

dr KRYSZYNA SITAREK
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
90-950 Łódź
ul. św. Teresy 8

2,4-D-kwas (2,4-dichlorofenoksy)octowy

Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego*

NDS: 7 mg/m³

NDSCh: –

NDSP: –

DSB: –

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 27.09.2000

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 11.04.2001

Kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D) jest białym lub żółtym krystalicznym proszkiem, bez zapachu lub o lekkim zapachu fenolu, słabo rozpuszczalnym w wodzie i dobrze rozpuszczalnym w rozpuszczalnikach organicznych. Jest stosowany jako składnik licznych pestycydów do ochrony roślin.

2,4-D należy do związków szkodliwych, medialna dawka śmiertelna dla szczurów po podaniu *per os* wynosi 375 lub 666 mg/kg (zależnie od źródła informacji). W następstwie narażenia przewlekłego 2,4-D wywiera działanie hepatotoksyczne i nefrotoksyczne, nie wywiera działania rakotwórczego u zwierząt. Na podstawie wyników testów mutagenności i genotoksyczności nie można jednoznacznie uznać 2,4-D za związek, który nie działa genotoksycznie, gdyż wykazano, że w warunkach *in vitro* może powodować wzrost częstości SCE, aberracji chromosomowych oraz wzrost nieplanowej syntezy DNA. Według ACGIH 2,4-D należy do grupy A4, czyli substancji nieklasyfikowanych jako rakotwórcze dla ludzi oraz do grupy 2B według IARC, tj. substancji prawdopodobnie rakotwórczych dla ludzi. W dużych dawkach powoduje zaburzenia rozwoju wewnątrzmacicznego zwierząt. Wyniki badań epidemiologicznych funkcji reproduktywnej ludzi nie dostarczają jednoznacznych danych, gdyż podczas narażenia zwykle występują również inne pestycydy oprócz 2,4-D.

2,4-D ulega szybko wchłonięciu z przewodu pokarmowego ludzi oraz zwierząt i w znacznej mierze jako forma niezmetyabolizowana jest szybko wydalany z moczem. Istotną drogą wchłaniania jest także skóra.

Normatywy higieniczne dla 2,4-D, obowiązujące w różnych państwach, wynoszą przeważnie 10 mg/m³. Jedynie wartość MAK została ustalona w 1998 r. w Niemczech, na poziomie 1 mg/m³, lecz oprócz samego 2,4-D jest to także wartość normatywu dla soli i estrów tego kwasu. W Polsce dotychczasowa wartość NDS tego związku wynosi 7 mg/m³, a NDSCh – 20 mg/m³. Proponuje się przyjęcie wartości NDS na poziomie 7 mg/m³ i niestalenie wartości NDSCh, gdyż związek ten nie działa drażniąco, a jego działanie ostre jest niewielkie.

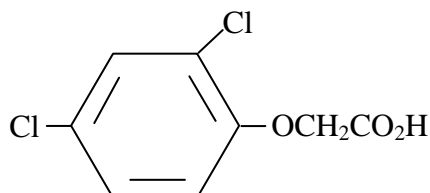
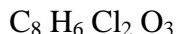
* Wartość normatywu 2,4-D-kwasu (2,4-dichlorofenoksy)octowego obowiązuje zgodnie z rozporządzeniem ministra pracy i polityki społecznej z dnia 29 listopada 2002 r. DzU nr 217, poz. 1833.

W normie PN-86/Z-04175/02 określono metodę oznaczania stężenia 2,4-D-kwasu (2,4-dichlorofenoksy) octowego w powietrzu na stanowiskach pracy.

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji (RTECS 1999; WHO 1984):

- wzór sumaryczny
- wzór strukturalny



- nazwa wg IUPAC
- nazwa chemiczna wg CAS
- numer w rejestrze CAS
- synonimy i niektóre nazwy preparatów:

2,4-dichlorophenoxyacetic acid
2,4-dichlorophenoxyacetic acid, (2,4-D)
94-75-7

acide 2,4-dichloro phenoxyacetique (Francja); acido (2,4-dicloro-fenossi)-acetico (Włochy); Acme LV 4; Agrotect; Amidox; Amoxone; Aqua-Kleen; Barrage; BH 2,4-D; Brush-rhap; B-Selektonon; Chipco turf herbicide „D”; Chloroxone; Citrus fix; Crop rider; 2,4-D (USA-ACGIH, OSHA); 2,4-D acid; Debroussaillant 600; Deherban; (2,4-dichloor-fenoxy)-azijnzuur (Dania); dichlorophenoxyacetic acid; 2,4-dichlorophenoxyacetic acid; dichlorophenoxyacetic acid (USA – OSHA); 2,4-dichlorphenoxyacetic acid; (2,4-dichlor-phenoxy)-essigsaeure (Niemcy); Dicopur; DMA-4; Dormone; 2,4-dichlorofenoksyoctowy kwas (Polska); Emulsamine BK; Emulsamine E-3; ENT 8,538; Envert 171; Envert DT; Estone; Farmco; Fernimine; Fernoxone; Ferxone; Foredex 75; Hedonal (herbicyd); Herbi-dal; Hivol-44; Ipaner; kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (Polska); kyselina 2,4-dichlorofenoksyoctova (Czechy); Lawn-keep; Macrondray; Miracle; Moxone; Netagrone; Netagrone 600; NSC 423; Pennamine; Pennamine D; Phenox; Pielik i Plantgard.

Właściwości fizykochemiczne (HSDB 1999):

- postać
- zapach
- masa cząsteczkowa
- temperatura topnienia
- temperatura wrzenia
- masa właściwa

biały lub żółty krystaliczny proszek
bez zapachu lub z lekkim zapachem fenolu
221,04
138 °C
160 °C (ciśn. 0,53 hPa)
1,416

– rozpuszczalność	słabo rozpuszczalny w wodzie, dobrze rozpuszczalny w rozpuszczalnikach organicznych
– prężność par	praktycznie 0 Pa w temp. 20 °C
– klasyfikacja i znakowanie substancji	zgodnie z klasyfikacją i znakowaniem wg Unii Europejskiej (Rozporządzenie MZiOS, 1997)**
– numer indeksowy	607-039-00-8
– klasyfikacja substancji	Xn; R22, Xi; R36/37/38; Xn – substancja szkodliwa; Xi – substancja drażniąca; R22 – działa szkodliwie w przypadku spożycia; R36/37/38 – działa drażniąco na oczy, układ oddechowy i skórę
– znakowanie substancji	Xn, R: 22-36/37/38, S: (2-)36/37.

Produkcja, zastosowanie, narażenie zawodowe

Kwas 2,4-dichlorofenylooctowy (2,4-D) jest stosowany jako herbicyd od ponad 60 lat; otrzymuje się go na skalę przemysłową w reakcji chlorowania fenolu do 2,4-dichlorofenolu, a następnie reakcji z kwasem monochlorooctowym (HSDB 1999).

2,4-D należy do powszechnie stosowanych herbicydów. Stosowany jest jako składnik bardzo licznych preparatów ochrony roślin. Obecnie jest zarejestrowanych na świecie około 1500 preparatów, zawierających 2,4-D (HSDB 1999). 2,4-D znajduje się w wykazie środków ochrony roślin dopuszczonych do obrotu i stosowania w Polsce (DzU MRiGŻ 1998, nr 4, poz. 6). W naszym kraju używa się ponad 40 preparatów, których składnikiem są sole sodowe, dimetyloaminowe i dietyloaminowe tego kwasu. 2,4-D występuje w formie estru etylowego lub estru butylowego, w niektórych produkowanych i stosowanych w naszym kraju preparatach.

2,4-D znajduje wszechstronne zastosowanie jako środek chwastobójczy, niszczący zbędne rośliny dwuliścienne na uprawach zbóż, traw, ale także w środowisku kanałów irygacyjnych, stawów i jezior. 2,4-D o małych stężeniach stosowany jest również w postaci oprysków liści jako regulator wzrostu na plantacjach roślin uprawnych. Dawniej był również stosowany do produkcji niektórych leków (WHO 1984). 2,4-D stosuje się w postaci granulatów, w formie płynnej lub jako aerozol (HSDB 1999).

Z dostępnych w Instytucie Medycyny Pracy danych o narażeniu zawodowym wynika, że w 1997 r. żadna grupa zawodowa nie była narażona na 2,4-D o stężeniach, przekraczających wartość NDS, tj. 7 mg/m³.

Oceniane w 1949 r. stężenia 2,4-D w powietrzu środowiska pracy zakładu, w którym produkowano ten związek, wynosiły około 93 mg/m³, natomiast w 1975 r. średnie stężenie było na poziomie 0,5 mg/m³ z okresowo występującymi pikami, sięgającymi 2 mg/m³. W zbudowanym w 1977 r. zakładzie oznaczano stężenia 2,4-D poniżej poziomu wykrywalności

** Kwas (2,4-dichlorofenoksy)octowy jest zamieszczony w wykazie substancji niebezpiecznych, stanowiącym załącznik do rozporządzenia ministra zdrowia z dnia 3 lipca 2002 r. w sprawie wykazu substancji niebezpiecznych wraz z ich klasyfikacją i oznakowaniem. Jest klasyfikowany jako produkt szkodliwy (Xn), z przypisanym zwrotem, wskazującym zagrożenie R22 (działa szkodliwie po połknięciu); produkt drażniący Xi, z przypisanym zwrotem, wskazującym zagrożenie R37-41 (działa drażniąco na drogi oddechowe R37; ryzyko poważnego uszkodzenia oczu R41); produkt uczulający, z przypisanym zwrotem R43 (może powodować uczulenie w kontakcie ze skórą) oraz produkt niebezpieczny dla środowiska, z przypisanymi zwrotami R52-53 (działa szkodliwie na organizmy wodne, może powodować długo utrzymujące niekorzystne zmiany w środowisku wodnym) DzU nr 129, poz. 1110.

(Bond i in. 1988). W innym zakładzie stwierdzono w latach 1985-1989 2,4-D o stężeniu około $0,5 \text{ mg/m}^3$ (Knopp 1993).

Dane na temat narażenia na 2,4-D pochodzą z wyników badań różnych grup zawodowych. Oceniano na przykład stężenia 2,4-D w powietrzu wydychanym, moczu i płatkach umieszczonych na odzieży pracowników leśnych w Finlandii. W próbach powietrza wydychanego stwierdzono 2,4-D o stężeniach $0,02 \div 0,20 \text{ mg/m}^3$, a w moczu pobieranym po zakończeniu dnia pracy – $0,1 \div 60 \text{ } \mu\text{M/dm}^3$, natomiast na płatkach mocowanych na odzieży oznaczane stężenia były bardzo słabo skorelowane ze stwierdzanym w powietrzu oraz w moczu i mieściły się w szerokim zakresie. Autorzy oceniają, że na podstawie stwierdzanego stężenia 2,4-D należy zaliczyć tych pracowników leśnych do grupy o niewielkim narażeniu (Toxline 1999).

