

3,3'-Dimetoksybenzydyna

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

3,3'-Dimethoxybenzidine

Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

prof. ANDRZEJ STAREK
e-mail: mfstarek@cyfr-kr.edu.pl
Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego
30-688 Kraków
ul. Medyczna 9

NDS	0,2 mg/m ³
NDSch	nie ustalono
NDSP	nie ustalono
DSB	nie ustalono
Carc. 1B	substancja rakotwórcza kategorii 1.B (substancja, która ma potencjalne działanie rakotwórcze dla ludzi)

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 25.06.2014 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 2.04.2015 r.

Słowa kluczowe: 3,3'-dimetoksybenzydyna, toksyczność, narażenie zawodowe, NDS.

Keywords: 3,3'-dimethoxybenzidine, toxicity, occupational exposure, MAC.

Streszczenie

3,3'-Dimetoksybenzydyna jest ciałem krystalicznym, stosowanym w przeszłości w postaci wolnej zasady lub dichlorowodorku w produkcji barwników azowych oraz jako czynnik przylegający i składnik poliuretanowych elastomerów. Barwniki i pigmenty pochodne 3,3'-dimetoksybenzydyny są stosowane do barwienia: skóry, papieru,

tworzyw sztucznych, gumy i tkanin.

Narażenie zawodowe na 3,3'-dimetoksybenzydynam występuje podczas jej syntezy oraz produkcji i stosowania barwników. W Polsce liczba osób narażonych na 3,3'-dimetoksybenzydynam w latach 2005-2013 stopniowo się zwiększała i w 2013 r. wyniosła 364 osób.

¹ Wartość NDS 3,3'-dimetoksybenzydyny została w dniu 2.04.2015 r. przyjęta podczas 78. posiedzenia Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i została przedłożona ministrowi pracy i polityki społecznej (wniosek nr 94) w celu jej wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych w środowisku pracy.

² Publikacja opracowana na podstawie wyników III etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2014-2016 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Narodowego Centrum Badań i Rozwoju.

Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat ostrego zatrucia ludzi 3,3'-dime-toksybenzydynam. Przypuszcza się, że objawami przewlekłego zatrucia 3,3'-dime-toksybenzydynam może być ogólne niedotlenienie organizmu spowodowane methemoglobinemią oraz hematurią. Wartość mediany dawki śmiertelnej *per os* u szczura wskazuje, że 3,3'-dime-toksybenzydynam jest substancją szkodliwą. W warunkach narażenia powtarzanego u zwierząt obserwowano: wzrost masy wątroby i nerek oraz przewlekłą nefropatię i zmiany w tarczycy. Narażenie przewlekłe prowadziło do nasilonej proliferacji komórek hemopoetycznych w śledzionie oraz zwyrodnienia wodniczkowego i martwicy hepatocytów w centralnych strefach zrazików wątrobowych. W badaniach mutagenności stwierdzono, że dichlorowodorek 3,3'-dime-toksybenzydynam (3,3'-dime-toksybenzydynam · 2HCl): indukował mutacje punktowe u *Salmonella Typhimurium* w warunkach aktywacji metabolicznej, mutacje w komórkach chłoniaka myszy, aberracje chromosomowe i SCEs w komórkach CHO w warunkach *in vitro* oraz aberracje chromosomowe w warunkach *in vivo*.

Działanie rakotwórcze 3,3'-dime-toksybenzydynam na ludzi nie zostało udowodnione, pomimo iż związek ten jest pochodną rakotwórczej benzydynam. Na podstawie wyników badań doświadczalnych na zwierzętach uzyskano wystarczający dowód rakotwórczości tego związku. W IARC zaliczono 3,3'-dime-toksybenzydynamę do czynników przypuszczalnie rakotwórczych dla człowieka (grupa 2.B).

Wartości dopuszczalnych stężeń dla tego związku w środowisku pracy ustalono tylko w następujących państwach WE:

- Holandia (2009) wartość OEL: 0,03 mg/m³ (0,003 ppm) ustalona przez przemysł
- Szwajcaria (2014) wartość OEL: 0,03 mg/m³

- Austria (2011) wartość techniczna TRK: 0,03 mg/m³; STEL: 0,12 mg/m³
- Niemcy (2014): nie ustalono wartości MAK, grupa 2. rakotwórczości (substancje, które są rozważane jako rakotwórcze dla ludzi, ponieważ wystarczające dane z długoterminowych badań na zwierzętach uzasadnione dowodami pochodzącymi z badań epidemiologicznych wskazują na ich znaczny wpływ na ryzyko wystąpienia raka. Ograniczone dane otrzymane z badań na zwierzętach mogą być poparte: dowodami potwierdzającymi, że substancja wywołuje raka na drodze mechanizmów charakterystycznych dla człowieka, a także wynikami testów w warunkach *in vitro* oraz wynikami krótkoterminowych badań, którym poddano zwierzęta).

