

MONÓXIDO DE NITRÓGENO

VLA

DOCUMENTACIÓN TOXICOLÓGICA PARA EL ESTABLECIMIENTO DEL LÍMITE DE EXPOSICIÓN PROFESIONAL DEL MONÓXIDO DE NITRÓGENO

DLEP 128

2019

VLA-ED®: 2 ppm (2,5 mg/m³)

VLA-EC®: -

Notación: -

Nº CAS: 10102-43-9

Nº CE: 233-271-0

PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Es un gas incoloro e inodoro. Es un oxidante fuerte y reacciona con materiales combustibles y reductores. En contacto con el aire desprende dióxido de nitrógeno.

Factor de conversión: 1 ppm = 1,25 mg/m³
(20°C, 101,3 kPa) 1 mg/m³ = 0,8 ppm

Peso molecular: 30,01

Fórmula molecular: NO

Solubilidad en agua: 4,6 ml/100 ml a 20°C

Densidad relativa: 1,04 veces la del aire

USOS MÁS FRECUENTES

Los procesos de combustión constituyen la principal fuente de este gas en la atmósfera. El monóxido de nitrógeno (NO) se oxida a dióxido de nitrógeno (NO₂) en presencia de oxígeno, y la velocidad de la reacción es proporcional

a la concentración de NO. Por lo tanto, en el trabajo ambos gases se encuentran juntos en muchas ocasiones, con mayores concentraciones de NO que de NO₂.

El NO se fabrica para la producción de ácido nítrico, cuyo uso final será la síntesis

sis de fertilizantes a base de nitratos. También se utiliza en las reacciones de nitración y como estimulante respiratorio en la terapia de cuidados intensivos hospitalarios.

La exposición laboral al NO puede darse durante su producción y posterior utilización, o cuando aparece como producto de la combustión incompleta de los combustibles fósiles, por ejemplo en vehículos de motor (diésel y gasolina) y en centrales eléctricas de carbón. La exposición también se produce durante los procesos de soldadura y corte, después de explosiones, durante el uso de aparatos de calefacción y durante el calentamiento de aceites de cocina, alimentos, etc. Además, la exposición al NO puede producirse cuando se usa ácido nítrico en el tratamiento de metales.

En la aplicación clínica, como vasodilatador, los trabajadores podrían estar expuestos a niveles de alrededor de 10 ppb (Lindwall *et ál.*, 2006).

INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

El NO presenta gran difusibilidad y actúa como molécula mensajera en un gran número de tejidos biológicos. Tiene una vida media muy corta de 0,5-5 segundos (Wood y Garthwaite, 1994).

A diferencia del NO₂, el monóxido de nitrógeno no es un gas irritante. Tampoco se le atribuye ningún papel importante a la oxidación del NO inhalado en NO₂ en los pulmones, ya que, tras su inhalación, el NO se elimina más rápido de lo que tarda en oxidarse (Mercer, 1999).

Mientras que los principales efectos tóxicos agudos del NO₂ son las alteraciones relacionadas con el enfisema pulmonar, en el caso del NO se observan efectos vasodilatadores y, a altas concentraciones, la formación de metahemoglobina (MHb). Esto también confirma los diferentes modos de acción de estos óxidos de nitrógeno. Por lo tanto, ambos óxidos de nitrógeno deben evaluarse por separado.

En estudios con animales, tanto el NO como el NO₂ inducen alteraciones pulmonares con lesiones de células tipo I y células epiteliales portadoras de cilios, que son reemplazadas por células menos sensibles, como las células tipo II. Ambas sustancias también producen síntomas inflamatorios, causados principalmente por estrés oxidativo (WHO, 1997).

Dado que el NO se forma endógenamente en los seres humanos, se puede medir en el aire exhalado. La concentración de NO es de 0,008-0,02 ppm en personas sanas.

Toxicocinética

Estudios en humanos

En un estudio realizado en humanos, tras la exposición a 0,32-4,88 ppm de NO, el 85%-92% fue absorbido con respiración normal y el 91%-93% fue absorbido después del ejercicio físico (WHO, 1997).

En un estudio realizado con 6 voluntarios varones (entre 30-38 años y con un peso de 67-106 kg) expuestos a una concentración de 100 ppm por vía inhalatoria durante 3 horas, la comparación de las

concentraciones de NO inhaladas y exhaladas reveló una retención pulmonar del 64%. Más del 70% del NO inhalado fue excretado por los adultos en la orina en forma de nitrato, y este se eliminó del plasma a través de los riñones a una velocidad que casi corresponde a la filtración glomerular (National Research Council of the National Academies, 2012).

