



Wirkung von Nitrobenzol auf innere Organe unter Kältebedingungen

Kombinierende Arbeitsbedingungen, also toxische Substanz plus Kälte, kommen an zahlreichen Arbeitsplätzen vor und sind eigenständige schädigende Umweltfaktoren. Das in dieser Publikation verwendete Nitrobenzol findet eine breite Anwendung in der Industrie. Experimentelle Untersuchungen ergaben für Nitrobenzol eine toxische Wirkung, die durch Kälte verstärkt werden kann. Das Ziel der vorliegenden Studie war eine vergleichende morphologische Untersuchung der inneren Organe (Leber, Niere, Nebenniere, Milz und Schilddrüse) von Versuchstieren unter den experimentellen Bedingungen der thermischen Behaglichkeit und des Kältestresses.

Der Anwendungsbereich von verschiedenen Chemikalien und deren neuen Verbindungen erweitert sich nach wie vor. Tierexperimentelle Untersuchungen zur toxischen Wirkung der neuen Arbeitsstoffe oder deren Metaboliten auf verschiedene Organsysteme sowie die Ableitung der Erkenntnisse aus diesen Forschungsstudien auf die gesundheitliche Relevanz für den menschlichen Organismus haben weiterhin Interesse in der Arbeits- und Umweltmedizin im Sinne des Arbeitsschutzes für Beschäftigte an den entsprechenden Arbeitsplätzen.

Die Autoren I. Zavgorodnij und B. Thielmann haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen

Einen besonderen Platz der zu untersuchenden Chemikalien nimmt hier die Reihe von Nitroverbindungen ein. Insbesondere Nitrobenzol, das zur Gruppe der aromatischen Nitroverbindungen gehört, findet eine breite Anwendung in der Industrie für die Synthese von Farbstoffen, in der Pharmaindustrie bei der Herstellung von Arzneimitteln und anderen Verbindungen (z. B. Benzidin, Azobenzol) sowie in der Sprengstoffindustrie und bei der Herstellung von Pestiziden [1–3]. Während der Produktion von Nitrobenzol gelangen etwa 2 % dieser Substanz bzw. seiner Metaboliten in Abwässer, Atmosphäre, Grundwasserboden, was wiederum eine Gefährdung der Allgemeinbevölkerung darstellt [4] und ein wichtiges Thema für die Umweltmedizin bleibt. Des Weiteren dient Nitrobenzol als Lösungsmittel für Ester und Acetate [1], Schmieröl, Zusatz bei Sprengstoffen und Zündbeschleuniger für Dieselmotoren. Nitrobenzol und seine Verbindungen gehören zu den hochtoxischen Substanzen [5] und können schwere akute und chronische Vergiftungen, als Folge der Exposition am Arbeitsplatz, verursachen [3, 6–8]. Eine besondere Beachtung fällt der Untersuchung dieser Einwirkungen während der kalten Jahreszeit zu, d. h. experimentell unter den Bedingungen des Kältestresses.

Toxische Substanzen und Kälte an zahlreichen Arbeitsplätzen

Kombinierende Arbeitsbedingungen, also toxische Substanz plus Kälte, kommen an zahlreichen Arbeitsplätzen vor (z. B. Chemie-, Bau-, Verarbeitungsindustrie, Gas- und Erdölgewinnung). Explizit für Nitrobenzol können Verdunstungen in die Luft der Produktionsräume bei Syntheseprozessen, Verschmutzungen der Arbeitsgeräte und -kleidung sowie der Haut der Beschäftigten beschrieben werden [9].

Eigene experimentelle Untersuchungen zur Toxizität von Nitrobenzol unter thermischer Behaglichkeit und unter Kälte ergaben eine Gonadentoxizität von Nitrobenzol, welche sich unter Kälte verstärkt [9]. Folgende durch Nitrobenzol beschriebene ungünstige und pathologische Veränderungen des Blutbildes sind u. a. beschrieben: Met- und Sulfhämoglobinämie, Senkung des oxygenierten Hämoglobins, Erscheinung von Heinz-Blaukörpern [2, 10].

Nicht nur Nitrobenzol, sondern auch Kälte ist ein eigenständiger schädigender Umweltfaktor. Kältebedingungen führen zu Unterkühlungen und in der Folge zu Krankheiten, somit zur Minderung der Arbeitsfähigkeit [11–13]. Es kann einen Risikofaktor für Personen mit bestehenden chronischen Erkrankungen (z. B. Stenokardien, pulmonale und/oder kardiale Erkrankungen) darstellen [14]. Studien mit Abkühlung von homoiothermen

