Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy 2019, nr 3(101), s. 5–37 DOI: 10.5604/01.3001.0013.4164

2,2′-Dichloro-4,4′-metylenodianilina – frakcja wdychalna i pary

Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego[1,2]

2,2′-Dichloro-4,4′-methylenedianiline – inhalable fraction and vapours

Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

dr hab. n. med. ANNA KILANOWICZ, prof. nadzw. UM
https://orcid.org/0000-0001-6261-0769
dr MAŁGORZATA SKRZYPIŃSKA-GAWRYSIAK
https://orcid.org/0000-0002-2391-1750
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Medical University Lodz

NDS	0,01 mg/m^3
NDSCh	nie ustalono
NDSP	nie ustalono
DSB	5 µmol 2,2′-dichloro-4,4′-metylenodianiliny/mol kreatyniny (dla próbek moczu pobranych bezpośrednio po zakończeniu zmiany roboczej i poddanych hydrolizie)
Carc. 1B	substancja o działaniu rakotwórczym na człowieka
Skóra	wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 03-04.10.2018 r.
Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 05.04.2019 r.

Streszczenie

2,2'-Dichloro-4,4'-metylenodianilina (MOCA) należy do grupy amin aromatycznych. Otrzymywana jest w reakcji formaldehydu i 2-chloroaniliny. Nie jest produkowana w Europie, a jej import do Europy jest szacowany na 1 000 ÷ 10 000 t/rok.
MOCA wykazuje umiarkowane działanie toksyczne na zwierzęta. Mediany dawek letalnych MOCA dla gryzoni wynoszą 400 ÷ 1 140 mg/kg mc. Związek ten wywiera także umiarkowane działanie drażniące na skórę i oczy. Nie wywiera działania uczulającego. Dane na temat toksyczności podprzewlekłej i przewlekłej MOCA dla zwierząt wskazują na toksyczność wielonarządową.
MOCA wykazuje działanie mutagenne i genotoksyczne zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro*. W testach bakteryjnych wymaga obecności aktywacji metabolicznej. Powoduje uszkodzenie DNA oraz tworzy addukty z DNA.

[1] Wartości NDS i DSB 2,2'-dichloro-4,4'-metylenodianiliny – frakcji wdychalnej i par zostały w dniu 5.04.2019 r. przyjęte na 91. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i następnie zostały przedłożone Ministrowi Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej (wniosek nr 107) w celu ich wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy.

[2] Publikacja opracowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach IV etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy", finansowanego w latach 2017-2019 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego/ Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.
Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji na temat wpływu MOCA na rozrodczość ludzi. Nie ma danych na temat embriotoksyczności i teratogenności tego związku. W doświadczeniu na szczurach wykazano, że MOCA nie ma wpływu na potencjał rozrodczy rodziców oraz wzrost i rozwój pre- i postnatalny potomstwa.
MOCA w Unii Europejskiej ma zharmonizowaną klasyfikację jako substancja rakotwórcza kategorii zagrożenia 1B (Carc.1B). W IARC uznano, że dowód na rakotwórcze działanie MOCA u ludzi jest niewystarczający. Wyniki badań na zwierzętach dostarczyły wystarczających dowodów rakotwórczego działania MOCA. W ogólnej ocenie IARC zaliczyła MOCA do grupy 1 – związków o działaniu rakotwórczym na ludzi. W SCOEL (2010) MOCA zaliczono do grupy A – genotoksycznych kancerogenów o działaniu bezprogowym.
Obowiązujące wartości normatywów higienicznych MOCA wynoszą 0,22 ÷ 0,005 mg/m^3 w wielu państwach i są oznakowane zwykle „skóra" oraz „carcinogen". Ponadto w wielu państwach, ze względu na działania rakotwórcze MOCA, nie ustalono wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń (NDS) MOCA. Także w Unii Europejskiej SCOEL nie ustalił wartości normatywu dla MOCA.
Komisja Europejska w 2018 r. wystąpiła z wnioskiem o wpisanie wartości dopuszczalnego stężenia 0,01 mg/m^3 jako wartości wiążącej (BOELV) z jednoczesną notacją „skóra" do załącznika III do wniosku dotyczącego Dyrektywy Parlamentu i Rady zmieniającej dyrektywę 2004/37/WE w sprawie ochrony pracowników przed zagrożeniem dotyczącym narażenia na działanie czynników rakotwórczych lub mutagenów podczas pracy.
Zaproponowano przyjąć wartość 5 µmol MOCA/mol kreatyniny w moczu pobieranym na zakończenie zmiany roboczej jako wartość dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB).
Jako podstawę do zaproponowania wartości NDS przyjęto działanie rakotwórcze MOCA. Ponieważ MOCA jest genotoksycznym kancerogenem o działaniu bezprogowym, wobec tego wartość normatywu higienicznego oparto o szacowanie ryzyka nowotworowego dla tego związku. Wszystkie istniejące szacowania ryzyka są oparte na podstawie wyników eksperymentu na szczurach w warunkach narażenia przewlekłego, otrzymujących MOCA w paszy, przy zastosowaniu różnych modeli obliczeniowych.
Obowiązująca dotychczas w Polsce wartość NDS MOCA na poziomie 0,02 mg/m^3 została ustalona na podstawie modelu liniowego przy założonym ryzyku 10^{-4}. Szacowanie ryzyka nowotworowego przy zastosowaniu modelu dwustopniowego dało wartości ryzyka odpowiednio: $4{,}6 \cdot 10^{-4}$ dla stężenia MOCA 0,02 mg/m^3 oraz $1{,}7 \cdot 10^{-4}$ dla stężenia 0,01 mg/m^3. Komitet ds. Oceny Ryzyka (RAC), stosując model liniowy dla narażenia inhalacyjnego na MOCA o stężeniu 0,01 mg/m^3, otrzymał podobną wartość ryzyka, wynoszącą $9{,}65 \cdot 10^{-5}$ ($\approx 1 \cdot 10^{-4}$).
Ponieważ przedstawione szacowania ryzyka dały podobne wartości dla stężenia 0,01 mg/m^3 oraz Unia Europejska zaproponowała tę wartość jako stężenie wiążące, zaproponowano przyjąć w Polsce wartość NDS MOCA w powietrzu środowiska pracy na poziomie 0,01 mg/m^3.
Główną drogą narażenia na MOCA w warunkach zawodowych jest droga dermalna. Dlatego też poziomy MOCA w próbach moczu pracowników są lepszym wskaźnikiem dla oceny całkowitego narażenia niż pomiar stężeń MOCA w powietrzu.
MOCA nie jest wykrywana w moczu osób nienarażonych zawodowo, czyli pozostaje poniżej limitu detekcji metody. Dlatego też biologiczna wartość wskaźnikowa (BGV), (ang. *biological guidance value*) dla MOCA powinna odpowiadać limitowi detekcji metody biomonitoringu.
Jednak ze względów praktycznych zaproponowano przyjąć wartość 5 µmol MOCA/mol kreatyniny w moczu pobieranym na zakończenie zmiany roboczej jako odpowiednik wartości DSB. W warunkach przemysłowych stężenie całkowite MOCA poniżej 5 µmol/mol kreatyniny może być osiągnięte przy stosowaniu odpowiednich warunków higienicznych pracy. Ponadto, zgodnie z oceną ryzyka przedstawioną przez SCOEL, takie stężenie MOCA w moczu prowadzi do ryzyka nowotworowego wynoszącego $3 \div 4 \cdot 10^{-6}$. Biomonitoring powinien być uzupełniony monitoringiem powietrza oraz, kiedy jest to wskazane, pomiarami zanieczyszczeń: skóry, rękawic i powierzchni roboczych, aby zidentyfikować źródła narażenia.
Ponieważ narażenie przez skórę ma znaczny udział w ilości MOCA wchłoniętej do organizmu pracownika, wymagana jest notacja „skóra" (wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową).
Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Słowa kluczowe: 2,2'-dichloro-4,4'-metylenodianilina, toksyczność, narażenie zawodowe, NDS, DSB, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

Abstract

2,2'-Dichloro-4,4'-methylenedianiline (MOCA) is an aromatic amine. It is produced by the reaction of formaldehyde and 2-chloroaniline. It is not produced in Europe. Its import to Europe is estimated at 1 000–10 000 t/year. MOCA has a moderate toxic effect on animals; median lethal doses after oral administration to rodents are 400–1140 mg/kg bw. It has a moderate irritant effect on the skin and eyes, but no allergenic effect. Data on subchronic and chronic animal toxicity indicate multiorgan toxicity. MOCA shows mutagenic and genotoxic potential, both in vivo and in vitro.

No data are available on the effects of MOCA on human reproduction or on the embryotoxicity and teratogenicity. The only rat experiment showed that MOCA has no influence on the reproductive potential of parents, and the growth and the of development of offspring. MOCA has a harmonised classification as Carc.1B. IARC considered that there were was insufficient evidence of MOCA carcinogenicity in humans and sufficient evidence of carcinogenicity in animals. In the overall assessment IARC classified MOCA into group 1 – compound carcinogenic to humans. SCOEL included MOCA to genotoxic carcinogens with non-threshold effect (group A). The values of the current hygiene standards range from 0.22 mg/m^3 to 0.005 mg/m^3 and are labelled "skin" and "carcinogen". Furthermore, in many countries, no limit values have been set for MOCA due to its carcinogenicity. Also in the EU, SCOEL did not set a standard value for MOCA. In 2018 the European Commission has proposed to include a limit value of 0.01 mg/m^3 as a binding value (BOELV) with the simultaneous notation of 'skin' in Annex III to the proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council amending Directive 2004/37/EC on the protection of workers from the risks related to exposure to carcinogens or mutagens at work. The MAC value currently in force in Poland (0.02 mg/m^3) was derived on the basis of the linear model with the assumed risk of 10^{-4}. The cancer risk assessment using the two-step model gave the risk values accordingly: 4.6 - 10^{-4} for MOCA concentration 0.02 mg/m^3 and 1.7 - 10^{-4} for 0.01 mg/m^3. A similar risk value of 9.65 - 10^{-5} ($\approx$ 1 - 10^{-4}) for inhalation exposure to 0.01 mg/m^3 was assigned by RAC using a linear model. In view of the fact that the risk assessments gave compatible values for 0.01 mg/m^3 and that the European Union proposed this value as BOELV, it was proposed to use a MOCA concentration in workplace air of 0.01 mg/m^3 as the MAC value in Poland. The main route of exposure to MOCA in at occupational conditions is the dermal route. MOCA levels in workers' urine are a better indicator for overall exposure assessment than measuring MOCA concentrations in workplace air. However, for practical reasons, it was proposed 5 μmol MOCA/mole creatinine in urine collected at the end of the shift as an equivalent to BEI. According to the risk assessment presented by SCOEL, this MOCA concentration in urine leads to a cancer risk of 3–4 - 10^{-6}. Since dermal exposure accounts for a significant proportion of the MOCA taken by workers, a 'skin' notation is required. This article discusses the problems of occupational safety and health, which are covered by health sciences and environmental engineering.

Keywords: 2,2'-dichloro-4,4'-methylenedianiline, toxicity, occupational exposure, MAC, BEI, health sciences, environmental engineering.

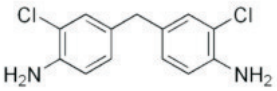
CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

Ogólna charakterystyka 2,2'-dichloro-4,4'-metylenodianiliny:

– wzór sumaryczny $C_{13}H_{12}Cl_2N_2$

– wzór strukturalny



– nazwa CAS 4,4′-methylenebis(2-chlorobenzenamine)

– numer CAS 101-14-4

– numer WE 202-918-9

– numer indeksowy 612-078-00-9

– synonimy: 2,2'-dichloro-4,4'-metylenodianilina; bis(4-amino-3-chlorofenylo)metan; di(4-amino-3-chlorofenylo)metan; 4,4'-metylenobis(2-chloroanilina); 4,4'-metylenobis-(*o*-chloroanilina); 3,3'-dichloro-4,4'-diaminodifenylometan; 4,4'-diamino-3,3'-dichlorodifenylometan; bis(3-chloro-4-aminofenylo)metan; di(3-chloro-4-aminofenylo)-metan; metylenobis-(3-chloro-4-aminobenzen); MOCA; MBOCA.

Zgodnie z Rozporządzeniem Parlamentu i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Rozporządzenie... 2008) 2,2'-dichloro-4,4'-metylenodianilina ma zharmonizowaną klasyfikację, wg tabeli 3.1. załącznika VI. Klasyfikację tę zamieszczono w tabeli 1. i przedstawiono na rysunku 1.

Tabela 1.

Zharmonizowana klasyfikacja oraz oznakowanie 2,2'-dichloro-4,4'-metylenodianiliny (Rozporządzenie... 2008)

Międzynarodowa terminologia chemiczna	Klasyfikacja		Oznakowanie	
	klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody haseł ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
2,2'-Dichloro-4,4'-methylenedianiline (4,4'-methylenebis-(2-chloroaniline)	Carc. 1B Acute Tox. 4* Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H350 H302 H400 H410	GHS08 GHS07 GHS09 Dgr	H350 H302 H410

Objaśnienia:
Carc. 1B – rakotwórczość, kategoria zagrożenia 1B.
H350 –może powodować raka.
Acute Tox. 4 * – toksyczność ostra (po narażeniu drogą doustną), kategoria zagrożenia 4*.
(*) – minimum klasyfikacji.
H302 – działa szkodliwie po połknięciu.
Aquatic Acute 1 – zagrożenie dla środowiska wodnego, kategoria ostra 1.
H400 – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne.
Aquatic Chronic 1 – zagrożenie dla środowiska wodnego, kategoria przewlekła 1.
H410 – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.
Dgr – hasło ostrzegawcze – niebezpieczeństwo.

GHS07 GHS08 GHS09

Rys. 1. Kody hasła ostrzegawczego „Niebezpieczeństwo". Piktogramy określone w rozporządzeniu WE nr 1272/2008 mają czarny symbol na białym tle z czerwonym obramowaniem

Właściwości fizykochemiczne

Właściwości fizykochemiczne 2,2'-dichloro-4,4'-metylenodianiliny (IARC 1993; Toxicological Profile… 2017):

- wygląd i zapach: jasnobrązowe (forma techniczna) do bezbarwnych (czysty związek), kryształy o charakterystycznym zapachu amin
- masa cząsteczkowa: 267,15
- temperatura wrzenia: 370 °C (rozkłada się, zanim osiągnie temp. wrzenia), (ECHA 2017)
- temperatura topnienia: 110 °C
- gęstość: 1,44 g/cm^3 w temp. 20 °C
- prężność par: 1,0 · 10^{-5} mm Hg w temp. 25 °C (1,3 mPa); 1,3 · 10^{-5} mm Hg w temp. 60 °C (1,7 mPa)
- stężenie pary nasyconej: 0,14 mg/m^3 (w temp. 25 °C)
- log P_{ow}: 3,94
- rozpuszczalność: w wodzie – 13,9 mg/l w temp. 24 °C; dobrze rozpuszczalna w: benzenie, eterze dietylowym, etanolu; rozpuszczalna w: trichloroetylenie, toluenie, octanie etoksyetylu, ketonie metylowo-etylowym i dimetylosulfotlenku
- współczynniki przeliczeniowe (w temp. 25 °C; 101,3 kPa): 1 ppm ≈ 10,9 mg/m^3; 1 mg/m^3 ≈ 0,09 ppm.

Otrzymywanie, zastosowanie, narażenie zawodowe

2,2'-Dichloro-4,4'-metylenodianilina (MOCA) jest otrzymywana w reakcji formaldehydu i 2-chloroaniliny (ECHA 2012). MOCA nie jest produkowana w Europie, a jej import do Europy jest szacowany na 1 000 ÷ 10 000 t/rok (ECHA 2012). Głównym światowym producentem MOCA są Chiny i Tajwan. Roczna produkcja tego związku wynosiła 5 000 ÷ 10 000 t (IARC 2010).

MOCA jest stosowana głównie jako środek utwardzający do prepolimerów poliuretanowych w produkcji takich odlewanych wyrobów z gumy uretanowej, jak wkładki absorpcyjne i taśmy przenośnikowe. W krajach Dalekiego Wschodu MOCA stosuje się ponadto do zabezpieczania pokryć dachowych i do uszczelnień drewna (SCOEL 2010). W warunkach laboratoryjnych jest stosowana także jako modelowy związek do badania związków rakotwórczych (IARC 2012).

Wprowadzenie MOCA na rynek wymaga zezwolenia. W przypadku MOCA datą ostateczną był dzień 22.11.2017 r., tj. od tego dnia jest zabronione wprowadzanie do obrotu i stosowanie MOCA, chyba że zostało udzielone zezwolenie (Wniosek 2018).

Zawodowe narażenie na MOCA może występować podczas: produkcji, dystrybucji oraz stosowania w przemyśle elastomerów poliuretanowych. Pracownicy są narażeni na MOCA podczas stosowania tego związku w postaci ciekłej emulsji, stałych tabletek (*pellets*) z możliwością pylenia lub tabletek niepylących. Ze względu na małą prężność par inhalacyjne narażenie to głównie narażenie na pył MOCA. W większości przypadków wchłanianie przez skórę w wyniku kontaktu z zanieczyszczonymi powierzchniami stanowi główną drogę narażenia zawodowego, natomiast droga inhalacyjna czy pokarmowa ma znaczenie drugorzędne (IARC 2012).

W zakładach produkujących MOCA na Tajwanie pomiary stężeń w środowisku pracy wykazały znaczne różnice, w zależności od miejsca poboru prób dla różnych etapów procesu technologicznego. Największe stężenia (0,23 ÷ 0,41 mg/m^3) stwierdzono przy oczyszczaniu MOCA, mniejsze (< 0,02 ÷ 0,08 mg/m^3) w procesie przemywania (*washing*), natomiast w procesie zobojętniania stężenia wynosiły < 0,05 ÷ 0,06 mg/m^3 (*Chen* i in. 2005; *Liu* i in. 2005).

W zakładach elastomerów poliuretanowych, stosujących MOCA (w Japonii), wykonano pomiary stężenia związku w powietrzu i w moczu 5 pracowników. Stężenia MOCA w powietrzu mierzone dozymetrami indywidualnymi były w zakresie 0,2 ÷ 8,9 μg/m^3. Średnie stężenia MOCA w moczu, mierzone na początku i końcu zmiany roboczej, wynosiły odpowiednio 3,1 ÷ 81,5 μg/g kreatyny oraz 2,4 ÷ 96,6 μg/g kreatyniny. Wydalanie MOCA z moczem było dużo większe niż oszacowane na podstawie stężeń w powietrzu, co sugeruje, że znaczne ilości MOCA zostały wchłonięte innymi drogami niż droga inhalacyjna. Autorzy opracowania ocenili, że narażenie inhalacyjne stanowiło jedynie 0,5 ÷ 5% łącznego narażenia (*Ichikawa* i in. 1990).