W innej grupie pracowników leśnych, którzy stosowali opryski 2-procentową emulsją 2,4-D, stwierdzono $0,1 \div 0,2 \text{ mg/m}^3$ 2,4-D w powietrzu pobieranym przez 60 min w strefie oddychania tych mężczyzn, natomiast w osoczu krwi – $0,1 \div 0,2 \text{ } \mu\text{g/cm}^3$. Największe stężenia 2,4-D w osoczu u badanych pracowników oznaczano w próbach pobieranych po południu w następnym dniu po narażeniu i wynosiły one $3 \div 14 \text{ } \mu\text{g/cm}^3$. Średnia ilość 2,4-D wydalanego z moczem w ciągu doby tych pracowników wynosiła 9 mg, natomiast średnie stężenie w moczu, po trwających $2 \div 4 \text{ h}$ opryskach, wynosiło $10 \text{ } \mu\text{g/cm}^3$ (Kolmodin-Hedman, Erne 1980).

Istotne znaczenie dla wielkości narażenia na 2,4-D ma stosowanie właściwych procedur postępowania podczas wykonywania prac związanych z opryskiem. Na podstawie wyników wykonanych w Kanadzie w 1980 r., po wprowadzeniu procedur oznaczania stężeń 2,4-D w powietrzu pobieranym w strefie oddychania pracowników, stosujących ten herbicyd, wykazano obecność 2,4-D w zakresie $7,1 \div 55,2 \text{ } \mu\text{g/cm}^3$. Autorzy pracy stwierdzili, że wchłanianie przez skórę jest istotną drogą wnikania tego związku do organizmu (Libich i in. 1984).

W latach 1985-1989 dokonano 5-letniej oceny narażenia zawodowego pracowników zatrudnionych przy produkcji i pakowaniu 2,4-D oraz jego soli. Proces produkcyjny opierał się na reakcji kondensacji 2,4-dichlorofenolu i kwasu monochlorooctowego w środowisku zasadowym. Stężenia 2,4-D w powietrzu środowiska pracy nie przekraczały $0,5 \text{ mg/m}^3$. Stężenia 2,4-D w moczu pracowników wahały się od kilku mikrogramów na decymetr sześcienny do kilkadziesiąt mikrogramów na decymetr sześcienny i zmniejszały się w czasie weekendu, nie osiągały jednak nigdy wartości równej zero u żadnego z pracowników. Oszacowana dawka dzienna 2,4-D wchłonięta przez pracowników nie przekraczała $0,1 \text{ mg/kg m.c.}$ (Knopp 1994).

Ocenę narażenia zawodowego pracowników rolnictwa i leśnictwa, stosujących 2,4-D, przeprowadzono z zastosowaniem monitoringu biologicznego narażenia. Na podstawie stwierdzonego stężenia 2,4-D w moczu pracowników rolnych, po uwzględnieniu masy ciała badanych i stężenia kreatyniny, ustalono, że pobranie 2,4-D podczas pojedynczego zabiegu oprysku wynosi $5,7 \div 84,9 \text{ } \mu\text{g/kg}$ masy ciała. W porannych próbach moczu wszystkich badanych, w okresie $4 \div 6$ dni po oprysku, były wykrywane śladowe stężenia 2,4-D (Knopp, Glass 1991).

Prowadzono również prace, polegające na ocenie narażenia na 2,4-D pracowników, zatrudnionych przy recyklingu różnego rodzaju opakowań metalowych i plastikowych, służących do przechowywania 2,4-D (Guidotti i in. 1994). Opracowano ranking czynności, który pozwala ocenić, kiedy można się spodziewać większych narażeń na ten związek. Uwzględniono w nim wielkość stężeń 2,4-D w moczu pracowników, w powietrzu środowiska pracy oraz ilości 2,4-D na powierzchni odzieży lub na specjalnych płatkach umieszczonych na różnych częściach garderoby (kombinezonie, bluzie czy skarpetkach). W podsumowaniu autorzy pracy podają, że większego narażenia na 2,4-D należy się spodziewać podczas przeróbki opakowań metalowych i dotyczy to raczej przerobu starych opakowań. Zachowanie jednak wła-

ściwych procedur postępowania i odpowiedniej odzieży ochronnej oraz zasad higieny w istotny sposób ogranicza, a nawet praktycznie eliminuje to narażenie (Guidotti i in. 1994).

Przeprowadzono ocenę narażenia pracowników, stosujących herbicydy na plantacjach roślin uprawnych w Wielkiej Brytanii. W badaniu poddano ocenie narażenie inhalacyjne i dermalne. Uznano, że narażenie inhalacyjne było bardzo małe, a stwierdzone stężenia 2,4-D w strefie oddychania pracowników były w granicach 15 mg/dm^3 , tj. w granicach wykrywalności metody. Natomiast narażenie dermalne stanowi istotny sposób narażenia na 2,4-D. Stwierdzono, że największe narażenie występuje podczas mieszania i załadunku urządzeń służących do oprysku, a ręce to najbardziej narażone w tym procesie części ciała. Wielkość narażenia była także zależna od rodzaju urządzeń użytych do oprysku i była większa, wówczas gdy to urządzenie montowano na traktorach, niż wtedy, gdy były to pojemniki zawieszane na plecach pracowników (Abbott i in. 1987).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne. Zatrucia ostre

W piśmiennictwie z lat 60. są opisane przypadki samobójczych zatruć pestycydami, zawierającymi kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy. W opisach tych nie zawsze znana jest dawka 2,4-D, którą zażyły ofiary. Głównymi opisanymi objawami zatruć były: utrata przytomności, wymioty, hypotonia mięśniowa, zniesienie odruchów, częstoskurcz, niewydolność krążenia, niedociśnienie, hiperglikemia, proteinuria, przekrwienie i obrzęk mózgu oraz rozedma płuc. Zgon następował w okresie od kilkunastu godzin do kilku dni po połknięciu preparatu (WHO 1984). Szacuje się, że śmiertelna dawka 2,4-D dla mężczyzn mieści się w granicach $80 \div 800 \text{ mg/kg}$ (Dudlmy, Thapar 1972).

Opisano śmiertelny wypadek mężczyzny, który przyjął doustnie 2,4-D. Stan pacjenta pogarszał się bardzo prędko w wyniku silnych krwotoków z nosa i ust. Wykonana gastroscopia ujawniła obecność wybroczyn krwawych w śluzówce ust, przełyku i żołądka. Po około 5 h po przyjęciu 2,4-D pacjent zmarł. We krwi mężczyzny stwierdzono 2,4-D o stężeniu 192 mg/l (Jorens i in. 1995).

Więcej informacji o stanie pacjentów, którzy przypadkowo lub umyślnie przyjęli doustnie 2,4-D, pochodzi z opisów przypadków niezakończonych zgonem. Zwykle jednak preparat, który połknęli pacjenci, zawierał również inne związki, np. herbicyd, zawierający 2,4-D (16,1%) i dichlorprop (21,4%) przyjęty w celach samobójczych w nieznannej ilości przez kobietę czy też herbicyd, zawierający 2,4-D (20,1%) i dicamb (1,9%) przyjęty w ilości 100 ml przez inną kobietę. U obydwu tych kobiet nie stwierdzono cech zatrucia w chwili hospitalizacji. W pierwszym wypadku w chwili przyjęcia do szpitala stężenie 2,4-D w osoczu wynosiło 335 mg/l . Stwierdzono, że 91% 2,4-D wydalilo się z moczem w postaci niezmetabolizowanej. W drugim zaś wypadku 52% połkniętego 2,4-D wydalone zostało z moczem. Małe ilości 2,4-D były wydalane jeszcze po 3 tygodniach od połknięcia (WHO 1984).

Nie znaleziono danych na temat śmiertelnych zatruć 2,4-D w następstwie zawodowego narażenia inhalacyjnego lub dermalnego. Opisane przypadki czasowej utraty świadomości wiąże się raczej ze znacznym przypadkowym narażeniem na herbicydy, zawierające 2,4-D, np. w wyniku oblania się. Skutki te nie były jednakże następstwem narażenia zawodowego (WHO 1984).

W piśmiennictwie nie znaleziono doniesienia na temat drażniącego lub uczulającego działania samego 2,4-D. W opisanych przypadkach takiego działania najczęściej było to narażenie na pestycydy, wśród których był również 2,4-D. Ustalenie, który ze stosowanych związków powodował obserwowane skutki, było trudne i właściwie nie zostało przeprowadzone. Na przykład opisano ostre odczyny uczuleniowe skóry u pracowników, wykonujących opryski herbicydami 2,4-D i 2,4,5-T rozpuszczonymi w oleju napędowym Selest 100. Potwierdzono, że obserwowane zmiany były następstwem narażenia na mieszaninę 2,4-D i 2,4,5-T (WHO 1984). Alergiczne kontaktowe zapalenia skóry stwierdzono także u niewielkiego odsetka farmerów. Pozytywny wynik testu płatkowego z 2,4-D wystąpił u trzech z trzydziestu badanych narażonych na różne pestycydy. Autorzy stwierdzili, że ta grupa zawodowa należy do grup, w których tego rodzaju schorzenia występują częściej, ze względu na rodzaj narażenia (*Sharma, Kaur* 1990).

Obserwacje kliniczne. Zatrucia przewlekłe

Istniały podejrzenia, że kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy może być przyczyną polineuropatii (WHO 1984). Pogląd ten został jednakże zweryfikowany, między innymi na podstawie następujących przesłanek:

- nie obserwowano polineuropatii u pacjentów, którzy wielokrotnie zażywali 2,4-D jako lek
- nie obserwowano polineuropatii u żołnierzy narażonych na ten związek
- właściwości biologiczne 2,4-D charakteryzuje niewielka zdolność przenikania do układu nerwowego
- nie stwierdzono polineuropatii u wielu różnych gatunków zwierząt doświadczalnych narażanych różnymi drogami na ten związek, w różnych dawkach i o różnym czasie narażenia, często dłużej niż trwa narażenie ludzi, stosujących 2,4-D jako herbicyd
- jeśli były stwierdzane polineuropatie, to wówczas narażenie było narażeniem złożonym na mieszaniny różnych związków (*Mattsson, Eisenbrandt* 1990).

Oceniano zmiany wskaźników immunologicznych u farmerów narażanych na herbicydy. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że narażenie na te związki, w tym także 2,4-D, może powodować krótki efekt immunosupresji u osób narażanych (*Faustini* i in. 1996).

Badania epidemiologiczne

Wykonano badanie epidemiologiczne, w którym została oceniona umieralność pracowników, wykonujących opryski fenylo-herbicydami, ponieważ w latach 1950-1967 obserwowana umieralność w tej grupie była większa od przewidywanej i standaryzowany współczynnik umieralności (SMR) wynosił 157 (C.I. 130 ÷ 194).