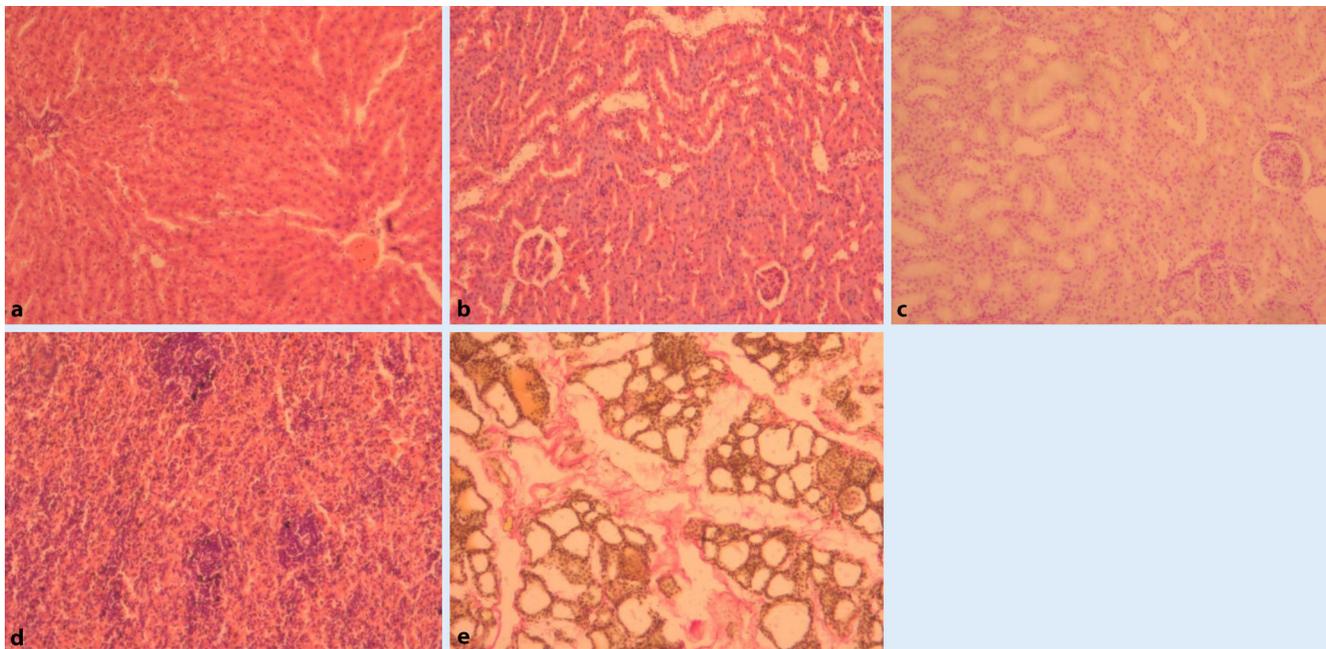


Abb. 1 ▲ Histologische Ergebnisse der Kontrollgruppe unter thermischer Behaglichkeit ($t = 25 \pm 2^\circ\text{C}$). **a** Die lobuläre Struktur der Leber, die blutgefüllten Zentralvenen und Lebersinusoiden sind sichtbar. **b** In der Nierenrinde sind die durch einen Querschnitt der proximalen Tubuli umgebenen Glomeruli von einheitlicher Größe. **c** Milde violette Farbintensität des Nierenepithels. DNA-Nachweis nach Feulgen und Rossenbeck. **d** In den dargestellten Milzfollikeln sind vorzugsweise T-Zonen erkennbar. **e** Die Schilddrüsenfollikel sind dicht zueinander benachbart, wenig Bindegewebe. (**a–d** HE-Färbung, Vergr. 1:200; **e** Elastica-Färbung nach van Gieson)

Tieren auf Temperaturen zwischen 2 bis 6 °C werden seit Jahrzehnten als adäquates Stressmodell anerkannt [15–23].

Für die Bewertung der Toxizität von Nitrobenzol unter den Bedingungen des Kältestresses ist es sehr wichtig, die im Organismus von Versuchstieren auftretenden pathologischen Veränderungen zu identifizieren. Dadurch werden das Verständnis der morphologischen und biochemischen Pathogenese erweitert und die zugrunde liegenden Mechanismen einer Intoxikation von Nitrobenzol auf den Organismus auch unter Berücksichtigung der kombinierten Wirkung mit Kälte erklärt.

Das Ziel der vorliegenden Studie war eine vergleichende morphologische Untersuchung der inneren Organe (Leber, Niere, Nebenniere, Milz und Schilddrüse) von den Versuchstieren unter den experimentellen Bedingungen der thermischen Behaglichkeit und des Kältestresses.

Material und Methoden

Das subakute toxikologische Labortierexperiment erfolgte an 24 geschlechtsreifen Ratten-Männchen des Stammes WAG. Das Gewicht der Laborversuchstiere lag zwischen 185 bis 210 g. Die Tiere wurden vorher 14 Tage lang einer Quarantäne unterzogen. Die Ratten wurden unter Standard-Vivarium-Bedingungen mit freiem Zugang zu Trinkwasser gehalten. Diese Versuchstiere wurden auf 4 Gruppen à 6 Einzeltiere aufgeteilt. Die Versuchstiere der Gruppe 1 wurden der Wirkung des Nitrobenzols in Kombination mit reduzierter Temperatur $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ausgesetzt. Die Versuchstiere der Gruppe 2 wurden nur der Einzelwirkung der reduzierten Temperatur $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ausgesetzt, d. h. sie sind eine Kontrollgruppe im Verhältnis zu den Versuchstieren der Gruppe 1. Die Versuchstiere der Gruppe 3 wurden der Wirkung des Nitrobenzols bei Temperatur $25 \pm 2^\circ\text{C}$ (Normaltemperatur der Außenwelt) ausgesetzt. Die Versuchstiere der Gruppe 4 waren eine Kontrollgruppe bei behaglicher Temperatur um $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Die Testgruppen 1

und 3 erhielten 30-mal eine Instillation von Nitrobenzol in den Magen mit der Dosis 1/10 LD50 (70 mg/kg des Tiergewichts). Die Tiere der Kontrollgruppen ($n = 12$) erhielten eine äquivalente Menge von Aqua destillata. Die Exposition der Tiere hinsichtlich der beiden thermischen Regimes erfolgte 4 Stunden lang 5-mal pro Woche, bei einer Dauer der Versuchsreihe von 6 Wochen. Diese experimentellen Studien wurden in der ersten Hälfte des Tages unter Berücksichtigung der zirkadianen Rhythmen ausgeführt [24]. Die Tiere befanden sich in einer Expositions-kammer, wo eine isolierte und freie Unterbringung möglich war. Zur Abkühlung der Temperatur auf 4°C verfügte jede Kammer über einen thermoelektrischen Kühler des „Luft-Luft“-Typs (Modell 180-24-ÅÅ, Firma Kriotherm, Sankt Petersburg in Russland; [25]). Am 30. Tag wurden die Versuchstiere kontrolliert und unter Narkose Gewebeproben von Leber, Milz, Nieren, Nebennieren, Hoden und Schilddrüsen entnommen. Das resultierende Material wurde bei 10%-wässriger Lösung aus neutralem Formalin fixiert.