W badaniu narażenia zawodowego, w zakładach elastomerów poliuretanowych w Wielkiej Brytanii, pobierano próby powietrza w strefie oddychania pracowników oraz próby stacjonarne, mierzono skażenie powierzchni przez MOCA oraz prowadzono pomiar MOCA w moczu pracowników. Tylko 2,5% z 80 pobranych prób powietrza w strefie oddychania przekraczało stężenie 5 μg/m^3, 84% było poniżej limitu detekcji metody. Obecność MOCA stwierdzono w 12 na 128 statycznych prób powietrza, natomiast największe stężenie wynosiło 11 μg/m^3. W 60 procentach pobranych prób z powierzchni roboczych (n = 334) wykryto stężenia MOCA w zakresie 0,019 ÷ 400 μg/cm^2. Spośród pobranych prób moczu (n = 79) w 49 procentach stężenie MOCA było poniżej limitu detekcji metody, a tylko w 3 próbach stężenie MOCA przekraczało 15 μmol/mol kreatyniny (wartość przyjęta jako wartość wskaźnikowa BMGV). Dla stężenia MOCA w moczu 90. percentyl wynosił 8,6 μmol/mol kreatyniny. Autorzy tego badania wskazują, że narażenie na MOCA powinno być dalej ograniczane, zwłaszcza ze względu na skażenia powierzchni roboczych (*Cocker* i in. 2009).

W zakładach poliuretanowych w Australii, stosujących MOCA, monitoring wykazał bardzo małe stężenia związku w powietrzu. W 30 procentach pobranych prób stężenie było poniżej limitu detekcji metody; średnia geometryczna ze wszystkich pomiarów wynosiła 0,08 μg/m^3, natomiast 95. percentyl wynosił 0,29 μg/m^3. Stężenia MOCA w moczu, zbieranym na koniec zmiany roboczej od 24 pracowników, którzy mogli być szczególnie narażeni na MOCA, dały średnią geometryczną 0,89 μmol/mol kreatyniny, a 95. percentyl wynosił 52 μmol/mol kreatyniny. Na podstawie wyników badań stwierdzono, że narażenie pracowników drogą inhalacyjną było minimalne, natomiast dane z monitoringu biologicznego wskazują, że głównym składnikiem narażenia było wchłanianie przez skórę (*Shankar* i in. 2017).

W Unii Europejskiej narażonych na MOCA jest 350 pracowników, natomiast 1 200 osób jest

potencjalnie narażonych pośrednio. Typowy poziom narażenia wynosi 0,1 ÷ 5 μg/m^3, maksymalne stężenia mogą dochodzić do 15 μg/m^3 (Commission… 2018).

Zgodnie z danymi Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje, Czynniki i Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym prowadzonym w Instytucie Medycyny Pracy w Łodzi, MOCA była stosowana w latach 2006-2016 w 3 ÷ 6 zakładach pracy w Polsce. Zgłoszona do rejestru liczba narażonych wynosiła od 29 osób w 2008 r. do 14 osób w latach 2015-2016. Odsetek narażonych kobiet wynosił 42 ÷ 71%. Szczegółowe dane o narażeniu na MOCA w ostatnich latach przedstawiono w tabeli 2.

W Polsce w 2013 r. nie zanotowano liczby pracowników narażonych na stężenie MOCA w powietrzu powyżej wartości NDS (0,02 mg/m^3).

Tabela 2.
Narażenie na MOCA w Polsce w latach 2012–2016 (Centralny Rejestr... 2018)

Rok	Liczba zakładów pracy	Liczba narażonych osób	
		ogółem	kobiet
2012	4	23	14
2013	4	22	14
2014	4	17	11
2015	6	14	7
2016	5	14	10

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne

Zatrucia ostre

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji na temat ostrych zatruć 2,2'-dichloro-4,4'-metylenodianiliną (MOCA) w warunkach narażenia zawodowego. Opisano natomiast przypadkowe narażenie pracowników w następstwie oblania się stopioną MOCA. Mężczyzna, który przypadkowo oblał się stopionym związkiem (ok. 12 litrów), początkowo odczuwał pieczenie skóry ramion, jak przy oparzeniu słonecznym. W okresie 14 dni po wypadku nie wystąpiły u niego żadne skutki działania toksycznego MOCA. W testach oceniających czynność nerek i wątroby nie stwierdzono odchyleń od stanu prawidłowego. Nie wystąpiła także methemoglobinemia, krwiomocz ani białkomocz. W moczu pobranym 4 h po wypadku stężenie MOCA wynosiło 1 700 μg/l, które zmniejszyło się do 100 μg/l w czasie następnych 4 dni. Na podstawie wyników badań obliczono półokres wydalania, który wynosił 23 h (*Osorio* i in. 1990). U innego pracownika, który przypadkowo oblał twarz stopionym związkiem, wystąpiło pieczenie oczu i skóry twarzy, zapalenie spojówek oraz nudności. Dodatkowo próba moczu pobrana ok. 5 h po wypadku wykazała obecność globuliny i albuminy, wskazujących na uszkodzenie nerek (*Hosein, van Roosmalen* 1978).

Zatrucia przewlekłe

U osób zawodowo narażonych na MOCA sporadycznie obserwowano krwiomocz (*Mastromatteo* 1965). Nawet po długotrwałym narażeniu nie występowały chroniczne skutki działania MOCA (inne niż nowotworowe), (DFG 1996).

Badania epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących wyników badań epidemiologicznych pracowników narażonych zawodowo na MOCA. Istniejące dane dotyczą wykrywania nowotworów pęcherza moczowego u osób narażonych zawodowo i zostały omówione w rozdziale „Działanie rakotwórcze".

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra

Wartości DL_{50} MOCA dla zwierząt laboratoryjnych przedstawiono w tabeli 3. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat narażenia zwierząt drogą inhalacyjną.

Tabela 3.
Wartości median dawek letalnych MOCA dla zwierząt doświadczalnych (ChemIDplus 2018; RTECS 2017)

Gatunek zwierząt	Droga podania		
	dożołądkowa, wartość DL_{50}, mg/kg	dootrzewnowa, wartość DL_{50}, mg/kg	na skórę, wartość DL_{50}, mg/kg
Szczur	1140	–	> 5 000 (podskórnie)
Mysz	640	64	–
Królik		–	> 5000
Świnka morska	400	–	–

Objawy kliniczne ostrego zatrucia po podaniu MOCA zwierzętom to: zmniejszenie aktywności ruchowej, sinica, obniżenie temperatury ciała, krwiomocz, łzawienie i zmniejszenie masy ciała po 1 ÷ 3 dniach. Natomiast w ocenie histopatologicznej stwierdzono: krwotoczny obrzęk żołądka, pęcherz moczowy wypełniony ciemnoczerwonym płynem, bladą wątrobę i przekrwione nerki. Zwierzęta, które przeżyły, miały powiększoną śledzionę (ACGIH 2001; *Sitarek, Lebrecht* 2003).

Psy (3) otrzymywały MOCA w dożołądkowych dawkach: 10; 40 lub 80 mg/kg mc.; następnego dnia dawki zmniejszono do: 10; 20 i 40 mg/kg mc. MOCA w dużych dawkach (40 lub 80 mg/kg mc.) powodowała: osłabienie, wymioty, sinicę oraz methemoglobinemię (ACGIH 2001).

MOCA wywierała umiarkowane działanie drażniące na skórę świnek morskich oraz powodowała umiarkowane działanie drażniące na spojówki, nie powodowała natomiast uszkodzeń rogówki i tęczówki oka królika. W teście na świnkach morskich nie wykazano działania uczulającego MOCA (ACGIH 2001; *Sitarek, Lebrecht* 2003).

Do dokumentacji dla celów rejestracyjnych w ECHA (2018) dołączono niepublikowane wyniki badań działania drażniącego na oko i skórę przeprowadzone w warunkach *in vitro* oraz wyniki działania uczulającego na skórę w warunkach *in vivo*. Badania te przeprowadzono zgodnie z GLP, ogólnie uznanymi w UE metodami. Badania działania drażniącego na oko wykonano zgodnie z wytyczną OECD 437 na rogówce wołowej; otrzymano wskaźnik działania drażniącego w warunkach *in vitro* (IVIS) wynoszący 8,1, który wskazuje na brak poważnego działania drażniącego/żrącego na oko (za poważne działanie przyjmuje się IVIS ≥ 55,1). Badania działania drażniącego na skórę przeprowadzono metodą EU B.46 na modelu zrekonstruowanego ludzkiego naskórka. Stwierdzono, że w warunkach testu MOCA nie wykazywała działania drażniącego na skórę. Badania uczulenia skóry przeprowadzone na myszach w warunkach *in vivo* testem lokalnych węzłów chłonnych, zgodnie z wytyczną OECD 429 wykazały, że MOCA nie powodowała uczulenia skóry (ECHA 2018).

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Badania toksyczności podprzewlekłej i przewlekłej prowadzono: po narażeniu zwierząt na MOCA drogą pokarmową (myszy, szczury, psy), po podaniu na skórę (myszy), podskórnym (szczury) oraz po podaniu dootrzewnowym (myszy).

Droga pokarmowa

W tabeli 4. zestawiono najważniejsze skutki nienowotworowe powstające po powtarzanym lub przewlekłym narażeniu zwierząt doświadczalnych na MOCA (droga pokarmowa).

Tabela 4.
Skutki nienowotworowe podprzewlekłego i przewlekłego narażenia zwierząt na MOCA

Gatunek, płeć, liczba zwierząt w grupie	Czas i sposób narażenia	Dawka dzienna MOCA (lub stężenie)	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Myszy ICR, samce, 8 ÷ 10 zwierząt w grupie	3 miesiące, w wodzie do picia; obserwacja przez następnych 6 miesięcy	50 mg/kg mc.; 100 mg/kg mc.; 200 mg/kg mc.	padnięcia zwierząt zależne od dawki: 50 mg/kg mc. – 1/10; 100 mg/kg mc. – 2/9 oraz 200 mg/kg mc. – 8/8 w ciągu 4 miesięcy obserwacji; u zwierząt, które padły stwierdzono obrzęk i rozszerzenie jelit; u zwierząt, które przeżyły (łącznie po dawkach 50 lub 100 mg/kg mc.) – chroniczne zapalenie, degeneracja lub dysplazja komórek: - wątroby (13/16) - żołądka (12/16) - jelit (10/16) - nerek (9/16) - pęcherza moczowego (9/16)	*Chen* i in. 2014
Myszy HaM/ICR, 25/płeć/dawkę	18 miesięcy w paszy; obserwacja przez następnych 6 miesięcy	0; 1 000 mg/kg paszy; 2 000 mg/kg paszy (dawki obliczone: 0; 125 i 250 mg/kg mc./dzień)	mniejsza dawka – bez wpływu na padnięcia zwierząt; większa dawka – zwiększona liczba padnięć zwierząt (samców); brak wpływu na masę ciała	*Russfield* i in. 1975
Szczury, 6 zwierząt w grupie (brak bliższych danych)	10 dni	200 mg/kg	brak padnięć; zmniejszenie masy ciała; sinica; wielomocz; żółtopomarańczowe zabarwienie moczu; glukozuria (brak szczegółów); wzrost methemoglobiny we krwi; zmniejszenie stężenia glukozy we krwi	ACGIH 2001
Szczury Sprague-Dawley, samce, 12 zwierząt w grupie	45 dni	0; 0,4; 2; 10 i 50 mg/kg mc./dzień	0,4 mg/kg mc. – brak zmian 2 mg/kg mc. – brak zmian (NOAEL) 10 mg/kg mc.: – nerki: zmiany bazofilowe w kanalikach nerkowych – 3/5, – śledziona: umiarkowane depozyty hemosyderyny - 4/5; 50 mg/kg mc.: – wątroba: obrzęk hepatocytów i stłuszczenie – 6/6, martwica pojedynczych hepatocytów – 3/6, – nerki: zmiany bazofilowe w kanalikach nerkowych (samce – 4/5; – śledziona: depozyty hemosyderyny – 5/5	ECHA 2018
Szczury Wistar, 25/płeć/dawkę	500 dni w paszy niskobiałkowej; obserwacja do momentu padnięcia zwierząt	0; 1 000 mg/kg paszy; dawka całkowita 27g/kg mc. (dawki obliczone: 0 i ok. 55 mg/kg mc./dzień)	zmniejszona przeżywalność w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej; stłuszczenie i martwica wątroby (brak szczegółów)	*Grundmann, Steinhoff* 1970
Szczury CD-1, samce, 25 zwierząt w grupie	18 miesięcy w paszy; obserwacja przez następnych 6 miesięcy	0; 500 mg/kg paszy; 1 000 mg/kg paszy (dawki obliczone: 0; 25 i 50 mg/kg mc./dzień)	zmniejszona przeżywalność w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej; zależne od dawki zmniejszenie masy ciała w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej; brak innych oznak toksyczności	*Russfield* i in. 1975

cd. tab. 4.

Gatunek, płeć, liczba zwierząt w grupie	Czas i sposób narażenia	Dawka dzienna MOCA (lub stężenie)	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczury Sprague-Dawley, samce, 50 ÷ 100 zwierząt w grupie	18 miesięcy w paszy; obserwacja przez następnych 8 miesięcy	pasza niskobiałkowa: 0; 125; 250 i 500 mg/kg paszy (dawki obliczone: 0; 6,25; 12,5 i 25 mg/kg mc./dzień); pasza standardowa: 0; 250; 500 i 1 000 mg/kg paszy (dawki obliczone: 0; 12,5; 25 i 50 mg/kg mc./dzień)	zmniejszona przeżywalność w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej; znaczne zmniejszenie masy ciała po najwyższej dawce, niezależnie od rodzaju paszy; hematokryt i stężenie hemoglobiny bez zmian	*Kommineni* i in. 1979
Psy, 3 zwierząt w grupie (brak bliższych danych)	67 dni	dawki stopniowo zwiększane o 2 mg/kg mc./dzień do dawki 64 mg/kg mc.	niewielkiego stopnia methemoglobinemia; niedokrwistość makrocytarna; wzrost wydalania urobilinogenu w kale	ACGIH 2001
Psy Beagle, Samice, 6 zwierząt w grupie	w kapsułkach przez 9 lat; 3 dni/tydz. przez 6 tyg.; następnie 5 dni/tydz.	100 mg/dzień (8 ÷ 15 mg/kg mc./dzień)	1 padł po 3,4 roku (ropniak macicy i odmiedniczkowe zapalenie nerek); 1 uśmiercony po 8,3 roku (torbielowaty rozrost przedniego płata przysadki); istotny wzrost aktywności ALT; zapalenie pęcherza moczowego, obecność: erytrocytów, leukocytów, komórek nabłonkowych w moczu (5/5); guzki rozrostowe wątroby (3/5)	*Stula* i in.1978

Inne drogi podania

Informacje dotyczące wyników badań po wielokrotnym podawaniu MOCA na skórę są ograniczone. W badaniu *Chen* i in. (2014) samcom myszy ICR (po 9 ÷ 10 zwierząt w grupie) podawano na skórę MOCA w dawkach 100 lub 200 mg/kg mc./dzień przez 3 miesiące. Obserwację zwierząt prowadzono przez kolejne 6 miesięcy. Tylko jedna z myszy, otrzymujących dawkę 200 mg/kg mc., padła w okresie obserwacji. Badania histomorfologiczne u zwierząt, które przeżyły, wykazały zmiany zapalne, degenerację i dysplazję: wątroby (14/18), żołądka (12/18), jelit (11/18), nerek (10/18) lub pęcherza moczowego (10/18). Wyniki te sugerują, że MOCA jest wydajnie wchłaniana przez skórę.

W badaniach na szczurach Wistar (po 17/płeć) po podaniu podskórnym MOCA (dawki 500 lub 1000 mg/kg mc.) w odstępach takich, aby w ciągu 620 dni uzyskać dawkę łączną 25 g/kg mc., poza istotnym skróceniem czasu przeżycia zwierząt nie obserwowano istotnych objawów toksyczności MOCA innych niż nowotworowe (*Steinhoff, Grundmann* 1971).

Badano także toksyczność MOCA po podaniu dootrzewnowym. Samice myszy ICR (po 6 ÷ 8 zwierząt w grupie) otrzymywały MOCA w dawkach 100 lub 200 mg/kg mc./dzień przez 10 dni. Wszystkie zwierzęta padły między 6. ÷ 18. dniem. W jamie brzusznej stwierdzono martwicę jelita cienkiego oraz (w niektórych przypadkach) zestaloną postać wstrzykiwanego płynu (*Chen* i in. 2014).

Wyniki badań toksyczności podprzewlekłej i przewlekłej MOCA, dotyczące skutków nienowotworowych, nie wykazały konkretnego narządu krytycznego i wskazują na toksyczność wielonarządową związku.

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Wyniki badań mutagenności i genotoksyczności MOCA w warunkach *in vitro* i *in vivo* przedstawiono w tabelach 5. i 6. Dane zamieszczone w tabelach stanowią podsumowanie wyników badań szczegółowo przedstawionych w IARC (1993) i Toxicological Profile… (2017), bez podawania oryginalnego piśmiennictwa.

Tabela 5.

Wyniki badań mutagenności MOCA w warunkach *in vitro*

Rodzaj testu	Układ badawczy	Wynik testu	
		- S9	+ S9
Organizmy prokariotyczne			
Mutacje powrotne	*Salmonella* Typhimurium TA100	–	+
	Salmonella Typhimurium TA1535	–	–
	Salmonella Typhimurium TA1537	–	–
	Salmonella Typhimurium TA1538	–	–
	Salmonella Typhimurium TA98	–	+
	Salmonella Typhimurium TA98	–	–
	Salmonella Typhimurium TM677 (zawiera pKM 101)	nb.	+
	Escherichia coli WP2 uvrA	–	–
	Escherichia coli WP2 uvrA/pKM 101	–	+
	Escherichia coli WP2/pKM 101	–	+
Naprawa DNA (*differential killing in deficient strains*)	*Escherichia coli* P3478 (polA-)/ W3110 (polA+)	+	–
	Escherichia coli WP67, CN871	+	–
Naprawa DNA (indukcja SOS)	*Escherichia coli* 58-161 envA	nb.	+
Naprawa DNA (rec- assay)	*Escherichia coli* JC2921 (recA-), JC5519 (recBC-)	nb.	+
	Bacillus subtilis rec-	+	+
Organizmy eukariotyczne (nie ssaki)			
Konwersja genowa	*Saccharomyces cerevisiae* D4	–	–
	Saccharomyces cerevisiae JD1	+	+
Mutacje powrotne	*Saccharomyces cerevisiae* XV185-14C	–	–
Rekombinacja mitotyczna	*Saccharomyces cerevisiae* XII	–	–
Aneuploidia	*Saccharomyces cerevisiae* D6	+	+
Komórki ssaków			
Mutacje postępowe	komórki chłoniaka myszy L5178Y TK+/-	–	+
Nieplanowa synteza DNA (UDS)	ludzkie komórki HeLa	–	+
	hepatocyty szczura	+	nb.
	hepatocyty myszy	+	nb.
	hepatocyty chomika syryjskiego	+	nb.
	hepatocyty królika	+	nb.
Wymiana chromatyd siostrzanych (SCE)	komórki jajnika chomika chińskiego (CHO)	–	–
	komórki jajnika chomika chińskiego (CHO)	±	±

cd. tab. 5.