Estudios en animales

En ratas expuestas a 138, 270 y 880 ppm, la absorción fue del 90%, 60% y 20% de la concentración de NO inhalado, respectivamente.

En perros expuestos a los humos de escape de un vehículo, se observó que la absorción en las vías respiratorias del NO tiene similitudes con la del NO₂, a pesar de las diferencias de solubilidad. En la nasofaringe reacciona con el agua el 73% del NO en comparación con el 90% del NO₂. Siendo el NO menos soluble en agua que el NO₂, llegarán cantidades mayores de NO a la región pulmonar, desde donde el NO puede difundirse en la sangre y reaccionar con la hemoglobina (OMS, 1997). Como en el caso del NO₂, las vías respiratorias terminales son los órganos diana.

Toxicidad aguda

Estudios en humanos

Los efectos de la exposición única al NO en humanos han sido investigados en una serie de estudios experimentales

que incluyen investigaciones detalladas de los efectos potenciales sobre la resistencia de las vías respiratorias, el intercambio de gas pulmonar y el tono vascular pulmonar y sistémico (*National Research Council of the National Academies, 2012*).

Varios autores han presentado informes sobre el uso terapéutico del NO en pacientes con síndrome de dificultad respiratoria aguda. En relación con los efectos sobre la resistencia de las vías respiratorias, a la concentración más alta ensayada (80 ppm durante 10 minutos), no se produjeron cambios (Högman *et ál.*, 1993). Sin embargo, redujo significativamente la broncoconstricción inducida por un agente broncoconstrictor externo (metacolina). Por lo tanto, los efectos del NO en las vías respiratorias parecen depender del estado del tono del músculo liso de las vías respiratorias. De forma similar, no se produjeron efectos en el tono vascular en la circulación pulmonar o sistémica hasta la concentración más alta ensayada, 40 ppm durante 10 minutos (Frostell *et ál.*, 1993). Sin embargo, cuando la vascularización pulmonar estaba en un estado de vasoconstricción, la vasoconstricción se invirtió, lo que indica un efecto vasodilatador de NO. Por lo tanto, los efectos del NO sobre el tono del músculo liso, bronquial o vascular dependen del estado preexistente de constricción.

No hay evidencia de efectos sobre el intercambio de gases en los pulmones después de una única exposición de hasta 40 ppm de NO durante hasta 10 minutos. Hay uno o dos casos en la literatura de obtención de un valor significa-

tivamente menor para alguno de los distintos parámetros de función pulmonar medidos en voluntarios expuestos a NO en concentraciones por debajo de 40 ppm (von Nieding *et ál.*, 1973; Kagawa, 1982). Se han observado efectos menores en voluntarios expuestos durante 2 horas a 1 ppm, lo que parece ser cuantitativa y biológicamente insignificante (Kagawa, 1982). Esta opinión es apoyada por OMS (1997), habiendo considerado la base de datos global disponible para el NO.

Los niveles de MHb causados por la inhalación de NO fueron también investigados en una mujer y cuatro hombres sanos (de 30-36 años) después de la exposición por inhalación durante 3 horas a 32, 64, 128 y 512 ppm (Young *et ál.*, 1994). Los niveles máximos medios de MHb alcanzados bajo estas condiciones de inhalación fueron de 1,04%, 1,75%, 3,75% y 6,93%, respectivamente.

Estudios en animales

La formación de MHb es el principal efecto tras una exposición aguda al NO, seguida de efectos sobre el sistema nervioso central.

Aunque existen datos de letalidad aguda en animales de experimentación, estos se derivan de estudios iniciales en los que es probable que en las atmósferas de exposición hubiera una cantidad sustancial de NO₂, lo que habría contribuido a la toxicidad producida. En general, para el monóxido de nitrógeno no se ha encontrado información fiable, a partir de estudios en animales, sobre toxicidad o letalidad relacionadas con la exposición

única, o efectos relacionados con la irritación y la sensibilización (OMS, 1997).