Nach Abschluss der Verarbeitung mit Alkohol wurde das Material mit Paraffin verarbeitet, wonach die Serienschnitte ($4\text{--}5 \times 10^{-6}$ m dick) hergestellt wurden. Die mit Hämatoxylin und Eosin gefärbten Präparate wurden für eine allgemeine Bewertung des Zustands des Gewebes und eine morphometrische Studie verwendet. Die Gewebefärbung in Kombination der van-Gieson-Färbung mit der Elastika-Färbung nach Weigert wurde für Identifizierung und Differenzierung von bindegewebigen Strukturen verwendet. Für die Bewertung der funktionellen Aktivität von Strukturkomponenten der Organe wurde ein Komplex von histochemischen Techniken angewendet. DNA wurde nach Feulgen und Rossenbeck (Kontrolle mittels Hydrolyse mit HCl) aufgezeigt. RNA wurde nach Brachet-Färbung (Kontrolle mittels kristalliner Ribonuclease) dargestellt. Neutrale Mukopolysaccharide wurden nach Hotchkiss-MacManus-Reaktion (Kontrolle mittels Amylase) nachgewiesen. Die Mikropräparate wurden mit dem Mikroskop „Olympus“ BX-41 untersucht und dann durch Videomikroskopie fotografiert.

Die Untersuchungen wurden an Versuchstieren an der Nationalen Medizinischen Universität in Charkow auf Basis von Standards der Pflege und Fütterung durchgeführt. Diese Standards wurden von den Grundsätzen des „Europäischen Übereinkommens zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Wirbeltiere“ (Council of European; [26]) und den Vorschriften des ersten Nationalen Kongresses für Bioethik [27] bestimmt. Die histologischen Techniken wurden basierend auf den durch die Leitlinien für die histologische und histochemische Technik festgelegten Vorschriften durchgeführt [28–31]. Diese Arbeiten sind zwar sehr alt, jedoch nach wie vor gültig.

Ergebnisse

Kontrollgruppe 4 unter thermischer Behaglichkeit bei $25 \pm 2^\circ\text{C}$

Die Untersuchung der inneren Organe von den Versuchstieren in der Kontrollgruppe unter thermischer Behaglichkeit

Zbl Arbeitsmed DOI 10.1007/s40664-017-0217-x
© Springer Medizin Verlag GmbH 2017

I. Zavgorodnij · B. Thielmann · W. Kapustnik · R. Batschinskij · I. Böckelmann

Wirkung von Nitrobenzol auf innere Organe unter Kältebedingungen

Zusammenfassung

Hintergrund und Ziel der Arbeit. Bestimmte Arbeitsplätze weisen eine Kombination von Schadstoffexposition und Kälte auf. Es gibt Hinweise, dass Nitrobenzol zelltoxisch ist. Ziel dieser Studie war es, die toxische Wirkung von Nitrobenzol auf Organe wie Leber, Niere, Nebenniere, Milz und Schilddrüse zu untersuchen.

Material und Methoden. Diese Experimente erfolgten an 24 geschlechtsreifen männlichen Ratten des Stammes WAG. Jeder Versuchsgruppe (2×6 Tiere) wurde insgesamt 30-mal Nitrobenzol (70 mg/kg des Tiergewichtes) an 5 Tagen pro Woche und 6 Wochen lang in den Magen eingeleitet. Die Tiere der Kontrollgruppe (2×6 Tiere) erhielten eine äquivalente Menge Aqua destillata. Die Tiere wurden für 4 h Temperaturen der thermischen Behaglichkeit ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) oder der Kälte ($4 \pm 2^\circ\text{C}$) ausgesetzt. Nach einer 30-tägigen Rekonvaleszenzzeit wurden die

Daten neu erhoben, um der Fragestellung der Reversibilität nachzugehen.

Ergebnisse. Die Nitrobenzolwirkung führte in beiden Versuchsgruppen zu strukturellen Veränderungen in den untersuchten Organen, die jedoch nur bei der Versuchsgruppe unter Kälte irreversibel und schwerwiegender waren. Beispielsweise fanden sich Hinweise auf eine akute Hepatitis, aktivierte Immunreaktionen in Milz und Schilddrüse und Glomerulonephritis.

Diskussion. Es konnte im Tierversuch eine verstärkte und irreversible ubiquitäre zelltoxische Wirkung von Nitrobenzol unter Kältebedingungen nachgewiesen werden. Somit können die histologisch untersuchten Organe als Zielorgane für die toxische Wirkung von Nitrobenzol betrachtet werden.

Schlüsselwörter

Nitrobenzol · Kombinationswirkung · Kälte · Innere Organe · Tierexperiment

Effects of nitrobenzene on internal organs under cold conditions

Abstract

Background and objectives. Certain workplaces show a combination of pollutant exposure and cold. There are indications that nitrobenzene is cytotoxic. The aim of this study was to investigate the toxic effects of nitrobenzene on organs, such as the liver, kidneys, adrenal, spleen and thyroid gland.

Material and methods. These experiments were performed on 24 sexually mature male WAG rats. In each experimental group (2×6 animals), nitrobenzene was introduced $30 \times$ (70 mg/kg of animal body weight) into the stomach 5 days per week for 6 weeks. The animals of the control group (2×6 animals) received an equivalent amount of distilled water. The animals were exposed to either thermal comfort ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) or cold conditions ($4 \pm 2^\circ\text{C}$) for 4 h. After a 30-day recovery period, the data were re-evaluated to investigate the question of reversibility.

Results. The effects of nitrobenzene in both experimental groups led to structural changes in the investigated organs; however, the structural changes were irreversible only in the experimental group under cold conditions. For example, there was evidence of acute hepatitis, activated immune responses in the spleen and thyroid gland and glomerulonephritis.

Conclusion. The results of the animal experiments demonstrate an irreversible cytotoxic effect of nitrobenzene under cold conditions. Thus, the histological examination of organs can be considered as a target for the toxic effects of nitrobenzene.

Keywords

Nitrobenzene · Combination effect · Cold · Internal organs · Animal experiment

($t = 25 \pm 2^\circ\text{C}$) zeigte eine unregelmäßige Blutstase, eine hohe Aktivität aller Funktionskomponenten, ein ausreichendes Maß an Stoffwechsel- und Syntheseprozessen und regenerative Vorgänge. Dies wurde von den oben aufgeführ-

ten morphologischen und histologischen Methoden bestätigt. In **Abb. 1** sind histologische Merkmale der Organstrukturen Leber, Niere und Milz dargestellt.