Sformułowano w 1991 r. retrospektywną kohortę złożoną z 225 pracowników. Warunkiem włączenia do kohorty była praca co najmniej 30 dni w ostatnim sezonie oprysków; 98 osób, spośród tworzących kohortę, zmarło. Grupę referencyjną stanowiła populacja generalna New Brunswick; wskaźnik SMR w całej kohorcie wynosił 159. Po 1958 r. do mieszaniny fenylo-herbicydów używanej do oprysków dodawano zużyty olej transformatorowy, stanowiący około 10% mieszaniny. Pracownicy nie używali odzieży ochronnej. Wydzielono mniejsze kohorty osób, pracujących w okresie 1950-1958 i 1959-1967 i wówczas wartości wskaźnika SMR wynosiły odpowiednio 146 (C.I. 115 ÷ 184) i 215 (C.I. 139 ÷ 318). W większości przypadków przyczyną zgonów były choroby układu sercowo-naczyniowego (*Hay, Tarrel* 1997).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra

Kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy otrzymywany z zastosowaniem starszych technologii zawierał często bardzo wiele zanieczyszczeń, nie zawsze dokładnie zidentyfikowanych. Badania nad toksycznością 2,4-D prowadzone są nadal. Większość przytoczonych danych pochodzi z tych właśnie badań, a badania starsze zostaną przedstawione celem uzupełnienia całości.

Na podstawie wartości medialnej dawki śmiertelnej 2,4-D po podaniu *per os* szczurom, związek ten zalicza się do substancji szkodliwych. Wartości LD₅₀ dla różnych gatunków zwierząt przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1.

Wartości medialnych dawek śmiertelnych 2,4-D dla różnych gatunków zwierząt

Gatunek zwierząt	Sposób podania	Wartość LD ₅₀ , mg/kg	Piśmiennictwo
Szczur	dożołądkowo	375	RTECS 1999
Szczur	dożołądkowo	666	<i>Hill i Carlisle</i> 1947
Mysz	dożołądkowo	347	RTECS, 1999
Mysz	dożołądkowo	375 ^{b),a),d)}	<i>Hill i Carlisle</i> 1947
Pies	dożołądkowo	100	RTECS 1999
Świnka morska	dożołądkowo	469 ^{b),c)}	RTECS, 1994
Świnka morska	dożołądkowo	1000	<i>Hill, Carlisle</i> 1947
Chomik	dożołądkowo	500	RTECS 1999
Królik	dożołądkowo	800	<i>Hill, Carlisle</i> 1947
Szczur	dootrzewnowo	666	RTECS 1999
Królik	dootrzewnowo	400	RTECS 1999
Świnka morska	dootrzewnowo	666	RTECS 1999
Królik	dożylnie	400	RTECS 1999
Szczur	na skórę	1500	RTECS 1999
Królik	na skórę	1400	RTECS 1999
Mysz	podskórnice	280	<i>Bucher</i> 1946

^{a)} – w przeliczeniu na 2,4-D; ^{b)} – dawka toksyczna dla samców; ^{c)} – dawka toksyczna dla samic; ^{d)} – badano toksyczność 2,4-D oraz jego soli i estrów.

2,4-D podano jednorazowo do żołądka szczurów w dawce 600 mg/kg. Już 20 ÷ 30 min po podaniu związku zwierzęta dyszały oraz występowało u nich: zmniejszenie aktywności lokomotorycznej, ataksja, depresja centralnego układu nerwowego i osłabienie mięśniowe. Objawy te utrzymywały się przez 24 h po podaniu. Badania krwi wykonane po podaniu 2,4-D ujawniły wzrost aktywności fosfatazy zasadowej, dehydrogenazy mleczanowej i kreatyniny oraz zmniejszenie stężenia glukozy i białka. Kolejne badanie krwi wykonano 8 h po podaniu związku i stwierdzono wówczas wzrost aktywności transferazy asparaginianowej (AST) i amino-alaninowej (ALT) oraz amylazy. Powyższe zmiany biochemiczne utrzymywały się w ciągu 24 h po narażeniu. Po upływie doby istotnie wzrosła również wartość hematokrytu (*Paulino i in.* 1996). Nie stwierdzono natomiast objawów zatrucia ani też zmian aktywności AST, a jedynie wartość hematokrytu i stężenie białek były istotnie większe u szczurów, którym podawano 200 ppm 2,4-D w wodzie do picia przez 30 dni (*Paulino i in.* 1996).

Szczurom podano dożołądkowo 2,4-D w dawce 200 mg/kg i następnie po 12; 24 i 48 h, a po 4; 10; i 30 dniach sekcjonowano po siedem zwierząt narażanych i trzy zwierzęta z grupy kontrolnej w celu oceny hepatotoksyczności związku. Wykonywano badania ultrastrukturalne w mikroskopie elektronowym oraz badania histoenzymatyczne. Stwierdzono, że 2,4-D podany szczurom w dawce, wywołującej ostre zatrucie, powoduje zmiany histoenzymatyczne i ultrastrukturalne w wątrobie, które, jak sugerują autorzy, są następstwem odwracalnych o charakterze adaptacyjnym, niespecyficznym uszkodzeń komórek mięszu wątroby (Sulik i in. 1998).

Oceniano także ostrą toksyczność 2,4-D dla krów, którym badany związek podano dożołądkowo w dawkach: 100; 300 lub 600 mg/kg, a następnie obserwowano zwierzęta przez cztery doby. Największa z zastosowanych dawek spowodowała zaburzenia przeżuwania i niewielkiego stopnia przemijający białkomocz. Podanie 300 mg/kg spowodowało zmniejszenie aktywności ruchowej zwierząt, osłabienie mięśniowe, białkomocz i znacznie silniejsze zaburzenia przeżuwania niż po podaniu mniejszej dawki 2,4-D. U zwierząt, które otrzymały największą dawkę związku, objawy były podobne jak poprzednio, ale ich nasilenie było znacznie większe. Dodatkowo występowała śpiączka i zmniejszenie wartości hematokrytu. W ciągu 96 h obserwacji większość objawów zatrucia ustąpiła (Paulino i in. 1994).

W innej pracy opublikowano wyniki badań biochemicznych u krów narażanych na 2,4-D w taki sam sposób jak podano wcześniej. Praca została wykonana przez ten sam zespół. Oceniano zachowanie zwierząt oraz badano czynność układu krążenia i oddechowego, temperaturę ciała, a także aktywność enzymów wątrobowych, poziom mocznika w surowicy, stężenie białek, glukozy i kreatyniny. Stwierdzono niewielki wzrost aktywności enzymów i stężenia glukozy, ale zmiany te ustąpiły w okresie 96 h i autorzy oceniają, że zastosowane dawki 2,4-D nie wywierały istotnych zaburzeń u badanych zwierząt (Paulino i in. 1995).

Medialna dawka śmiertelna 2,4-D dla psów po podaniu do żołądka wynosi około 100 mg/kg masy ciała. Związek podany psom w tej i większych dawkach prowadzi do miotonii (skurczu mięśni), której towarzyszy brak łaknienia i spadek masy ciała (Drill, Hiratzka 1953).

Medialna dawka śmiertelna dla królików po naniesieniu 2,4-D na pozbawioną sierści skórę wynosi 2244 mg/kg (Gorzinski i in. 1987).

Przeprowadzono badanie, którego celem było wykazanie czy 2,4-D jest powodem powstania polineuropatii u psów (Steiss i in. 1987). Samicom psa podano dożołądkowo 2,4-D w kilku dawkach: 25; 50; 75; 100 i 125 mg/kg. Po 24 h u jednego z czterech psów, które otrzymały 125 mg/kg, wystąpiła śpiączka, trwająca do 3. dnia po narażeniu. U psów, które otrzymały 2,4-D w dawkach powyżej 50 mg/kg, stwierdzono miotonię, która utrzymywała się do 14. dnia po narażeniu. Upośledzone było również przewodnictwo nerwowe u tych zwierząt. W podsumowaniu pracy autorzy stwierdzają, że podanie dożołądkowo pojedynczej subletalnej dawki 2,4-D zwierzętom nie może być przyczyną polineuropatii (Steiss i in. 1987).

Wykonano badania neurotoksyczności 2,4-D u szczurów, którym związek podano jednorazowo do żołądka w dawkach: 15; 75; i 250 mg/kg. Stwierdzono, że 2,4-D powoduje umiarkowane, przemijające zmniejszenie aktywności lokomotorycznej u samic i samców z grupy, otrzymującej dawkę 250 mg/kg, i niewielkiego stopnia zaburzenia chodu u zwierząt z grupy, otrzymującej dawkę 75 mg/kg. Na podstawie uzyskanych danych wyznaczono wartość NOAEL na poziomie 15 mg/kg dla efektu działania neurotoksycznego w następstwie narażenia ostrego (Mattsson i in. 1997).

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Szczurom podawano przez 13 tygodni oczyszczony lub techniczny kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy w paszy o dawkach: 0, 15, 60, 100 i 150 mg/kg. Następnie wykonano bada-

nia hematologiczne i dokonano oceny histopatologicznej tkanek. Stwierdzono, że nerki i wątroba są docelowymi narządami, zarówno wówczas, gdy oceniano działanie oczyszczonego, jak i technicznego 2,4-D. Forma oczyszczona powodowała, zależny od dawki, wzrost masy nerek oraz wakuolizację cytoplazmy komórek nerek. Zmiany zwyrodnieniowe obserwowano w kanalikach proksymalnych u samców, otrzymujących związek w dawce 60 mg/kg i większych. U zwierząt, którym podano 2,4-D w dawkach 100 i 150 mg/kg, występował niewielki obrzęk hepatocytów oraz wzrost aktywności GTP, a u samic – zmniejszenie stężenia czterojodotyroniny w surowicy przy jednoczesnym braku zmian mikroskopowych w tarzycy (Gorzinski i in. 1987).

Psom podawano przez 90 dni 2,4-D w postaci kapsułek dodawanych do paszy. Dienne dawki 2,4-D wynosiły: 2; 5; 10 i 20 mg/kg. Zwierzęta, które otrzymywały dawkę 20 mg/kg, padły. Zgony występowały już od drugiego dnia narażenia i były poprzedzone krwawieniem z pyska, martwicą śluzówki jamy gębowej, trudnościami z gryzieniem i polykaniem pokarmu oraz nieznaczną miotonią. Nie stwierdzono zmian histopatologicznych w nerkach, wątrobie i innych narządach wewnętrznych. U psów, które przeżyły, nie obserwowano istotnych objawów zatrucia (Drill, Hiratzka 1953).

Grupę dziesięciu szczurów pojono przez 180 dni wodą, zawierającą 2,4-D o stężeniu 200 ppm. Nie stwierdzono objawów zatrucia zwierząt. Aktywność enzymów wątrobowych uległa istotnemu zwiększeniu, podczas gdy zmniejszyła się aktywność amylazy i stężenie glukozy w surowicy. Nie ujawniono zmian histopatologicznych w mózgu, wątrobie, nerkach, sercu, trzustce, nadnerczach, płucach i śledzionie narażonych szczurów (Paulino i in. 1996).