Toxicidad crónica

Estudios en humanos

En cuanto a los efectos de la exposición repetida en humanos, la propiedad vasodilatadora del NO se utiliza clínicamente en el tratamiento de la hipertensión en recién nacidos. Los bebés con hipertensión pulmonar persistente del recién nacido pueden estar continuamente expuestos a niveles de hasta 20 ppm de NO durante 14 días, para aliviar esta condición. Sin embargo, y aunque esto apunta a la baja toxicidad del NO, no hay base sobre la cual se puedan extrapolar las consecuencias de este uso clínico para predecir el impacto probable de la exposición en el lugar de trabajo, potencialmente extendida durante una vida laboral de muchos años, en adultos (DFG, 2010).

En una fábrica de fertilizantes nitrogenados, 332 trabajadores estuvieron expuestos a diversas concentraciones de NO ($\leq 1,1$ mg/m³, correspondiente a $\leq 0,9$ ppm), NO₂ ($\leq 1,3$ mg/m³, correspondiente a $\leq 0,65$ ppm), NO₃⁻ ($\leq 0,2$ mg/m³) y NH₃ ($\leq 2,8$ mg/m³). Los trabajadores se dividieron en grupos dependiendo de la exposición en el lugar de trabajo. El nivel sérico de MHb y las concentraciones de nitrato, urea y creatinina se midieron y se compararon con un grupo control de fuera de la fábrica. Los niveles más altos de nitratos séricos se produjeron en los trabajadores que estuvieron expuestos a altas concentraciones de nitratos y amoníaco. El nivel de MHb fue mayor entre los trabajadores que estuvieron expues-

tos a ácido nítrico y nitrato y, por lo tanto, a la concentración de NO más alta (Giroux y Ferrieres, 1998).

Se han realizado dos estudios epidemiológicos más amplios en mineros: (Lotz *et ál.*, 2008) en minas de sal alemanas y (Morfeld *et ál.*, 2010) en minas de carbón alemanas. La parte analítica del primer estudio fue publicada por Dahmann *et ál.* (2007), y la del segundo estudio, por Dahmann *et ál.* (2009). El estudio realizado en las salinas contiene mediciones analíticas. Esta base de datos permitió un análisis estadístico muy preciso de la distribución de las exposiciones por jornadas de trabajo: el percentil 95 de los datos de turnos de 8 horas fue ligeramente superior al doble de la media, tanto para NO como para NO₂.

Lotz *et ál.* (2008) evaluaron 410 y 463 mineros (salinas A y B). La exposición se midió mediante muestreo personal. Se calcularon las concentraciones de exposición de polvo de sal, los gases de escape diésel, NO₂ y NO para todos los mineros. Las relaciones dosis-respuesta se calcularon mediante análisis de regresión múltiple. Los autores concluyeron que los efectos encontrados en ambas minas indicaron que la exposición mixta puede causar deterioro de la función pulmonar en mineros de sal expuestos durante un largo período de tiempo. En este estudio, no fue posible determinar los efectos de un solo componente de exposición (óxidos de nitrógeno frente a polvo, escape de diésel, etc.) por separado.

Esta limitación se evitó en el estudio de los mineros de carbón por Morfeld *et ál.* (2010) mediante el uso de modelos GEE,

ecuaciones de estimación generalizadas. Esto permitió la discriminación de los efectos de los óxidos de nitrógeno de los de otras variables del componente de exposición. Los autores determinaron el número de turnos subterráneos, la exposición a polvo de mina de carbón, polvo de cuarzo, NO, NO₂, el hábito de fumar y los parámetros de la función pulmonar FVC, FEV₁ y FEV₁/FVC. En total, 1.369 mineros trabajaron en promedio 3.017 jornadas subterráneas por persona. La concentración media total de polvo de mina de carbón respirable fue de 1,89 mg/m³ (cuarzo: 0,067 mg/m³) y las concentraciones de óxidos de nitrógeno fueron de 0,58 ppm de NO y de 0,007 ppm de NO₂. Sin embargo, la exposición en subgrupos definidos fue más alta (motores diésel, 1,35 ppm NO y 0,21 ppm NO₂, conductores de tren diésel, 1,35 ppm NO y 0,52 ppm NO₂, y especialistas en chorreado, 0,84 ppm NO y 0,014 ppm de NO₂ (Dahmann *et ál.*, 2009). Los modelos GEE no revelaron efectos adversos claros de exposición al polvo. Los óxidos de nitrógeno combinados (NO + NO₂) mostraron efectos menores, estadísticamente insignificantes sobre la función pulmonar, que no se consideraron adversos. Se concluyó que las exposiciones al óxido de nitrógeno, incluidas las de los subgrupos, no mostraron efectos adversos sobre la función pulmonar en este estudio longitudinal a largo plazo.