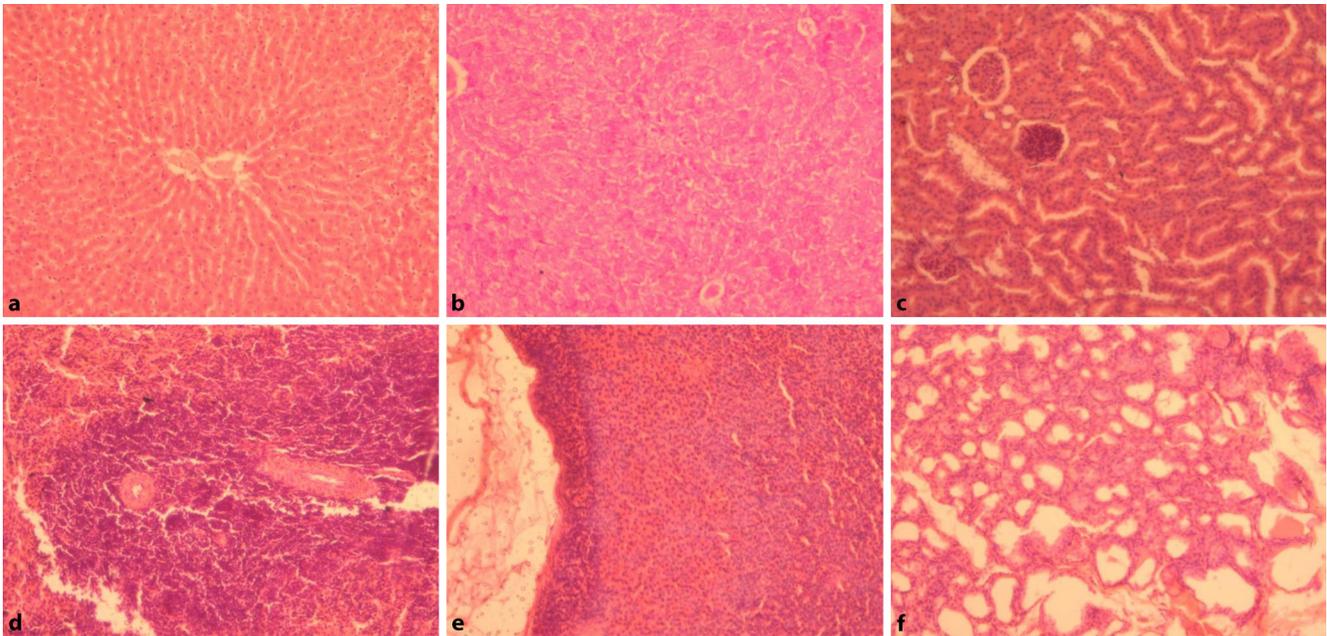


Abb. 2 ▲ Histologische Ergebnisse der Kontrollgruppe unter Kälteexposition bei $4 \pm 2^\circ\text{C}$. **a** Die lobuläre Struktur der Leber mit hepatischen Trabekeln, die durch Sinusoide voneinander getrennt sind. Blutgefüllte Zentralvenen (HE-Färbung, Vergr. 1:200). **b** Rotviolette Glykogen-Depots im Zytoplasma der Hepatozyten (PAS-Reaktion, Vergr. 1:200). **c** Die Lumina der proximalen Tubuli sind verengt. Das Zytoplasma der epithelialen Tubuli ist ödematös, intensiv eosinophil und mit ausgeprägtem Kerncharakter (HE-Färbung, Vergr. 1:200). **d** Große und mittlere Lymphfollikel der weißen Milzpulpa haben klar definierte breite T- und B-Zonen (HE-Färbung, Vergr. 1:200). **e** Zona reticularis, Zona glomerulosa und Zona fascicularis mit leicht vakuolisierendem Zytoplasma (HE-Färbung, Vergr. 1:200). **f** Das Parenchym der Schilddrüsenfollikel hat mittelgroße Follikel. In den subkapsulären Abteilungen sind die Gruppen von großen Follikeln erkennbar. Es gibt eine lobuläre Proliferation von extra Follikel epithel (HE-Färbung, Vergr. 1:200)

Kontrollgruppe 2 unter Kälteexposition $4 \pm 2^\circ\text{C}$

Die morphologische Untersuchung der inneren Organe von den Versuchstieren, die Kälte als Stressor ($t = 4 \pm 2^\circ\text{C}$) ausgesetzt waren, zeigte eine Verminderung der lipidhaltigen Zellen mit deren säulenartigen Struktur in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde sowie einen Rückgang von *Energiereserven*, wie z. B. Glukose und Enzymen in der Leber. Diese Veränderungen in den Organen entsprechen einer funktionellen Mehrbelastung, die der Körper aufgrund der Kälteexposition hatte. Diese Veränderungen waren reversibel. Die histologische Darstellung der Organstrukturen ist in **Abb. 2** erkennbar.

Versuchsgruppe 3 unter thermischer Behaglichkeit bei $25 \pm 2^\circ\text{C}$

Die morphologische Untersuchung der inneren Organe von den Nitrobenzol ausgesetzten Versuchstieren unter Tempe-

raturen der thermischen Behaglichkeit bot folgende histologische Veränderungen (**Abb. 3**): vorhandene typische Lobuli hepatis. Die Anzahl der Kupfer-Zellen nahm ab, die teilweise pyknotische Kerne aufwiesen. Die histologischen Veränderungen in den Kupfer-Zellen führten zu einer Verringerung der Phagozytoseaktivität und der Hemmung der Clearing-Funktion. Das Zytoplasma der Hepatozyten bot Anzeichen von hydrophischer Dystrophie und war stellenweise deutlich vakuolisiert. Es gab Anzeichen von Hepatozyten mit fettgewebigem Umbau. In einigen Fällen kamen Zeichen dystrophischer Veränderungen mit einer gleichzeitigen fokalen Zytolyse von Hepatozyten vor. Polypleide Hepatozyten waren selten, was einer Reduktion der proliferativen Aktivität im Organ entsprach. Des Weiteren fand sich eine vermehrte Apoptose der Hepatozyten. Einige Hepatozyten wiesen Phänomene der Margination von Chromatin auf, was als morphologisches Äquivalent

einer Vorstufe der Apoptose betrachtet werden kann.