Rodzaj testu	Układ badawczy	Wynik testu	
Aberracje chromosomowe	komórki jajnika chomika chińskiego (CHO)	–	–
Pęknięcia pojedynczych nici DNA	ludzkie embrionalne komórki płuc	+	nb.
	ludzkie komórki płuc	+	nb.
	szczurze komórki płuc	+	nb.
	komórki embrionalne chomika	+	nb.
Addukty z DNA	ludzkie komórki nabłonka moczowego	+	nb.
	eksplanty ludzkiego pęcherza moczowego	+	nb.
	eksplanty pęcherza moczowego psa	+	nb.
Transformacja komórkowa	embrionalne komórki szczura RLV ($2FR_4$50)	+	nb.
	komórki myszy BALB/c 3T3	+	nb.
	komórki BHL21 nerek chomika syryjskiego	+	+

Objaśnienia:
nb. – nie badano.
(±) – wynik niejednoznaczny.
(+) – wynik dodatni.
(–) – wyniki ujemny.

Tabela 6.

Wyniki badań genotoksyczności MOCA w warunkach *in vivo* (Toxicological Profile... 2017)

Gatunek	Droga narażenia	Rodzaj badania	Wynik
Ssaki			
Człowiek	zawodowa	wymiana chromatyd siostrzanych w limfocytach krwi obwodowej	+
Szczur Wistar	dootrzewnowa	wymiana chromatyd siostrzanych w limfocytach krwi obwodowej	+
Człowiek	zawodowa	mikrojądra w komórkach nabłonka dróg moczowych	+
Człowiek	zawodowa	mikrojądra w limfocytach krwi obwodowej	+
Szczur Sprague-Dawley	dootrzewnowa	mikrojądra w komórkach szpiku kostnego	–
Szczur Sprague-Dawley	dootrzewnowa	mikrojądra w limfocytach krwi obwodowej	–
Mysz B6C3F1/BR	dootrzewnowa	mikrojądra w komórkach szpiku kostnego	+
Mysz CD-1	dootrzewnowa	mikrojądra w erytrocytach	–
Człowiek	zawodowa	oksydacyjne uszkodzenie DNA (8-OHdG w osocz)	–
Szczur Sprague-Dawley	dożołądkowa	pęknięcia pojedynczych nici DNA w płucach i wątrobie	+
Szczur Sprague-Dawley	dożołądkowa	pęknięcia pojedynczych nici DNA w nerkach	–
Człowiek	zawodowa	addukty z DNA w komórkach nabłonka moczowego	+
Szczur Sprague-Dawley	dożołądkowa	addukty z DNA w: wątrobie, pęcherzu moczowym i limfocytach	+
Szczur Sprague-Dawley	dożołądkowa	addukty z DNA w: wątrobie, płucach i nerkach	+
Szczur Sprague-Dawley	dermalna	addukty z DNA w: wątrobie, pęcherzu moczowym i limfocytach	+
Szczur Sprague-Dawley	dootrzewnowa	addukty z DNA w wątrobie	+
Szczur Wistar	dootrzewnowa	addukty z DNA w wątrobie	+
Nie ssaki			
Drosophila melanogaster	pokarmowa, dermalna	mutacje somatyczne i rekombinacje (*wing-spot* test)	+

cd. tab. 6.

Gatunek	Droga narażenia	Rodzaj badania	Wynik
Drosophila melanogaster	inhalacyjna	recesywne mutacje letalne związane z płcią	+
Drosophila melanogaster	pokarmowa, dermalna	recesywne mutacje letalne związane z płcią	+

Objaśnienia:
(+) – wynik dodatni.
(–) – wyniki ujemny.

Działanie mutagenne MOCA

Badania w warunkach *in vitro* prowadzone na *Salmonella* Typhimurium dostarczyły dowodów na to, że MOCA wykazuje działanie mutagenne, a skutek mutagenny wymaga obecności zewnętrznej aktywacji metabolicznej. Generalnie, uzyskane wyniki wskazują, że MOCA jest mutagenem tylko dla szczepów: TA100, TA98 i TM677 przy stężeniu 250 µg/płytkę, chociaż dla szczepu TA98 istnieją pewne rozbieżności w wynikach. MOCA i jej metabolity nie były mutagenne dla szczepów: TA1535, TA1537 i TA1538. Wyniki te sugerują, że mutagenne działanie metabolitów MOCA u niektórych bakterii jest zależne od plazmidu pKM101. Szczepy: TA98, TA100 i TM677 zawierają ten plazmid, natomiast szczepy: TA1535, TA1537 i TA1538 nie zawierają go. Zgodnie z tą hipotezą MOCA aktywowana frakcją S9 wykazuje działanie mutagenne u *Escherichia coli* WP2uvrA tylko w obecności plazmidu pKM101. Mutacje genowe stwierdzane w hodowlach komórek chłoniaka myszy, wywoływane przez MOCA, także wymagają aktywacji metabolicznej. MOCA nie indukowała mutacji genowych u *Saccharomyces cerevisiae* zarówno bez, jak i z aktywacją metaboliczną (Toxicological Profile… 2017).

Badania w warunkach *in vivo* prowadzone na zwierzętach doświadczalnych dostarczyły zarówno bezpośrednich, jak i pośrednich dowodów na mutagenne działanie MOCA. Metabolity MOCA wiązały się z DNA po podaniu szczurom związku drogą pokarmową, jak przez skórę. Ponadto u *Drosophila melanogaster* po narażeniu na MOCA inhalacyjnie, pokarmowo czy przez skórę obserwowano niewielki wzrost recesywnych mutacji letalnych związanych z płcią. MOCA indukowała także mutacje somatyczne i rekombinacje u *D. melanogaster* w teście plamkowym na skrzydłach (ang. *wing spot assay)*.

Za mutagenne działanie MOCA wydaje się być odpowiedzialna głównie pochodna *N*-hydroksylowa, która powodowała (zależny od dawki) wzrost mutacji u *S.* Typhimurium TA100 i TA98 w teście preinkubacji w dawkach ≥ 5 µg/płytkę bez aktywacji i mutacje genowe HPRT w ludzkich komórkach limfoblastoidalnych AHH-1. Metabolit ten powstaje u wielu gatunków, w tym u psów i ludzi. Pochodna mononitrozowa wydaje się być także bezpośrednim mutagenem, jednak o słabszym działaniu, powodując istotny statystycznie wzrost mutacji powrotnych w teście preinkubacji w najwyższej badanej nietoksycznej dawce (50 µg/płytkę). Pochodne *o*-hydroksylowa i dinitrozowe nie wykazywały bezpośredniego działania mutagennego o stężeniach odpowiednio 50 lub 500 µg/płytkę. *N*-acetylacja jest uważana za szlak deaktywacji; pochodne *N*-acetylowa i *N,N*--diacetylowe nie wykazywały działania mutagennego u *S.* Typhimurium bez aktywacji metabolicznej. W obecności aktywacji metabolicznej aktywność mutagenna pochodnych acetylowych była mniejsza, niż związku macierzystego (MOCA), (Toxicological Profile… 2017).

Działanie klastogenne

Dowody działania klastogennego w komórkach ssaków w warunkach *in vitro* po narażeniu na MOCA bez, jak i z aktywacją są ograniczone. MOCA nie indukowała aberracji chromosomowych w komórkach jajnika chomika chińskiego (CHO) i jedynie słabo indukowała wymianę chromatyd siostrzanych (SCE) w komórkach CHO w jednym na dwa badania. Wyniki otrzymywane u gryzoni po narażeniu w warunkach *in vivo* są także niejednoznaczne. MOCA podana dootrzewnowo indukowała powstanie mikrojąder w komórkach szpiku kostnego myszy, natomiast nie indukowała mikrojąder w erytrocytach myszy czy komórkach szpiku kostnego i limfocytach szczurów. U ludzi narażonych zawodowo na MOCA obserwowano wzrost SCE i mikrojader w limfocytach krwi obwodowej i złuszczonych komórkach nabłonka moczowego. Skutki te są prawdopodobnie spowodowane przez metabolity MOCA, gdyż wzrost mikrojąder stwierdzano u pracowników z polimorfizmem A/A i A/G CYP3A4 (wzrost aktywności) w porównaniu do CYP3A4 G/G (obniżona aktywność); CYP3A4 uczestniczy w *N*-hydroksylacji i *N*-oksydacji MOCA (Toxicological Profile… 2017).

U *Saccharomyces cerevisiae* MOCA indukowała mitotyczną konwersję genową w szczepie JD1, natomiast nie indukowała w szczepie D4 zarówno bez, jak i z aktywacją metaboliczną. MOCA nie indukowała rekombinacji mitotycznej u *S. cerevisiae* XII, natomiast mitotyczną aneuploidię stwierdzono (bez i z aktywacją) u *S. cerevisiae* D6.

Interakcje MOCA z DNA

Istnieją znaczące dowody, że metabolity MOCA wiążą się bezpośrednio z DNA, tworząc addukty. Addukty z DNA wykryto w złuszczonych komórkach nabłonka moczowego pracowników narażonych na MOCA oraz w ludzkich komórkach nabłonka dróg moczowych i eksplantach kultur pęcherza moczowego, eksponowanych na MOCA w warunkach *in vitro*. Addukty z DNA w pęcherzu moczowym stwierdzono także u szczurów po narażeniu na MOCA drogą pokarmową lub dermalną i w eksplantach pęcherza psów po narażeniu w warunkach *in vitro*. Tworzenie adduktów z DNA w tkankach pęcherza moczowego ludzi i psów ma szczególne znaczenie, ponieważ MOCA podejrzewana jest o wywoływanie raka pęcherza u ludzi oraz powoduje nowotwory pęcherza u psów. W przeprowadzonych badaniach poziom adduktów wzrastał wraz z dawką MOCA, wzrost ten nie był jednak liniowy. Co najmniej sześć różnych adduktów stwierdzono w nabłonku pęcherza u psów; w ludzkim nabłonku pęcherza stwierdzono cztery typy adduktów, trzy z nich były takie same, jak u psów (Toxicological Profile… 2017).

Addukty z DNA obserwowano także w: wątrobie, płucach, nerkach i limfocytach szczurów po narażeniu na MOCA drogą: pokarmową, dermalną lub dootrzewnową. Wykazano, że metabolity *N*-hydroksy- i *N*-acetoksy- w kulturach z izolowanym szczurzym DNA tworzą addukty. Badania w warunkach *in vivo* i *in vitro* na szczurach pozwoliły zidentyfikować dwa inne, główne addukty z MOCA – alkohol *N*-(deoksyadenozyn-8-ylo)-4-amino-3-chlorobenzylowy i *N*-(deoksyadenozyn-8-ylo)-4-amino-3-chlorotoluen. Pobodnie jak w przypadku adduktów w pęcherzu, addukty z DNA w wątrobie i płucach są szczególnie istotne, gdyż MOCA po przewlekłym narażeniu gryzoni drogą pokarmową powodowała powstawanie nowotworów płuc i wątroby (Toxicological Profile… 2017).

Uszkodzenia DNA stwierdzono zarówno w badaniach w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*. Uszkodzenie DNA (pęknięcie pojedynczej nici) obserwowano w: ludzkich embrionalnych i pierwotnych kulturach komórek płuc, pierwotnych kulturach komórek płuc szczura i komórkach embrionalnych chomika po narażeniu na MOCA. W hepatocytach: szczurów, myszy, chomików i królików, narażanych na MOCA stwierdzono także nieplanową syntezę DNA. Wrażliwość na MOCA była zależna od gatunku: szczur > mysz > chomik > królik. Aktywacja metaboliczna w tych badaniach nie była stosowana, gdyż pierwotne kultury hepatocytów są metabolicznie kompetentne. Nieplanową syntezę DNA obserwowano także w ludzkich komórkach HeLa w obecności aktywacji metabolicznej. W warunkach *in vivo* pęknięcia pojedynczych nici DNA obserwowano w płucach i wątrobie (ale nie w nerkach) szczurów Spraque-Dawley po pojedynczej, dożołądkowej dawce MOCA 570 mg/kg mc. MOCA także indukowała mechanizmy naprawcze DNA w testach na *E. coli* i *Bacillus subtillis* zarówno z aktywacją, jak i bez aktywacji metabolicznej (Toxicological Profile… 2017).

Obserwowane uszkodzenia DNA wydają się być spowodowane bezpośrednią interakcją z DNA, ponieważ brak jest dowodów na oksydacyjne uszkodzenie DNA (w oparciu o poziomy 8-OHdG w osoczu) pracowników narażonych na MOCA. Istnieje jednak badanie (nie ujęte w zbiorczym opracowaniu Toxicological Profile… 2017), w którym u myszy samców ICR obserwowano istotny wzrost, w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej, w poziomach 8-OHdG w osoczu. Poziomy 8-OHdG wzrastały po podaniu MOCA drogą pokarmową (w wodzie do picia) lub na skórę przez 3 miesiące w dawkach do 200 mg/kg mc. (*Chen* i in. 2014).

Transformacja komórkowa

MOCA indukowała transformację komórkową u embrionów szczura zainfekowanych RLV (wirus białaczki Rauschera), w komórkach myszy Balb/3T3 i w komórkach nerkowych noworodków chomika bez aktywacji metabolicznej oraz w komórkach nerkowych noworodków chomika w obecności aktywacji metabolicznej (Toxicological Profile… 2017).

Działanie rakotwórcze

Działanie rakotwórcze na ludzi

W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych epidemiologicznych, które w sposób jednoznaczny wskazywałyby, że narażenie zawodowe na MOCA jest przyczyną występowania nowotworów u narażonych pracowników.

Badania kliniczne i cytologiczne 31 pracowników zawodowo narażonych na MOCA, przez okres od 6 miesięcy do 16 lat, nie wykazały przypadków nowotworów pęcherza moczowego, chociaż narażenie na MOCA potwierdzały stężenia tego związku w moczu. Także w przypadku 178 innych pracowników, narażonych w przeszłości (ponad 10 lat od zakończenia narażenia), nie stwierdzono nowotworów pęcherza (*Linch* i in. 1971). Natomiast w innym zakładzie, produkującym MOCA, badania kohortowe ujawniły 13 przypadków raka pęcherza moczowego, które miały miejsce na przestrzeni kilku lat; częstość tych nowotworów była większa od oczekiwanej (*Cartwright* 1983).

Przeprowadzono ocenę częstości występowania nowotworów pęcherza moczowego u pracowników zatrudnionych w latach 1968-1979 w zakładzie produkującym MOCA, oraz w grupie pracowników, zatrudnionych w latach 1980-1981, którzy mogli być narażeni na pozostałości MOCA (produkcję zakończono w 1979 r). Średni czas zatrudnienia wynosił 3,2 miesiąca. Pracownicy nie byli narażeni na benzydynę i/lub β-naftyloaminę. Ponieważ stężenia MOCA w moczu po kilku miesiącach po zaprzestaniu produkcji dochodziły do 50 000 μg/l należy przypuszczać, że narażeni byli na duże stężenia MOCA. Spośród 540 pracowników u 385 wykonano badanie moczu, które nie wykazało zmian cytologicznych; obecność atypowych form nabłonka stwierdzono u 21/385 badanych, a obecność erytrocytów w polu widzenia u 60/385 osób. Pracownikom tym, a także pracownikom, których historia zawodowa sugerowała narażenie na duże stężenia MOCA, zaproponowano badanie cystoskopowe. Stwierdzono 2 przypadki nieinwazyjnych nowotworów pęcherza moczowego (brodawczaki stopnia I i I-II), które wystąpiły u młodych (28 i 29 lat), niepalących; tylko 1 z nich miał obecność erytrocytów w moczu. Wśród pierwotnej kohorty przeprowadzono ponowne badanie cystoskopowe, któremu poddano 200 pracowników. Stwierdzono trzeci przypadek raka brodawczakowego błony śluzowej pęcherza u 44-letniego mężczyzny, byłego palacza tytoniu. Mimo ujawnienia przypadków nowotworów u pracowników narażonych na MOCA, wyniki te mają ograniczoną wartość ze względu na brak grupy referencyjnej. Biorąc jednak pod uwagę fakt, że nowotwory pęcherza stwierdzono u relatywnie młodych, niepalących mężczyzn oraz to, że budowa chemiczna MOCA jest podobna do innych amin aromatycznych, powodujących nowotwory pęcherza u ludzi, wyniki tych badań wskazują, że MOCA może indukować nowotwory pęcherza u ludzi (*Ward* i in. 1988; 1990).

Liu i in. (2005) opisali przypadek inwazyjnego raka z komórek przejściowych pęcherza moczowego u pracownika zakładów produkujących MOCA. Pracownik ten przez 14 lat pracował przy procesie oczyszczania MOCA, gdzie stężenie w powietrzu wynosiło 0,23 ÷ 0,41 mg/m^3 i nie stosował środków ochrony indywidualnej. Badania skriningowe, przeprowadzone wśród 70 pracowników z tego samego zakładu i 92 pracowników nienarażonych na MOCA, ujawniły dalszych 2 pracowników z podejrzeniem nowotworu pęcherza moczowego (na podstawie obecności w moczu atypowych komórek z towarzyszącym znacznym krwiomoczem u jednego z nich oraz w drugim przypadku z podejrzeniem złośliwych komórek w cytologicznym badaniu moczu), (*Chen* i in. 2005).

Dost i in. (2009) monitorował występowanie nowotworów w kohorcie 308 pracowników, zatrudnionych przez co najmniej rok (w latach 1973-2000) w zakładach elastomerów poliuretanowych w Wielkiej Brytanii. Śmiertelność i częstość występowania nowotworów w latach 1979-2007 porównywano z wartościami oczekiwanymi dla populacji generalnej. W obserwowanej kohorcie zarówno zapadalność, jak i śmiertelność z powodu wszystkich nowotworów była mniejsza niż oczekiwana; wyjątek stanowiły raki pęcherza moczowego. Z powodu tego nowotworu nastąpił 1 zgon (wobec 0,18 oczekiwanych) oraz zarejestrowano 2 raki pęcherza (wobec 0,61 oczekiwanych). Obserwowany nadmiar tych nowotworów, oparty o jedynie dwa przypadki, nie był statystycznie znamienny.

W podsumowaniu całej bazy danych, dotyczących działania rakotwórczego MOCA u ludzi IARC stwierdziła, że dowody takiego działania u ludzi są niewystarczające (ang. *inadequate evidence*), (IARC 2012).

Działanie rakotwórcze na zwierzęta

Działanie rakotwórcze MOCA na zwierzęta (szczury, myszy, psy) badano po podaniu drogą pokarmową (w paszy lub w żelatynowych kapsułkach) oraz po podaniu podskórnym (szczury). Nie prowadzono badań po narażeniu inhalacyjnym.

Droga pokarmowa

Myszy

Grupy po 25 myszy HaM/ICR obu płci w wieku 6 ÷ 8 tygodni karmiono paszą, zawierającą MOCA (jako chlorowodorek) o stężeniach: 0; 1 000 lub 2 000 mg/kg paszy przez 18 miesięcy. Obliczone przez DECOS (2000) dzienne dawki MOCA, przy

założeniu, że dzienne spożycie paszy przez myszy wynosi 125 g paszy/kg mc., wynosiły 0; 125 oraz 250 mg/kg mc./dzień. Zwierzęta, które przeżyły zabijano po 24 miesiącach od początku narażenia. W tabeli 7. przedstawiono częstość występowania nowotworów u myszy narażanych na MOCA. Autorzy podają, że częstość nowotworów naczyń u zwierząt, otrzymujących większą dawkę MOCA, była porównywalna z historyczną kontrolą dla tego szczepu myszy (*Russfield* i in. 1975). Grupa robocza IARC oceniająca to doświadczenie stwierdziła, że występowanie nowotworów naczyniowych prawdopodobnie nie było związane z narażeniem na MOCA (IARC 2012).