Considerando que, en la distribución de las exposiciones, el percentil 95 de datos de la jornada de 8 horas es ligeramente superior al doble de la media y los datos del motor diésel y de los conductores del tren diésel (Dahmann *et ál.*, 2009, Mor-

feld *et ál.*, 2010) se obtiene, para la función pulmonar en exposición crónica, una NOAEC de aproximadamente 2,5 ppm para el NO, bajo las condiciones de trabajo de los mineros del carbón.

Estudios en animales

En relación con los efectos de la exposición repetida, no se dispone de información fiable sobre los efectos del NO en animales con exposiciones repetidas intermitentes (6-8 horas diarias). Sin embargo, hubo estudios que incluían regímenes de exposición continuos. En un estudio en ratas expuestas durante 9 semanas a un fondo de 0,5 ppm de NO con 2 exposiciones diarias de 1 hora de 1,5 ppm, el examen microscópico reveló ligeros cambios estructurales pulmonares indicativos de las primeras etapas en el desarrollo de un enfisema (Mercer *et ál.*, 1995), pero parece que estos resultados no pudieron ser reproducidos por exposición continua a 2 y 6 ppm de NO (Mercer, 1999).

En un estudio anterior realizado en ratas expuestas continuamente durante 6 semanas a 2 ppm de NO (Azoulay *et ál.*, 1977), la microscopía óptica de los pulmones de estos animales reveló alguna evidencia de cambios "similares al enfisema" en los animales expuestos al NO, en relación con los controles. Los autores concluyeron que los resultados "podrían deberse a la exposición a NO". También hay un estudio en perros, en el que grupos de 10 *beagles* fueron expuestos a 0 y 1,64 ppm de NO (contaminado con 0,14 ppm de NO₂) 6 horas al día durante 68 meses (Hyde *et ál.*,

1978). Los perros se mantuvieron durante un período libre de exposición de 3 años y luego se sacrificaron. Los resultados de la histopatología pulmonar mostraron que en perros expuestos al NO había aumento del espacio aéreo alveolar, destrucción de septos alveolares y aumento de los poros alveolares, observaciones indicativas de cambios similares al enfisema. A pesar de la presencia de una baja concentración de NO₂, la base toxicológica global de NO₂, según la OMS, sugiere que no producirá efectos en el pulmón, evidentes por microscopía óptica, a una concentración tan baja (OMS, 1997).

En contraste con el patrón general de los hallazgos anteriores, no se observaron cambios estructurales pulmonares en ratones después de 23 meses de exposición continua a 2,4 ppm. No se identificaron cambios histopatológicos en este estudio en ningún otro órgano y tejido, incluyendo los órganos reproductores. La exposición continua de los ratones a 10 ppm de NO (contaminada con aproximadamente 1 ppm de NO₂) durante 6,5 meses produjo daño pulmonar (aumento del peso relativo de los pulmones, hiperplasia del epitelio bronquiolar, hiperemia y congestión) pero sin aumento en la formación de MHb. Sin embargo, el mismo autor informó cuatro años después que se pueden producir concentraciones circulantes de MHb de hasta un 15% tras la inhalación de 80 ppm (Oda, 1980). Mientras tanto, se ha demostrado que la reacción primaria de la exposición al NO es la que existe entre la hemoglobina y el NO, que produce nitrosilhemoglobina (NOHb), un compuesto que es incapaz de transportar oxígeno (Oda, 1975).

Genotoxicidad

En cuanto a su potencial mutagénico, los datos disponibles no son decisivos. A concentraciones citotóxicas, el NO tuvo un comportamiento mutagénico en algunos ensayos de células bacterianas y de mamíferos, tales como *Salmonella typhimurium* TA 100, células de hámster Don y células humanas TK6 (Zhuang *et ál.*, 2000; Nguyen *et ál.*, 1992), pero no en otras, *Salmonella SOS repair*, V79 células de hámster (Victorin, 1993 y 1994).

En el único estudio de mutagenicidad *in vivo* disponible, que no siguió un método de ensayo validado, se encontraron cambios mutagénicos en células extraídas de los pulmones (Isomura *et ál.*, 1984). De acuerdo con Stopper *et ál.* (1999), todas las evidencias disponibles sugieren que la pronunciada citotoxicidad del NO y de sus metabolitos de oxidación supera cualquier potencial genotóxico.