Bei den histologischen Untersuchungen der Niere der Versuchsgruppe 3 fanden sich Veränderungen im Sinne einer toxisch bedingten mesangioproliferativen Glomerulonephritis in Kombination mit einer interstitiellen Nephritis. Im Epithel der Nierentubuli waren lokale nekrotische Veränderungen ohne Anzeichen von Tubulorhexis erkennbar. Das implizierte die Möglichkeit der Regeneration des Epithels unter der Beendigung des schädlichen Faktors.

In der Milz war eine Hyperplasie der weißen Pulpa und Makrophagen- und Plasmazellreaktion als Folge einer Antigenexposition erkennbar.

Die morphologische Untersuchung der Nebennieren von den Versuchstieren der Gruppe 3 zeigte, dass eine poröse glomeruläre Zone mit schmalem und vermindertem eosinophilen Zytoplasma sowie dunklen hyperchromatischen Nuclei vorhanden war. Es fanden sich Zellen mit leicht vakuolisiertem Zytoplas-

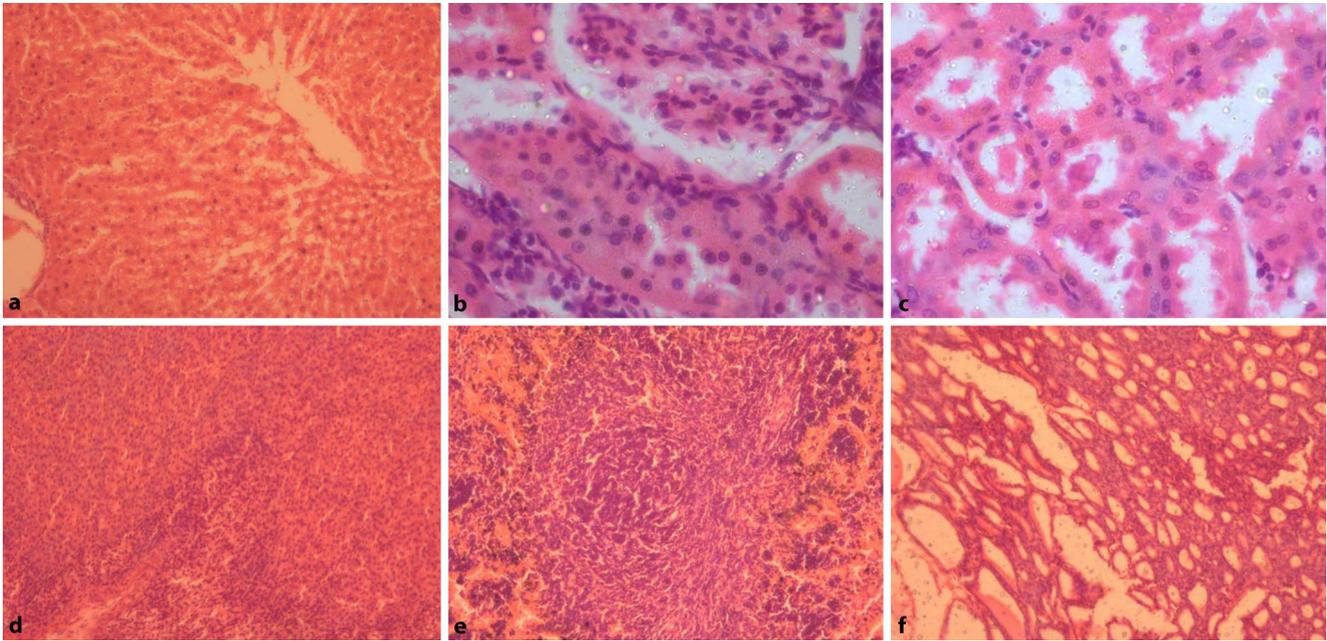


Abb. 3 ▲ Histologische Ergebnisse der Wirkung des Nitrobenzols bei thermischer Behaglichkeit ($t = 25 \pm 2^\circ\text{C}$) **a** Das Zytoplasma von Hepatozyten zeigt hydropische Dystrophie und Fettdystrophie (HE-Färbung, Vergr. 1:200). **b** In den Nierenglomeruli ist die Proliferation von den mesangialen Zellen und den Endothelzellen deutlich erkennbar. In den Lumina der Kapillaren werden die neutrophilen Granulozyten identifiziert (HE-Färbung, Vergr. 1:400). **c** Das Zytoplasma der epithelialen Nierentubuli hat die Anzeichen von Tröpfchen bei hyaliner Dystrophie. In den Lumina der Tubuli sind Proteinansammlungen identifiziert worden (HE-Färbung, Vergr. 1:400). **d** Kleine Gruppe von inaktiven Zellen mit dunklen hyperchromatischen Nuclei und eosinophilem Zytoplasma überwiegen in den Nebennieren (HE-Färbung, Vergr. 1:200). **e** Große und mittlere Lymphfollikel mit breiten T- und B-Zonen dominieren in der weißen Milzpulpa (HE-Färbung, Vergr. 1:200). **f** Die Wände der Schilddrüsenfollikel zeigen abgeflachtes Epithel und eine Proliferation des Bindegewebes (HE-Färbung, Vergr. 1:100)

ma im Sinne einer reduzierten Aktivität der Zona glomerulosa. Die Zellen der Zona reticularis waren breiter, hypovoläm und mit dunklen Nuclei.

In der Schilddrüse nahm die Proliferation des Follikel epithels von B- und C-Zellen zu. Es waren Zeichen einer lokalen Autoimmunthyreoiditis erkennbar. Die histochemischen Reaktionen auf DNA und RNA waren durch eine moderate Farbintensität gekennzeichnet.

