercu, trzustce i śledzionie.

Głównymi metabolitami 1-metylo-2-pirolidonu oznaczonymi w osoczu i w moczu zarówno u ludzi, jak i u zwierząt są: 5 hydroksy-*N*-metylo-2-pirolidon (5-HNMP), 2-hydroksy-*N*-metylobursztynian (2-HMSI) i 2-pirolidon (2-P).

Półokres wydalania metabolitów z moczem w zależności od warunków narażenia wynosi od kilku do kilkunastu godzin (lub około 50 h).

5-Hydroksy-*N*-metylo-2-pirolidon i 2-hydroksy-*N*-metylobursztynian mogą być stosowane jako biomarkery do oceny wielkości narażenia na 1-metylo-2-pirolidon.

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat mechanizmu działania toksycznego 1-metylo-2-pirolidonu ((NMP)).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie opisano jedną pracę dotyczącą narażenia na 1-metylo-2-pirolidon (NMP) i inne rozpuszczalniki w środowisku zawodowym. U badanych 38 pracowników usuwających graffiti, pracujących w systemie 8-godzinnym w podziemnych przejściach Sztokholmu i narażonych na 1-metylo-2-pirolidon oraz mieszaninę rozpuszczalników, wykazano nasilone uczucie zmęczenia, bóle głowy, objawy ze strony układu oddechowego oraz podrażnienie oczu

i skóry w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej. Średnie wartości stężeń krótkotrwałego narażenia na 1-metylo-2-pirolidon (ponad 15 min) wynosiły $4,71 \pm 6,17 \text{ mg/m}^3$ ($0,01 \div 24,61$). Na podstawie opinii autorów badania nie można było jednoznacznie wykazać związku pomiędzy zgłaszanymi objawami a wielkościami zmierzonych stężeń 1-metylo-2-pirolidonu (Langworth i in. 2001).

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

W dostępnym piśmiennictwie opisano jedno badanie pozwalające na analizę zależności skutku toksycznego od wielkości narażenia. Badanie dotyczyło toksyczności rozwojowej i zostało przeprowadzone na szczurach Sprague-Dawley, którym 1-metylo-2-pirolidon (NMP) podawano przez zgłąbnik do żołądka w dawkach: 125; 250; 500 lub 750 mg/kg mc. Masa płodów pochodzących od narażanych samic zmniejszała się w zależności

od podanej dawki. W grupie otrzymującej dawkę 250 mg/kg mc./dzień 1-metylo-2-pirolidonu masa płodów zmniejszyła się o 10%, w grupie otrzymującej dawkę 500 mg/kg mc./dzień – o 30% i w grupie otrzymującej 750 mg/kg mc./dzień – o 47% w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej (*Saillefait i in.* 2002).

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

Istniejące wartości NDS i DSB

W Polsce od 2014 r. obowiązuje wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) w powietrzu środowiska pracy na poziomie 40 mg/m^3 , a wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSch) – 80 mg/m^3 . Substancja została oznakowana jako: substancja działająca szkodliwie na rozrodczość „Ft”, drażniąca „I” i wchłaniająca się przez skórę „skóra”. Ustalono także wartość dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) 1-metylo-2-pirolidonu na poziomie 20 mg 2-hydroksy-*N*-metylobursztynianu (2-HMSI)/g kreatyniny w moczu pobranym rano po zakończeniu zmiany roboczej. Wartość ta odnosi się do narażenia na 1-metylo-2-pirolidon o stężeniu 40 mg/m^3 przy umiarkowanym wysiłku fizycznym. Podstawą do wyliczenia wartości NDS 1-metylo-2-pirolidonu było przyjęcie jako skutek krytyczny działania chemosensorycznego związku wykazanego w badaniach na ochotnikach (*Pakulska, Czerczak* 2011). W Stanach Zjednoczonych żadna z organizacji (ACGIH, NIOSH, OSHA) nie ustaliła wartości normatywów higienicznych środowiska pracy dla 1-metylo-2-pirolidonu (ACGIH 2020).

W Niemczech 1-metylo-2-pirolidon został zaliczony do substancji o działaniu układowym. Wartość MAK dla par i frakcji wdychalnej aerozolu 1-metylo-2-pirolidonu wynosi 82 mg/m^3 , a wartość pikowego stężenia nie może częściej niż 4 razy przez 15 min przekroczyć dwukrotnej wartości MAK, tj. w przypadku 1-metylo-2-pirolidonu

– stężenia 164 mg/m^3 . W Niemczech pod względem fetotoksyczności 1-metylo-2-pirolidon zaliczono do grupy „C”, co oznacza, że nie należy się obawiać jego szkodliwego działania na płód, gdy stężenie związku jest mniejsze od ustalonej wartości MAK. Gdy 1-metylo-2-pirolidon jest stosowany w stężeniu odpowiadającym wartości MAK nie należy również spodziewać się miejscowego działania drażniącego. W innym badaniu ochotnicy byli narażani na 1-metylo-2-pirolidon (całą powierzchnią ciała) o stężeniu 80 mg/m^3 przez 8 h (z wysiłkiem fizycznym lub bez niego). Stwierdzono umiarkowanie uciążliwy zapach bez skutków działania drażniącego. Nawet narażenie na większe stężenia – 160 mg/m^3 spowodowało jedynie słabe podrażnienie oczu lub podrażnienie błon śluzowych nosa tylko w pojedynczych przypadkach. Ze względu na wchłanianie się 1-metylo-2-pirolidonu przez skórę wprowadzono oznaczenie „H” (MAK 2011).