RECOMENDACIÓN

A diferencia del NO₂, el monóxido de nitrógeno no es un gas irritante tras una exposición aguda. Mientras que las alteraciones de tipo enfisema son los principales efectos tóxicos agudos del NO₂, en el caso del NO se observan efectos vasodilatadores y la formación de metahemoglobina a concentraciones altas.

En exposición crónica, en base a los datos experimentales en animales, el efecto crítico es el daño pulmonar. Sin embargo, los estudios en animales de experimentación han empleado regímenes diarios de exposición que abarcan

casi todo el día, en lugar de un período de 6-8 horas, que sería representativo de la situación laboral, y estos estudios han producido resultados variables. Estudios en ratas sugieren que el NO tiene un potencial para causar cambios proinflamatorios o perjudiciales en los pulmones en una exposición continua a 2-6 ppm durante unas pocas semanas. Un hallazgo inicial de fenestraciones o aberturas en los septos alveolares, cambios microscópicos posiblemente indicativos de las primeras etapas en el desarrollo de enfisema, con exposiciones dos veces al día a 1,5 ppm, cada una de 1 hora de duración, establecido en un fondo continuo de 0,5 ppm, no se reprodujeron en un estudio posterior realizado por el mismo autor, utilizando niveles de exposición de 2 y 6 ppm. Un estudio de exposición repetida (16 horas / día) en perros expuestos a 1,6 ppm de NO (con 0,14 ppm de NO₂) mostró evidencia de cambios compatibles con enfisema inducidos por la exposición. El nivel de contaminación por NO₂ aquí era demasiado bajo para ser responsable de tales cambios. Existen diferencias evidentes entre las especies, ya que los ratones parecen ser más resistentes a estos efectos respiratorios que las ratas o los perros, con un NOAEC de 2,4 ppm en un estudio de exposición durante toda su vida.

La medida en la que los regímenes de exposición prolongada o continua utilizados han exacerbado las consecuencias, en comparación con un régimen repetido (6-8 horas/día), no puede determinarse a partir de los datos experimentales disponibles. Por lo tanto, no se dispone de un NOAEC global para los efectos adversos del NO en los pulmones de animales de experimentación. Los resultados de los

estudios experimentales en los que las ratas y los ratones fueron expuestos continuamente a NO, en lugar de un régimen repetido (6-8 horas / día) no pueden utilizarse para derivar un punto de partida numérico para evaluar un LEP recomendado para condiciones de trabajo humanas. En cualquier caso, puede esperarse que un NOAEC para "condiciones de trabajo" (media ponderada en el tiempo de 8 horas) sea consistentemente mayor que los valores NAOEC encontrados para la exposición continua a largo plazo.

Se han realizado estudios de laboratorio en seres humanos bajo exposición controlada a corto plazo al NO. Las exposiciones únicas a 40 ppm durante 10 min. o a 1 ppm de NO durante 2 horas no condujeron a cambios adversos en las pruebas de función pulmonar. La muy baja toxicidad aguda humana (en comparación con NO₂) está en línea con la experiencia clínica, por ejemplo, en el tratamiento con NO de recién nacidos con hipertensión pulmonar persistente. Con este perfil toxicológico de NO, no está justificado establecer un VLA-EC®.

El principal problema al establecer un VLA recomendado para el NO a partir de estudios de campo ocupacionales es que el NO reacciona con el aire para formar NO₂, que es más tóxico que el NO debido a la irritación local del sistema pulmonar. En los entornos laborales, ambos óxidos de nitrógeno se dan juntos, además de otros componentes tales como polvo o partículas de diésel. Esto complica la interpretación de los estudios de campo laborales disponibles, ya que es difícil determinar los efectos de un solo componente de exposición por separado.