Podawano przez 13 tygodni 2,4-D w paszy, w dawkach: 0; 11; 15; 100 i 300 mg/kg, a następnie oceniano masę ciała szczurów i spożycie paszy i przeprowadzono badania histopatologiczne narządów zwierząt po zakończeniu narażenia. Uznano, że 2,4-D podawany w małych i średnich dawkach był dobrze tolerowany przez zwierzęta, natomiast po podaniu dawki 300 mg/kg obserwowano mniejszy przyrost masy ciała, mniejsze dobowe spożycie paszy oraz zmiany histopatologiczne w narządach wewnętrznych. U samic wystąpiło zwyrodnienie rogówki i rozwinęła się zaćma, u samic i samców wystąpił przerost środkowej części zrazików hepatocytów i kory nadnerczy oraz wakuolizacja komórek kanalików nerkowych. Ostatecznie przyjęto dawki 15 mg/kg/dzień za wartość NOEL 2,4-D. Autorzy oceniają, że 2,4-D można uznać za związek o małej toksyczności podprzewlekłej (Charles i in. 1996a).

Ta sama grupa autorów opublikowała inną pracę, w której przedstawiono wyniki badań toksyczności podprzewlekłej 2,4-D dla psów. Zwierzętom podawano przez 13 tygodni związek w paszy w dawkach: 0; 1; 3,75 i 7,5 mg/kg/dzień. Stwierdzono mniejszy przyrost masy ciała i mniejsze spożycie paszy w grupie psów, otrzymujących dawkę 7,5 mg/kg, a także wzrósł poziom azotu mocznikowego, kreatyniny i aktywność transferazy aminolalaninowej w surowicy. Przyjęto wartość 1,0 mg/kg/dzień za wartość NOAEL 2,4-D (Charles i in. 1996b).

Wyniki badania toksyczności przewlekłej opublikowano także w tej samej pracy (Charles i in. 1996b). Psy otrzymywały w paszy 2,4-D w dawkach: 0,1 i 5 mg/kg/dzień oraz 10 mg/kg/dzień przez 8 tygodni, a następnie dawkę zmniejszono do 7,5 mg/kg z powodu mniejszego niż w grupie kontrolnej przyrostu masy ciała zwierząt. Wszystkie psy narażano przez rok, a następnie wykonano badania histopatologiczne. Uwzględniając wyniki badań biochemicznych (wzrost poziomu azotu mocznikowego, kreatyniny, cholesterolu i aktywności ALT w surowicy krwi) oraz badań mikroskopowych, uznano, że 1 mg/kg/dzień jest wartością NOAEL, podobnie jak u zwierząt poddanych podprzewlekłemu narażeniu na 2,4-D (Charles i in. 1996b).

Na podstawie wyników badania, którego celem była ocena neurotoksyczności 2,4-D u szczurów w następstwie rocznego, przewlekłego narażenia na 2,4-D (podawanego w paszy

w dawkach 5; 75 i 150 mg/kg m.c.), ustalono wartość NOAEL dla efektu neurotoksycznego na poziomie 75 mg/kg/dzień. Po większej bowiem dawce stwierdzano u samic szczurów zwyrodnieniowe zmiany w rogówce (Mattsson i in. 1997).

W kolejnym badaniu toksyczności przewlekłej 2,4-D wykonanym na psach, zwierzętom podawano przez rok badany związek o stężeniach: 0; 75; 225 i 450 ppm. Każdą grupę tworzyło 6 samic i 6 samców. Największa dawka wynosiła pierwotnie 675 ppm, ale została po 7 tygodniach zredukowana do 450 ppm, z powodu zmniejszonego przyrostu masy ciała zwierząt i mniejszego spożycia paszy. Ostatecznie, uwzględniając wyniki badań biochemicznych i patomorfologicznych, wyznaczono wartość NOAEL 2,4-D na poziomie 75 ppm, co odpowiada dawce 2,39 mg/kg/dzień u samców i 2,15 mg/kg/dzień u samic. Autorzy pracy stwierdzili, że 2,4-D jest związkiem, charakteryzującym się małą toksycznością w warunkach przewlekłego pokarmowego narażenia psów na ten związek i dodatkowo podali, że nie stwierdzono immunotoksycznego działania 2,4-D (Charles, Leeming 1998).

ODLEGŁE EFEKTY TOKSYCZNE

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Mutagenność kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego badano z użyciem szczepów *Salmonella typhimurium* w modelach z frakcją mikrosomalną i bez udziału tej frakcji. Wyniki testów są najczęściej zgodne i wskazują, że związek ten nie wykazuje działania mutagennego w teście Ames (Anderson i in. 1972; Kappas 1988; Moriya i in. 1983; Mortelmaus i in. 1984; Waters i in. 1980). Podobnie negatywne były wyniki testów z użyciem drożdży czy też bakterii *Bacillus subtilis*, *E. coli* (Waters i in. 1980; Shirasu i in. 1976; Rashid, Mumma 1986). Na podstawie wyników testów *in vitro*, w których oceniano genotoksyczność 2,4-D z użyciem hodowli komórek V79 lub hodowli komórek płuc chomika chińskiego, wykazano zdolność 2,4-D do indukowania mutacji (Pavlica i in. 1991). Pozytywne również były wyniki testów wykonanych na hodowlach limfocytów ludzkich lub hodowlach komórek jajnika chomika chińskiego (CHO), w których badano częstość aberracji chromosomowych (Korte, Jalal 1982; Mustonen i in. 1986) lub częstość wymian chromatyd siostrzanych (SCE), (Korte, Jalal 1982; Galloway i in. 1987; Turkusa, Jalal 1985).

Częstość SCE wywołana działaniem 2,4-D w hodowli komórek CHO nie była istotnie większa niż w grupie kontrolnej (Linnainmaa 1984). Nieplanowa synteza DNA (UDS) oceniana w pierwotnej hodowli hepatocytów szczura nie wskazywała na genotoksyczność 2,4-D (Probst i in. 1981; Waters i in. 1980). Natomiast UDS była większa pod wpływem 2,4-D w hodowli fibroblastów ludzkich (Ahmed i in. 1977).

2,4-D nie powoduje wzrostu częstości mikrojąder w szpiku kostnym myszy, którym związek ten podawano dootrzewnowo (Jensen, Renberg 1976) lub nakładano na skórę (Schop i in. 1990). Nie stwierdzono także wzrostu częstości SCE w limfocytach po podaniu 2,4-D szczurom *per os* (Mustonen i in. 1989; Linnainmaa 1984) ani też w szpiku kostnym chomików po podaniu *per os* (Linnainmaa 1984).

U pracowników winnic w Jugosławii, stosujących różne herbicydy, w tym także 2,4-D, wykonano badania cytogenetyczne do oceny skutków narażenia. Badania wykonano u 27 ogrodników narażonych na herbicydy i 35 mężczyzn w grupie kontrolnej (15 nauczycieli, mieszkających w pobliskim mieście oraz 20 mężczyzn zatrudnionych na Uniwersytecie w Belgradzie). Próbkę krwi do badań pobrano przed rozpoczęciem sezonu, po miesiącu pracy i po zakończeniu sezonu oprysków. Oceniano częstość aberracji chromosomowych w limfocytach, częstość wymian chromatyd siostrzanych (SCE) i mikrojąder (MN). W próbkach

pobrane przed sezonem oprysków częstość aberracji chromosomowych była istotnie większa u pracowników winnic niż u osób w którejkolwiek grupie kontrolnej. Pozostałe wskaźniki (SCE i MN) nie wykazywały istotnych różnic między grupami. Istotnie wzrosła, w porównaniu z grupą kontrolną, częstość mikrojąder u ogrodników po miesiącu oprysków. Natomiast w badaniach wykonywanych po zakończeniu sezonu oprysków stwierdzono istotny wzrost częstości aberracji i mikrojąder w porównaniu z grupą kontrolną. Częstość wymian chromatyd siostrzanych nie uległa istotnym zmianom (Joksic i in. 1997).

Działanie rakotwórcze u ludzi

Opublikowano wiele wyników badań ludzi narażonych na herbicydy z grupy fenylooctowych, w tym również na kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy, jednakże były to zawsze narażenia na wiele związków jednocześnie. Przedstawiono dane, wskazujące, że 2,4-D jest czynnikiem, który wywoływał chłoniaka nieziarniczego (*non-Hodgkin's lymphoma*) u mężczyzn w wieku 21 lat i starszych, mieszkających w Kansas w okresie 1976-1982 (Hoar i in. 1986). Wyniki innych badań (Pearce i in. 1986; Woods i in. 1987; Dalager i in. 1995) nie potwierdziły, iż 2,4-D jest powodem chłoniaka nieziarniczego, ponieważ nie dokonano oceny narażenia na 2,4-D i nie jest uprawnione twierdzenie, że wyłącznie ten związek jest przyczyną stwierdzonego nowotworu. Uznano również, że herbicyd Agent Orange, stanowiący mieszaninę 2,4-D i 2,4,5-T w stosunku 1:1 (dodatkowo często zanieczyszczony dioksynami), jest czynnikiem kancerogennym dla ludzi, powodującym wzrost ryzyka, np. raka jąder (Bullman i in. 1994).

Ostateczna jednak klasyfikacja 2,4-D pod względem kancerogenności tego związku przedstawiona przez ACGIH (1999; 1999 suppl.) umieszcza ten związek w grupie A4, tj. związków nieklasyfikowanych pod względem rakotwórczości dla ludzi.

Działanie rakotwórcze u zwierząt

Wyniki badań rakotwórczości kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego dla szczurów, myszy i psów przedstawiono w tabeli 2. Nie wykazano działania kancerogennego 2,4-D u zwierząt narażanych przewlekłe przez rok lub 2 lata. Związek ten został zaliczony przez ACGIH do grupy A4, tzn. związków nieklasyfikowanych jako kancerogennych dla ludzi (ACGIH 1999). IARC zalicza go wprawdzie do grupy 2B, tj. związków przypuszczalnie rakotwórczych dla ludzi, ale jest to ocena dla 2,4-D i jego estrów (IARC 1982).

Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

Badania zwierząt

Na podstawie wyników badań wpływu kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego na rozwój prenatalny potomstwa oraz rozrodczość narażanych zwierząt, wykazano, że jedynie duże dawki tego związku mogą toksycznie działać, powodując zaburzenia rozwoju wewnątrzmacicznego ssaków. Stwierdzono wyraźne objawy zatrucia matek (wzrost śmiertelności, zmniejszenie przyrostu masy ciała) oraz działanie teratogenne (dodatkowe żebra) w następstwie narażenia w okresie organogenezy ciężarnych samic szczura na 2,4-D podawany *per os* w dawce 115 mg/kg (Chernoff i in. 1990).

Oceniano wpływ prenatalnego i/lub postnatalnego narażenia na 2,4-D samic na cykl astralny oraz stężenia prolaktyny i progesteronu w surowicy. Samice były urodzone przez matki, które od 16. dnia ciąży i potem w okresie oseskowym narażano na 2,4-D w paszy w dawce 70 mg/kg/dzień.

Tabela 2.