Komitet Naukowy ds. Dopuszczalnych Norm Zawodowego Narażenia na Oddziaływanie Czynników Chemicznych w Pracy (Scientific Committee for Occupational Exposure Limits for Chemical Agents, SCOEL) po dokonaniu przeglądu dostępnych danych naukowych dotyczących 1-metylo-2-pirolidonu uznał, że związek jest bardzo dobrze zbadaną substancją, dla której jest dostępna stosunkowo duża liczba wiarygodnych badań wysokiej jakości. W przypadku tej substancji dostępne informacje są wystarczające do określenia wartości OEL opartej na kryteriach zdrowotnych (SCOEL

2016). Ustalając wartość 1-metylo-2-pirolidonu, uwzględniono przede wszystkim działanie drażniące na układ oddechowy oraz skutki chemosensoryczne występujące u ludzi i u zwierząt. Eksperti SCOEL wartość 8-h TWA (40 mg/m^3) zaproponowali na podstawie wyników badań na 16 ochotnikach. W badaniu tym 1-metylo-2-pirolidon podany o stężeniu 160 mg/m^3 powodował skutki chemosensoryczne bez objawów działania drażniącego substancji (Bader i in. 2007).

Ze względu na swoiste niebezpieczne właściwości 1-metylo-2-pirolidonu w odniesieniu do skutków miejscowych i ogólnoustrojowych (w szczególności toksyczność reprodukcyjna) eksperci zaproponowali wartość STEL na poziomie 80 mg/m^3 . Z uwagi na to, że 1-metylo-2-pirolidon łatwo wchłania się przez skórę zarówno u ludzi, jak i u zwierząt (o czym świadczą obserwowane skutki działania układowego tej substancji po narażeniu drogą dermalną), eksperci SCOEL oznaczyli substancję notacją „skin” – substancja wchłaniająca się przez skórę.

Wchłanianie substancji przez skórę w warunkach zawodowych jest bardzo istotne, dlatego eksperci SCOEL zalecają monitoring biologiczny, uznając metabolity 5-HNMP i 2-HMSI za wskaźniki narażenia. W przypadku 5-HNMP wartość BLV wyznaczyli na poziomie 70 mg/g kreatyniny, natomiast w przypadku 2-HMSI – 20 mg/g kreatyniny. Próbkę moczu zaleca się pobierać rano po

zmianie roboczej (18 h), (2-HMSI) i $2 \div 4$ h po narażeniu/zmianie roboczą (5-HNMP). W tabeli 6. zamieszczono europejskie normy kontroli narażenia na 1-metylo-2-pirolidon.

W przypadku 1-metylo-2-pirolidonu ustalono przez Komitet ds. Oceny Ryzyka (RAC) wartość DNEL dla narażenia drogą oddechową jest mniejsza od wartości IOELV w Unii Europejskiej ($14,4 \text{ mg/m}^3$ wobec 40 mg/m^3). Te dwie wartości wynikają z niepowiązanych ze sobą, ale istotnych niekorzystnych dla zdrowia skutków, tj. działania szkodliwego na rozrodczość (rozwój potomstwa) oraz podrażnienia dróg oddechowych.

Zgodnie z przepisami prawa w przypadku 1-metylo-2-pirolidonu należy podjąć działania zmierzające do zapewnienia zgodności zarówno z wartościami DNEL ustalonymi przez Komitet ds. Oceny Ryzyka, jak i unijnymi wartościami OEL przyjętymi poprzez wdrożenie dyrektywy 98/24/WE w sprawie ryzyka związanego ze środkami chemicznymi, a także z krajowymi dopuszczalnymi wartościami stężenia w środowisku pracy.

W roku 2016 Komitet RAC Europejskiej Agencji Chemikaliów (ECHA) i SCOEL wypracowały wspólną opinię uwzględniającą ocenę wszystkich dostępnych informacji naukowych w celu wyznaczenia wartości normatywu higienicznego 1-metylo-2-pirolidonu na podstawie kryteriów zdrowotnych.

Tabela 6. Europejskie normy kontroli narażenia na 1-metylo-2-pirolidon (NMP)

Table 6. European standards for control of exposure to 1-methyl-2-pyrrolidone (NMP)

Europejskie normy kontroli narażenia na NMP			
Narażenie drogą oddechową	$14,4 \text{ mg/m}^3$ (DNEL) REACH	40 mg/m^3 (IOELV, 8-godzinna TWA)*	80 mg/m^3 (IOELV, 15-godzinna TWA)*
		dyrektywa KE 2009/161/UE (trzeci wykaz wartości wskaźnikowych)	
Narażenie przez skórę	4,8 mg/kg mc./dzień (DNEL) REACH	adnotacja „skóra” dyrektywa KE 2009/161/UE (trzeci wykaz wartości wskaźnikowych)	
		40 mg/m^3 (BOELV)** adnotacja „skóra”	80 mg/m^3
		dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2022/431 z dnia 9 marca 2022 r. zmieniająca dyrektywę 2004/37/WE w sprawie ochrony pracowników przed zagrożeniem dotyczącym narażenia na działanie czynników rakotwórczych lub mutagenów podczas pracy (rozszerzenie wykazu o substancje reprotoksyczne)	
Istotne niekorzystne skutki dla zdrowia	działanie szkodliwe na rozrodczość	podrażnienie dróg oddechowych / skutki chemosensoryczne	

Objaśnienia:

* – wartości wskaźnikowe dopuszczalnego stężenia w środowisku pracy (IOELV) zalecane przez SCOEL.