El estudio longitudinal en mineros alemanes del carbón proporciona una base adecuada para derivar un VLA-ED, en el que la discriminación de los efectos de los óxidos de nitrógeno se llevó a cabo utilizando modelos GEE (Morfeld *et ál.*, 2010). En este estudio, los mineros fueron expuestos a concentraciones medias de NO de 0,58 ppm (NO₂ de 0,007 ppm). Sin embargo, hubo subcolectivos con mayores exposiciones: para los conductores de motores diésel y para los conductores de tren, las exposiciones medias fueron 1,35 ppm NO (NO₂: 0,21 y 0,52 ppm, para conductores de motores diésel y trenes diésel, respectivamente). Estas exposiciones a NOx no causaron efectos adversos en la función pulmonar en el estudio longitudinal a largo plazo. Por el contrario, un estudio previo del mismo grupo en dos minas de sal alemanas (Lotz *et ál.*, 2008) con mayores exposiciones medias (1,7 ppm de NO [0,4 ppm de NO₂] en la primera mina, 1,4 ppm de NO [0,5 ppm de NO₂] en la segunda mina) señaló la posibilidad de deterioro de la función pulmonar en mineros expuestos durante un largo período de tiempo. Sin embargo, este estudio no pudo disociar los efectos de los óxidos de nitrógeno de los de otras variables (polvo, gasóleo, etc.). Si se tiene en cuenta la distribución de las exposiciones (percentil 95 de datos de la jornada de 8 horas ligeramente superiores al doble de la media), los datos de los conductores de locomotora diésel en el estudio de la mina de carbón (Dahmann *et ál.*, 2009, Morfeld *et ál.*, 2010) apuntan a un NOAEC (función pulmonar, exposición crónica) para el NO en las condiciones humanas relevantes del lugar de trabajo de, aproximadamente, 2,5

ppm. Esta conclusión es compatible con los resultados del estudio de la mina de sal.

Por lo tanto, basándose en la experiencia de los estudios de campo en humanos y considerando la "aproximación del valor preferido" de SCOEL, se ha establecido un VLA-ED® de 2 ppm de NO como un nivel seguro en condiciones de trabajo realistas. Tal nivel es secundado por los datos experimentales disponibles en animales, si se consideran las diferencias entre las condiciones de exposición continua e intermitente. También es con-

sistente con la baja toxicidad aguda de NO.

A los niveles propuestos no se prevén dificultades de medición.

Existen diferentes métodos para la medición del NO en aire (quimioluminiscencia, electroquímica, etc.). El límite de detección más bajo se alcanza usando la técnica de quimioluminiscencia. Se considera que las mediciones de quimioluminiscencia representan el método de referencia en el análisis de NO / NO₂ (Dahmann *et ál.*, 2007 y 2009).

BIBLIOGRAFÍA

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2001). Nitric oxide. In: Documentation of TLVs and BEIs, ACGIH, Cincinnati, Ohio.

Azoulay E, Soler P, Blayo MC, Basset F (1977). Nitric oxide effects on lung structure and blood oxygen affinity in rats. *Bull Euro Physiopath Resp* 13:629-644.

Dahmann D, Monz C, Sönksen H (2007). Exposure assessment in German potash mining. *Int Arch Occup Environ Health* 81:95-107.

Dahmann D, Morfeld P, Monz C, Noll B, Gast F (2009). Exposure assessment for nitrogen oxides and carbon monoxide in German hard coal mining. *Int Arch Occup Environ Health* 82:1267-1279.

DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft (2010). Nitrogen monoxide. In: The MAKCollection Part I: MAK value docu-

mentations (Hartwig A, ed.). Wiley-VCH GmbH & Co. KGaA, Weinheim.

<http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/3527600418/topics>.

Frostell CG, Blomquist H, Hedenstierna G, Lundberg J, Zapol WM (1993). Inhaled nitric oxide selectively reverses human hypoxic pulmonary vasoconstriction without causing systemic vasodilation. *Anaesthesiology* 78:427-435.

Giroux M, Ferrieres J (1998). Serum nitrates and creatinine in workers exposed to atmospheric nitrogen oxides and ammonia. *Sci. Total Environ* 217:265-269.

Gray EL (1959). Oxides of nitrogen: their occurrence, toxicity, hazard: a brief review. *AMA Arch Ind Health* 19:479-486.

Högman M, Frostell CG, Hedenström H, Hedenstierna G (1993). Inhalation of nitric oxide modulates adult human bronchial tone. *Am Rev Resp Dis* 148:1471-1478.

Hyde D, Orthofer J, Dungworth D, Tyler W, Carter R, Lum H (1978). Morphometric and morphologic evaluation of pulmonary lesions in Beagle dogs chronically exposed to high ambient levels of air pollutants. *Lab Invest* 38:455-469.

Isomura K, Chikahira M, Teranishi K, Hamada K (1984). Induction of mutations and chromosome aberrations in lung cells following in vivo exposure of rats to nitrogen oxides. *Mutat. Res* 136:119-125.