Wyniki badania przewlekłej toksyczności i rakotwórczości kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego u zwierząt

Gatunek zwierząt	Sposób podania	Dawka	Czas narażenia	Skutek	Piśmiennictwo
Szczur: 25 samic i samców w grupie	w paszy	5; 25; 125; 625 i 1250 ppm (ok. 0,4; 2; 10; 50; i 100 mg/kg na dzień)	2 lata	nie stwierdzono istotnych skutków działania 2,4-D poza niewielką anemią po 22 tyg. narażenia u zwierząt z grup, otrzymujących dawki: 0,4; 50 i 100 mg/kg oraz wzrost względnej masy śledziony u zwierząt z grupy, otrzymującej dawkę: 10 i 50 mg/kg. Mimo że u zwierząt stwierdzano po 2 latach nowotwory, to jednak ich częstota w grupie kontrolnej i w grupach narażanych nie może być podstawą do wyciągnięcia wniosków o rakotwórczości 2,4-D	<i>Hansen</i> i in. 1971
Szczur: samice i samce po 50 w grupie	w paszy	150 i 300 mg/kg	104 tyg.	u szczurów obu płci zmniejszeniu uległa masa ciała oraz mniejsze było spożycie paszy, zmniejszeniu uległa liczba płytek krwi oraz wystąpiła niewielka anemia. Nie stwierdzono zmian histopatologicznych narządów wewnętrznych, wskazujących na kancerogenność 2,4-D	<i>Charles</i> i in. 1996
Szczur: samice i samce	w paszy	0; 1; 5; 15 i 45 mg/kg na dzień	104 tyg.	stwierdzono mniejszy przyrost masy ciała i mniejsze spożycie paszy u zwierząt z grupy, otrzymującej dawkę 45 mg/kg. U samic niewielka anemia w grupach otrzymujących dawki 15 i 45 mg/kg oraz mniejsze stężenie Na u samców z grupy, otrzymującej dawki 15 i 45 mg/kg po roku narażenia. Masa tarczycy i przytarczyc wzrosła u zwierząt, otrzymujących dawki: 5; 15 i 45 mg/kg. W nerkach samic i samców stwierdzono pewne cechy działania toksycznego, ale nie działania rakotwórczego. U zwierząt, które były narażane na 2,4-D w dawce 1 mg/kg na dzień, nie stwierdzono żadnych zmian patologicznych	ACGIH 1999 (suplement)

cd. tabeli 2.

Gatunek zwierząt	Sposób podania	Dawka	Czas narażenia	Skutek	Piśmiennictwo
Mysz: 18 samic i samców	<i>per os</i> i w paszy	<i>per os</i> 46,4 i 100 mg/kg, a potem w paszy 149 i 323 ppm (tj. 46,4 i 100 mg/kg m. c.)	od 7. do 28. dnia życia (<i>per os</i>), a następ- nie (w paszy) do 18 miesiący	nie stwierdzono nowotworów	<i>Innes</i> i in. 1969
Mysz: samice i samce po 50 w grupie	w paszy	150 i 300 mg/kg	104 tyg.	śmiertelność zwierząt narażanych na dawkę 300 mg/kg wynosiła 14% (samce) i 30% (samice). Stwierdzono jedynie niewielkie zmiany histopatologiczne w nerkach samców. Autorzy uznali, że 2,4-D jest związkiem o niewielkiej toksyczności przewlekłej i nie działa kancerogennie na myszy	<i>Charles</i> i in. 1996
Mysz	w paszy	0; 1; 15 i 45 mg/kg na dzień	104 tyg.	stwierdzono wzrost masy nerek w grupie, otrzymującej dawkę 45 mg/kg u samców i w grupach, otrzymujących dawki 15 i 45 mg/kg u samic. U samców z grup, otrzymujących dawki 15 i 45 mg/kg, w cytoplazmie komórek nabłonka kanalików nerkowych stwierdzono mniejszą liczbę wakuoli. U zwierząt, otrzymujących dawkę 1 mg/kg na dzień, nie stwierdzono skutków działania 2,4-D	ACGIH, 1999 (suplement)
Pies: 6 samic i samców	w paszy	10; 50; 100 i 500 ppm	2 lata	nie stwierdzono istotnych efektów działania toksycznego 2,4-D	<i>Hansen</i> i in. 1971
Pies: 6 samic i 6 sam- ców w grupie	w paszy	0; 75; 250 i 450 ppm (przez 7 tyg. podawano psom 675 ppm, ale potem zre- dukowano do 450 ppm)	52 tyg.	wyniki badania wskazują, że dawka 75 ppm (2,39 g/kg dla samców i 2,15 g/kg dla samic) stanowi wielkość, która nie daje żadnych efektów działania toksycznego 2,4-D. Po większych dawkach wystąpiły pewne zmiany histopatologiczne w wątrobie i nerkach, dlatego narządy te uznano za docelowe. W żadnej z grup zwierząt nie stwierdzono działania rakotwórczego	<i>Charles, Le- eming</i> 1998

Po zakończenia okresu laktacji młode samice rozdzielono do dwóch grup – w jednej z nich przerwano narażenie, a w drugiej kontynuowano podawanie 2,4-D, aż do osiągnięcia dojrzałości płciowej zwierząt. U samic obu grup stwierdzono wzrost stężenia prolaktyny i progesteronu w surowicy, a także większą liczbę i wielkość ciałek żółtych w jajnikach. Natomiast w grupie, w której narażenie trwało dłużej, stwierdzono zaburzenia cyklu estralnego, polegające na zatrzymaniu cyklu na fazie spoczynkowej (*Duffard i in.* 1995). Ujawniono, że 2,4-D należy do związków, dla których łożysko nie stanowi bariery i może on przenikać do płodu. Mechanizm tego transportu nie został poznany (*Salama i in.* 1993).

W trzypokoleniowym badaniu, wykonanym na szczurach narażanych na 2,4-D podawany w paszy o stężeniu: 100; 500 i 1500 ppm, uzyskano łącznie 6 miotów. Jedynie po narażeniu na 2,4-D o stężeniu 1500 ppm mniejsza była masa ciała potomstwa i przeżywalność młodych zwierząt. Nie stwierdzono negatywnego wpływu 2,4-D na płodność samic i samców, a także wielkość miotu oraz rozwój fizyczny i przeżywalność młodych osobników w pozostałych grupach (*Hansen i in.* 1971).

Badania ludzi

Badania epidemiologiczne, których celem była ocena skutków narażenia zawodowego w zakresie zaburzeń reprodukcji u ludzi, obejmowały w znacznej liczbie przypadków narażonych na różne pestycydy, w tym także na kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy i jego pochodne. Dlatego przypisanie jakichkolwiek negatywnych skutków w takim złożonym narażeniu konkretnemu czynnikowi jest niemożliwe.

Jednakże w 1991 r. opublikowano pracę, której celem była ocena jakości nasienia 32 mężczyzn, stosujących 2,4-D do ochrony roślin w okresie 2 miesięcy i 25 mężczyzn z grupy kontrolnej. Do oceny narażenia mierzono stężenia 2,4-D w moczu i stwierdzono, że średnie stężenie wynosiło 9,02 mg/l. Ocena jakości nasienia ujawniła istotny wzrost liczby plemników nieprawidłowych, zniekształconych i martwych oraz zmniejszenie ich ruchliwości. Stwierdzone nieprawidłowości, oprócz wzrostu odsetka plemników zniekształconych, miały charakter przemijający i ustępowały po około 3 miesiącach. W analizie wyników uwzględniono ewentualny wpływ czynników zakłócających (*Lerda, Rizzi* 1991).

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie

Kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy ulega szybko wchłonięciu po podaniu go do przewodu pokarmowego, ale także wchłania się przez skórę i przez układ oddechowy. Maksymalne stężenie w surowicy osiąga w ciągu 10 i 20 min, odpowiednio po podaniu szczurom *per os* w dawce 0,4 i 1 mg/kg (*Pelletier i in.* 1989). Po przyjęciu przez człowieka dawki 5 mg/kg doustnie, maksymalne stężenie w surowicy stwierdzono po 4 h (*Sauerhoff i in.* 1977) lub jak podano w innym opracowaniu między 7. a 24. h po połknięciu (*Kohli i in.* 1974).

Zbadano różnice we wchłanianiu 2,4-D przez skórę królików, małą i ludzi ochotników. W tym celu znakowany ^{14}C 2,4-D naniesiono na skórę grzbietu królików, przedramiona i czoło małą oraz przedramiona czterech ochotników. Następnie przez 14 dni zbierano mocz i badano aktywność ^{14}C . Odsetek wchłoniętej dawki 2,4-D (roztworu w acetonie) wynosił u człowieka $6 \pm 2,4\%$, u małą – $15 \pm 10\%$ z przedramienia i $29 \pm 7,6\%$ z czoła oraz $36 \pm 10,9\%$ u królików (*Moody i in.* 1990).

W II części badań podano domięśniowo również znaczone ^{14}C 2,4-D i znów zbierano próby moczu od królików, małą i ludzi ochotników w celu oceny wydalania związku. Otrzy-

many znakowany ^{14}C porównano z inną niż nerki drogą wydalania ^{14}C , która była możliwa do uwzględnienia po podaniu domięśniowym ^{14}C 2,4-D. Łączny odsetek 2,4-D wydalonego z moczem po domięśniowym podaniu wynosił 100% u człowieka i królika oraz 93% u małpy (Moody i in. 1990).

Pięciu mężczyzn ochotników poddano narażeniu na 2,4-D, który nałożono jako roztwór acetonowy, w ilości 10 mg, na powierzchnię 9 cm^2 grzbietowej części przedramienia. Po 6 h narażenia zmyto wodą miejsca, na które były nałożone próby. Analizując próbki moczu zbierane przez 144 h, oceniono, że $4,46 \pm 0,85\%$ dawki wydalilo się z moczem, a średnio $5,35 \pm 0,38\text{ mg}$ pozostało niewchłonięte na skórze badanych (Harris, Solomon 1992). Postawiono hipotezę, że skóra może stanowić rezerwuuar, w którym być może gromadzi się 2,4-D.

Nie badano wchłaniania 2,4-D w drogach oddechowych ludzi w warunkach narażenia kontrolowanego. Jednakże, na podstawie wyników badań osób narażonych zawodowo na ten związek, wynika, że droga inhalacyjna nie stanowi istotnej drogi wchłaniania 2,4-D do organizmu człowieka (WHO 1984).

Rozmieszczanie

Kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy ma zdolność szybkiego, lecz nietrwałego wiązania się z białkami surowicy (Fang, Lindstrom 1980), a jego związki jako rozpuszczalne w wodzie szybko trafiają do różnych tkanek za pośrednictwem krwi (Sauerhoff i in. 1977). Po dożylnym podaniu szczurom 2,4-D w dawce 35 mg/kg, największe stężenia w tkankach stwierdzano po około 90 min. Jeśli stężenie w surowicy po 90 min od podania przyjąć za 100%, to po tym czasie 196% stężenia 2,4-D stwierdzono w nerkach, 31% – w płucach, 23% – w sercu, 20% – w wątrobie, 10% – w jądrach, 8% – w mięśniach i 2% – w mózgu (Elo i Ylitalo 1977; 1979).