** – wartość wiążąca.

W SCOEL przy propozycji wartości DNEL i OEL rozważano następujące kierunki działania toksycznego 1-metylo-2-pirolidonu:

- działanie drażniące na układ oddechowy oraz skutki chemosensoryczne (utrata smaku i/lub węchu) występujące zarówno u ludzi, jak i u zwierząt,

- działanie fetotoksyczne i toksyczność rozwojową stwierdzone w badaniach na zwierzętach.

W tabeli 7 zamieszczono normatywy higieniczne 1-metylo-2-pirolidonu ustalone w różnych państwach.

Tabela 7. Normatywy higieniczne 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) w powietrzu środowiska pracy (Rozporządzenie... 2018; SCOEL 2016)
Table 7. Hygienic standards of 1-methyl-2-pyrrolidone (NMP) in the air of the working environment (Rozporządzenie... 2018; SCOEL 2016)

Państwo/institucja/organizacja	Wartość NDS		Wartość NDSCh		Oznaczenia
	mg/m ³	ppm	mg/m ³	ppm	
Austria	40	10	80	20	
Australia	103	25	309	75	
Belgia	40(1)	10(1)	80(1)(2)	20(1)(2)	Skóra
Dania	20(1)	5(1)	40(1)(2)	10(1)(2)	
Finlandia	14	3,5	80(1)	20(1)	
Francja	40	10	80(1)	20(1)	
Hiszpania	40	10	80	20	Skóra
Holandia	40	10	80	20	
Irlandia	40	10	80(1)	20(1)	
Japonia (JSOH)	4	1	-	-	
Łotwa	40	10	80(1)	20(1)	
Szwajcaria	80	20	160	40	
Turcja	40	10	80(1)	20(1)	
Nowa Zelandia	103	25	309	75	
Niemcy (AGS)	82(1)	20(1)	164(1)(2)	40(1)(2)	
Niemcy (DFG)	82(1)	20(1)	164(1)(2)	40(1)(2)	H
Polska (2014)	40	-	80	-	skóra, DSB
Szwecja	14,4	3,6	80(1)	20(1)	
Włochy	40	10	80	20	skóra
Rumunia	40	10	80(1)	20(1)	
Wielka Brytania	40	10	80(1)	20(1)	skóra
SCOEL/REC/119 (2016)	40	10	80	20 15 min)	Skin, BLV
Unia Europejska Dyrektywa KE 2022/431/UE	40	10	80(1)	20	Skin
USA: ACGIH	-	-	-	-	-
NIOSH	-	-	-	-	-
OSHA	-	-	-	-	-

Objaśnienia:

Skin – skóra.

H – substancja wchłania się przez skórę.

Dania – (1) skóra (2) 15 min średnia wartość.

Łotwa – (1) 15 min średnia wartość.

Rumunia – (1) 15 min średnia wartość.

Irlandia – (1) 15 min średnia wartość.

Niemcy (AGS) – (1) frakcja wdychalna aerozolu i pary (2) 15 min średnia wartość.

Niemcy (DFG) – (1) frakcja wdychalna aerozolu i pary (2) 15 min średnia wartość.

Francja – (1) 15 min średnia wartość.

Finlandia – (1) 15 min średnia wartość.

Belgia – (1) dodatkowe oznaczenie „D” oznacza, że wchłanianie substancji przez skórę, błony śluzowe lub oczy jest ważną częścią całkowitego narażenia. Może być wynikiem zarówno bezpośredniego kontaktu, jak i jego obecności w powietrzu. (2) 15 min średnia wartość.

Unia Europejska – (1) 15 min średnia wartość.

Komitet ds. Oceny Ryzyka jako punkt wyjścia do opracowania wartości OEL przyjmuje toksyczność rozwojową stwierdzoną w badaniach na zwierzętach. RAC zaproponował pierwotnie wartość DNEL drogą inhalacyjną (pochodny poziom niepowodujący zmian w warunkach narażenia zawodowego) na poziomie 10 mg/m^3 , którą po analizie podniósł do wartości $14,4 \text{ mg/m}^3$. Pierwotną wartość DNEL wynoszącą 10 mg/m^3 RAC zaproponował na podstawie dawki PoD (*point of departure*) 247 mg/m^3 i uzyskaną z badań toksyczności rozwojowej (Saillenfait i in. 2001; 2003). Natomiast wartość DNEL wynoszącą $14,4 \text{ mg/m}^3$ RAC zaproponował na podstawie dawki PoD 360 mg/m^3 uzyskaną również z badań toksyczności rozwojowej (Lee i in. 1987). RAC po skorygowaniu wartości NOAEL (360 mg/m^3) dla warunków narażenia wyliczył wartość DNEL. Wartość ta jest wyznaczona wyłącznie na podstawie skutków zdrowotnych, jest wartością graniczną opartą na tych skutkach (*Health Based Limit Values – HBLV*).