Tabela 7.
Częstość występowania nowotworów u myszy HaM/ICR, otrzymujących MOCA w paszy w warunkach narażenia przewlekłego (*Russfield* i in. 1975)

Rodzaj nowotworu	Stężenie MOCA w paszy, mg/kg paszy (obliczona dawka dzienna, mg/kg mc./dzień)		
	0	1 000 (125)	2 000 (250)
Naczyniaki lub naczyniakomięsaki	♂ 0/18 ♀ 1/20	♂ 3/13 ♀ 0/21	♂ 8/20 ♀ 6/14
Wątrobiaki	♂ 3/18 ♀ 0/20	♂ 3/13 ♀ 9/21*	♂ 4/20 ♀ 7/14*

Objaśnienia:
♂ – samiec.
♀ – samica.
*$P < 0{,}01$ (test Fishera).

Szczury

Szczury Wistar obu płci w wieku 14 tygodni, w grupach liczących po 25 zwierząt, otrzymywały z paszą niskobiałkową MOCA o stężeniach 0 (grupy kontrolne) lub 1 000 mg/kg paszy. Narażenie na MOCA prowadzono przez 500 dni (71 tygodni). Dawka całkowita MOCA wynosiła 27 g/kg mc. (oszacowana przez autorki dokumentacji dawka dzienna, średnia dla obu płci wynosiła ok. 55 mg/kg mc./dzień). Zwierzęta w okresie obserwacji po narażeniu również karmiono paszą niskobiałkową. Średni czas przeżycia narażanych zwierząt wynosił 565 dni (81 tygodni) dla samców oraz 535 dni (76 tygodni) dla samic. Zwierzęta z grupy kontrolnej przeżyły średnio 730 dni (104 tygodnie).

W tabeli 8. przedstawiono częstość występowania nowotworów u szczurów Wistar otrzymujących MOCA w paszy w warunkach narażenia przewlekłego (*Grundmann, Steinhoff* 1970).

Samce szczurów Charles River CD-1 w wieku 6 ÷ 8 tygodni, w grupach liczących po 25 zwierząt, otrzymywały z paszą MOCA (jako chlorowodorek) o stężeniach: 0; 500 lub 1 000 mg/kg paszy przez 18 miesięcy. Przyjmując za ECHA (2017), że dzienne spożycie paszy przez szczury wynosi 5% masy ciała, obliczone dawki MOCA wynosiły: 0; 25 lub 50 mg/kg mc./dzień. Zwierzęta, które przeżyły, zabijano po 24 miesiącach od początku narażenia. Około 55% zwierząt z grupy kontrolnej i narażanych przeżyło 20 ÷ 22 miesięcy. Wątrobiaków nie stwierdzono w grupie kontrolnej (0/22), a w grupach narażanych występowały u 1/22 (mniejsze stężenie MOCA) oraz u 4/19 w grupie narażanej na większe stężenie. Analiza trendu przeprowadzona testem Cochrana-Armitage wykazała $P < 0{,}05$ (*Russfield* i in. 1975). Grupa robocza IARC stwierdziła, że liczebność grup w tym doświadczeniu była zbyt mała (IARC 1993).

Szczury Charles River CD w wieku 5 tygodni (po 50/płeć/grupę) karmiono standardową paszą (23% białka), zawierającą MOCA o stężeniach 0 oraz 1 000 mg/kg paszy przez okres całego życia zwierząt (obliczona dawka dzienna wynosiła 0 lub 50 mg/kg mc./dzień). Średni czas trwania doświadczenia wynosił 80 tygodni dla samców narażanych i kontrolnych, 78 tygodni dla samic narażanych oraz 89 tygodni dla samic kontrolnych. Częstość występowania nowotworów u szczurów Charles River CD narażanych na MOCA przedstawiono w tabeli 9. (*Stula* i in. 1975). Dodatkowo, w tym samym eksperymencie inne grupy zwierząt (po 21/płeć/grupę) karmiono przez 16 miesięcy paszą niskobiałkową (7% białka), z dodatkiem MOCA o stężeniach 0 lub 1000 mg/kg paszy. Czas trwania doświadczenia wynosił: 57 tygodni dla narażanych samców, 60 tygodni dla narażanych samic oraz 55 tygodni dla kontrolnych samców i 66 tygodni dla kontrolnych samic.

Tabela 8.

Częstość występowania nowotworów u szczurów Wistar, otrzymujących MOCA w paszy w warunkach narażenia przewlekłego

Rodzaj nowotworu	Stężenie MOCA w paszy, mg/kg paszy (obliczona dawka dzienna, mg/kg mc./dzień)	
	0	1 000 (55)
Wątrobiaki	♂ 0/25 ♀ 0/25	♂ 22/25* ♀ 18/25*
Nowotwory płuc (głównie raki)	♂ 0/25 ♀ 0/25	♂ 8/25** ♀ 5/25***

Objaśnienia:
♂ – samiec.
♀ – samica.
* $P < 0{,}001$.
** $P = 0{,}002$.
*** $P = 0{,}025$ (test Fishera).

Tabela 9.

Częstość występowania nowotworów u szczurów Charles River CD, otrzymujących MOCA w paszy w warunkach narażenia przewlekłego

Rodzaj nowotworu	Stężenie MOCA w paszy, mg/kg paszy (obliczona dawka dzienna, mg/kg mc./dzień)	
	0	1 000 (50)
Pasza standardowa (23% białka)		
Gruczolakoraki płuc	♂ 0/44 ♀ 0/44	♂ 21/44* ♀ 27/44*
Raki kolczystokomórkowe płuc	♂0/44 ♀ 0/44	♂ 1/44 ♀ 1/44
Gruczolakowatość płuc (zmiany przednowotworowe)	♂ 1/44 ♀ 1/44	♂ 14/44* ♀ 11/44*
Międzybłoniaki opłucnej	♂ 0/44 ♀ 0/44	♂ 4/44 ♀2/44
Raki wątrobowokomórkowe	♂ 0/44 ♀ 0/44	♂ 3/44 ♀ 3/44
Gruczolaki watrobowokomórkowe	♂ 0/44 ♀0/44	♂ 3/44 ♀2/44
Guzy przysadki	♀ 12/44	♀ 1/44
Pasza niskobiałkowa (7% białka)		
Gruczolakoraki płuc	♂ 0/21 ♀ 0/21	♂ 5/21* ♀ 6/21*
Gruczolakowatość płuc (zmiany przednowotworowe)	♂ 1/21 ♀1/21	♂ 8/21* ♀ 14/21*
Raki wątrobowokomórkowe	♂ 0/21 ♀ 0.21	♂ 11/21* ♀ 1/21
Gruczolaki watrobowokomórkowe	♂ 0/21 ♀ 0/21	♂ 5/21* ♀ 2/21
Gruczolakowłókniaki sutka	♀ 7/21	♀ 1/21
Gruczolakoraki sutka	♀ 0/21	♀ 6/21*

Objaśnienia:
♂– samiec.
♀ – samica.
* $P < 0{,}05$ (test χ^2).

W kolejnym badaniu, przeprowadzonym przez *Komminieni* i in. (1979), samce szczurów Charles River CD w wieku 5 tygodni otrzymywały przez 18 miesięcy MOCA w paszy standardowej (27% białka) lub niskobiałkowej (8% białka). Stężenia MOCA w paszy wynosiły: 0; 250; 500 lub 1 000 mg/kg paszy standardowej oraz: 0; 125; 250 lub 500 mg/kg paszy niskobiałkowej. Obliczone dawki dzienne wynosiły odpowiednio: 0; 12,5; 25 lub 50 mg/kg mc./dzień dla paszy standardowej oraz: 0; 6,25; 12,5 i 25 mg/kg mc./dzień dla paszy niskobiałkowej. Grupy zwierząt liczyły po 50 ÷ 100 szczurów. Zwierzęta obserwowano przez kolejne 32 tygodnie. Zwierzęta, które przeżyły, zabijano w 104. tygodniu. Narażenie na MOCA skracało średni czas przeżycia zwierząt; dla szczurów karmionych paszą standardową średni czas przeżycia (w tygodniach) wynosił: 89 w grupie kontrolnej, 87 w grupie otrzymującej 250 mg MOCA/kg paszy, 80 ($P < 0,01$) w grupie 500 mg/kg paszy oraz 80 ($P < 0,001$) w grupie 1 000 mg/kg paszy. Średni czas przeżycia (w tygodniach) szczurów karmionych paszą niskobiałkową wynosił: 87 w grupie kontrolnej, 81 w grupie 125 mg/kg paszy, 79 w grupie 250 mg/kg paszy oraz 77 ($P < 0,05$) w grupie 500 mg/kg paszy. Wykazano, że związek MOCA podawany szczurom w paszy indukował zależny od dawki wzrost liczby: nowotworów płuc, gruczolaków sutka, raków gruczołu Zymbala i raków wątrobowokomórkowych. Najczęstszymi nowotworami były nowotwory płuc. Obserwowany rodzaj nowotworów i częstość ich występowania przedstawiono w tabeli 10.

Tabela 10.

Występowanie nowotworów obserwowane w badaniu na samcach szczurów Charles River CD, otrzymujących MOCA w paszy w warunkach narażenia przewlekłego (*Kommineni* i in. 1979)

Rodzaj nowotworu	Stężenie MOCA w paszy, mg/kg paszy (obliczona dawka dzienna, mg/kg mc./dzień)				
	0	125 (6,25)	250 (12,5)	500 (25)	1000 (50)
Pasza standardowa (27% białka)					
Gruczolakoraki płuc	0/100		14/100*	20/75*	31/50*
Wszystkie nowotwory płuc	1/100		23/100*	28/75*	35/50*
Gruczolakoraki sutka	1/100		5/100	8/75**	14/50*
Raki gruczołu Zymbala	1/100		8/100***	5/75	11/50*
Raki wątrobowokomórkowe	0/100		3/100	3/75	18/50*
Naczyniakomięsaki	2/100		4/100	3/75	0/50
Gruczolaki przysadki mózgowej	42/100		36/100	19/75***	2/50*
Pasza niskobiałkowa (8% białka)					
Gruczolakoraki płuc	0/100	3/100	7/75**	8/50*	
Wszystkie nowotwory płuc	0/100	6/100**	11/75*	13/50*	
Gruczolakoraki sutka	0/100	1/100	3/75	3/50***	
Raki gruczołu Zymbala	0/100	0/100	4/75***	6/50*	
Raki wątrobowokomórkowe	0/100	0/100	0/75	9/50*	
Naczyniakomięsaki	1/100	2/100	4/75	4/50***	
Gruczolaki przysadki mózgowej	23/100	16/100	9/75***	10/50	

Objaśnienia:
*$P < 0,001$.
**$P < 0,01$.
***$P < 0,05$ (test dwustronny *two-tailed test*).

Psy

Badania działania rakotwórczego MOCA przeprowadzono także na samicach psów Beagle w wieku około roku (po 6 zwierząt w grupie narażanej i kontrolnej). Zwierzęta otrzymywały po 100 mg MOCA w kapsułkach żelatynowych 3 dni/tydz. przez 6 tygodni, a następnie 5 dni/tydz. aż do 9 lat. Dawka MOCA wynosiła od 8 ÷ 15 mg/kg mc./dzień w zależności od psa. Jedno zwierzę narażane padło w wieku około 3,4 lat z powodu infekcji. Pozostałe zwierzęta zabijano pomiędzy 8,3. ÷ 9. rokiem doświadczenia. U 4/5 narażanych psów stwierdzono raka z komórek przejściowych pęcherza moczowego, natomiast u 5. psa – nowotwór cewki moczowej o charakterze

mieszanym (rak z komórek przejściowych i gruczolakorak). Nowotwór cewki moczowej dawał przerzuty do wątroby. W grupie kontrolnej nie stwierdzono nowotworów układu moczowego, stąd uznano MOCA za kancerogen dla pęcherza moczowego ($P < 0,025$ test Fishera). Ponadto u 3/5 narażanych zwierząt obserwowano guzki rozrostowe (ang. *hyperplastic nodules*) w wątrobie, jakich nie stwierdzono u żadnego ze zwierząt z grup kontrolnych ($P < 0,05$ test Fishera), (*Stula* i in. 1978).

Podanie podskórne

Grupom szczurów Wistar (17 płeć/grupę) podawano podskórnie zawiesinę MOCA w soli fizjologicznej w dawce 500 lub 1 000 mg/kg mc. MOCA podawano raz w tygodniu lub w dłuższych odstępach czasu, tak aby w ciągu 620 dni (88 tygodni) uzyskać łączną dawkę 25 g/kg mc. Średni czas obserwacji zwierząt narażanych wynosił 111 tygodni. U 22 zwierząt stwierdzono łącznie 29 złośliwych nowotworów: raki wątrobowokomórkowe wystąpiły u 9/34 zwierząt ($P < 0,0042$), natomiast złośliwe nowotwory płuc (6 gruczolakoraków i 1 rak) u 7/34 zwierząt ($P < 0,016$). U jednego szczura stwierdzono złośliwy guz podskórny (nie określono rodzaju). Wśród 25 samców i 25 samic z grup kontrolnych w czasie 148 tygodni obserwacji stwierdzono 13 nowotworów złośliwych, w tym 1. nowotwór płuca; nie stwierdzono raków wątrobowokomórkowych (*Steinhoff i Grundmann* 1971). Eksperci IARC krytycznie ocenili opis całego doświadczenia, przedstawionego jedynie jako krótkie doniesienie (IARC 2012).

Przeprowadzono także badania inicjacji/promocji nowotworów skóry. Myszy SENCAR obu płci, w grupach liczących po 80 zwierząt, otrzymywały na skórę pojedynczą ilość MOCA (do 200 mg). Po upływie tygodnia zastosowano modelowy promotor raka skóry – octan tetradekanoiloforbolu, podawany 2 razy w tygodniu przez 26 tygodni. Nie stwierdzono, aby MOCA indukowała istotną liczbę brodawczaków skóry (*Nesnow* i in. 1985).

Podobny eksperyment przeprowadzono na samicach bezwłosych myszy HRA/Skh. MOCA (jako inicjator) podawano jednorazowo na skórę w ilości do 100 mg, a następnie octan tetradekanoiloforbolu, 2 razy w tygodniu przez 21 tygodni. Myszy obserwowano przez rok. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w częstości występowania brodawczaków skóry w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej (*Rozinova* i in. 1998). W dalszej części tego badania myszom podawano na skórę pojedynczą dawkę 7,12-dimetylobenzo[a]antracenu (DMBA). Po upływie tygodnia myszom aplikowano na skórę 2,5 lub 5 mg MOCA (jako promotor), 2 razy w tygodniu przez 20 tygodni. Zwierzęta obserwowano przez rok. Ujemna kontrola otrzymywała jedynie DMBA. W tej grupie kontrolnej pierwszy guz stwierdzono w 19. tygodniu narażenia, a maksymalna ilość guzów wynosiła 0,55/mysz. W grupach otrzymujących 2,5 lub 5 mg MOCA występowanie pierwszego guza obserwowano w 9. i 11. tygodniu, a maksymalna ilość guzów wynosiła odpowiednio 0,65 i 0,30/mysz (*Rozinova* i in. 1998).

Wyniki badań na zwierzętach dostarczyły wystarczających dowodów rakotwórczego działania MOCA. Wykazano, że związek ten podawany szczurom w paszy indukował zależny od dawki wzrost liczby: nowotworów płuc (w tym gruczolakoraków płuc), raków watrobowokomórkowych, naczyniakomięsaków, gruczolaków sutka i raków gruczołu Zymbala (*Kommineni* i in. 1979). Natomiast podawany *per os* w kapsułkach psom indukował nowotwory pęcherza moczowego i cewki moczowej (*Stula* i in. 1978).

Sapota i Szymczak (2003) przeprowadzili ilościową ocenę rakotwórczości MOCA, biorąc za podstawę częstość występowania raka płuc u samców szczurów, karmionych paszą standardową (pełnobiałkową) zawierającą MOCA przez 72 tygodnie na podstawie wyników badania prowadzonego przez *Kommineni* i in. (1979). W celu przeliczenia stężenia paszy na dawkę dzienną MOCA przyjęto, że średnie tygodniowe spożycie paszy wynosiło 138,5 g/szczura. Podczas ekstrapolacji wyników uzyskanych na zwierzętach do rezultatów dla narażonych ludzi przyjęto, że w czasie zmiany roboczej człowiek zużywa 10 m^3 powietrza, pracuje przez 240 dni w roku przez maksymalnie 40 lat, średnia masa ciała człowieka wynosi 70 kg, a średni czas życia człowieka – 70 lat. W celu przeliczenia średniej dawki dla okresu całego życia człowieka na średnią dawkę dla całego życia szczura przyjęto masę samca szczura w eksperymencie równą 0,75 kg. Z przyjętego do obliczeń modelu wynika, że narażeniu na MOCA, równym dotychczasowej wartości NDS w Polsce (0,02 mg/m^3) przez okres 40 lat pracy odpowiada ryzyko raka płuca wynoszące $4,6 \cdot 10^{-4}$. Rozważono także sytuację, w której człowiek pracuje przez 40 lat w narażeniu na MOCA o stężeniu 0,01 mg/m^3. Otrzymana wartość ryzyka raka płuca wynosiła $1,7 \cdot 10^{-4}$ (*Sapota i Szymczak* 2003).

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) uznała, że dowód na rakotwórcze działanie MOCA u ludzi jest niewystarczający, natomiast dowody działania rakotwórczego MOCA u zwierząt

doświadczalnych są wystarczające. W ogólnej ocenie IARC zaliczyła MOCA do grupy 1 – związków o działaniu rakotwórczym u ludzi (IARC 2010).

W USA ACGIH uznała MOCA za związek podejrzany o działanie rakotwórcze – grupa zagrożenia A2 (ang. *suspected human carcinogen*), (ACGIH 2018a; 2018b).

W Unii Europejskiej MOCA zaliczono do grupy A – genotoksycznych kancerogenów, o działaniu bezprogowym (SCOEL 2010).

Działanie embriotoksyczne, teratogenne i wpływ na rozrodczość

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji na temat wpływu MOCA na rozrodczość ludzi oraz zwierząt doświadczalnych. Nie ma również informacji na temat embriotoksyczności i teratogenności tego związku.