Porównano kinetykę wchłaniania i zaniku 2,4-D zależnie od drogi podania związku. W tym celu na skórę grzbietu samców szczura naniesiono 10 mg/kg 2,4-D, innym zaś szczurom podano *per os* 0,4 lub 1 mg/kg. Największe stężenie związku we krwi i nerkach, niezależnie od drogi podania, stwierdzono po 30 min. Przez 1,5 h od podania *per os* rosło stężenie związku we krwi, mięśniach, wątrobie i nerkach. W ciągu 6 h większość podanej *per os* dawki była stwierdzana w tkankach. Wchłonięta przez zwierzęta dożołądkowa dawka 2,4-D prawie całkowicie została wydalona w ciągu 24 h. W okresie 1,5 h od aplikacji na skórę stężenia 2,4-D we krwi, mięśniach, wątrobie oraz nerkach wzrastały i między 2. a 8. h osiągnęły *plateau*. Wydalanie z moczem rosło wraz z upływem czasu od początku narażenia. Po 8 h od początku narażenia dermalnego stężenia 2,4-D w tkankach szczurów zaczęły się zmniejszać. Jedynie 10% dawki naniesionej na skórę możliwe było do stwierdzenia w narządach w okresie 72 h od naniesienia. Po 7 h od naniesienia na skórę 2,4-D miejsce kontaktu zmyto wodą i „odzyskano” w ten sposób około 63% naniesionej ilości związku (Pelletier i in. 1989).

U psów, którym podano dożołądkowo 220 mg/kg 2,4-D, maksymalne stężenie w surowicy (1075 ppm) stwierdzono po 5 h od podania. Natomiast po podaniu mniejszej dawki, wynoszącej 175 mg/kg – w moczu stwierdzono po dwóch godzinach 1792 ppm i było to stężenie maksymalne. W nerkach po podaniu tej samej dawki maksymalne stężenie 2,4-D, wynoszące 271 ppm, stwierdzono po 25 h od podania związku (Arnold i in. 1991).

Oceniono także rozmieszczenie 2,4-D znakowanego ^{14}C w pęcherzyku żółtkowym myszy i zdolność przenikania tego związku do płodu. Ciężarnym myszom podano 0,05 mg 2,4-D dożylnie i sekcjonowano zwierzęta po 5 i 20 min oraz 1,4 i 24 h po iniekcji. Ujawniono, że związek ten ma nieznaczną tendencję do gromadzenia się w pęcherzyku żółtkowym myszy, przenika do płodu i jest w ciągu 24 h całkowicie eliminowany z organizmu (Lindquist i Ullberg 1971).

Metabolizm

U ludzi kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy w większości nie ulega przemianom metabolicznym – jest wydalany z moczem, głównie w niezmienionej formie. Niekiedy niewielki odsetek dawki jest wydalany w formie sprzężonej z glicyną lub tauryną. Po dożołądkowym podaniu pięciu mężczyznom 2,4-D w dawce 5 mg/kg wydalono z moczem w ciągu 36 h 82,3% dawki w formie niezmienionej i około 12,8% dawki jako forma sprzężona (*Sauerhoff* i in. 1977).

U szczurów, którym 2,4-D podano jednorazowo do żołądka w dawce 200 mg/kg, w ciągu 3 pierwszych dni wydalono z moczem około 59% dawki jako niezmienione 2,4-D, natomiast 1,4% stanowiła forma sprzężona z glicyną oraz 1,4% forma sprzężona z tauryną (*Grunow, Böhme* 1974).

Wydalanie

Kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy jest głównie wydalany przez nerki z moczem. Po podaniu 50 mg/kg 2,4-D dożołądkowo szczurom, około 90% dawki uległo wydalaniu z moczem w ciągu 24 h (*Knopp, Schiller* 1992; *Pelletier* i in. 1989). U pięciu ochotników, którzy byli narażeni na związek drogą pokarmową i otrzymali 5 mg/kg 2,4-D, w ciągu 6 dni po narażeniu wydalano z moczem uległo $87 \div 100\%$ podanej dawki (*Sauerhoff* i in. 1977).

Eliminacja 2,4-D z osocza jest procesem pierwszorzędowym ze średnim okresem połowicznego zaniku 11,6 h. Okres połowicznego wydalania z moczem wynosił natomiast 17,7 h. Jak wynika z powyższych danych, 2,4-D należy do związków, które nie ulegają kumulacji w organizmie człowieka (*Sauerhoff* i in. 1977).

Wyznaczono półokres wydalania 2,4-D z moczem po domięśniowej iniekcji. Wynosi on 11 h u królików i 13 h u człowieka (WHO 1984).

U pięciu mężczyzn ochotników zbadano wydalanie 2,4-D z moczem po naniesieniu 10 mg na skórę przedramion. W ciągu 144 h u żadnego z badanych nie wydalono się cała ilość 2,4-D. W tym czasie około $84,8 \pm 2,55\%$ dawki wydalono z moczem ochotników; średni przybliżony półokres wydalania z moczem wynosił $39,5 \pm 8,1$ h (*Harris, Solomon* 1992).

Mechanizm działania toksycznego

Kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy należy do związków o niewielkiej toksyczności ogólnej. Prawdopodobny mechanizm miopatii wywołanej działaniem 2,4-D badano u szczurów, którym podawano do jamy otrzewnej 50 mg/kg tego związku przez 3 tygodnie. Stwierdzono, że po narażeniu włókna mięśniowe w większości wykazywały takie cechy zwyrodnienia, jak wakuolizacja i przerwanie ciągłości mikrofibryli. Stwierdzono także obecność gęstych elektronowo złogów ziarnistości obok linii Z i puste pęcherzyki w sarkoplazmie. Mikroanaliza rentgenowska wykazała, że depozyty zawierają złogi wapnia. Autorzy (*Dux* i in. 1977) uważają, że 2,4-D powoduje zmiany w rozmieszczeniu wapnia między triadą w mięśniach a białkiem mięśni – troponiną C. Gdy w triadach jest zatrzymywane dużo wapnia, dołącza się on do troponiny C, powodując długotrwały, a czasem nawet nieodwracalny wzrost aktywności układu aktyna-miozyna.

Mechanizm toksyczności 2,4-D oceniano, badając organizację cytoskeletonu, a zwłaszcza organizacji mikrotubul i mikrofilamentów. Narażano *in vitro* mysie limfocyty 3T3 na 2,4-D o stężeniu 2,21 mM. W czasie 20 h stwierdzono 50-procentowe zahamowanie syntezy DNA. Natomiast stężenia 2,5 mM powodowało znaczne uszkodzenie organizacji mikrotubul w postaci ich dużych sznurowatych zwojów. Autorzy (*Zhao, Chou* 1987) uważają, że nie doszło do upośledzenia syntezy białek, mimo że wystąpiły nasilone zaburzenia w budowie cytoskeletonu związane prawdopodobnie ze strukturalną zmianą i rozmieszczeniem mikrotubul i mikrofilamentów.

Zbadano także wpływ 2,4-D na metabolizm rozpuszczalnych kwaśnych fosforanów w mięśniach szkieletowych szczura. Szczurom podano do jamy otrzewnej 250 mg/kg 2,4-D, a po godzinie również do jamy otrzewnej podano 500 μ Ci radioaktywnego fosforanu. Nie stwierdzono włączania się aktywnego fosforu do frakcji nieorganicznych fosforanów w mięśniach. Natomiast znacznie mniejsze było przyłączanie znakowanego fosforu do frakcji organicznej rozpuszczalnej w kwasach. Autorzy (*Graff* i in. 1972) uważają, że w patogenezie zatrucia istotną rolę odgrywa proces fosforylacji oksydatywnej.

Ponieważ 2,4-D jest związkiem, który powoduje odwracalne opóźnienie rozwoju ssaków w następstwie narażenia matek, w celu wyjaśnienia mechanizmu tego zjawiska badano tworzenie 2,4-D-acetylokoenzymu A przez syntetazę acetylokoenzymu A i tworzenie 2,4-D-acetylocholinę przez cholinoacetylotransferazę łożyska. Acetylocholina odgrywa istotną rolę w transporcie aminokwasów w łożysku i rozwoju fizycznym płodu. Wyniki przeprowadzonego doświadczenia wskazują, że 2,4-D tworzy błędny przekąźnik cholinergiczny lub miejscowy hormon, który utrudnia działanie acetylocholinę w łożysku i może odgrywać pewną niekorzystną rolę w powstaniu zaburzeń rozwoju fizycznego płodu w następstwie narażenia na 2,4-D (*Rama-Satry* i in. 1995).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W wielu pracach opisano niekorzystny wpływ narażenia na pestycydy zarówno wówczas, gdy dotyczy to narażenia w procesie produkcji tych substancji, jak również, i to znacznie częściej, podczas ich stosowania. Często jednak nie są wymieniane nazwy związków, a używa się np. określeń – pestycydy stosowane w uprawach leśnych, polowych lub też określenia – pestycydy z grupy kwasu fenylooctowego. Dlatego też jest praktycznie niemożliwe omówienie ich wzajemnego współdziałania. Dość powszechnie był w przeszłości stosowany do celów militarnych, tzw. Agent Orange, który jest mieszaniną 1:1 2,4-D i 2,4,5-T (kwasu 2,4,5-trichlorofenylooctowego). Agent Orange był między innymi podejrzany o wywoływanie nowotworów mózgu u ludzi narażonych (np. u żołnierzy, narażanych podczas przebywania na terenach, gdzie stosowano ten środek). Przegląd piśmiennictwa na ten temat nie upoważnia jednak do potwierdzenia tej hipotezy (*Goetz* i in. 1994).

Mieszaniny dziesięciu powszechnie stosowanych pestycydów o różnym składzie (alachloru, aldrinu, atrazyny, 2,4-D, DDT, dieldrinu, endosulfanu, lindanu, parationu i toksafenu) indukują np. aktywność enzymów wątrobowych metabolizujących ksenobiotyki, co wykazano, badając mieszaniny tych związków na myszach narażanych dożołądkowo lub w wodzie do picia (*Chaturvedi* 1993).

Na podstawie wyników badania pracowników zakładu, gdzie produkowano pestycydy (2,4-D i 2,4,5-T), wykazano, że występują u nich pewne zaburzenia związane z upośledzeniem przewodnictwa w nerwach.

Spośród pięćdziesięciu pięciu badanych narażonych na te związki u 46% osób stwierdzono wymienione wcześniej zaburzenia, w porównaniu do 5% w grupie pracowników nienarażonych (*Singer* i in. 1982). Autorzy dodają w konkluzji, że oprócz wymienionych związków możliwe było również dodatkowe narażenie na dioksyny, towarzyszące temu procesowi produkcyjnemu.

2,4-D jako jeden z pestycydów znajduje się na listach czynników chemicznych, które zaburzają rozród u ludzi. Problemem jest jednak precyzyjne wskazanie, który to związek jest przyczyną zaburzeń rozrodu, gdyż w ocenie narażenia w przypadku badań epidemiologicznych brak często szczegółowego podania nazw związków, a podawana jest jedynie informacja, że były to pestycydy (*Curtis* i in. 1999; *Savitz* i in. 1994).