Wartość DNEL obliczono, przyjmując kilka współczynników do oceny dawki PoD uzyskanej zwykle z badań na zwierzętach:

$$\text{HBLV} = \frac{360 \cdot \frac{6,7 \cdot 6}{10 \cdot 8}}{(2,5 \cdot 5)} = 14,4 \text{ mg/m}^3.$$

Po narażeniu drogą skórą na 1-metylo-2-pirolidon wartość DNEL wyznaczono na poziomie $4,8 \text{ mg/kg/dzień}$. Zdaniem RAC toksyczność rozwojowa występująca po narażeniu na 1-metylo-2-pirolidon jest kluczowym, krytycznym skutkiem budzącym obawy.

Podstawy proponowanej wartości NDS

Na podstawie dostępnych danych stwierdzono, że w przypadku 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) skutkiem krytycznym jest działanie drażniące na układ oddechowy, skutki chemosensoryczne (utrata smaku i/lub węchu) oraz działanie szkodliwe na rozrodczość.

Przy ustaleniu wartości NDS 1-metylo-2-pirolidonu (NMP) rozważono:

- działanie drażniące związku na drogi oddechowe u ludzi i zwierząt oraz działanie chemosensoryczne,
- działanie fetotoksyczne stwierdzone w badaniach na zwierzętach.

Zaproponowano wprowadzenie wartości NDS 1-metylo-2-pirolidonu na podstawie wyników badań na ochotnikach, u których narażenie na związek do stężenia 160 mg/m^3 powodowało skutki chemosensoryczne (Bader i in. 2007; van Thriel i in. 2007). Intensywność zapachu była w średnim stopniu uciążliwa jedynie podczas szczytowych wartości stężeń (160 mg/m^3). Częstotliwość mrugania oczami, drożność nosa oraz częstotliwość oddechów nie wykazywały zależności typu dawka-odpowiedź. W testach neurobehawioralnych i psychologicznych nie ujawniono zależności między narażeniem na 1-metylo-2-pirolidon a zdolnościami poznawczymi ochotników (Bader i in. 2007; van Thriel i in. 2007). Zaproponowano przyjęcie za wartość LOAEL stężenia 160 mg/m^3 1-metylo-2-pirolidonu.

Określono wartości następujących współczynników niepewności:

- $A = 2$ – współczynnik związany z różnicami we wrażliwości indywidualnej u ludzi,
- $B = 1$ – współczynnik związany z różnicami międzygatunkowymi (przyjęto wyniki badań na ochotnikach),
- $C = 1$ – współczynnik związany z przejściem z badań krótkoterminowych do badań przewlekłych (ochotnicy byli narażeni na 1-metylo-2-pirolidon przez 8 h raz w tygodniu, przez 8 tygodni z przerwą 1-tygodniową między kolejnymi czterema sesjami podczas całego okresu badań),
- $D = 2$ – współczynnik związany z zastosowaniem wartości LOAEL zamiast NOAEL (zastosowano LOAEL),
- $E = 1$ – współczynnik modyfikacyjny (dotyczy oceny kompletności danych oraz potencjalnych skutków odległych); najmniejsza wartość NOAEL dla toksyczności rozwojowej 247 mg/m^3 uzyskana z badań toksyczności rozwojowej (Saillenfait i in. 20021; 2003) jest większa od wartości NOAEL dla działania drażniącego 160 mg/m^3 (Bader i in. 2007; van Thriel i in. 2007).

Po podstawieniu przyjętych wielkości współczynników niepewności do wzoru obliczono wartość NDS 1-metylo-2-pirolidonu:

$$\text{NDS} = \frac{\text{NOAEL}}{(A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E)} = \frac{160 \text{ mg/m}^3}{2 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 1} = \frac{160 \text{ mg/m}^3}{4} = 40 \text{ mg/m}^3.$$

Zaproponowano pozostawić wartość NDS 1-metylo-2-pirolidonu na obowiązującym w Polsce poziomie, tj. 40 mg/m³. Ze względu na działanie drażniące związku proponuje się pozostawienie wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) 1-metylo-2-pirolidonu na poziomie 80 mg/m³. Ustalony wartości normatywów higienicznych powinny zabezpieczyć pracowników nie tylko przed działaniem drażniącym 1-metylo-2-pirolidonu i skutkami chemosensorycznymi, lecz także przed szkodliwym wpływem ich narażenia na potomstwo. Proponowane wartości NDS i NDSCh są zgodne z wartościami przyjętymi w Unii Europejskiej, zawartymi w dyrektywie 2022/431/UE.

Zalecono prowadzenie monitoringu biologicznego i oznaczanie wartości dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) dla 1-metylo-2-pirolidonu na poziomie 20 mg 2-HMSI (2-hydroksy-*N*-metylobursztynian)/g kreatyniny (próbka moczu pobierana rano po zakończeniu zmiany roboczej). Zaproponowano pozostawić istniejące oznakowania substancji: „skóra” – wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową, literą „I” (substancja o działaniu drażniącym), a ze względu na działanie szkodliwe na rozrodczość literami „Ft” – substancja o działaniu szkodliwym na rozrodczość.

PIŚMIENNICTWO

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2020). TLVs and BEI threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices. Cincinnati, OH, USA.

Åkesson B., Carnerup M.A., Jönsson B.A.G. (2004). Evaluation of exposure markers from percutaneous absorption of *N*-methyl-2-pyrrolidone. *Scan. J. Work Env. Health* 30, 306–312.

Åkesson B., Jönsson B.A. (1997). Major metabolic pathway for *N*-methyl-2-pyrrolidone in humans. *Drug. Metab. Dispos.* 25(2), 267–9.