W dokumentacji rejestracyjnej MOCA w ECHA znaleziono opis i wyniki badań (niepublikowane) na temat toksyczności reprodukcyjnej tego związku. Badania przeprowadzono zgodnie z wytyczną OECD 422 na szczurach Sprague-Dawley (12 zwierząt/płeć/dawkę), które otrzymywały MOCA dożołądkowo w dziennych dawkach: 0; 0,4; 2; 10 lub 50 mg/kg mc. Po 2 tygodniach narażenia zwierzęta były parowane (1:1) i kojarzone przez 2 tygodnie. Samce zabijano po kolejnych dwóch tygodniach (łączny czas trwania narażenia 42 dni), a samice po 4 dniach od porodu (łączny czas narażenia 42 ÷ 55 dni). Nie stwierdzono wpływu MOCA na: cykl estralny, dni kojarzenia do kopulacji, kopulację, płodność, długość trwania ciąży, liczbę ciałek żółtych, wskaźnik implantacji, ilość żywych urodzeń, stan porodu oraz rodzicielstwa. Nie stwierdzono także wpływu MOCA na: całkowitą liczbę osesków, liczbę żywych osesków, stosunek płci, masę ciała, ukształtowanie ciała i wskaźnik żywotności żywych osesków, oceniane w 4. dniu życia. Na podstawie wyników przedstawionych badań ustalono wartość NOEL dla potencjału rozrodczego rodziców oraz wzrostu i rozwoju potomstwa na 50 mg/kg mc./dzień (ECHA 2018).

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie

Na podstawie analizy istniejących danych wykazano, że MOCA jest wchłaniana do organizmu drogą inhalacyjną, pokarmową oraz przez skórę. Brak jest danych ilościowych dotyczących wydajności i szybkości wchłaniania (Toxicological Profile… 2017).

MOCA w powietrzu środowiska pracy występuje głównie jako pył, który jest wchłaniany drogą inhalacyjną oraz przez skórę. Kilka doniesień opisuje wchłanianie przez skórę jako główną drogę narażenia (*Clapp* i in. 1991; *Ducos* i in. 1985; *Edwards, Priestly* 1992; *Linch* i in. 1971).

Badania *Chin* i in. (1983) wskazują, że MOCA jest szybko wchłaniana przez skórę w warunkach *in vitro*. Stosując preparaty ludzkiej skóry (napletka noworodków) oraz znakowany ^{14}C-MOCA stwierdzono, że wchłanianie przez skórę w ciągu 4 h wynosiło od 14 do 93% podanej dawki (radioaktywności) dla preparatów skóry pobranych od różnych dawców. Proces wchłaniania był zależny od temperatury i był optymalny w temperaturze 37 °C (*Chin* i in. 1983). Jednak w badaniach stosujących preparaty ludzkiej i szczurzej skóry o pełnej grubości wykazano niewielkie wchłanianie MOCA przez skórę. W preparatach ludzkiej skóry, pobranej z sutka, tylko 2,4% oraz 5,9% podanej dawki zostało wchłonięte w ciągu 72 h, odpowiednio w warunkach bez okluzji oraz z okluzją. W przypadku prób skóry szczura w ciągu 72 h tylko 1,3% podanej dawki uległo wchłonięciu bez okluzji, a z okluzją 1,8% dawki (*Hotchkiss* i in. 1993).

W badaniach w warunkach *in vivo Manis* i in. (1984) porównywali wydajność wchłaniania ^{14}C-MOCA po podaniu na skórę oraz dożylnym u psów i stwierdzili, że w ciągu 24 h jedynie 2,4% podanej dawki uległo wchłonięciu przez skórę. W innych badaniach na szczurach oszacowano, że 11,5 ÷ 21,9% podanej dawki zostało wchłonięte przez skórę w ciągu 72 h (*Groth* i in. 1984). Podobną wydajność wchłaniania – 14% podanej dawki – obserwowano po podaniu na skórę szczurów ^{14}C-MOCA (*Cheever* i in. 1990).

W wielu badaniach prowadzonych na zwierzętach (po podaniu MOCA drogą pokarmową) stwierdzono MOCA i/lub jej metabolity w: tkankach, moczu i kale (*Cheever* i in. 1988; *Farmer* i in. 1981; *Groth* i in. 1984). Wyniki te wskazują na wchłanianie MOCA z przewodu pokarmowego, np. z pojedynczej dożołądkowej dawki ^{14}C-MOCA (podanej szczurom) 16,5% zostało wydalone z moczem, 13,7% pozostało w tkankach, około 60% zostało wydalone z kałem jako część dawki, która nie uległa wchłonięciu (*Groth* i in. 1984).

Rozmieszczanie

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących rozmieszczania MOCA w organizmie człowieka. Brak jest także danych o rozmieszczeniu MOCA u zwierząt po narażeniu drogą inhalacyjną.

Badania po jednorazowym narażeniu szczurów drogą pokarmową na znakowaną izotopowo MOCA wykazały, że największy poziom radioaktywności wystąpił w wątrobie (*Cheever* i in. 1991; *Farmer* i in. 1981; *Sabbioni i Neumann* 1990). Następne pod względem wielkości poziomy obserwowano w: nerkach, płucach, przewodzie pokarmowym, tkance tłuszczowej i krwi. Najmniejsze poziomy stwierdzano w: jądrach, mózgu, limfocytach, śledzionie i macicy. Po powtarzanym narażeniu (28 dni) na znakowaną MOCA radioaktywność była dużo większa w wątrobie niż we krwi (*Cheever* i in. 1991). Podobny obraz rozmieszczania MOCA obserwowano u szczurów i psów po jednorazowym podaniu dożylnym, czy dootrzewnowym, gdzie wątroba była głównym narządem gromadzącym MOCA (*Cheever* i in. 1991; *Farmer* i in. 1981; *Manis* i in. 1984; *Tobes* i in. 1983).

Rozmieszczanie znakowanej izotopowo MOCA (i jej metabolitów) po podaniu pojedynczej dawki na skórę psów było szybkie, z niemierzalnym poziomem radioaktywności we krwi, czy osoczu po 24 h po podaniu (*Manis* i in. 1984). Największy poziom radioaktywności obserwowano w żółci, a wykrywalne poziomy stwierdzano w: wątrobie, nerkach, tkance tłuszczowej, płucach i moczu.

Metabolizm

U zwierząt doświadczalnych MOCA jest wydajnie metabolizowana, a metabolizm może przebiegać kilkoma szlakami: *N*-acetylacji, *N*-hydroksylacji/*N*-oksydacji i hydroksylacji pierścienia (Toxicological Profile… 2017).

MOCA jest metabolizowana głównie w wątrobie przez enzymy związane z cytochromem P450 (głównie CYP3A4), (*Butler* i in. 1989; *Yun* i in. 1992). Najbardziej reaktywnym i bezpośrednio kancerogennym metabolitem jest *N*-hydroksy-MOCA (*Chen* i in. 1989). Oprócz utleniania metabolizm MOCA obejmuje także procesy acetylacji i sprzęgania z kwasem siarkowym lub glukuronowym (*Robert* i in. 1999b). Sugeruje się, że koniugaty MOCA tworzone w wątrobie są transportowane do pęcherza moczowego, gdzie w kwaśnym środowisku następuje ich hydroliza do *N*-hydroksy-MOCA (*Kaderlick* i in. 1993). W moczu pracowników narażonych na MOCA jako główny metabolit zidentyfikowano β-*N*-glukuronid MOCA (*Cocker* i in. 1990), natomiast najczęściej stwierdzanym adduktem z DNA był alkohol *N*-(deoksyadenozyn-8-ylo)-4-amino-3-chlorobenzylowy (*Kaderlick* i in. 1993).

Wiązanie z makrocząsteczkami

Interakcje MOCA z DNA, w tym tworzenie adduktów, omówiono w rozdziale „Działanie mutagenne".

Wiązania kowalencyjne MOCA z: DNA, RNA i białkami badano po dożołądkowym podaniu ^{14}C-MOCA szczurom. MOCA wiązała się w malejących ilościach z: DNA, RNA i białkami płuc, wątroby i nerek. Jedynie 0,19% podanej dawki było związane z hemoglobiną, natomiast 0,026% z albuminą (*Sabbioni, Neumann* 1990).

Tworzenie adduktów MOCA z globiną i albuminą surowicy mierzono u szczurów poprzez pomiar wiązania kowalencyjnego po podaniu znakowanej ^{14}C-MOCA (28 dawek po 28,1 μmol/kg mc.). Wykazano liniowy wzrost wiązania kowalencyjnego z globiną w całym okresie podawania MOCA; wiązanie z albuminą, jakkolwiek większe, nie wykazywało liniowego wzrostu, a po przerwaniu narażenia spadało gwałtownie ($t_{1/2}$ = 4,6 dnia) w porównaniu z globiną ($t_{1/2}$ = 16,1 dnia). Stopień wiązania kowalencyjnego zależał od drogi podania: dootrzewnowa > dożołądkowa > dermalna. W 24 h po podaniu pojedynczej dożołądkowej dawki poziom radioaktywności był największy w wątrobie, następnie w: nerkach, płucach, śledzionie i jądrach. Natomiast najmniejszy poziom radioaktywności był w pęcherzu moczowym. Indukcja cytochromu P450 fenobarbitalem powodowała istotny wzrost wiązania MOCA z globiną (*Cheever* i in. 1991).

Dootrzewnowe i podskórne podanie MOCA (dawki 0,5 ÷ 500 mg/kg mc.) szczurom oraz podskórne podanie świnkom morskim powodowało zależne od dawki tworzenie adduktów z hemoglobiną. Po podaniu pojedynczej podskórnej dawki świnkom morskim addukty MOCA-hemoglobina we krwi stwierdzano jeszcze po upływie ponad 10 dni od podania. Dożylne podanie szczurom metabolitu *N*-hydroksy-MOCA w dawce 0,04 μmole/kg mc. już powodowało powstanie mierzalnych poziomów adduktów z hemoglobiną. W warunkach *in vitro* obserwowano zależne od dawki tworzenie adduktów z hemoglobiną po inkubacji szczurzej lub ludzkiej hemoglobiny z metabolitami MOCA – *N*-hydroksy-MOCA lub pochodną mononitrozową. Inkubacja hemoglobiny ze związkiem macierzystym (MOCA) nie prowadziła do powstawania adduktów z Hb (*Chen* i in. 1991).

Wydalanie

MOCA jest wydalana z organizmu z moczem i kałem. Względny udział tych dróg wydalania u zwierząt zależy zarówno od gatunku, jak i od drogi podania.

Na podstawie pomiaru stężenia MOCA w moczu pracownika, który przypadkowo oblał się ciekłą MOCA, zakładając model jednoprzedziałowy, ustalono półokres biologiczny na 23 h (*Osorio* i in. 1990). Także u innego pracownika, przypadkowo opryskanego stopionym związkiem, po 5 h od zakończonego incydentu stwierdzono wysoki poziom MOCA w moczu, wynoszący 3,6 mg/l; w ciągu 24 h od zakończenia narażenia stężenie spadło do 0,03 mg/l (*Hosein i Van Roosmalen* 1978).

Szczury otrzymujące znakowaną izotopowo MOCA (jedna dootrzewnowa dawka 13 lub 100 mg/kg mc.) i psy (10 mg dożylnie) wydalały jedynie kilka procent dawki w postaci niezmetabolizowanej (*Farmer* i in. 1981; *Manis* i in. 1984). Badania na szczurach, którym podano dożołądkowo znakowaną MOCA (ok. 5,5 mg/szczura) wykazały, że MOCA jest wydalana w ciągu pierwszych 24 h, głównie z kałem (31 ÷ 50%) i moczem (16 ÷ 27%), (*Morton* i in. 1988). W innym badaniu ^{14}C-MOCA (10 mg) aplikowano na skórę psów. Z podanej dawki 1,3% aktywności zostało wydalone z moczem oraz 0,62% – z żółcią, a 90% pozostawało w skórze po 24 h. Jedynie 0,4% MOCA wydalonej z moczem było w postaci niezmienionej (*Manis* i in. 1984). W kolejnym badaniu 2,5 mg znakowanej izotopowo MOCA podano na skórę szczurów. W ciągu 72 h 2,5% aktywności zostało wydalone z moczem. Szybkość wydalania była praktycznie stała przez kolejne 3 dni. MOCA wykazywała długi czas retencji w skórze, jednak 40 ÷ 60% związku pozostawało w organizmie po 72 h od podania (*Groth* i in. 1984).

Monitoring biologiczny

Ponieważ addukty MOCA z hemoglobiną w badaniach doświadczalnych na szczurach wykazywały zależność od dawki (*Bailey* i in. 1993; *Sabbioni i Schutze* 1998) próbowano wykorzystać addukty z Hb do monitoringu biologicznego. Jednak dane dotyczące tego markera u narażonych pracowników są bardzo nieliczne (*Vaughan, Kenyon* 1996). Zaletą takiego monitoringu jest to, że odzwierciedla on poziomy aktywnej biologicznie MOCA związanej z narażeniem w okresie kilku tygodni. Metoda ta nie jest obecnie rutynowo stosowana w Europie (SCOEL 2013). Próbowano także stosować wykrywanie adduktów z DNA w złuszczonych komórkach nabłonka moczowego metodą post-znakowania ^{32}P (*Kaderlick* i in. 1993).

Większość prac dotyczących monitoringu biologicznego jest oparta o pomiar wydalania z moczem sprzężonej MOCA (tj. całkowitej MOCA po kwaśniej hydrolizie koniugatów). Dostępne są takie metody analityczne, jak: wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) z detekcją w ultrafiolecie lub elektrochemiczną, chromatografia gazowa (GS) czy sprzężona z detekcją spektrometrii masowej, pozwalające na uzyskanie wiarygodnych wyników (*Cocker* i in. 1996; 2007; *Robert* i in. 1999a; *Shih* i in. 2007; *Wu* i in. 1996). Typowe limity detekcji stosowanych metod są rzędu 1 µg/l (*Robert* i in. 1999a; *Wu* i in. 1996).

W 1996 r. *Cocker* i in. opublikowali wyniki monitoringu MOCA (wolnej i termolabilnej) przeprowadzonego w przemyśle Wielkiej Brytanii w latach 1977-1994. Wyniki wskazują na stałe zmniejszanie w tym okresie poziomów MOCA w moczu. Wartość 90. percentyla uległa zmniejszeniu z 180 µmol/mol kreatyniny w roku 1977 do 15 µmol/mol kreatyniny w latach 1993-1994. Na podstawie tych wyników brytyjski HSE zaproponował dla MOCA jako biologiczną wartość wskaźnikową (BGV) – 15 µmol/mol kreatyniny.

Robert i in. (1999b) przeprowadzili badania monitoringowe 40 pracowników w trzech zakładach poliuretanowych we Francji, potencjalnie narażonych na MOCA. Wyniki (pomiary wykonywano z zastosowaniem kwasu sulfaminowego bez hydrolizy alkalicznej) wykazały zmienność poziomów MOCA w moczu zależnie od rodzaju zatrudnienia – największe poziomy stwierdzono u mieszaczy (ang. *mixers*) i konserwatorów; różnice wystąpiły także między zakładami pracy. Łączne wyniki pomiarów dały średnią geometryczną 12,8 µg/l, a zakres wynosił 0,5 ÷ 570 µg/l w zakładzie, w którym stwierdzono najmniejsze poziomy MOCA średnia geometryczna wynosiła 2,9 µg/l, zakres 0,5 ÷ 47 µg/l. Na podstawie tej pracy stwierdzono, że obecnie (1999 r.) jest możliwe we Francji osiągnięcie poziomów MOCA w moczu (około 20 µg/l; wyrażonego jako *sulphamic acid-labile* MOCA). Stąd, jako wartość wskaźnikową zaproponowano 20 µg/l, czyli ~ 30 µg/l całkowitej MOCA, co odpowiada 112 nmol/l.

W roku 2009 opublikowano wyniki badań przeprowadzonych przez *Cockera* i in. (2009) wśród dwóch dostawców i dwudziestu zakładów pracy stosujących MOCA w Wielkiej Brytanii. Do badań pobierano próby powietrza w strefie oddychania pra-

cowników oraz próby stacjonarne, mierzono także skażenie powierzchni przez MOCA oraz prowadzono pomiar MOCA w moczu pracowników. Tylko 2 z 80 pobranych prób powietrza w strefie oddychania przekraczało stężenie 5 μg/m^3, a 84% było poniżej limitu detekcji metody. Obecność MOCA stwierdzono w 12 na 128 statycznych prób powietrza, a największe stężenie wynosiło 11 μg/m^3. W 60% prób pobranych z powierzchni roboczych (n = 334) wykryto mierzalne stężenia MOCA w zakresie 0,019 ÷ 400 μg/cm^2. Wykryto także zanieczyszczenia rękawic roboczych przez MOCA zarówno zewnętrznej, jak i wewnętrznej powierzchni (mierzalne poziomy MOCA stwierdzono odpowiednio w 90% i 48% przypadków). Spośród pobranych prób moczu (n = 79) w 49 procentach stężenie MOCA było poniżej limitu detekcji metody, a tylko w 3 próbach stężenie MOCA przekraczało 15 μmol/mol kreatyniny (wartość przyjęta jako wartość wskaźnikowa BMGV). Dla wszystkich stężeń MOCA w moczu 90. percentyl wynosił 8,6 μmol/mol kreatyniny. Dla osób bezpośrednio narażonych (n = 59) na MOCA 90. percentyl wynosił 11,7 μmol/mol kreatyniny, a dla osób, które mogły być pośrednio narażone (n = 19) – 2,9 μmol/mol kreatyniny. Autorzy tego badania wskazują, że narażenie na MOCA powinno być dalej ograniczane, zwłaszcza ze względu na skażenia powierzchni roboczych, a nowa wartość wskaźnikowa (BGV) powinna być mniejsza niż 90% wartości 8,6 μmol/mol kreatyniny (*Cocker* i in. 2009).

Powtórne badanie w tych samych zakładach pracy, jak w badaniu *Cocker* i in. (2009), zostało przeprowadzone w 2008 r. przez *Keen* i in. (2012). Od 90 pracowników pobrano łącznie 446 prób moczu, zbieranego po zakończeniu zmiany roboczej. W 170 próbach stężenie MOCA było poniżej limitu detekcji metody (LOD 0,4 μmol/mol kreatyniny), mediana wynosiła 1,4 μmol/mol, a wartość 90% – 10 μmol/mol kreatyniny. Stwierdzono, że poziom MOCA w moczu był skorelowany z wielkością skażenia rękawic (r = 0,62; p < 0,001), a nie ze skażeniem powierzchni roboczych. Po zapoznaniu pracodawców z wynikami tego monitoringu nastąpiło znaczne zmniejszenie stężenia MOCA w moczu. Wartość 90% zmniejszyła się z 10 μmol/mol do 3 μmol/mol kreatyniny.