Kagawa J (1982). Respiratory effects of 2-hr exposure to 1.0 ppm nitric oxide in normal subjects. *Env Res* 27:485-490.

Lindwall A, Svensson ME, Frostell CG, Eksborg S, Gustafsson LE (2006). Workplace NO and NO₂ during combined treatment of infants with nasal CPAP and NO. *Intensive Care Med* 32:2034-2041.

Lotz G, Plitzko S, Gierke E, Tittelbach U, Kersten N, Schneider WD (2008). Dose-response relationships between occupational exposure to potash, diesel exhaust and nitrogen oxides and lung function: cross-sectional and longitudinal study in two salt mines. *Int Arch Occup Environ Health* 81:1003-1019.

Manktelow C, Bigatello LM, Hess D, Hurford WE (1997). Physiologic determinants of the response to inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 87(2):297-307.

Mercer RR, Costa D, Crapo J D (1995). Effects of prolonged exposure to low doses of nitric oxide or nitrogen dioxide on the alveolar septa of the adult rat lung. *Lab Invest* 73:20-28.

Mercer RR (1999). Morphometric analysis of alveolar responses of F344 rats to subchronic inhalation of nitric oxide. Health Effects Institute Research Report No. 88.

Morfeld P, Noll B, Büchte SF, Derwall R, Schenk V, Bicker HJ, Lenaerts, Schrader N, Dahmann D (2010). Effect of dust exposure and nitrogen oxides on lung function parameters of German coalminers: a longitudinal study applying GEE regression 1974–1998. *Int Arch Occup Environ Health* 83:357–371.

National Research Council of the National Academies: Committee on Acute Exposure Guideline Levels, Committee on Toxicology, Board on Environmental Studies and Toxicology, Division on Earth and Life Studies (2012). Nitrogen oxides. In: Acute exposure guideline levels for selected chemicals, Volume 11, pp. 167-256. National Academies Press, Washington, DC.

Nguyen T, Brunson D, Crespi CL, Penman BW, Wishnok JS, Tannebaum SR (1992). DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:3030-3034.

Oda H, Nogami H, Nakajima T (1980). Reaction of hemoglobine with nitric oxide in mice. *J Toxicol Environ Health* 6:673-678.

Stopper H, Möller M, Bömmel HM, Schmidt HHHW (1999). Cytotoxic versus genotoxic effects of nitric oxide (NO). *Toxicol Lett* 106:59-67.

Troncy E, Francoeur M, Blaise G (1997a). Inhaled nitric oxide: clinical applications, indications, and toxicology. *Can J Anaesth* 44(9):973-988.

Troncy E, Collet JP, Guimond JG, Blair L, Charbonneau M, Blaise G (1997b). Should we treat acute respiratory distress syndrome with inhaled nitric oxide? *Lancet* 350(9071):111-112.

Victorin K (1993). Health risk evaluation of nitrogen oxides. *Genotoxicity. Scand J Work Environ Health* 19, Suppl. 2:50-56.

Victorin K (1994). Review of the genotoxicity of nitrogen oxides. *Mutat Res* 317:43-55.

von Nieding G, Wagner HM, Krekeler H (1973). Investigation of the acute effects of nitrogen monoxide on lung function in man. In: *Proceedings of the third international clean air congress, Düsseldorf, Federal Republic of Germany, Society of German Engineers*, pp. A14-A16.

Victorin K (1994). Review of the genotoxicity of nitrogen oxides. *Mutat Res* 317:43-55.

Young JD, Dyar O, Xiong L, Howell S (1994). Methaemoglobin production in normal adults inhaling low concentrations of nitric oxide. *Intensive Care Med* 20:581-584.

WHO (1997). *International Programme on Chemical Safety (IPCS): Environmental Health Criteria 188. Nitrogen oxides (second edition)*. World Health Organization, Geneva.

Wood J, Garthwaite J (1994). Models of the diffusional spread of nitric oxide: implications for neural nitric oxide signalling and its pharmacological properties. *Neuropharmacology* 33:1235-1244.

Zhuang JC, Wright TL, de Rojas-Walker T, Tannenbaum SR, Wogan GN (2000). Nitric oxide-induced mutations in the HPRT gene of human lymphoblastoid TK6 cells and in *Salmonella typhimurium*. *Environ Mol Mutagen* 35:39-47.