Åkesson B., Jönsson B. (2000a). Occupational study in paint stripping workers. Lund, University Hospital, Department of Occupational & Environmental Health. Unpublished report [cyt. za: SCOEL 2007].

Åkesson B., Jönsson B. (2000b). Dermal absorption study on *N*-methyl-2-pyrrolidone in male and female volunteers. [In:] 26th International Congress on Occupational Health, Singapore (Abstract OT1390).

Åkesson B., Jönsson B. (2000c). Biological monitoring of *N*-methyl-2-pyrrolidone using 5-hydroxy-*N*-methyl-2-pyrrolidone in plasma and urine as the biomarker. *Scan. J. Work. Env. Health* 26, 213–218.

Åkesson B., Paulsson K. (1997). Experimental exposure of male volunteers to *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP). Acute effects and pharmacokinetics of NMP in plasma and urine. *Occupational and Environmental Medicine* 54, 236–240.

Akrill P., Cocker J., Dixon S. (2002). Dermal exposure to aqueous solutions of *N*-methylpyrrolidone. *Toxicol. Lett.* 134, 265–269.

Ansell J.M., Fowler J.A. (1988). The acute oral toxicity and primary ocular and dermal irritation of selected *N*-alkyl-2-pyrrolidones. *Food Chem. Toxicol.* 26, 475–479.

Bader M., Keener S.A., Wrbitzky R. (2005). Dermal absorption and urinary elimination of *N*-methyl-2-pyrrolidone. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 78, 673–676.

Bader M., van Thriel C. (2006). Human volunteer study on chemosensory effects and evaluation of a threshold limit value in biological material of *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP) after inhalational and dermal exposure. Final Report to the NMP Producers Group, c/o Bergeson & Campbell, P.C., 1203 Nineteenth Street, NW, Suite 300, Washington, DC, USA [cyt. za: SCOEL 2007].

Bader M., Wrbitzky R., Blaszkewicz M. i in. (2007). Human experimental exposure study on the uptake and urinary elimination of *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP) during simulated workplace conditions *Arch. Toxicol.* 81(5), 335–346.

Bader M., Wrbitzky R., Blaszkewicz M. i in. (2008). Human volunteer study on the inhalational and dermal absorption of *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP) from the vapour phase. *Arch. Toxicol.* 82(1), 13–20.

Bartsch W., Sponer G., Dietmann K. i in. (1976). Acute toxicity of various solvents in the mouse and rat. *Arzneimittel-Forschung* 26, 1581–1583.

BASF (1951). Vorläufiger Bericht über die biologische Prüfung von Methylpyrrolidon. Ludwigshafen, BASF Aktiengesellschaft [dane niepublikowane; cyt. za: Greim 1998].

BASF (1963). Bericht über die acute Toxizität von *N*-Methylpyrrolidondest. Ludwigshafen, BASF Aktiengesellschaft [dane niepublikowane; cyt. za: Greim 1998].

BASF (1970). Bericht über die Prüfung von *N*-Methylpyrrolidon auf etwaigeteratogene Wirkung an der Maus [dane niepublikowane; cyt. za: Greim 1998].