W Finlandii Instytut Zdrowia Zawodowego (FIOH) publikuje coroczne wyniki z monitoringu prowadzonego w przemyśle. W latach 2000-2008 przeprowadzono 49 pomiarów MOCA w moczu, głownie w zakładach produkujących powłoki poliuretanowe. MOCA była mierzona jako całkowita MOCA po hydrolizie alkalicznej. Większość wyników była < 5 μmol/mol kreatyniny, w zakresie poniżej limitu detekcji metody (LOD 1 μmol/mol kreatyniny) do 10 μmol/mol kreatyniny; 95. percentyl wynosił 3,4 μmol/mol kreatyniny. Na podstawie tych wyników FIOH zaproponował w 2008 r. jako granicę działania biologicznego (ang. *biological action limit*) wartość 5 μmol/mol kreatyniny dla całkowitej MOCA w moczu. Ryzyko nowotworowe dla tego poziomu narażenia oszacowano na podstawie dostępnych informacji. DECOS (używając liniowej ekstrapolacji danych ze zwierząt) oszacował, że dla MOCA ryzyko wystąpienia nowotworu po narażeniu na dawkę dzienną 1 mg/kg wynosi $3{,}7 \cdot 10^{-2}$ (DECOS 2000). Odpowiada to całkowitemu ryzyku $1{,}9 \cdot 10^{-4}$ dla pracownika ważącego 70 kg, narażonego zawodowo przez 40 lat, pracującego 48 tygodni/rok, 5 dni/tydzień przez 8 h/dzień. Zakładając, że półokres wydalania MOCA z organizmu wynosi 23 h (model jednoprzedziałowy otwarty; stan stacjonarny osiągany po jednotygodniowym narażeniu), średnie stężenie MOCA w moczu w stanie stacjonarnym powinno wynosić 2,6 μmol/mol kreatyniny, gdy stężenie w próbie pobieranej w piątek po zmianie roboczej będzie 5 μmol/mol kreatyniny. Biorąc pod uwagę, że średnie dzienne wydalanie kreatyniny dla 50-letniego mężczyzny, ważącego 70 kg, wynosi 12 mmol oraz zakładając, że 50% MOCA wchłoniętej do organizmu jest mierzone w analizie moczu (hydroliza sprzężeń po acetylacji oraz z kwasem glukuronowym i siarkowym), co odpowiada dziennej dawce 17 μg (2,6 μmol/mol kreatyniny · 0,012 mol · 267,17 g/mol · 2). Stąd stężenie MOCA w moczu wynoszące 5 μmol/mol kreatyniny odpowiada w przybliżeniu skumulowanemu, całożyciowemu ryzyku powstania nowotworu $3 \cdot 10^{-6}$ (próba pobierana w piątek); dla próby o stężeniu 5 μmol/mol kreatyniny, pobieranej we wtorek, oszacowane ryzyko wynosi $4 \cdot 10^{-6}$ (SCOEL 2013).

Opublikowane w ostatnich latach badanie, dotyczące monitoringu środowiska pracy, wskazuje na konieczność prowadzenia monitoringu biologicznego oraz poprawy warunków higienicznych pracy. W zakładach poliuretanowych, stosujących MOCA (w Australii), monitoring wykazał bardzo małe stężenia MOCA w powietrzu. W 30 procentach pobranych prób stężenie było poniżej limitu detekcji metody. Średnia geometryczna ze wszystkich pomiarów wynosiła 0,08 μg/m^3, a 95. percentyl wynosił 0,29 μg/m^3. Stężenia MOCA w moczu, zbieranym na koniec zmiany roboczej od 24 pracowników, którzy mogli być szczególnie narażeni na MOCA, dały średnią geometryczną 0,89 μmol/mol kreatyniny,

a 95. percentyl wynosił 52 µmol/mol kreatyniny. Z przedstawionych wyników badań wynika, że narażenie pracowników drogą inhalacyjną na MOCA było minimalne, natomiast dane z monitoringu biologicznego wskazują, że główną drogą narażenia było wchłanianie przez skórę (*Shankar* i in. 2017).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

MOCA jest podejrzewana o działanie rakotwórcze u ludzi ze względu na jej strukturalne podobieństwo do znanego kancerogenu, powodującego raka pęcherza moczowego u ludzi, tj. benzydyny. Dokładny mechanizm działania MOCA nie jest ostatecznie poznany. Jednak istniejące dowody na jej działanie genotoksyczne sugerują, że działanie rakotwórcze MOCA zachodzi poprzez genotoksyczny mechanizm działania, podobnie jak i u innych amin aromatycznych o dobrze poznanym działaniu rakotwórczym (Toxicological Profile… 2017).

Dowodem potwierdzającym genotoksyczny mechanizm działania MOCA jest fakt, że jest to związek reaktywny elektrofilowo, tworzący addukty z: hemoglobiną, tkankowym DNA, globiną i albuminą surowicy. Jest to zgodne z proponowanym mechanizmem kancerogenezy chemicznej, obejmującym tworzenie chemicznych adduktów z DNA poprzez wiązania kowalencyjne. MOCA tworzy stabilne addukty z DNA w wątrobie w ilościach charakterystycznych dla genotoksycznych kancerogenów, a wątroba jest jednym z głównych narządów, w których powstają nowotwory u szczurów narażonych na MOCA (Toxicological Profile… 2017).

Szlak metaboliczny MOCA, przebiegający poprzez *N*-hydroksylację/*N*-oksydację, jest uważany za szlak aktywacji, prowadzący do tworzenia adduktów. Badania w warunkach *in vitro* potwierdziły, że dwa metabolity MOCA (*N*-hydroksy-MOCA i mononitrozo-MOCA) tworzą znaczne ilości adduktów z hemoglobiną szczura i człowieka, natomiast ilość adduktów tworzonych przez związek macierzysty jest niewielka.

CYP 3A4 oraz CYP2A6 katalizują *N*-oksydację MOCA do *N*-hydroksy-MOCA, która może się wiązać z DNA lub hemoglobiną, lub być dalej aktywowana przez wątrobową sulfotransferazę do estru *N*-siarczanowego. Także synteza prostaglandyny H i mieloperoksydaza mogą katalizować wiązanie MOCA do DNA. W złuszczonych komórkach nabłonka moczowego pracowników narażonych na MOCA głównym adduktem z DNA był alkohol *N*-(deoksyadenozyn-8-ylo)4-amino-3-chlorobenzylowy. Obecność takiego samego adduktu stwierdzono również w: wątrobie, płucach i nerkach szczurów narażanych na MOCA. Addukty z DNA stwierdzono także w wątrobie i pęcherzu moczowym narażanych na MOCA psów (Toxicological Profile… 2017).

Ograniczone dowody tworzenia u pracowników (narażonych na MOCA) metabolitów *N,N*'-diacetylowych sugerują możliwość powstawania *N*-hydroksy-*N,N*'-diacetylo-MOCA, która może bezpośrednio wiązać się z kwasami nukleinowymi. Potwierdzenie tworzenia takiego metabolitu dostarczyłoby biochemiczną podstawę dla powstawania adduktów po narażeniu na MOCA (Toxicological Profile… 2017) .

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnej literaturze nie znaleziono informacji dotyczących łącznego narażenia na MOCA i inne związki chemiczne (o znaczeniu przemysłowym).

Na metabolizm MOCA wpływ ma fenobarbital, jako induktor cytochromu P450. W warunkach *in vivo* indukcja CYP powodowała niewielki wzrost hydroksylacji MOCA (*Chen* i in. 1991). U szczurów podanie fenobarbitalu powodowało 4- ÷ 8-krotny wzrost szybkości metabolizmu MOCA (*Morton* i in. 1988), nie miało natomiast wpływu na tworzenie adduktów (*Chen* i in.1991). Podanie szczurom *p*-naftoflawonu prowadziło do zwiększenia szybkości tworzenia adduktów MOCA z hemoglobiną (*Chen* i in. 1991).

Hydroksylacja MOCA jest hamowana przez 2,4-dichloro-6-fenylofenoksyetyloaminę, inhibitora oksydaz o funkcji mieszanej, związanych z cytochromem P450 (*Chen* i in. 1989). Także cysteina i glutation hamują tworzenie adduktów z hemoglobiną *N*-hydroksy-MOCA i mononitrozo-MOCA w warunkach in vivo (*Chen* i in. 1991). Istnieją także doniesienia sugerujące, że wiązanie *N*-hydroksy-MOCA z DNA w tkankach szczura może być hamowane przez: kwas askorbinowy, glutation i nitrozobenzen (ale nie przez: nitrometan, *p*-nitrobenzylopirydynę, metioninę), (*Segerback i Kadlubar* 1992).

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Dostępne dane dotyczące działania rakotwórczego MOCA u ludzi są niewystarczające do oszacowania zależności dawka-skutek. Z podprzewlekłych i przewlekłych badań na zwierzętach, otrzymujących MOCA drogą pokarmową wynika, że najczulszymi skutkami działania tego związku jest działanie rakotwórcze i działanie na wątrobę.

Tabela 11. przedstawia wartości LOAEL występujące u zwierząt doświadczalnych narażanych na MOCA drogą pokarmową w warunkach narażenia podprzewlekłego i przewlekłego.

Tabela 11.

Wartości LOAEL występujące u zwierząt narażanych na MOCA drogą pokarmową (Toxicological Profile... 2017)

Narząd/skutek	Wartość LOAEL, mg/kg mc./dzień	Gatunek, płeć zwierząt	Czas narażenia	Piśmiennictwo
Przewód pokarmowy	50	myszy, samce	3 miesiące	*Chen* i in. 2014
Wątroba	50	myszy, samce	3 miesiące	
Nerki	50	myszy, samce	3 miesiące	
Pęcherz moczowy	50	myszy, samce	3 miesiące	
Zmniejszenie masy ciała	25	szczury, samce	18 miesięcy	*Russfield* i in. 1975
Wątroba	ok. 10	psy, samice	9 lat	*Stula* i in. 1978
Nowotwory	6,25	szczury, samce	18 miesięcy	*Kommineni* i in. 1979

MOCA jest aminą aromatyczną, dla której należy spodziewać się, że będzie wywoływała raczej nowotwory pęcherza moczowego niż nowotwory płuc. Jednak w przypadku tego związku nie wykazano jednoznacznej zależności pomiędzy występowaniem raka pęcherza a narażeniem na MOCA. Ponadto dane dotyczące działania rakotwórczego u ludzi są ograniczone i nie pozwalają na wyprowadzenie zależności dawka-odpowiedź.

W badaniach na zwierzętach (chociaż nowotwory wątroby i pęcherza moczowego również obserwowano) najczęściej występującymi nowotworami były nowotwory płuc. Wyniki badania częstości występowania nowotworów płuc przeprowadzone przez *Kommineni* i in. (1979) stanowią najpełniejszy przykład zależności dawka-odpowiedź. W doświadczeniu tym podano również odsetek szczurów z nowotworami o innej lokalizacji oraz odsetek szczurów z nowotworami, karmionych paszą o zmniejszonej zawartości białka (tab. 12.).

Tabela 12.

Odsetek samców szczurów Charles River CD z nowotworami o różnej lokalizacji, karmionych paszą zawierającą MOCA przez 18 miesięcy (*Kommineni* i in. 1979)

Rodzaj paszy	Stężenie MOCA, mg/kg paszy	Obliczona* dawka dzienna, mg/kg mc.	Gruczolakoraki płuc	Wszystkie nowotwory płuc	Gruczolakoraki sutka	Raki gruczołu Zymbala	Raki wątrobowo-komórkowe	Naczyniakomięsaki	Gruczolaki przysadki[a]
Pełnobiałkowa (27%)	0	0	0	1	1	1	0	2	42
	250	12,5	14[d]	23[d]	5	8[b]	3	4	36
	500	25	27[d]	37[d]	11[c]	7	4	4	25[b]
	1000	50	62[d]	70[d]	28[d]	22[d]	36[d]	0	4d
Niskobiałkowa (8%)	0	0	0	0	0	0	0	1	23
	125	6,25	3	6[c]	1	0	0	2	16
	250	12,5	9[c]	15[d]	4	5[b]	0	5	12[b]
	500	25	16[d]	26[d]	6[b]	12[d]	18[d]	8[b]	20

Objaśnienia:

***** – dawkę obliczano przy założeniu, że w ciągu doby szczur spożywa ilość paszy równą 5% swojej masy ciała (ECHA 2017).

[a] – włączając gruczolakoraki przysadki (0 ÷ 2 w grupie).

[b] – $P < 0,05$.

[c] – $P < 0,01$.

[d] – $P < 0,001$.

Na podstawie częstości występowania nowotworów płuc w doświadczeniu *Kommineni* i in. przez liniową ekstrapolację, RAC (ang. *committee for risk assessment*) w swojej opinii dotyczącej oceny limitów narażenia zawodowego dla MOCA, wyprowadził wartości ryzyka jednostkowego dla pracowników narażonych zawodowo na MOCA. Dla pracowników narażonych na MOCA drogą inhalacyjną obliczone ryzyko jednostkowe wyniosło $9{,}65 \cdot 10^{-6}$ na µg/m^3, a dla pracowników narażonych drogą dermalną $3{,}38 \cdot 10^{-5}$ na µg/kg mc./dzień. Zakładając liniowość odpowiedzi, ryzyko nowotworowe dla pracowników narażonych drogą inhalacyjną na MOCA o stężeniu 10 µg/m^3 będzie wynosić $9{,}65 \cdot 10^{-5}$ (ECHA 2017).

NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIE (NDS) W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

Istniejące wartości NDS i ich podstawy

Informacje o wartościach normatywów higienicznych MOCA w różnych państwach zamieszczono w tabeli 13.

Tabela 13.

Wartości dopuszczalnych normatywów higienicznych MOCA w środowisku pracy przyjęte w różnych państwach (ACGIH 2018a; 2018b; BAT 2013; Czynniki... 2016; DFG 2017; GESTIS 2018; JSOH 2007; RTECS 2017, SCOEL 2010)

Państwo/organizacja/rok	Wartość NDS, mg/m^3	Wartość NDSCh, mg/m^3	Wartość DSB	Uwagi
Australia (2008)	0,22	–		carcinogen
Austria (2007)	0,02	0,08		skin
Belgia (2002)	0,11	–		skin, carcinogen
Dania (2011)	0,11	–		skin, carcinogen
Finlandia (2011)	0,11	–		skin
Francja (2006)	0,22	–		C2 carcinogen
Holandia (2003)	0,02	–		
Japonia (2012)	0,005	–	OEL-B: 50 µg/g kreatyniny w moczu na koniec zmiany roboczej	skin, 2A carcinogen
Niemcy (2017)	–	–	BAR: < 1 µg MOCA (po hydrolizie)/l moczu zbieranego na koniec zmiany roboczej	H carcinogen cat. 2
Nowa Zelandia (2002)	0,005	–		skin
Polska (2002)	0,02	–		Carc. 1B, skóra
Szwajcaria (2011)	0,02	–		skin, carcinogen 2
Unia Europejska (SCOEL 2010, 2013)	–	–	BGV: limit detekcji metody (LOD)	skin, B
Unia Europejska (2018) Propozycja wartości wiążącej (BOELV)	0,01	–	BGV: 5 µmol/mol kreatyniny	skóra
Wielka Brytania (2007)	0,005	–		skin
USA – ACGIH (2018)	NIC-0,01 IFV*	–	BEI	skin, A2
USA – NIOSH	0,003	–		skin, carcinogen

Objaśnienia:
BGV (ang. *biological guidance value*) – może być ustalona, kiedy dane toksykologiczne nie pozwalają na wyprowadzenie opartej na skutkach zdrowotnych wartości BLV (odpowiednik DSB). Wartość BGV reprezentuje górne stężenie substancji lub metabolitu tej substancji w odpowiednim medium biologicznym, które odpowiada 90. lub 95. percentylowi stężenia obserwowanego w populacji referencyjnej (nienarażonej zawodowo). Stwierdzenie przekroczenia tej wartości może świadczyć, że istnieje potrzeba rozważenia, czy istniejące warunki pracy są odpowiednie (oraz czy nie istnieje potrzeba poprawy warunków higienicznych pracy).
NIC (ang. *Notice of Intended Changes*); IFV (ang. *Inhalable Fraction and Vapor*) – mierzone jako frakcja wdychalna i pary; zamierzona zmiana normatywu (ACGIH 2018a; 2018b).

W Polsce w 2002 r. przyjęto wartość NDS dla MOCA na poziomie 0,02 mg/m^3. Normatyw ten oznakowano dodatkowo „skóra". Za podstawę wyliczenia wartości NDS przyjęto wyniki badania kancerogenności MOCA u szczurów, którym związek ten podawano w paszy zawierającej MOCA o stężeniu 250 ÷ 1 000 mg/kg paszy przez 18 miesięcy (*Kommineni* i in. 1979). W doświadczeniu tym częstość gruczolakoraków płuc i raków wątrobowokomórkowych wzrastała wraz z dawką MOCA. Do zaproponowania wartości NDS przyjęto ryzyko nowotworów płuc, gdyż zależność dawka-odpowiedź była w tym przypadku dokładniej wyrażona oraz model linearyzowany, jako właściwszy w tego rodzaju analizach. Uwzględniając współczynniki, wynikające z czasu trwania eksperymentu, różnic masy ciała szczura i człowieka, narażenia zawodowego i całożyciowego oraz $1 \cdot 10^{-4}$ jako poziom akceptowalnego ryzyka ustalono, że stężenia MOCA w środowisku pracy nie powinny przekraczać 0,02 mg/m^3 (*Sitarek, Lebrecht* 2003).

W Niemczech nie ustalono normatywu dla MOCA, uznając ten związek jako kancerogen kategorii zagrożenia 2., wchłaniający się przez skórę. Jednak dla tego związku ustalono dopuszczalną wartość BAR (ang. *biologischer arbeitsstoff-referenzwert* – biologiczną wartość referencyjną, odpowiednik BGV) na poziomie < 1 μg MOCA (po hydrolizie)/l moczu zbieranego na koniec zmiany roboczej (BAT 2013).

Uzasadnienie wartości TLV (ACGIH 2001)

W wielu badaniach wykazano, że MOCA jest w dużym stopniu metabolizowana, a tylko niewielki procent jest wydalany jako niezmieniony związek, głównie z moczem. U zwierząt doświadczalnych MOCA wykazuje działanie toksyczne charakterystyczne dla amin aromatycznych, tj. sinicę i methemoglobinemię. Związek wykazuje bardzo słabe działanie drażniące na skórę świnek morskich oraz niewielkie działanie drażniące na spojówki u królików. MOCA nie powodowała alergicznego, kontaktowego zapalenia skóry u świnek morskich. W wielu badaniach wykazano, że działa mutagennie zarówno w warunkach *in vitro,* jak i *in vivo*. Powoduje transformacje w różnego typu komórkach i tworzy addukty z DNA w płucach i wątrobie szczurów. W hodowlach komórek pęcherza moczowego człowieka lub psa inkubowanych z MOCA stwierdzono występowanie adduktów z DNA, przy czym większa ilość adduktów występowała w DNA człowieka. MOCA wykazywała działanie rakotwórcze u: szczurów, myszy i psów, po podaniu drogą pokarmową. U szczurów występowały głównie nowotwory płuc i wątroby, u myszy samic stwierdzono zwiększenie przypadków wątrobiaków, natomiast u psów – występowanie nowotworów pęcherza moczowego. Po podaniu podskórnym szczurom MOCA wywoływała takie same typy nowotworów, jak po podaniu per os. Nie ma dostępnych danych dla oceny działania teratogennego czy wpływu na rozrodczość.