Versuchsgruppe 1 unter Kälteexposition $4 \pm 2^\circ\text{C}$

Die Wirkung von Nitrobenzol unter Kältestress führte zu einer stärkeren dystrophischen und nekrotischen Veränderung in der Leber in Kombination mit einer erhöhten Apoptose und Schwächung der Regenerationsfähigkeit des Organs. Die typische lobuläre Struktur der Leber fand sich nur in einem Drittel der histologischen Beobachtungen. In den anderen Hepatozyten bot sich eine inhomogene Struktur mit deutlicher Abnahme der

Kupfer-Zellen mit überwiegend pyknotischem Kern. In zwei Drittel der histologischen Beobachtungen waren degenerative Veränderungen mit fokaler Zytolyse der Hepatozyten nachweisbar. Außerdem konnten deutliche Anzeichen einer erhöhten Apoptoserate der Hepatozyten dargestellt werden. Die entzündlichen Veränderungen in der Leber konnten als Manifestation einer aktiven Hepatitis angesehen werden. Die histologischen Veränderungen aller Organstrukturen sind **Abb. 4** zu entnehmen.

Dystrophische und nekrotische Veränderungen waren in den Nieren stärker erkennbar. Es fand sich ein Bild einer mesangioproliferativen Glomerulonephritis mit tubulointerstitiellen Veränderungen. Außerdem waren in den Tubuli Nekroseareale mit Zeichen einer Tubulorhexis im Sinne einer irreversiblen Schädigung der Nierentubulikomponenten nachweisbar.

In allen Schichten der Nebenniere war deutlich eine Zelldegeneration beobachtet worden.

Histologische Untersuchungen der Milz dieser Versuchsgruppe wurden durch Hyperplasie und verstärkte Makrophagen- und Plasmazellreaktionen charakterisiert, was im Sinne einer Aktivierung von Immunreaktionen geschah. Eine Reihe von Beobachtungen zeigte das Vorkommen von eher kleinen Follikeln, die Depletion der B-Komponente und die Proliferation von noch nicht ausreichend differenziertem Gewebe in den B-Zonen. Dies war jedoch nicht bei den Tieren der Versuchsgruppe 3 (Nitrobenzolbelastung unter thermischer Behaglichkeit) nachweisbar.

In der Schilddrüse waren eine verstärkte Proliferation des Follikel epithels (B- und C-Zellen) und die lokale lymphoplasmazelluläre Infiltration von Stromata des Organs erkennbar. Die histochemischen Farbreaktionen von DNA und RNA waren deutlich reduziert.

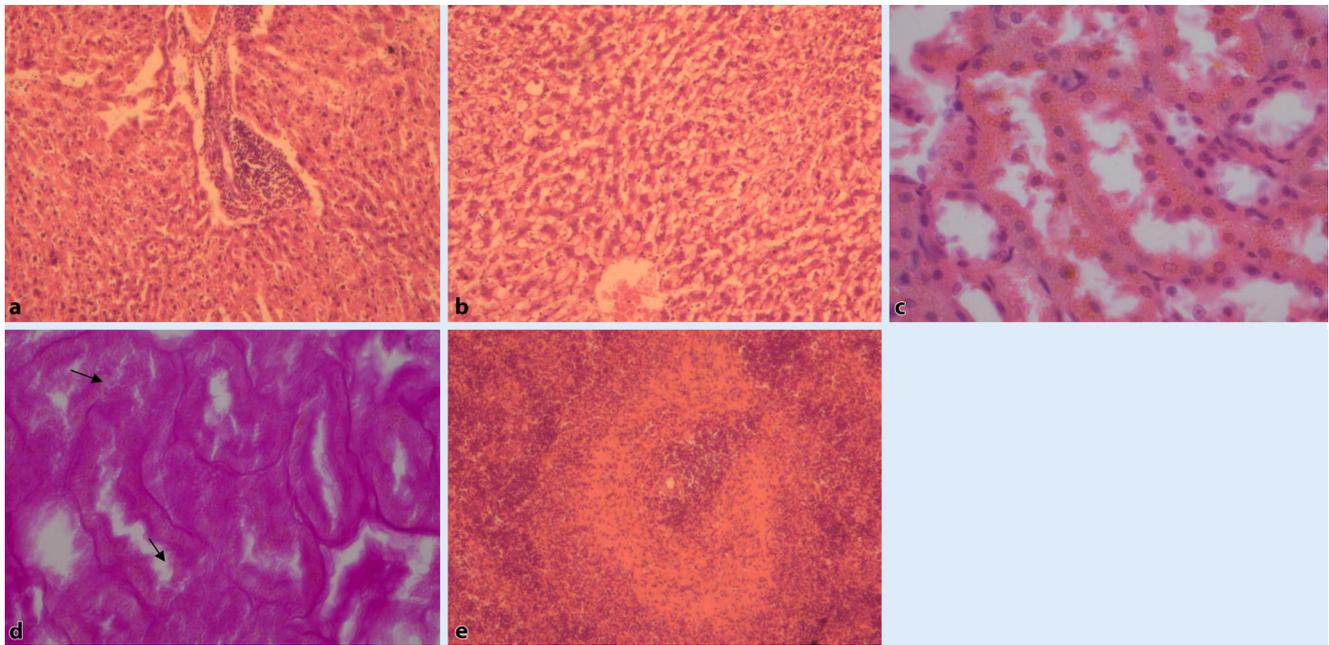


Abb. 4 ▲ Histologische Ergebnisse der Wirkung des Nitrobenzols unter Kälteexposition bei $4 \pm 2^\circ\text{C}$. **a** Das Bindegewebe der Portalfelder zeigt Zellinfiltration von Lymphozyten, Plasmazellen und neutrophilen Granulozyten (HE-Färbung, Vergr. 1:200). **b** Degenerative Veränderungen in Hepatozyten sind mit fokaler Zytolyse kombiniert (HE-Färbung, 1:200). **c** Das Zytoplasma der epithelialen Tubuli ist intensiv eosinophil, ödematös und mit Anzeichen der hyalinen Tröpfchendegeneration. Einige Tubuli zeigen Anzeichen von Nekrose (HE-Färbung, 1:400). **d** Fokale Tubulorhexis der Nierentubuli: fokale Zerstörung der Basalmembran (Pfeile; PAS-Reaktion, Vergr. 1:400). **e** Depletion der B-Komponente. Die rote Pulpa ist dickzellulär mit Anzeichen vieler Gruppen von T-Lymphozyten (HE-Färbung, Vergr. 1:200)