- BASF (1971). Berichtüber die Prüfung von *N*-Methylpyrrolidon auf etwaigeratogene Wirkung an der Ratte bei peroraler Applikation [dane niepublikowane; cyt. za: Greim 1998].
- BASF (1976). Bericht über die Prüfung von *N*-Methylpyrrolidon auf mutagene Wirkung an der männlichen Maus nach einmaliger intraperitonealer Applikation. Ludwigshafen, BASF Aktiengesellschaft [dane niepublikowane; cyt. za: Greim 1998].
- BASF (1978). Evaluation of the toxicity of *N*-methylpyrrolidone in the rat by the 4 week oral intubation test. Ludwigshafen, BASF Aktiengesellschaft (XXV/436) [cyt. za: Greim 1998].
- BASF (1988). Prüfung der akuten inhalations toxizität LC50 von *N*-methylpyrrolidone als Flüssigkeitsaerosol an Ratten. Exposition über 4 Stunden. Ludwigshafen, BASF Aktiengesellschaft [project nr 13I0548/877054; cyt. za: Greim 1998].
- BASF (1992). Study on the inhalation toxicity of *N*-methylpyrrolidone in rats. 14-day study. Head-nose exposure to a liquid aerosol. Ludwigshafen, BASF Aktiengesellschaft (project nr 36I0794/87088) [cyt. za: Greim 1998].
- BASF (1993a). Study of the prenatal toxicity of *N*-methylpyrrolidone in rabbits after dermal application. Ludwigshafen, BASF Aktiengesellschaft (Project No. 44R0544/90078) [dane niepublikowane; cyt. za: Greim 1998].
- BASF (1993b). Brief Report. Study on the inhalation toxicity of an aqueous solution of *N*-methylpyrrolidone as a liquid aerosol in rats (14-day study). Ludwigshafen, BASF Aktiengesellschaft (Project No. 50I0544/90061) [dane niepublikowane; cyt. za: Greim 1998].
- BASF (1993c). Brief Report. Study on the inhalation toxicity of an aqueous solution of *N*-methylpyrrolidone as a liquid aerosol in rats (28-day study). Ludwigshafen, BASF Aktiengesellschaft (Project No. 50I0544/90058) [dane niepublikowane; cyt. za: Greim 1998].
- BASF (1993d). Study of the prenatal toxicity of *N*-methylpyrrolidone in rabbits after inhalation of vapor-aerosol mixtures. Ludwigshafen, BASF Aktiengesellschaft (Project No. 41R0544/90100) [dane niepublikowane; cyt. za: IPCS (2001)].
- BASF (1994). Study on the inhalation toxicity of *N*-methylpyrrolidone as a liquid aerosol in rats. 90 day test. Ludwigshafen, BASF Aktiengesellschaft (project nr 50I0544/90061) [cyt. za: Greim 1998].
- Beaulieu H.J., Schmerber K.R. (1991). *N*-pyrol (NMP) use in the microelectronic industry. Appl. Occup. Environ. Hyg. 6, 874–880.
- Becci P.J., Knickerbocker M.J., Reagan E.L. i in. (1982). Teratogenicity study of *N*-methylpyrrolidone after dermal application to Sprague-Dawley rats. Found. Appl. Toxicol. 2, 73–76.
- Becci P.J., Gephart L.A., Koschier F.J. i in. (1983). Subchronic feeding study in beagle dogs on *N*-methylpyrrolidone. J. Appl. Toxicol. 3, 83–86.
- Carnerup M.A., Saillenfait A.M., Jönsson B.A.G. (2005). Concentrations of *N*-methylpyrrolidone (NMP) and its metabolites in plasma and urine following oral administration of NMP to rats. Food Chem. Toxicol. 43, 1441–1447.
- Carnerup M.A., Spanne M., Jönsson B.A.G. (2006). Levels of *N*-methylpyrrolidone (NMP) and its metabolites in plasma and urine from volunteers after experimental exposure to NMP in dry and humid air. Toxicol. Lett. 162, 139–145.
- ChemIDplus baza danych (2020) [<https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/>].
- Clark B., Furlong J.W., Ladner A. i in. (1984). Dermal toxicity of dimethyl acetylene dicarboxylate, *N*-methyl pyrrolidone, triethylene glycol dimethyl ether, dioxane and tetralin in the rat [cyt. za: Greim 1998].
- Dick I.P., Bounds S.V.J., Parod R.J. i in. (2001). In vitro dermal absorption of *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP) through human and rat skin. Society of Toxicology 40th Annual Meeting, San Francisco, USA [cyt. za: SCOEL 2016].
- Draize J.H., Woodward G., Calvery H.O. (1944). Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. J. Pharmacol. Exp. Ther. 82, 377–390.
- du Pont de Nemours and Company (1976a). Primary skin irritation and sensitization test on guinea pigs (Haskell Laboratory report nr 307-776) [cyt. za: IPCS 2001].
- du Pont de Nemours and Company (1976b). Mutagenicity in the mouse lymphoma L5178Y cell line (Haskell Laboratory Report No. 677-76) [dane niepublikowane; cyt. za: IPCS 2001].
- Engelhardt G., Fleig H. (1993). 1-Methyl-2-pyrrolidinone (NMP) does not induce structural and numerical chromosomal aberrations in vivo. Mutat. Res. 298, 149–155.
- ECHA, Europejska Agencja Chemikaliów (2019). Jak spełniać wymogi ograniczenia 71 rozporządzenia REACH, wytyczne dla użytkowników NMP (1-metylo-2-pirolidonu) [https://echa.europa.eu/documents/10162/13641/entry_71_how_to_comply_pl.pdf/300e4071-8eac-bdc1-6668-bd4cab0fc9c].
- EPA, United States Environmental Protection Agency (1998). Environmental profile for *N*-methylpyrrolidone.
- EPA, United States Environmental Protection Agency (2017). Scope of the risk evaluation for *N*-methylpyrrolidone. EPA Document 740-R1-7005.
- EXXON (1991). Multigeneration rat reproduction study with *N*-methylpyrrolidone. Biomedical Science, Inc.; Study for GAF Corp. (USA), Project No. 236535 [raport niepublikowany; cyt. za: IPCS 2001].
- EXXON (1992). Developmental toxicity study in rats with *N*-methylpyrrolidone. EXXON Biomedical Science, Inc.; Study for GAF Corp. (USA), Project No. 136534 [raport niepublikowany; cyt. za: IPCS 2001].