Uważa się, że bezpośrednie wchłanianie przez skórę jest główną drogą narażenia ludzi. Zaleca się, aby w celu potwierdzenia narażenia na MOCA wykonywać analizę moczu pod kątem występowania tego związku. W niewielkiej grupie pracowników narażonych na MOCA oraz inne związki stwierdzono hematurię. Jak dotąd nie ma bezpośrednich dowodów, że MOCA jest kancerogenem dla ludzi. U pracowników narażonych na ten związek przez 6 miesięcy do 16 lat (stężenia w powietrzu nieznane) nie wykazano istotnego ryzyka dla raka pęcherza moczowego w badaniu cytologicznym. Jednak brak wystąpienia dodatkowego ryzyka nowotworowego w tej grupie pracowników nie jest jednoznacznym wynikiem ujemnym, ponieważ okres narażenia był krótszy niż 20 lat, a siła statystyczna wykrycia dodatkowego ryzyka nowotworu pęcherza moczowego była słaba. Dla większości związków rakotwórczych dla pęcherza moczowego u ludzi średni czas latencji (od początku narażenia do diagnozy lub śmierci) wynosi 20 lat lub więcej. Trzy przypadki nieinwazyjnego brodawczaka pęcherza zdiagnozowano w przesiewowych badaniach 540 pracowników narażonych na MOCA w latach 1968-1979.

Biorąc pod uwagę przedstawione badania i dowody na rakotwórcze działanie MOCA u zwierząt oraz działanie genotoksyczne wykazane zarówno w warunkach *in vitro,* jak i *in vivo*, zaproponowano oznakowanie A1 – związek o potwierdzonym działaniu rakotwórczym dla człowieka, bez podawania wartości liczbowej TLV. Jednak z uwagi na to, że badania epidemiologiczne dały niejednoznaczne wyniki, a pracownicy, u których stwierdzono raka pęcherza moczowego byli narażeni nie tylko na MOCA, lecz także na szereg innych związków o potwierdzonym lub spodziewanym działaniu rakotwórczym oraz na brak porównań z grupę kontrolną, MOCA została zaklasyfikowana jako A2 – związek podejrzany (*suspected*) o działanie rakotwórcze.

Oceny dokonane w miejscach pracy wykazały, że narażenie pracowników na pyły (*dusts*) MOCA drogą inhalacyjną jest minimalne, a główne zagrożenie

stwarza narażenie dermalne. Ustalona 8-godzinna wartość TLV-TWA na poziomie 0,11 mg/m^3 powinna zminimalizować ryzyko wystąpienia: sinicy, methemoglobinemii, szkodliwego działania na nerki i pęcherz moczowy czy inne formy nowotworów. Zalecane jest także zastosowanie programu monitoringu moczu, aby zapewnić skuteczność kontroli narażenia. MOCA jest związkiem, dla którego zaleca się ustalenie wartości BEI (ACGIH 2001).

W 2018 r. normatyw ACGIH oznaczono dodatkowo: NIC 0,11 IFV, czyli mierzona wartość dotyczy frakcji wdychalnej lub par (ang. *inhalable fraction and vapor*) oraz zamierzona jest zmiana normatywu (ang. *notice of intended changes*, NIC). Wartość BEI dotyczy całkowitego stężenia MOCA (po hydrolizie) w moczu, pobranym na zakończenie zmiany robocze, bez ustalania liczbowej wartości tego wskaźnika (ACGIH 2018a; 2018b).

Uzasadnienie SCOEL (2010)

MOCA jest genotoksycznym kancerogenem. Metabolizm MOCA u szczurów, psów i ludzi zachodzi z udziałem wątrobowego cytochromu P450, prowadząc do pochodnej *N*-hydroksy-MOCA; *N*-hydroksy-MOCA tworzy addukty z DNA, stąd MOCA jest związkiem genotoksycznym dla bakterii i komórek ssaków. Główne addukty z DNA powstające w narządach docelowych w badaniach rakotwórczości u zwierząt (szczury – wątroba i płuca, psy – pęcherz moczowy) są takie same, jak stwierdzono w komórkach układu moczowego ludzi narażonych zawodowo na MOCA (IARC 1993).

Badania działania rakotwórczego MOCA przeprowadzono po podaniu drogą pokarmową w paszy u myszy (jedno badanie), u szczurów obu płci (dwa badania), u szczurów samców (dwa badania z użyciem paszy standardowej i niskobiałkowej) oraz po podaniu w kapsułkach samicom psów. MOCA badano także po podaniu podskórnym szczurom (jedno badanie). Podanie drogą pokarmową powodowało wzrost przypadków nowotworów wątroby u samic myszy. W serii doświadczeń, w których szczury karmiono paszą pełnobiałkową lub niskobiałkową, MOCA indukowała nowotwory wątrobowokomórkowe i złośliwe nowotwory płuc u obu płci w jednym badaniu, kilka nowotworów wątrobowokomórkowych u samców w innym badaniu, gruczokaloraki i guzy watrobowokomórkowe u obu płci w trzecim badaniu i złośliwe nowotwory płuc, gruczolakoraki sutka, raki gruczołu Zymbala i raki wątrobowokomórkowe w czwartym badaniu. Podanie MOCA drogą pokarmową samicom psów Beagle powodowało raki z komórek przejściowych pęcherza moczowego i moczowodu. Podanie podskórne powodowało u szczurów raki wątrobowokomórkowe i złośliwe nowotwory płuc. IARC zaklasyfikowała MOCA jako związek rakotwórczy w grupie 1., biorąc pod uwagę mechanistyczne i inne istotne dane na temat tego związku (IARC 2010). Jako amina aromatyczna o podobnej strukturze do benzydyny także dla MOCA narządem docelowym działania rakotwórczego u ludzi powinien być nabłonek dróg moczowych. Wniosek taki potwierdzają ograniczone dane dla ludzi oraz indukcja raków dróg moczowych u psów, u których występowanie tego typu nowotworów powodują także inne aminy aromatyczne, dla których udowodniono działanie rakotwórcze dla ludzi (benzydyna, 2-naftyloamina).

Na podstawie przedstawionych danych, MOCA została zaklasyfikowana przez SCOEL do czynników rakotwórczych grupy A, czyli genotoksycznych kancerogenów, dla których nie można ustalić progu działania. Stąd, nie można dla MOCA ustalić normatywu higienicznego (OEL), opartego o skutki zdrowotne.

MOCA łatwo wchłania się przez skórę, dlatego wymagane jest oznakowanie notacją „skóra". Fakt ten podkreśla znaczenie monitoringu biologicznego. Wydaje się, że najlepszym wyborem dla monitoringu biologicznego jest pomiar całkowitej (głownie w postaci sprzężeń) MOCA w moczu pobranym na zakończenie zmiany roboczej. Ponieważ MOCA nie jest powszechnym zanieczyszczeniem środowiskowym, czy naturalnie występującym składnikiem ciała człowieka, jakiekolwiek zauważalne wydalanie MOCA z moczem (powyżej limitu detekcji metody) wskazuje na narażenie zawodowe. W USA, ACGIH (2010) wymienia całkowitą MOCA w moczu, jako przyjęty biologiczny wyznacznik narażenia, jednak bez podania wartości liczbowej, która mogłaby odpowiadać wartości BEI (biologiczny wskaźnik narażenia, odpowiednik DSB) ze względu na niewystarczające dane. W Wielkiej Brytanii HSE (2009) zaleca, aby narażenie pracowników na MOCA było tak małe, jak jest to rozsądnie możliwe, przyjmując wskaźniki narażenia poniżej stężenia w powietrzu WEL (ang. *working exposure limit*) wynoszącego 0,005 mg/m^3 i wartości BMGV (ang. *biological monitoring guidance value*) wynoszącej 15 µmol MOCA/mol kreatyniny (35 µg/g kreatyniny). Mimo to, *Cocker* i in. (2009) wskazują, że wartość ta powinna być dalej zmniejszana, ponieważ nie jest wystarczającym bodźcem do dalszego ograniczenia narażenia.

Uzasadnienie BGV

Ponieważ MOCA jest genotoksycznym kancerogenem, nie można zarekomendować wartości limitu biologicznego (BLV), opartego na skutkach zdrowotnych. Populacja generalna nie jest narażona na MOCA, stąd MOCA nie jest wykrywana w moczu osób nienarażonych zawodowo. Znaczy to, że poziom MOCA w moczu osób nienarażonych zawodowo pozostaje poniżej limitu detekcji metody, zwykle wynoszącego 1 ÷ 1,5 µg/l (3,7 ÷ 5 nmol/l, ~0,37 ÷ 0,5 µmol/mol kreatyniny) dla najczęściej stosowanych metod analitycznych, chociaż istnieją także metody o limicie detekcji 0,1 µg/l. Dlatego też biologiczna wartość wskaźnikowa (BGV, ang. *biological guidance value*) dla MOCA powinna odpowiadać limitowi detekcji metody biomonitoringu (SCOEL 2013).

W populacjach pracowników zawodowo narażonych stężenia MOCA w moczu (całkowitej MOCA w moczu) poniżej wartości 5 µmol/mol kreatyniny mogą być osiągane przy zastosowaniu odpowiednich warunków i dobrych praktyk w miejscu pracy. Zgodnie z oceną ryzyka wartości 5 µmol/mol kreatyniny odpowiada ryzyko nowotworowe wynoszące 3-4 · 10^{-6} (SCOEL 2013). Próby moczu powinny być zbierane na zakończenie zmiany roboczej.

Opinia RAC

Na zlecenie Komisji Europejskiej RAC (ang. *Committee for Risk Assessment*) opracował opinię dotyczącą oceny limitów narażenia zawodowego (OELs) dla MOCA ze szczególnym uwzględnieniem stanowiska SCOEL (2010; 2013). Kluczowe wnioski z tej oceny są następujące (ECHA 2017):

- MOCA, zgodnie z CLP, ma zharmonizowaną klasyfikację jako Carc. 1B (H350).
- Krytycznym punktem dla ustalenia wartości OEL jest działanie rakotwórcze; jednak OEL oparty na skutkach zdrowotnych nie może być ustalony, ponieważ MOCA jest uważana za genotoksyczny kancerogen o działaniu bezprogowym.
- Główną drogą narażenia na MOCA jest droga dermalna. Dlatego też poziomy MOCA w próbach moczu pracowników są lepszym wskaźnikiem dla oceny narażenia, niż pomiar stężeń MOCA w powietrzu. Biomonitoring powinien jednak być uzupełniony monitoringiem powietrza oraz, kiedy jest to wskazane pomiarami zanieczyszczeń skóry i powierzchni roboczych, aby zidentyfikować źródła narażenia.
- Ponieważ narażenie przez skórę ma znaczny udział w ilości MOCA wchłoniętej do organizmu pracownika, stąd normatyw oznakowano notacją „skóra".

RAC zgadza się z opinią SCOEL, że monitoring biologiczny jest obecnie najlepszą metodą oceny całkowitego narażenia w warunkach zawodowych. MOCA nie jest wykrywana w moczu osób nienarażonych zawodowo. Znaczy to, że poziom MOCA w moczu osób nienarażonych pozostaje poniżej limitu detekcji metody, zwykle wynoszącego 1 ÷ 1,5 µg/l (3,7 ÷ 5 nmol/l, ~0,37 ÷ 0,5 µmol/mol kreatyniny) dla najczęściej stosowanych metod analitycznych. Dlatego też biologiczna wartość wskaźnikowa BGV (ang. *biological guidance value*) dla MOCA powinna odpowiadać limitowi detekcji metody biomonitoringu.

RAC dodatkowo przeprowadził szacowanie ryzyka nowotworowego dla pracowników narażonych na MOCA różnymi drogami (na podstawie pomiaru poziomu MOCA w moczu). Ponieważ narażenie na stężenie 1 µg/m^3 prowadzi w warunkach narażenia zawodowego do dawki dziennej 10 µg, co odpowiada ryzyku jednostkowemu 9,65 · 10^{-6}, wówczas stężeniu MOCA w moczu 5 µmol/mol kreatyniny (równoważnemu dawce dziennej 17 µg) odpowiada ryzyko wynoszące 16,4 · 10^{-6}, a stężeniu 0,5 µmol/mol kreatyniny (limit detekcji obecnych metod analitycznych) odpowiada ryzyko 1,64 · 10^{-6} (ECHA 2017).

W 2018 r. Komisja Europejska wystąpiła z wnioskiem o wpisanie wartości dopuszczalnego stężenia 0,01 mg/m^3 jako wartości wiążącej (BOELV) z jednoczesną notacją „skóra" do załącznika III do wniosku dotyczącego Dyrektywy Parlamentu i Rady zmieniającej dyrektywę 2004/37/WE w sprawie ochrony pracowników przed zagrożeniem dotyczącym narażenia na działanie czynników rakotwórczych lub mutagenów podczas pracy (COM(2018)171).

Jednocześnie zaproponowano jako wartość biologicznego wskaźnika narażenia (BGV) przyjąć stężenie MOCA w moczu na poziomie 5 µmol MOCA/mol kreatyniny, zgodnie z listą zalecanych, opartych na skutkach zdrowotnych wartościach biologicznych limitów narażenia (BLVs) i biologicznych wartości wskaźnikowych (BGVs) (SCOEL 2014). Jednak w dokumencie tym dla MOCA wartość BGV przyjęta jest jako limit detekcji metody pomiaru MOCA w moczu na zakończenie zmiany roboczej z jednoczesnym odesłaniem do opracowania dotyczącego zalecanych wartości BGV dla MOCA, które również jako wartość BGV przyjmuje limit detekcji metody bez podawania konkretnej wartości liczbowej tego wskaźnika (SCOEL 2013).

Podstawy proponowanej wartości NDS

Jako podstawę do zaproponowania wartości NDS przyjęto działanie rakotwórcze MOCA. Ponieważ MOCA jest genotoksycznym kancerogenem o działaniu bezprogowym, wobec tego wartość normatywu higienicznego oparto o szacowanie ryzyka nowotworowego dla tego związku. Wszystkie istniejące szacowania ryzyka są oparte o wyniki eksperymentu na szczurach w warunkach narażenia przewlekłego, otrzymujących MOCA w paszy, przy zastosowaniu różnych modeli obliczeniowych (*Kommineni* i in. 1979).

Obowiązująca dotychczas w Polsce wartość NDS MOCA na poziomie 0,02 mg/m^3 została wyprowadzona w oparciu o model liniowy przy założonym ryzyku 10^{-4} (*Sitarek i Lebrecht* 2003). Szacowanie ryzyka nowotworowego przy zastosowaniu modelu dwustopniowego dało wartości ryzyka odpowiednio: $4{,}6 \cdot 10^{-4}$ dla stężenia MOCA 0,02 mg/m^3 oraz $1{,}7 \cdot 10^{-4}$ dla stężenia 0,01 mg/m^3 (*Sapota i Szymczak* 2003). Komitet ds. Oceny Ryzyka (RAC), stosując model liniowy dla narażenia inhalacyjnego na MOCA o stężeniu 0,01 mg/m^3, otrzymał podobną wartość ryzyka, wynoszącą $9{,}65 \cdot 10^{-5}$ ($\approx 1 \cdot 10^{-4}$), (ECHA 2017).

Ze względu na fakt, że przedstawione szacowania ryzyka dały podobne wartości dla stężenia 0,01 mg/m^3, oraz że Unia Europejska zaproponowała tę wartość jako stężenie wiążące (COM(2018)171), zaproponowano przyjąć w Polsce wartość NDS MOCA w powietrzu środowiska pracy na poziomie 0,01 mg/m^3.

Główną drogą narażenia na MOCA w warunkach zawodowych jest droga dermalna. Dlatego też poziomy MOCA w próbach moczu pracowników są lepszym wskaźnikiem dla oceny całkowitego narażenia, niż pomiar stężeń MOCA w powietrzu.

MOCA nie jest wykrywana w moczu osób nienarażonych zawodowo, czyli pozostaje poniżej limitu detekcji metody, zwykle wynoszącego 1 ÷ 1,5 µg/l (3,7 ÷ 5 nmol/l, ~0,37 ÷ 0,5 µmol/mol kreatyniny) dla najczęściej stosowanych metod analitycznych. Dlatego też biologiczna wartość wskaźnikowa BGV (ang. *biological guidance value*) dla MOCA powinna odpowiadać limitowi detekcji metody biomonitoringu (SCOEL 2013; 2014).

Zaproponowano przyjąć wartość 5 µmol MOCA/mol kreatyniny w moczu pobieranego na zakończenie zmiany roboczej jako wartość dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB). W warunkach przemysłowych stężenie całkowitej MOCA poniżej 5 µmol/mol kreatyniny może być osiągnięte przy stosowaniu odpowiednich warunków higienicznych pracy. Zgodnie z oceną ryzyka przedstawioną przez SCOEL, takiemu stężeniu MOCA w moczu odpowiada ryzyko wystąpienia nowotworu wątroby, wynoszące $3 \div 4 \cdot 10^{-6}$(SCOEL 2013).

Biomonitoring powinien być uzupełniony monitoringiem powietrza oraz, kiedy jest to wskazane, pomiarami zanieczyszczeń: skóry, rękawic i powierzchni roboczych, aby zidentyfikować źródła narażenia.

Ponieważ narażenie przez skórę ma znaczny udział w ilości MOCA wchłoniętej do organizmu pracownika, stąd normatyw oznakowano notacją „skóra".

PIŚMIENNICTWO

ACGIH (2001). 4,4'-Methylene bis(2-chloroaniline). Documentation of the threshold limit values.

ACGIH (2010). TLVs and BEIs based on the documentation of the threshold limit values for chemical substances and physical agents & biological exposure indices [cyt. za: SCOEL 2010).

ACGIH (2018a). TLVs and BEIs based on the documentation of the threshold limit values for chemical substances and physical agents & biological exposure indices.

ACGIH (2018b). Guide to occupational exposure values.

Bailey E., Brooks A.G., Farmer P.B., Street B. (1993). Monitoring exposure to 4,4'-methylene-bis(2-chloroaniline) through the gas chromatography-mass spectrometry measurement of adducts to hemoglobin. Environ. Health Perspect. 99, 175–177.

BAT (2013). Deckblatt zu 4,4'-Methylen-bis(2-chloranilin), (MOCA). Grenzwerte in biologischem Material.

Butler M.A., Guengerich F.P., Kadlubar F.F. (1989). Metabolic oxidation of the carcinogens 4-aminobiphenyl and 4,4'-methylene-bis(2-chloroaniline) by human hepatic microsomes and by purified rat hepatic cytochrome P450 monooxygenases. Cancer Res. 49, 25–31.

Cartwright R.A. (1983). Historical and modern epidemiological studies on populations exposed to *N*-substituted aryl compounds. Environ. Health Persp. 49, 13–19.

Centralny Rejestr Danych o Narażeniu na Substancje, Mieszaniny, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym (2018). IMP, Łódź [dane niepublikowane].

Cheever K.L., Richards D.S., Weigel W.W., Begley K.B., Savage R.E., Daniel F.B. (1988). Macromolecular adduct formation by 4,4'-methylene-bis(2-chloroaniline) in adult male rat. Scand. J. Work Environ. Health 14, 57–59 [cyt. za: *Sitarek, Lebrecht* 2003].

Cheever K.L., *DeBord D.G., Swearengin T.F.* (1991). 4,4'-Methylenebis(2-chloroaniline) (MOCA): the effect of multiple oral administration, route, and phenobarbital induction on macromolecular adduct formation in the rat. Fundam. Appl. Toxicol. 16(1), 71–80.