Diskussion

Nitrobenzol ist eine toxische, aromatische und organische Nitroverbindung. Diese Substanz ist möglicherweise krebserregend. Der BAT-Wert liegt bei $100 \mu\text{g/l}$ [32]. Die Wirkung von Nitrobenzol ist u. a. akut toxisch bei oraler und inhalativer bzw. dermalen Exposition. Eigene Untersuchungen [9] konnten bereits eine gonadentoxische Wirkung von Nitrobenzol zeigen, welche sich unter gleichzeitiger Kälteexposition verstärkt. Eine PubMed-Recherche zu „nitrobenzene“ und „workplace“ ergab ein geringes Suchergebnis von 4. Die letzte Arbeit wurde 2009 veröffentlicht. Dabei handelte es sich um Analyse- und Nachweisverfahren u. a. für Nitrobenzol. Ergänzt man die Suchanfrage um „cold“ fanden sich keine Arbeiten. Daher sehen wir die arbeits- und umweltmedizinische Bedeutung, mehr Aufmerksamkeit der kombinierten Exposition von toxischen Substanzen unter Kältebedingungen zu widmen.

In der hier vorgestellten Publikation, die sich mit der toxischen Wirkung

von Nitrobenzol sowohl unter Kältebedingungen als auch unter thermischer Behaglichkeit beschäftigt, konnten Destruktionen und Funktionsverlust von verschiedenen Organgeweben (Leber, Niere, Nebenniere, Milz und Schilddrüse) gezeigt werden. Geringe und potenziell reversible Strukturveränderungen konnten unter Temperaturen der thermischen Behaglichkeit nachgewiesen werden. Jedoch boten sich unter Kälte schwerwiegende Veränderungen und Funktionsverlust und erhöhte Apoptoserate, die irreversibel waren. In der Leber waren entzündliche Veränderungen im Sinne einer akuten Hepatitis nachweisbar. Des Weiteren zeigten die histologischen Untersuchungen das Bild einer mesangioproliferativen Glomerulonephritis mit Anteilen von tubulointerstitiellen Veränderungen. In der Nebenniere fanden sich deutliche Zelldegenerationen. Eine Aktivierung von Immunreaktionen und unreife B-Zellzonen waren in der Milz von Bedeutung. Ähnliche Immunreaktionen konnten in der Schilddrüse gefunden werden durch

fokale lymphoplasmazelluläre Infiltration im Stroma des Organs.

Es ist durchaus denkbar, dass die hier vorgestellten Untersuchungsergebnisse auf den Menschen übertragbar sind. Bedeutend ist dies vorrangig für die Exposition am Arbeitsplatz. Nitrobenzol wird u. a. in p-Aminophenol und p-Nitrophenol (Vergleich Ratten und Mäuse: σ -Aminophenol bzw. m-Nitrophenol) verstoffwechselt. Des Weiteren wurden bei Ratten und Mäusen zwei unbekannte Metaboliten gefunden [33].

Unsere Studie unterstreicht die Bedeutung von Nitrobenzol als ubiquitärem Organtoxin. Die Exposition von Nitrobenzol bedingt, v. a. unter Kältebedingungen, eine bedeutsame vollständige und irreversible Zerstörung der Organstrukturen von Leber, Niere, Nebenniere, Milz und Schilddrüse.

Fazit für die Praxis

- Nitrobenzol kommt an verschiedenen Produktionsstätten vor und hat arbeitsmedizinische Relevanz.

- Nitrobenzol kann ubiquitär zelltoxisch wirken.
- Es sind weitere Studien mit höheren Fallzahlen von Tieren pro Gruppe erforderlich.
- Im Tierversuch wird die Schadstoffwirkung unter Kälteeinfluss verstärkt.
- Um zu klären, ob dieser Effekt auch auf Menschen zu übertragen wäre, bedarf es weiterer Forschungsstudien.

Korrespondenzadresse

Dr. B. Thielmann

Bereich Arbeitsmedizin, Medizinische Fakultät,
Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg
Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg,
Deutschland
beatrice.thielmann@med.ovgu.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. I. Zavgorodnij, B. Thielmann, W. Kapustnik, R. Batschinskij und I. Böckelmann geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Alle im vorliegenden Manuskript beschriebenen Untersuchungen an Tieren wurden mit Zustimmung der zuständigen Kommission durchgeführt. Es liegt eine Genehmigung für die beschriebenen Tierexperimente vor.