- Fries A.S., Hass U., Jakobsen B.M. i in. (1992). Toxic effects of *N*-methylpyrrolidone on foetal development, the central nervous system, testes and semen in rats. Copenhagen, Arbejdsmiljøfondet [raport 790037; cyt. za: Greim 1998].
- GAF (1990). M-Pyrol® (*N*-Methylpyrrolidone). Summary of toxicity information. GAF Chemical Corporation, Wayne, USA [dane niepublikowane; cyt.: za Greim, 1998].
- GAF (1991). Developmental toxicity study in New Zealand White rabbits. Prepared by GAF Chemicals Corporation, Wayne, NJ, for the International Research and Development Corporation [raport niepublikowany; cyt. za: Greim 1998].
- GESTIS (2020). GESTIS database on hazardous substances. International Limit Values. IFA Institut für Arbeitssicherheit der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung, Germany [https://limitvalue.ifa.dguv.de/].
- GIS, Główny Inspektorat Sanitarny (2018; 2019). Baza danych prowadzona przez Wojewódzką Stację Sanitarno-Epidemiologiczną w Bydgoszczy zawierająca dane dotyczące ekspozycji pracowników na wybrane substancje chemiczne (dane niepublikowane).
- Greim H. (1998). *N*-Methyl-2-pyrrolidone (vapour). [In:] The MAK Collection Part I: MAK Value Documentations, vol. 10; pp. 147–170. Wiley-VCH, Weinheim.
- Harreus A.L., Eichler O.L., Feuehake R. i in. (2011). 2-Pyrrolidone. Ullmann Encyclopedia of Industrial Chemistry.
- Hass U., Lund S., Elsner J. (1994). Effects of prenatal exposure to *N*-methylpyrrolidone on postnatal development and behavior in rats. Neurotoxicol. Teratol. 16, 241–249.
- Hass U., Lund S.P., Elsner J. (1995). Developmental toxicity of inhaled *N*-methylpyrrolidone in the rat. Neurotoxicol. Teratol. 16, 241–249.
- IPCS (2001). Concise International Chemical Assessment Document No. 35, *N*-Methyl-2-Pyrrolidone. Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals (IOMC). Geneva, World Health Organization.
- Johanson G., Rauma M. (2008). Dermal penetration data for substances on the Swedish OEL list. Arbeteoch Hälsa 2008; 42(2) [cyt. za: SCOEL 2016].
- Jönsson B.A., Åkesson B. (2003). Human experimental exposure to *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP): toxicokinetics of NMP, 5-hydroxy-*N*-methyl-2-pyrrolidone, *N*-methylsuccinimide and 2-hydroxy-*N*-methylsuccinimide (2-HMSI), and biological monitoring using 2-HMSI as a biomarker. Int. Arch. Occup. Environ. Health 76, 267–74.
- Jungbauer F.H., Coenraads P.J., Kardaun S.H. (2001). Toxic hygroscopic contact reaction to *N*-methyl-2-pyrrolidone. Contact Dermatitis 45, 303–304.
- Keener S.A., Wrbitzky R., Bader M. (2007). Human volunteer study on the influence of exposure duration and dilution of dermally applied *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP) on the urinary elimination of NMP metabolites. Int. Arch. Occup. Environ. Health 80(4), 327–34.
- Langworth S., Anundi H., Friis L. i in. (2001). Acute health effects common during graffiti removal. Int. Arch. Occup. Environ. Health 74, 213–218.
- Lee K.P., Chromey N.C., Culik R. i in. (1987). Toxicity of *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP) teratogenic, subchronic, and two-years inhalation studies. Fundam. Appl. Toxicol. 9, 222–235.
- Leira H.L., Tiltse A., Svendsen K. (1992). Irritant cutaneous reactions to *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP). Contact Dermatitis 27, 148–150.
- Lewis R.J. Sr. (2007). Hawley's Condensed Chemical Dictionary 15th Edition. John Wiley & Sons, Inc. New York, NY, 842.
- Ligocka D., Lison D., Haufroid V. (2002). Quantitative determination of 5-hydroxy-*N*-methylpyrrolidone in urine for biological monitoring of *N*-methylpyrrolidone exposure. J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 778, 223–30.
- Ligocka D., Lison D., Haufroid V. (2003). Contribution of CYP2E1 to *N*-methyl-2-pyrrolidone metabolism. Arch. Toxicol. 77, 261–266.
- MAK (2011). MAK Documentation for *N*-methyl-2-pyrrolidone. The MAK-Collection Part I: MAK Value Documentations, Vol. 26. DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft [http://onlinelibrary.wiley.com].
- Malek D.E., Malley L.A., Slone T.W. i in. (1997). Repeated dose toxicity study (28 days) in rats and mice with *N*-methyl-pyrrolidone (NMP). Drug Chem. Toxicol. 20, 63–77.
- Malley L.A., Kennedy G.L., Elliot G.S. i in. (1999). 90-Day sub-chronic toxicity study in rats and mice fed *N*-methylpyrrolidone (NMP) including neurotoxicity evaluation in rats. Drug Chem. Toxicol 22, 455–480.
- Malley L.A., Kennedy G.L., Elliot G.S. i in. (2001). Chronic toxicity and oncogenicity of *N*-methylpyrrolidone (NMP) in rats and mice by dietary administration. Drug Chem. Tox. 24, 315–338.
- Mayer V.W., Goin C.J. (1988). Investigations of aneuploidy-inducing chemical combinations in *Saccharomyces cerevisiae*. Mutat. Res. 201, 413–421.
- Nishimura S., Yasui H., Miyauchi H. i in. (2009). A cross-sectional observation of effect of exposure to *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP) on workers' health. Ind. Health 47, 355–362.
- Pakulska D., Czerczak S. (2011). 1-Metylo-2-pirolidon. Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. Podst. Metod. Ocen. Srod. Pr. 4(70), 71–95.
- Parod R. J., Kaufmann W., Deckardt K. i in. (2001). Liver tumours in mice *N*-methylpyrrolidone (NMP) acts via enhanced cell proliferation. Toxicologist 60, 1360–1365.
- Payan J.P., Boudry I., Beydon D. i in. (2003). Toxicokinetics and metabolism of *N*-[(14C)]*N*-methyl-2-pyrrolidone in male Sprague-Dawley rats: in vivo and in vitro percutaneous absorption. Drug Metab. Dispos. 31, 659–669.