Cheever K.L., *Richards D.E., Weigel W.W., Begley K.B., DeBord D.G., Swearengin T.F., Savage R.E.* (1990). 4,4'-Methylene-bis(2-chloroaniline). (MOCA): comparison of adduct after oral or dermal administration in the rat. Fundam. Appl. Toxicol. 14, 273–283.

ChemIDplus (2018). Methylenebis (chloroaniline) [dostęp: 23.01.2018; https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/101-14-4].

Chen T.H., *Kuslikis B.I., Braselton W.E.* (1989). Hydroxylation of 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) by canine, guinea pig, and rat liver microsomes. Drug Metab. Dispos. 17, 405–413 [cyt. za: Toxicological Profile… 2017).

Chen T.H., *Kuslikis B.I., Braselton W.E.* (1991). Unlabeled hemoglobin adducts of 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) in rats and guinea pigs. Arch. Toxicol. 65(3), 177–185.

Chen H.I., Liou S.H., Loh C.H., Uang S.N., Yu Y.C., Shih T.S. (2005). Bladder cancer screening and monitoring of 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) exposure among workers in Taiwan. Urology 66, 305–310.

Chen H.I., Chi T.C., Ko S.Y., Hsu Y.C., Lin I.H., Chen A., Liou S.H., Li C.F. (2014). 4,4'-Methylenebis(2-chloroaniline, MBOCA) may be highly toxic and a carcinogen based on an experimental study with mice. Adv. Biol. Chem. 4, 203–213.

Chin B., Tobes MC., Han S.S. (1983). Absorption of 4,4'-methylenebis (2-chloroaniline) by human skin. Environ. Res. 32, 167–178.

Clapp D.E, Piacitelli G.M., Zaebst D.D., Ward E. (1991). Assessing exposure to 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) (MBOCA) in the workplace. Appl. Occup. Environ. Hyg. 6, 125–130.

Cocker J., Boobis A.R., Wilson H.K., Gompertz D. (1990). Evidence that a β-N-glucuronide of 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) (MbOCA) is a major urinary metabolite in man: implications for biological monitoring. Br. J. Ind. Med. 47, 154–161.

Cocker J., Nutley B.P., Wilson H.K. (1996). Methylene bis(2-chloroaniline) (MbOCA): towards a biological monitoring guidance value. Biomarkers 1, 185–189 [cyt. za: SCOEL 2010].

Cocker J., Jones J., Morton J., Mason H.J. (2007). Biomonitoring at the UK Health and Safety Laboratory. Int. J. Hyg. Environ. Health 210, 383–386 [cyt. za: SCOEL 2010].

Cocker J., Cain J.R., Baldwin P., McNally K., Jones K. (2009). A survey of occupational exposure to 4,4'-methylene-bis (2-chloroaniline, MbOCA) in the UK. Ann. Occup. Hyg. 53(5), 499–507.

COM (2018)171 final. Annex to the proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council amending Directive 2004/37/EC on the protection of workers from the risks related to exposure to carcinogens or mutagens at work [dostęp: 03.09.2018; https://ec.europa.eu/transparency/regdoc/rep/1/2018/EN/COM-2018-171-F1-EN-ANNEX-1-PART-1.PDF].

Commission Staff Working Document (2018). Impact Assessment accompanying the document: Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Concil amending Directive 2004/37 on the protection of workers from the risk related to exposure to carcinogens or mutagens at work (COM(2018) 171 final) – (SWD(2018) 87 final) [dostęp: 04.07.2019; https://ec.europa.eu/transparency/regdoc/rep/10102/2018/EN/SWD-2018-88-F1-EN-MAIN-PART-1.PDF].

Czynniki szkodliwe w środowisku pracy – wartości dopuszczalne (2016). [Red.] D. Augustyńska, M. Pośniak. Warszawa, CIOP–PIB [publication in Poland].

DECOS (2000). 4,4'-Methylene bis(2-chloroaniline). Health based calculated occupational cancer risk values. Dutch Expert Committee on Occupational Standards, a committee of the Health Council of the Netherlands, No. 2000/09OSH.

DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaf (1996). 4,4'-Mehtylenebis(2-chloroaniline). Occupational Toxicants. Vol. 7.

DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft (2017). List of MAK and BAT Values 2017. [dostęp: 17.01.2018; https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/ 10.1002/9783527812127].

Dost A., Straughan J.K., Sorahan T. (2009). Cancer incidence and exposure to 4,4'-methylene-bis-ortho-chloroaniline (MbOCA). Occup. Med. 59, 402–405.

Ducos P., Maire C., Gaudin R. (1985). Assessment of occupational exposure to 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) „MOCA" by a new sensitive method for biological monitoring. Int. Arch. Occup. Environ. Heath 55, 159–167.

Edwards J.W., Priestly B.G. (1992). Biological and biological-effect monitoring of workers exposed to 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline). Hum. Exp. Toxicol. 11, 229–236.

ECHA (2012). Background document for 2,2'-dichloro-4,4'-methylenedianiline (MOCA).

ECHA (2017). Opinion on 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline), (MOCA). Committee for Risk Assessment RAC, ECHA/RAC/A77-O-0000001412-86-147/F [dostęp: 23.01.2018; https://echa.europa.eu/documents/10162/13641/opinion_moca_en.pdf/35756093-0eb9-e468-2ba2-786ca73c5aaa].

ECHA (2018). 4,4'-Methylenebis(2-chloroaniline). Registration Dossier. [dostęp: 23.01.2018; https://echa.europa.eu/pl/registration-dossier/].

Farmer P.B., Rickard J., Roberston S. (1981). The metabolism and distribution of 4,4'-methylene-bis(2-chloroaniline), (MBOCA) in rats. J. Appl. Toxicol. 1, 317–322.

GESTIS (2018). International Limit Values [http://limitvalue.ifa.dguv.de/].

Groth D.H., Weigel W.W., Tolos W.P., Brewer D.E., Cheever K.L., Burg J.R. (1984). 4,4'-Methylene-bis-ortho-chloro-aniline (MBOCA): absorption and excretion after skin application and gavage. Environ. Res. 34, 38–54.

Grundmann E., Steinhoff D. (1970). Liver and lung tumors after administration of 3,3'-dichloro-4,4'-diaminophenylmethane to rats. Z. Krebsforsch. 74, 28–39 [cyt. za: SCOEL 2010; IARC 2012].

Hosein H.B., van Roosmalen P.B. (1978). Acute exposure to methylene-bis-ortho chloroaniline (MOCA). Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 39, 496–497 [cyt. za: DFG 1996; S*itarek, Lebrecht* 2003].

Hotchkiss S.A., Hewitt P., Caldwell J. (1993). Percutaneous absorption of 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) and 4,4'-methylenedianiline through rat and human skin in vitro. Toxicol. In Vitro 7, 141–148.

HSE, UK Health and Safety Executive (2009). Statement on occupational cancer for MbOCA [http://www.hse.gov.uk/rubber/mboca.htm].

IARC (1993). 4,4'-Methylenebis(2-chloroanikine) (MOCA). IARC Monographs vol. 57. Occupational exposures of hairdressers and barbers and personal use of hair colourants; some hair dyes, cosmetic colourants, industrial dyestuffs and aromatic amines.

IARC (2010). 4,4'-Methylenebis(2-chloroaniline). IARC Monographs, vol. 99. Some aromatic amines, organic dyes, and related exposures.

IARC (2012). 4,4'-Methylenebis(2-chlorobenzenamine). IARC Monographs, vol. 100F. Chemical agents and related occupations.

Ichikawa Y., Yoshida M., Okayama A., Hara I., Morimoto K. (1990). Biological monitoring for workers exposed to 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline). Am. Ind. Hyg. Assos. J. 51(1), 5–7.

JSOH, Japan Society for Occupational Health] (2007). Recommendation of occupational exposure limits(2007-2008). J. Occup. Health 49, 328–344 [cyt. za: IARC 2010].

Kaderlik K.R., Talaska G., DeBord D.G., Osorio A.M., Kadlubar F.F. (1993). 4,4'-Methylene-bis(2-chloroaniline)-DNA adduct analysis in human exfoliated urothelial cells by 32P-postlabeling. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2, 63–69.

Keen C., Coldwell M., McNally K., Baldwin P., McAlinden J., Cocker J. (2012). A follow up study of occupational exposure to 4,4'-methylene-bis(2-chloroaniline) (MbOCA) and isocyanates in polyurethane manufacture in the UK. Toxicol. Lett. 213, 3–8.

Kommineni C., Groth D.H., Frockt I.J., Voelker R.W., Stanovick R.P. (1979). Determination of the tumorigenic potential of methylene-bis-orthochloroaniline. J. Environ. Pathol. Toxicol. 2(5), 149–171.

Liu C.S., Liou S.H., Loh C.H., Yu Y.C., Uang S.N., Shih T.S., Chen H.I. (2005). Occupational bladder cancer in a 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) (MBOCA)-exposed worker. Environ. Health Persp. 113(6), 771–774.

Linch A.L., O'Connor G.B., Barnes J.R., Killian A.S., Neeld W.E. (1971). Methylene-bis-ortho-chloraniline (MOCA): evaluation of hazards and exposure control. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 32, 802–819 [cyt. za: SCOEL 2010].

Manis M.O., Williams D.E., McCormack K.M., Schock R.J., Lepper L.F., Ng Y.C., Braselton W.E. (1984). Percutaneous absorption, disposition, and excretion of 4,4'-methylenebis(2--chloroaniline) in dogs. Environ. Res. 33(1), 234–245 (PubMed abstract).

Mastromatteo E. (1965). Recent occupational health experiences in Ontario. J. Occup. Med. 7, 502 [cyt. za: SCOEL 2010; DFG 1996].

Morton K.C., Lee M.S., Siedlik P., Chapman R. (1988). Metabolism of 4,4'-methylene-bis-2-chloroaniline (MOCA) by rats in vivo and formation of N-hydroxy MOCA by rat and human liver microsomes. Carcinogenesis 9(5), 731–739 [cyt. za: IARC 2010; Toxicological Profil… 2017].

Nesnow S., Triplett L.L., Slaga T.J. (1985). Studies on the tumor initiating, tumor promoting and tumor co-initiating properties of respiratory carcinogens. Carcinog. Compr. Surv. 8, 257–277 [cyt. za: IARC 2010].

Osorio A.M., Clapp D., Ward E., Wilson H.K., Cocker J. (1990). Biological monitoring of a worker acutely exposed to MBOCA. Am. J. Ind. Med. 18(5), 577–589 [cyt. za: SCOEL 2010].

Robert A., Ducos P., Francin J.M. (1999a). Biological monitoring of workers exposed to 4,4'-methylene-bis-(2-orthochloroaniline) (MOCA). I. A new and easy determination of "free" and "total" MOCA in urine. Int. Arch. Occup. Environ. Health 72(4), 223–237.

Robert A., Ducos P., Francin J.M. (1999b). Biological monitoring of workers exposed to 4,4'-methylene-bis-(2-orthochloroaniline) (MOCA). II. Comparative interest of "free" and "total" MOCA in the urine of exposed workers. Int. Arch. Occup. Environ. Health 72(4), 229–237.

Rozinova E., Khalil M., Bonin A.M. (1998). MOCA and some proposed substitutes (Cyanacure, Conacure, Polacure 740M and Ethacure 3000) as two-stage skin carcinogens in HRA/Skh hairless mice. Mutat. Res. 398, 111–121.

Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (ze zm.) [Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/ EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006]. Dz. Urz. UE z dnia 31.12.2008 r. (L 353).

RTECS (2017). Registry of Toxic Effects on Chemical Substances: Benzenamine, 4,4'-methylenebis (2-chloroaniline) [dostęp: 16.01.2018; https://www.cdc.gov/niosh-rtecs/CY100590.html].

Russfield A.B., Homburger F., Boger E., Van Dongen C.G., Weisburger E.K., Weisburger J.H. (1975). The carcinogenic effect of 4,4'-methylene-bis-(2-chloroaniline) in mice and rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 31, 47–54 [cyt. za: IARC 2012].

Sabbioni G., Neumann H.G. (1990). Quantification of haemoglobin binding of 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline), (MOCA) in rats. Arch. Toxicol. 64(6), 451–458 [abstract].

Sabbioni G., Schutze D. (1998). Hemoglobin binding of bicyclic aromatic amines. Chem. Res. Toxicol. 11, 471–483 [cyt. za: SCOEL 2010].

Sapota A., Szymczak W. (2003). 2,2'-Dichloro-4,4'-metylenodianilina. Wytyczne Szacowania Ryzyka Zdrowotnego dla Czynników Rakotwórczych, 16, 25–43. Łódź IMP [publication in Polish].

SCOEL (2010). Recommendation from Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for 4,4'-methylene-bis-(2--chloroaniline), (MOCA). SCOEL/SUM/174.

SCOEL (2013). Annex to SCOEL/SUM/174. Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for the Biological Guidance Value for 4,4'-Methylene-bis-(2-chloroaniline), (MOCA).

SCOEL (2014). List of recommended health-based biological limit values (BLVs) and biological guidance values (BGVs).

Segerback D., Kadlubar F.F. (1992). Characterization of 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline)-DNA adducts formed in vivo and in vitro. Carcinogenesis 13, 1587–1592.

Shankar K., Fung V., Senevirante M., O'Donnell G.E. (2017). Exposure to 4,4'-methylene bis(2-chloroaniline) (MbOCA) in New South Wales, Australia. J. Occup. Health 59, 296–303.

Shih W.C., Chen M.F., Huang C.C., Uang S.N., Shih T.S., Liou S.H., Wu K.Y. (2007). Simultaneous analysis of urinary 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) and N-acetyl-4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) using solid-phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Rapid Commun. Mass Spectrom. 21, 4071–4078 [cyt. za: SCOEL 2010].

Sitarek K., Lebrecht G. (2003). 2,2'-Dichloro-4,4'-metylenodianilina. Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego [2,2'-dichloro--4,4'-methylenedianiline. Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)]. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy 2(36), 135–156 [Principles and Methods of Assessing the Working Environment].

Steinhoff D., Grundmann E. (1971). Carcinogene Wirkung von 3,3'-Dichlor-4,4'-diaminophenylmethan bei Ratten. Naturwissenschaften 58, 578 [cyt. za: IARC 2012; SCOEL 2010].

Stula E.F., Sherman H., Zapp J.A., Clayton J.W. (1975). Experimental neoplasia in rats from oral administration of 3,3'-dichlorobenzidine, 4,4'-methylene-bis(2-chloroaniline), and 4,4'-methylene-bis(2-methylaniline). Toxicol. Appl. Pharmacol. 31, 159–176 [cyt. za: IARC 2012; SCOEL 2010].

Stula E.F., Barnes J.R., Sherman H., Reinhardt C.F., Zapp J.A. (1978). Urinary bladder tumors in dogs from 4,4'-methylebe-bis(2-chloroaniline) (MOCA). J. Environ. Pathol. Toxicol. 1(1), 31–50 [cyt. za: IARC 2010; SCOEL 2010].

Tobes MC., Brown L.E., Chin B., Marsh D.D. (1983). Kinetics of tissue distribution and elimination of 4,4'-methylene-bis(2-chloroaniline) in rats. Toxicol. Lett. 17, 69–75.

Toxicological Profile for 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) MBOCA (2017). US Department of Health and Human Services. Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

Vaughan G.T., Kenyon R.S. (1996). Monitoring for occupational exposure to 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) by gas chromatographic-mass spectrometric analysis of haemoglobin adducts, blood, plasma and urine. J. Chromatogr. B. Biomed. Appl. 678, 197–204.

Ward E., Halperin W., Thun M., Grossman H.B., Fink B., Koss L., Osorio A.M., Schulte P. (1988). Bladder tumors in two young males occupationally exposed to MBOCA. Am. J. Ind. Med. 14(3), 267–272.

Ward E., Halperin W., Thun M., Grossman H.B., Fink B., Koss L., Osorio A.M., Schulte P. (1990). Screening workers exposed to 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) for bladder cancer by cystoscopy. J. Occup. Med. 32(9), 865–868.

Wniosek (2018). Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady zmieniająca dyrektywę 2004/37/WE w sprawie ochrony pracowników przed zagrożeniem dotyczącym narażenia na działanie czynników rakotwórczych lub mutagenów podczas pracy (SWC(2018) 87 final} – {SWD(2018) 88 final) [dostęp: 04.07.2019; http://www.europarl.europa.eu/RegData/docs_autres_institutions/commission_europeenne/com/2018/0171/COM_COM(2018)0171_PL.pdf].

Wu W.S., Szkar R.S., Smith R. (1996). Gas chromatographic determination and negative-ion chemical ionization mass spectrometric confirmation of 4,4'-methylenebis(3-chloroaniline) in urine via thin-layer chromatographic separation. Analyst 121, 321–324 [cyt. za: SCOEL 2010].

Yun C.H., Shimada T., Guengerich F.P. (1992). Contributions of human liver cytochrome P450 enzymes to the N-oxidation of 4,4'-methylene-bis(2-chloroaniline). Carcinogenesis 13, 217–222.

Adres do korespondencji/Contact details:
dr hab. n. med. ANNA KILANOWICZ, prof. nadzw. UM
e-mail: anna.kilanowicz@umed.lodz.pl
dr MAŁGORZATA SKRZYPIŃSKA-GAWRYSIAK
e-mail: malgorzata.skrzypińska-gawrysiak@umed.lodz.pl
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
90-151 Łódź
ul. Muszyńskiego 1
POLAND

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA W NARAŻENIU NA 2,2'-DICHLORO-4,4'-METYLENODIANILINĘ

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

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na skórę i spojówki.
Badania pomocnicze: brak.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na skórę i spojówki, w zależności od wskazań badanie okulistyczne i dermatologiczne.
Badania pomocnicze: brak.
Częstotliwość badań okresowych: co 2 ÷ 3 lata.

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

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: skórę i spojówki, w zależności od wskazań badanie okulistyczne i dermatologiczne.
Badania pomocnicze: brak.

Narządy (układy) krytyczne

Narządami krytycznymi podczas pracy w narażeniu na 2,2'-dichloro-4,4'-metylenodianilinę są spojówki i skóra.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami lekarskimi do zatrudnienia w narażeniu na 2,2'-dichloro-4,4'-metylenodianilinę są:
– stany zapalne spojówek,
– stany zapalne skóry.

U w a g a
Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy.
O przeciwwskazaniach w przebiegu zatrudnienia powinien decydować lekarz sprawujący opiekę profilaktyczną, biorąc pod uwagę wielkość i okres trwania narażenia zawodowego oraz ocenę stopnia zaawansowania i dynamikę zmian chorobowych.
W badaniu okresowym wskazane oznaczenie wskaźnika narażenia – stężenia 2,2'dichloro-4,4'-metylenodianiliny (MOCA) w moczu.
Ze względu na działanie rakotwórcze (kategoria zagrożenia 1B, Carc. 1B) do pracy w narażeniu na 2,2'-dichloro-4,4'-metylenodianilinę (MOCA) nie wolno zatrudniać pracowników młodocianych, kobiet w ciąży lub karmiących piersią.
Pracownicy zatrudnieni w narażeniu na MOCA powinni być informowani o możliwości rozwoju raka pęcherza moczowego.