ZALEŻNOŚĆ EFEKTU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Zależność tę można prześledzić, analizując wyniki toksyczności podprzewlekłej i przewlekłej kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego. U szczurów, którym związek ten podawano w paszy przez 13 tygodni o stężeniach: 0; 15; 60; 100 i 150 mg/kg, stwierdzono zależny od dawki wzrost masy nerek oraz zmiany zwyrodnieniowe w grupach narażonych na 2,4-D o stężeniach 60 mg/kg paszy i większych. W grupach, otrzymujących dawki 100 i 150 mg/kg, występowały również efekty hepatotoksycznego działania 2,4 D. Podobną zależność efektu toksycznego od dawki 2,4-D stwierdzono w innym badaniu, w którym podawano ten związek przez 13 tygodni w paszy w dawkach: 0; 11; 15; 100 i 300 mg/kg. Uznano, że mniejsze dawki związku były dobrze tolerowane przez szczury, natomiast dawka 300 mg/kg powodowała mniejszy przyrost masy ciała, mniejsze spożycie paszy oraz zmiany histopatologiczne w narządach wewnętrznych.

Toksyczne działanie 2,4-D u szczurów narażonych przez rok na ten związek podawany w paszy w dawkach 5; 75 i 150 mg/kg m.c. wykazano jedynie u zwierząt, otrzymujących największe dawki związku. U zwierząt z tej grupy stwierdzono zmiany zwyrodnieniowe w rogówce.

U psów narażonych przez rok na 2,4-D w paszy, w dawkach: 0; 1; 5 i 75 mg/kg/dzień toksyczne działanie związku wykazano po dawkach 5 i 75 mg/kg, podczas gdy u narażonych na dawkę 1 mg/kg nie obserwowano takiego działania.

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

Istniejące wartości NDS

Wartości normatywów higienicznych kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3.

Wartości normatywne kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego w różnych państwach

Państwo/ organizacja/ instytucja	Rok ustalenia	Wartość NDS, mg/m ³	Wartość NDSch, mg/m ³	Dodatkowe uwagi	Piśmiennictwo
Australia	1990	10	–	–	ACGIH (suppl.)
Austria	1999	10	–	–	1999
Belgia	1993	10	–	–	RTECS 1999
Dania	1999	5	–	–	RTECS 1999
Finlandia	1993	10	20	Sk	RTECS 1999
Holandia	1993	10	–	–	RTECS 1999
Niemcy	1998	1 ^{a)}	5 (30 min 2 razy podczas zmiany)	C	RTECS 1999 <i>Greim</i> 1998
Polska	1993	7	20	–	DzU nr 79, 1998
Wlk. Brytania	1993	10	20 (10 min)	–	RTECS 1999
USA:					
– NIOSH	1988	10	–	–	ACGIH (suppl.)
– OSHA	1993	10	–	–	1999
– ACGIH	1999	10	–	A-4	

^{a)} – dotyczy normatywu dla 2,4-D, jego soli i estrów; A4 – związek nieklasyfikowany jako kancerogen dla ludzi. C – związek nie stwarza zagrożeń uszkodzeń zarodka lub płodu, jeśli zostanie zachowana wartość NDS; Sk – substancja wchłania się przez skórę.

Należy zaznaczyć, że normatywy ustalone przez: ACGIH, OSHA i NIOSH oraz w naszym państwie są normatywami dla samego kwasu 2,4-dichlorofenylooctowego (2,4-D), natomiast normatyw niemiecki, oprócz wartości 2,4-D, obejmuje również jego sole i estry. W Unii Europejskiej 2,4-D został zamieszczony na liście substancji, których normatywy higieniczne będą poddawane naukowej dyskusji (Health...1998).

Podstawy proponowanej wartości NDS

Na podstawie wyników badań doświadczalnych, a zwłaszcza danych o skutkach narażenia ludzi na 2,4-D, można uznać, że związek ten nie stwarza ryzyka istotnych zaburzeń zdrowia u narażonych. Obowiązujący dotąd w Polsce normatyw NDS, wynoszący 7 mg/m^3 , nie był przekraczany.

Proponuje się pozostawienie normatywu 2,4-D na dotychczasowym poziomie, tj. na poziomie 7 mg/m^3 i nieustalanie wartości NDSch, gdyż związek ten nie działa drażniąco i krótkotrwale przekroczenie wartości NDS nie wiąże się z wywołaniem istotnych skutków szkodliwych u narażonych.

Gdyby pozostawić wartość NDS na poziomie 7 mg/m^3 podczas 8-godzinnego dnia pracy, dawka wchłonięta przez człowieka (przy założeniu 100-procentowej absorpcji, 10 m^3 powietrza wdychanego w ciągu zmiany roboczej i masie ciała pracownika 70 kg) wynosiłaby:

$$D_w = \frac{7 \text{ mg/m}^3 \cdot 10 \text{ m}^3}{70 \text{ kg}} = 1 \text{ mg/kg} .$$

Dawka ta jest w większości wypadków mniejsza od wartości NOAEL dla różnych gatunków zwierząt narażanych przewlekle lub podprzewlekle i innych efektów toksycznych.

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

lek. BOŻENA NOWAKOWSKA
specjalista medycyny pracy
Instytut Medycyny Pracy
90-950 Łódź
ul. św. Teresy 8

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie; badania czynności wątroby w zależności od wskazań oraz badanie ogólne moczu w zależności od wskazań.

Zakres badań okresowych

Ogólne badanie lekarskie; badania czynności wątroby w zależności od wskazań oraz badanie ogólne moczu w zależności od wskazań.

Częstotliwość badań okresowych: 3 ÷ 4 lata.

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie; badania czynności wątroby oraz badanie ogólne moczu.

U w a g a

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

Narządy (układy) krytyczne

Wątroba i nerki.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przewlekłe choroby wątroby z niewydolnością wątroby oraz przewlekłe choroby nerek z niewydolnością nerek.

U w a g a

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy. O przeciwwskazaniach w przebiegu trwania zatrudnienia powinien decydować lekarz, przeprowadzający badania okresowe, biorąc pod uwagę wielkość i okres trwania narażenia zawodowego oraz stopień zaawansowania i dynamikę zmian chorobowych.

PIŚMIENNICTWO

Abbott I.M. i in. (1987) Worker exposure to a herbicide applied with ground sprayers in the United Kingdom. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 48, 2, 167-175.

ACGIH (1999a) Documentation of the threshold limit values. Ed. 6, Cincinnati.

ACGIH (1999b) Documentation of the threshold limit values. Ed. 6, suppl. Cincinnati.

Ahmed F.E., Hart R.W., Lewis N.J. (1977) Pesticide induced DNA-damage and its repair in cultured human cells. *Mutation Res.* 42, 161-174.

Andersen K.J., Leighty E.G., Takahashi M.T. (1972) Evaluation of herbicides for possible mutagenic properties. *J. Agric. Food. Hem.* 20, 649-656.

Arnold E.K. i in. (1991) 2,4-D Toxicosis II : a pilot study of clinical pathologic and electroencephalographic effects and residues of 2,4-D in orally dosed dogs. *Vet. Hum. Toxicol.* 33, 5, 446-449.

Bond G.G. i in. (1988) Cause of specific mortality among employees engaged in the manufacture, formulation, or packaging of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and related salts. *Br. J. Ind. Med.* 45, 98-105.

Bucher N.L.R. (1946) Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on experimental animals. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 63, 204-205.

Bullman T.E., Watanabe K.K., Kang H.K. (1994) Risk of testicular cancer associated with surrogate measures of Agent Orange exposure among Vietnam veterans on the Agent Orange Registry. *Ann. Epidemiol.* 4, 1, 11-16.

Charles J.M. i in. (1996) Chronic dietary toxicity/oncogenicity studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rodents. *Fundam. Appl. Toxicol.* 33, 2, 166-172.

Charles J.M. i in. (1996a) Comparative subchronic studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, amine, and ester in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 33, 2, 161-165.

Charles J.M. i in. (1996b) Comparative subchronic and chronic dietary toxicity studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, amine, and ester in the dog. *Fundam. Appl. Toxicol.* 29, 1, 78-85.

Charles J.M., Leeming N.M. (1998) Chronic dietary toxicity study on 2,4-dichlorophenoxybutyric acid in the dog. *Toxicol Sci.* 46, 1, 134-42.

Chaturvedi A.K. (1993) Toxicological evaluation of mixtures of ten widely used pesticides. *J. Appl. Toxicol.* 13, 3, 183-188.

Chernoff N. i in. (1990) Effects of chemically induced maternal toxicity on prenatal development in the rat. *Teratology.* 42 (6), 651-8.

Curtis K.M. i in. (1999) The effect of pesticide exposure on time to pregnancy. *Epidemiology* 10, 2, 112-117.

Dalager N.A. i in. (1995) Hodgkin's disease and Vietnam service. *Ann Epidemiol.* 5, 400-406.

2,4-Dichlorophenoxyacetic acid. Critical data evaluation for MAK values and classification of carcinogens (1992) [Red.] *Greim H.* Commission for the investigation of health hazards of chemical compounds in the work area. Weinheim, Wiley-Vch.

Drill V.A., Hiratzka T. (1953) Toxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid. *Ind. Hyg. Occup. Med.* 7, 61-67.

Dudley A.W., Thapar N.T. (1972) Fatal human Ingestion of 2,4-D, a common herbicide. *Arch. Pathol.* 94, 270-275.

Duffard R. i in. (1995) Developmental neurotoxicity of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Neurotoxicology* 16, 4, 764.

Dux E. i in. (1977) The possible cellular mechanism of 2,4-dichlorophenoxyacetate induced myopathy. *FEBS Letters* 82, 2, 219-222.

Elo H., Ylitalo P. (1979) Distribution of 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in male rats: evidence for the involvement of the central nervous system in their toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 51, 439-446.

Elo H., Ylitalo P. (1977) Substantial increase in the levels of chlorophenoxyacetic acids in the CNS of rats as a result of severe intoxication. *Acta. Pharmacol Toxicol.* 41, 280-284.

Fang S.C., Lindstrom F.T. (1980) In vitro binding of ¹⁴C-labeled acidic compounds to serum albumin and their tissue distribution in the rat. *J. Pharmacokinet Biopharm* 8, 583-591.

Faustini A. i in. (1996) Immunological changes among farmers exposed to phenoxy herbicides: preliminary observations. *Occup. Environ. Med.* 53, 9, 583-5.

Galloway S.M. i in. (1987) Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells: evaluation of 108 chemicals. *Environ. Mol. Mutagen.* 10, Suppl. 10, 1-175.

Goetz C.G., Bolla K.I., Rogers S.M. (1994) Neurologic health outcomes and Agent Orange: Institute of Medicine report. *Neurology* 44, 5, 801-809.

Gorzinski S.J. i in. (1987) Acute, pharmacokinetic, and subchronic toxicological studies of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Fundam. Appl. Toxicol.* 9, 3, 423-435.

Graff G.L.A., Guening C., Vanderkelen B. (1972) Influence of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D, a myotonizing agent, on the metabolism of acid-soluble phosphates in rat skeletal muscles. *Comptes rendus societe de biologie* 166, 11, 1565-1568 (cyt. za NIOSHTIC 1999).