- PubChem (2020). 1-Methyl-2-pyrrolidinone [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/13387].
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (zwane rozporządzeniem GHS). Dz. Urz. Unii Europejskiej z dnia 31 grudnia 2008 r. (L 353). [Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labeling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548 / EEC and 1999/45 / EC, and amending Regulation (EC) No. 1907/2006 (referred to as GHS regulation)].
- Rozporządzenie Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 12 czerwca 2018 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU 2018 poz. 1286 [Polish legal act].
- Ravn-Jonsen A., Edelfors S., Hass U. i in. (1992). The kinetics of *N*-methyl-2-pyrrolidone in pregnant rats and their foetuses compared with non-pregnant rats. *Toxicol. Lett.* (suppl. 136). Abstract P5/P8 [cyt. za: SCOEL 2016].
- RTI (1990). Absorption, distribution, metabolism and elimination of *N*-methyl-2-pyrrolidone in rats after oral and dermal administration. Research Triangle Park, NC, Research Triangle Institute (Report RTI/3662/00-13P) [raport niepublikowany; cyt. za: SCOEL 2016].
- Saillenfait A.M., Gallissot F., Langonne I. i in. (2002). Developmental toxicity of *N*-methyl-2-pyrrolidone administered orally to rats. *Food Chem. Toxicol.* 40, 1705–1712.
- Saillenfait A.M., Gallissot F., Morel G. (2003). Developmental toxicity of *N*-methyl-2-pyrrolidone in rats following inhalation exposure. *Food Chem. Toxicol.* 42, 583–588.
- Scientific basis for Swedish occupational standards XXXIII: *N*-methyl-2-pyrrolidone, crystalline silica, quartz, epichlorohydrin (2014). J. Montelius (ed.). *Arbete och Hälsa* N4. 2014, 48(3) [cyt. za: ECHA 2019].
- SCOEL (2007). Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for *N*-methyl-2-pyrrolidone. SCOEL/SUM/119-revised.
- SCOEL (2016). Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for *N*-methyl-2-pyrrolidone. SCOEL/REC/119 *N*-Methyl-2-Pyrrolidone. Publications Office of the EU.
- Sitarek K. (2003). Excretion and maternal-fetal distribution of *N*-methyl-2-pyrrolidone in rats. *Reprod. Toxicol.* 17(4), 505.
- Sitarek K., Stetkiewicz J. (2005). Fertility and gonadotoxicity of *N*-methyl-2-pyrrolidone in male rats. *Reprod. Toxicol.* 20(3), 482.
- Solomon H.M., Burgess B.A., Kennedy G.L. i in. (1995). 1-Methyl-2-pyrrolidone (NMP): reproductive and developmental toxicity study by inhalation in the rat. *Drug Chem. Toxicol.* 18(4), 271–293.
- Solomon G.M., Burgess B.A., Kennedy G.L. i in. (1996). Still-birth after occupational exposure to *N*-methyl-2-pyrrolidone. A case report and review of the literature. *J. Occup. Environ. Med.* 38(7), 705–713.
- Schmidt R. (1976). Tierexperimentelle untersuchungen zur embryotoxischen und teratogenen wirkung von *N*-methyl-2-pyrrolidon (NMP). *Biol. Rundschau* 14, 38–41.
- SVHC (2011). Support document. Member state committee support document for identification of 1-methyl-2-pyrrolidone as substance of very high concern because of its CMR properties.
- van Thriel C., Blaszkewicz M., Schäper M. i in. (2007). Chemosensory effects during acute exposure to *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP). *Toxicol. Lett.* 175, 44–56 [cyt. za: SCOEL 2016].
- Ursin C., Hansen C.M., Van Dyk J.W. i in. (1995). Permeability of commercial solvents through living human skin. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 56, 651–660.
- Weisbrod D. (1981). Praktische Erfahrungen bei der Bestimmung der acuten Toxizität (LD50). *Akad. Landwirtsch. Wiss. DDR* 1987, 213–217 [cyt. za: SCOEL 2016].
- Wells D.A., Digenis G.A. (1988). Disposition and metabolism of double-labeled *N*-methyl-2-pyrrolidinone in the rat. *Drug Metab. Dispos. Biol. Fate Chem.* 16, 243–249.
- Wells D.A., Thomas H.F., Digenis G.A. (1988). Mutagenicity and cytotoxicity of *N*-methyl-2-pyrrolidinone and 4-(methylamino)-butanoic acid in the salmonella/microsome assay. *J. Appl. Toxicol.* 8, 135–139.
- Zeller H., Peh J. (1970). BASF Corporation report on testing of *N*-methylpyrrolidone for possible mouse teratogenicity. Environmental Protection Agency Office of Technical Services.

Adres do korespondencji/Contact details:

dr RENATA SOĆKO
 e-mail: renata.socko@imp.lodz.pl
 Instytut Medycyny Pracy
 im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
 91-348 Łódź, ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8
 POLAND

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA W NARAŻENIU NA 1-METYLO-2-PIROLIDON

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, spojówki i skórę.
Badania pomocnicze: –

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ oddechowy, spojówki i skórę.
Badania pomocnicze: –
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.

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ oddechowy, spojówki i skórę.

Narządy (układy) krytyczne

Narządami (układami) krytycznymi podczas pracy w narażeniu na 1-metylo-2-pirolidon są:
– układ rozrodczy,
– skóra.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami do zatrudnienia w narażeniu na 1-metylo-2-pirolidon są:

- zmiany skórne wywołane działaniem drażniącym,
- ciąża.

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.