Literatur

1. ATSDR (1990) Toxicological profile for Nitrobenzene. Agency for Toxic Substances and Disease Registry U.S. Public Health Service, Atlanta GA
2. Wasilenko NM (1980) Toxicology of aromatic amines and nitro compounds of the benzene series – products of the aniline-making industry [Toksikologiya aromatitscheskikh aminow i nitrosoedinenii bensolnogo ryada – produktow anilinokrasotschnoi promyschlennosti]. Dissert. Kiev. 14.00.07 „Gigiena“
3. Bundschuh M, Klingelhöfer D (2013) Nitrobenzol: Übersicht zu einem aktuellen Störfall. *Zentralbl Arbeitsmed* 63:232–233
4. EPA (2009) Toxicological Review of Nitrobenzene (CAS No. 98–95–3). U. S. Environmental Protection Agency, Washington DC
5. Kurljandskij BA, Sidorov KK (1996) Potent poisonous substances: concepts, meaning and expediency (Silnodeistwujutschie yadovitye wetschestwa (SDJaW): ponjatiya, smysl, tselesoobrasnost). *Toxicol Bull* 4:2–4
6. Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie (2000) Toxikologische Bewertungen. Nr. 74. M-Chlornitrobenzol. Ausgabe 11. BG RCI, Heidelberg, S0937–4248
7. Nitrobenzol. GESTIS-Datenbank [http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_de/015890.xml?f=templates&fn=default-doc.htm\\$3.0](http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_de/015890.xml?f=templates&fn=default-doc.htm$3.0). Zugegriffen: 7. Juli 2017
8. Roth (2016) Sicherheitsdatenblatt gemäß Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 (REACH), geändert mit 2015/830/EU Nitrobenzol D5. https://www.carlroth.com/downloads/sdb/de/9/SDB_9914_DE_DE.pdf. Zugegriffen: 7. Juli 2017
9. Zavgorodnij I, Thielmann B, Kapustnik W, Batschinskij R, Böckelmann I (2014) Toxizität von Nitrobenzol auf männliche Gonaden von Ratten unter Kältebedingungen. *Umweltmed Hyg Arbeitsmed* 19(3):301–310
10. Zavgorodnij IW, Batschinskij RO, Grabovetskaja EP, Zavgorodnjaja NI (2007) Features of toxicodynamics of nitrobenzene at its combined action with low temperatures (Osobennosti toksikodinamiki nitrobensola pri ego sotschetannom deistwii s niskimi temperaturami). *Ukr J Occup Health Probl* 1(9):24–30
11. Afanaseva RF, Burmistrowa OV (2001) Cold stress and its prophylaxis (Kholodowoi stress i ego profilaktika). *Med Tr Prom Ekol* 8:10–15
12. Mitschuk NE (2006) Hypothermia. [Kholodowaja bolesn (gipotermiya)]. *Med Neotlozhnykh Sostoyan* 4(5):20–28
13. Soldak II, Maksimovitsch WA, Brjukhanova ST (2006) Increased physiological resistance of industrial workers to cold (Powyschenie fiziologitscheskoi ustoitschivosti promyschlennykh rabotschikh k kholodu). *Westnik Gigieny Epidemiol* 10(1):144–145
14. Collins KJ (1998) Cold stress and cardiovascular reactions. *Problems with cold work. Arbetslivsinstitutet* 18:166–171
15. Piven NV, Pevzner LZ (1972) Effect of cold stress on the RNA content of spinal cord motor neurons and their glial satellite cells. (Wliyanie kholodowogo stressa na sodержanie RNK w motoneironakh spinnoogo mosga i ikh glialnykh kletkakh-satellitakh). *Dokl Akad Nauk SSSR* 206(1):250–253
16. Isaakian LA, Maslennikova LS, Ol'nianskaia RP, Trubitsyna GA (1973) Some parameters of oxygen metabolism in the body and tissues of animals adapting to cold. (O nekotorykh parametrakh kislorodnogo obmena w organosme i tkanjakh u zhivotnykh pri adaptatsii k kholodu). *Fiziol Zh SSSR Im IM Sechenova* 59(11):1742–1749
17. Bondarenko TI, Krichevskaja AA, Scheikina IV, Kiriukhina EV (1990) The effect of the delta-sleep peptide on the adrenaline level in rat tissues under normal conditions and during cold stress. (Wliyanie peptida delta-sna na sodержanie adrenalina w tkanyakh krysa w norme i pri deistwii kholodowogo stressa). *Ukr Biokhim Zh* 62(5):34–38
18. Perepechaeva ML, Sidorova YA, Grishanova AY (2006) Effect of cold stress on expression of genes for the AhR-dependent pathway of CYP1 regulation in rat liver. (Wliyanie kholodowogo stressa na ekspressiju genow AHR-sawisimogo puti reguljatsii CYP1 w petscheni krysa). *Bull Exp Biol Med* 141(3):315–318
19. Solodkova OA, Karedina WS, Senkina WG (2008) Lipid content in the adrenal cortex during cold exposure (Soderzhanie lipidow w kore nadpotschetschnikow pri kholodowom wosdeistwii). *Usp Sowrem Estestvozn* 9:5
20. Lomteva NA (2008) The effect of the stage of the estrous cycle on the processes of free radical oxidation of female rats under the influence of stress-inducing factors (Wliyanie stadii estralnogo tsikla na prozessy swobodnoradikalnogo okisleniya samokrysa pri wosdeistwii stressindutsirujuschikh faktorow). *Probl Reproduktsii* 6:12–15
21. Kurenkov DV, Budarkov VA, Goncharenko EN (2009) The efficiency of ferrocen application in rats at strong stressor exposures. (Effektivnost primeneniya ferrotsina u krysa pri ostryykh stressornykh wosdeistwiyakh). *Radiats Biol Radioecol* 49(1):85–89
22. Vavilova TP, Mitronin AW, Ostrowskaya IG, Gawerowa JG (2009) Response of rat pulpal blood vessels to emotional-cold stress (Reaktsiya sosudow pulpy subow krysa na emotsionaln-kholodowoi stress). *Endodontiya Today* 1:30–33
23. Nasu T, Taguchi T, Mizumura K (2010) Persistent deep mechanical hyperalgesia induced by repeated cold stress in rats. *Eur J Pain* 14(3):236–244
24. Sapadnjuk IP (1983) Laboratory animals: breeding, content, use in experiment (Laboratornye zhivotnye: raswedenie, sodержanie, ispolzovanie w eksperimente). Witschschkola, Kiev
25. Zavgorodnij IW, Myasoedow WW, Batschinskij RO, Iwanenko TO, Wekschin WO (2009) Patent № 39237 UA, MPK B01L 1/00, B01L 5/00. Charkiw National Medical University S. № u200812926; Sayawl. 06.11.2008; Opubl. 10.02.2009; Büll. № 3. Satrawotschna kamera
26. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (1986): Council of Europe. – Strasbourg. 123:51
27. Kundiev J (2009) Moderne Probleme der Bioethik. *Akademperiodika*, Kiev
28. Lillie R (1960) Pathohistological technique and practical histochemistry [Patogistologitscheskaya tehnika i praktitscheskaya gistokhimiya. Moscow, Mir
29. Merkulov GA (1969) Course, pathohistological equipment (Kurs patologitscheskoi tehniki). Moscow, Meditsina
30. Sarkisov DS, Perov JuL (1996) Microscopy Technique: Guide for Doctors and Laboratory Technicians (Mikroskopicheskaya tehnika: rukowodstvo dlya vrachej i laborantow). Meditsina, Moscow
31. Pearse AGE (1968) Histochemistry, theoretical and applied Bd. 1. Churchill, London
32. Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe (2017) MAK- und BAT-Werte-Liste 2017. Mitteilung 53. Wiley-VCH, Weinheim
33. Hartwig A, MAK Commision (2017) Nitrobenzol. The MAK collection for occupational health and safety. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mb9895d0063/full>. Zugegriffen: 21. Juli 2017