- Grunow W., Böhme C.* (1974) Über den stoffwechsel von 2,4,5-T und 2,4-D bei ratten und mäusen. *Arch. Toxicol.* 32, 217-225.
- Guidotti T.L., Yoshida K., Clough V.* (1994) Personal exposure to pesticide among workers engaged in pesticide container recycling operations. *Am Ind Hyg. Assoc. J.* 55, 12, 1154-1163.
- Hansen W.H., Haberman R.T., Fitzhugh O.G.* (1971) Chronic toxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rats and dogs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 20, 122-192.
- Harris S.A., Solomon K.R.* (1992) Percutaneous penetration of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4-D dimethylamine salt in human volunteers. *J. Toxicol. Environ. Health.* 36, 233-240.
- Hay A., Tarrel J.* (1998) Mortality of power workers expose to phenoxy herbicides and polychlorinated biphenyls in waste transformer oil. *Health Occupational Exposure Limits, European Union, Official Publications of the European Communities, Luxembourg, Ann. N. Y. Acad. Sci.* 837, 138-56.
- Hill E.V., Carlisle H.* (1947) Toxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid for experimental animals. *J. Ind. Hyg. Toxicol.* 29, 2, 85-95.
- Hoar S.K.* i in. (1986) Agricultural herbicide use and risk of lymphoma and soft-tissue sarcoma. *J. Am. Med. Assoc.* 256, 1141-1147.
- HSDB (1999), (Komputerowa baza danych).
- IARC (1982) Chemicals, industrial processes and industries associated with cancer in humans. Lyon, International Agency for Research on Cancer, Monographs, suppl. 4.
- Innes J.R.M., Ulland B.M., Valerio M.G.* (1969) Bioassay of pesticides and industrial chemicals for tumorigenicity in mice. A preliminary note. *J. Natl. Cancer. Inst.* 42, 1101-1114.
- Janssen D. Renberg L.* (1976) Distribution and cytogenetic test of 2,4-D and 2,4,5-T phenoxy acetic acids in mouse blood tissue. *Chem. Biol. Interact.* 14, 291-299.
- Joksic G., Vidakovic A., Spasojevic-Tisma V.* (1997) Cytogenetic monitoring of pesticide sprayers. *Environ. Res.* 75, 2, 113-118.
- Jorens P.G.* i in. (1995) A 2,4-dichlorophenoxyacetic acid induced fatality. *Eur. J. Emerg. Med.* 2, 1, 52-5.
- Kappas A.* (1988) On the mutagenic and recombinogenic activity of certain herbicides in *Salmonella typhimurium* and in *Aspergillus nidulans*. *Mutation Res.* 204, 615-621.
- Knopp D., Schiller F.* (1992) Oral and dermal application of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid sodium and dimethylamine salt to male rats: investigations on absorption and excretion as well as induction of hepatic mixed-function oxidase activities. *Arch. Toxicol.* 66, 170-174.
- Knopp D.* (1994) Assessment of exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in the chemicals industry: results of five year biological monitoring study. *Occup. Environ. Med.* 51, 3.
- Knopp D., Glass S.* (1991) Biological monitoring of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-exposed workers in agriculture and forestry. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 63, 5, 329-33.
- Knopp D.* (1993) Assessment of exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in the chemical industry: results of a five year biological monitoring study. *Occup. Environ. Med.* 51, 152-159.
- Kohli J.D.* i in. (1974) Absorption and excretion of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in man. *Xenobiotica* 4, 97-100.
- Kolmodin-Hedman-B., Erne K.* (1980) Estimation of occupational exposure to phenoxy acid (2,4-D and 2,4,5-T). *Arch. Toxicol. Suppl.* 4, 318-321.
- Korte C., Jalal S.M.* (1882) 2,4-D induced clastogenicity and elevated rates of sister chromatid exchange in cultured human lymphocytes. *J. Hered.* 73, 224-226.

- Lerda D., Rizzi R.* (1991) Study of reproductive function in persons occupationally exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Mutation Res.* 262, 47-50.
- Libich S.* i in. (1984) Occupational exposure of herbicide applicators to herbicides used along electric power transmission line right-of-way. *Am. Ind. Hyg. Assoc.* 45, 1, 56-62.
- Lindquist N.G., Ullberg S.* (1971) Distribution of the herbicides 2,4,5-T and 2,4-D in pregnant mice accumulation in the yolk sac epithelium. *Experientia* 27, 12, 1439-1441.
- Linnainmaa K.* (1984) Induction of sister chromatid exchanges by the peroxysome proliferators 2,4-D NCPA, and clofibrate in vivo and in vitro. *Carcinogenesis* 5, 703-707.
- Mattsson J.L.* i in. (1997) Single-dose and chronic dietary neurotoxicity screening studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 40, 1, 111-119.
- Mattsson J.L., Eisenbrand D.L.* (1990) The improbable association between the herbicide 2,4-D and polyneuropathy. *Biomed. Environ. Sci.* 3, 1, 43-51.
- Moody R.P.* i in. (1990) Dermal absorption of the phenoxy herbicides 2,4-D, 2,4-D amine, 2,4-D isooctyl, and 2,4,5-T in rabbits, rats, rhesus monkeys, and humans: a cross-species comparison. *J. Toxicol. Environ. Health.* 29, 237-245.
- Mortelmans K.* i in. (1984) Mutagenicity testing of Agent Orange components and related chemicals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 75, 137-146.
- Morya M.* i in. (1983) Further mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assay systems. *Mutation Res.* 116, 185-216.
- Mustonen R.* i in. (1989) Effects of commercial chlorophenolate, 2,3,7,8-TCDD, and pure phenoxyacetic acids on hepatic peroxisome proliferation, xenobiotic metabolism and sister chromatid exchange in the rat. *Arch. Toxicol.* 63, 203-208.
- Mustonen R.* i in. (1986) Effects of phenoxyacetic acids on the induction of chromosome aberrations in vitro and in vivo. *Mutagenesis* 1, 241-245.
- NIOSHTIC (1999), (Komputerowa baza danych).
- Obwieszczenie ministra rolnictwa i gospodarki żywnościowej z dnia 31 marca 1998 r. w sprawie wykazu środków ochrony roślin dopuszczanych do obrotu i stosowania. *DzU MRiGŻ* nr 4, poz. 6.
- Paulino C.A.* i in. (1996) Acute, subchronic and chronic 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) intoxication in rats. *Vet. Hum. Toxicol.* 38, 5, 348-352.
- Paulino C.A., Palermo-Neto J.* (1995) Effects of acute 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on cattle serum components and enzyme activities. *Vet. Hum. Toxicol.* 37, 4, 329-332.
- Pavlica M., Papes D., Nagy B.* (1991) 2,4-dichlorophenoxyacetic acid causes chromatin and chromosome abnormalities in plant cells and mutation in cultured mammalian cells. *Mutat. Res* 263, 77-81.
- Pearce N.E., Smith A.N., Howard J.K.* (1986) *Non-Hodgkin's lymphoma* and exposure to phenoxyherbicides, chlorophenols, fencing work and meat workers employment: a case-control study. *Br. J. Ind. Med.* 43, 75-83.
- Pelletier O.* i in. (1989) Disposition of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid dimethylamine salt by Fischer 344, rats dosed orally and dermally. *J. Toxicol. Environ. Health.* 28, 221-234.
- Probst G.S.* i in. (1981) Chemically-induced unscheduled DNA synthesis in primary rat hepatocyte cultures: a comparison with bacterial mutagenicity using 218 compounds. *Environ. Mutagen.* 3, 11-32.
- Rama-Satry B.V., Clark C.P., Janson V.E.* (1995) Formation of 2,4-dichlorophenoxyacetylcholine (2,4-D-ACH) in human placenta and fetal growth retardation. *Neurotoxicology* 16, 4, 763.
- Rashid K.A., Mumma R.O.* (1986) Screening pesticides for their ability to damage bacterial DNA. *J. Environ. Sci. Health.* 21 319-334.

Rozporządzenie ministra pracy i polityki socjalnej z dnia 17 czerwca 1998 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU RP nr 79, poz. 513.

Rozporządzenie ministra zdrowia i opieki społecznej z dnia 21 sierpnia 1997 r. DzU Załącznik do nru 105, poz. 671.

RTECS (1999), (Komputerowa baza danych).

Salama A.K., Bakry N.N., Abou-Donia N.B. (1993) A review article on placental transfer of pesticides. *J. Occup. Med. Toxicol.* 2, 4, 383-9.

Sauerhoff M.W. i in. (1977) The fate of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) following oral administration to man. *Toxicology* 8, 3-11.

Savitz D.A., Sonnenfeld N.L., Olshan A.F. (1994) Review of epidemiologic studies of paternal occupational exposure and spontaneous abortion. *Am. J. Ind. Med.* 25, 3, 361-383.

Schop R.N., Hardy M.H., Goldberg M.T. (1990) Comparison of the activity of topically applied pesticides and the herbicide 2,4-D in two short-term in vivo assays of genotoxicity in the mouse. *Fundam. Appl. Toxicol.* 15, 666-675.

Sharma V.K., Kaur S. (1990) Contact sensitization by pesticides in farmers. *Contact Dermatitis* 23, 2, 77-87.

Shirasu Y. i in. (1976) Mutagenicity screening of pesticides in the microbial system. *Mutation Res.* 40, 19-30.

Singer R. i in. (1982) Nerve conduction velocity studies of workers employed in the manufacture of phenoxy herbicides. *Environ Res.* 29, 2, 297-311.

Steiss J.E., Braund K.G., Clark E.G. (1987) Neuromuscular effects of acute 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). Exposure in Dogs. *Neurolog. Sci.* 78, 3, 295301.

Sulik M. i in. (1998) Ultrastructural changes in rat hepatocytes in acute intoxication with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Rocz. Akad. Med. Białymst.* 43, 314-26.

Sulik M. i in. (1998) Fetotoxic effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in rats. *Rocz. Akad. Med. Białymst.* 43, 298-308.

TOXLINE (1999), (Komputerowa baza danych).

Turkula T.E., Jalal S.M. (1985) Increased rates of sister chromatid exchanges induced by the herbicide 2,4-D. *J. Hered.* 76, 213-214.

Waters N.D. i in. (1980) An overview of short-term tests for the mutagenic and carcinogenic potential of pesticides. *J. Environ. Sci. Health.* 15, 867-906.

WHO (1984) Environmental Health Criteria 29. 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Geneva, WHO.

Woods T.S., Polissar L., Severson R.K. (1987) Soft tissue sarcoma and *non-Hodgkin's lymphoma* in relation to phenoxyherbicide and chlorinated phenol exposure in Western Washington. *J. Natl. Cancer. Inst.* 78, 5, 899-910.

Zhao Y., Li W., Chou I.N. (1987) Cytoskeletal perturbation induced by herbicides, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T). *Toxicol. Environ. Health.* 20, 1-2, 11-26.

KRYSTYNA SITAREK

2,4-Dichlorophenoxyacetic acid

A b s t r a c t

2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and its amine salts or esters are used as herbicides. 2,4-D has moderately acute toxicity for mammals. Acute oral LD₅₀ values for rats are between 375 to 666 mg/kg b.w.

The available information has been inadequate for an assessment of the mutagenic activity and carcinogenic potential of 2,4-D. The Expert Group for Chemical Agents has established an 8-hour TWA value of 7 mg/m³. No STEL and BEI have been recommended.