Podstawą do obliczenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla 3,3'-dime-toksybenzydynam była ocena ryzyka wystąpienia nowotworów u szczurów samców przewlekłe narażonych przez układ pokarmowy. Korzystając z wartości współczynnika kierunkowego (SF) dla zależności dawka-odpowiedź oraz odpowiednich współczynników niepewności, obliczono wartość NDS dla 3,3'-dime-toksybenzydynam wynoszącą 0,199 mg/m³. Zaproponowano przyjęcie stężenia 0,2 mg/m³ 3,3'-dime-toksybenzydynam za wartość NDS związku, uwzględniając ryzyko nowotworowe wynoszące 10⁻⁴. Nie ma podstaw do wyznaczenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSch) oraz dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB). Zaproponowano także oznaczenie związku Carc. 1B, informujące, że jest to substancja rakotwórcza kategorii 1.B.

Summary

3,3'-Dimethoxybenzidine (DMOB) is a crystalline substance used to produce azo dyes and also as adherent agent and polyurethane elastomers ingredient. The dye and pigments DMOB-derivative are used to paint leather, paper, plastic and rubber. Occupational exposure to this compound occurs during its synthesis and usage of azo dyes. In Poland, according to the data provided by the Chief Sanitary Inspectorate, the number of employees exposed to DMOB in 2005-2013 gradually increased and achieved 364 persons in 2013.

There is a lack of data on acute poisoning of humans by DMOB. Symptoms of chronic intoxication by this compound may be systemic hypoxia

caused by methemoglobinemia and hematuria.

The oral LD₅₀ value in rat indicates that DMOB is a harmful compound. In experimental animals repeatedly treated with this compound the increase in both liver and kidney weights, alterations in thyroid gland, an increase in erythropoiesis in spleen, degeneration and also necrosis of hepatocytes in central zone of hepatic lobules were observed.

DMOB induces point mutations in *Salmonella typhimurium*, mutation in mice lymphoma cells, chromosome aberrations and SCEs in CHO cells *in vitro* and chromosome aberrations *in vivo*.

Carcinogenic effect of DMOB in humans was not

observed. In experimental animals the sufficient evidence of carcinogenicity was obtained. IARC classified DMOB as a presumably carcinogenic agent for human (Group 2B).

The recommended maximum exposure limit (MAC) for DMOB of 0.2 mg/m³ is based on the risk assessment of tumours appearance in male

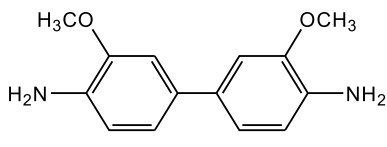
rats chronically exposed to this compound through the alimentary tract. On the basis of slope factor (SF) value for the dose-response relationship and relevant uncertainty factors the MAC value at risk level of 10⁻⁴ was calculated. No STEL and BEI values have been proposed. "Carc 2B" notation (carcinogenic substance) was proposed.

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

Ogólna charakterystyka 3,3'-dimetoksybenzydyny:

- wzór sumaryczny 14H₁₆N₂O₂
- wzór strukturalny



- nazwa CAS 3,3'-dimetoksybenzydyna
- numer CAS 119-90-4
- numer RTECS DD0875000
- numer WE 204-355-4
- numer indeksowy 612-036-00-X

- synonimy: 3,3'-dianizydyna; DMOB; o-dianizydyna; C.I.disperse Black 6,3,3'-dimetoksy-4,4'-diaminobifenyl; 3,3'-dimetoksy-[1,1'bifenilo]-4,4'-diamina, bianizydyna.

Zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (tzw. rozporządzenie CLP) 3,3'-dimetoksybenzydyna ma zharmonizowaną na poziomie unijnym klasyfikację i oznakowanie zgodnie z tabelą 3.1. załącznika VI do ww. rozporządzenia), (tab. 1., rys.1.).

Tabela 1.

Klasyfikowanie i oznakowanie 3,3'-dimetoksybenzydyny (rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008)

Numer indeksowy	Numer CAS	Międzynarodowa terminologia chemiczna	Klasyfikacja		Oznakowanie	
			klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody haseł ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
612-036-00-X	119-90-4	3,3'-dimetoksy-benzzydyna	Carc. 1B Acute Tox. 4	H350 H302	GHS08 GHS07 Dgr	H350 H302

Objaśnienia:

- Carc. 1B – rakotwórcza kategorii 1.B
- H35 – może powodować raka
- Acute Tox. 4 – toksyczność ostra kategorii 4.
- H302 – działa szkodliwie po połknięciu.



Rys. 1. Kody hasła ostrzegawczego: Niebezpieczeństwo. Piktogramy wskazujące rodzaj zagrożenia. Piktogramy określone w załączniku do rozporządzenia WE nr 1272/2008 (CLP) mają czarny symbol na białym tle z czerwonym obramowaniem na tyle szerokim, aby było wyraźnie widoczne

Poniżej podano klasyfikację 3,3'-dimetoksybenzodyny zamieszczoną w tabeli 3.2. załącznika VI do ww. rozporządzenia CLP:

- Carc. Cat. 2 – substancje, które się rozpatruje jako rakotwórcze dla człowieka. Może powodować raka (Carc. Cat. 2; R45)
- Xn – substancja szkodliwa z przypisanym zwrotem zagrożenia: działa szkodliwie po poalknieniu (Xn; R22).

- współczynniki przeliczeniowe

(w temp. 25 °C i ciśn.

1013 hPa): 1 ppm \approx 9,99 mg/m³,
1 mg/m³ \approx 0,10 ppm.

rozpuszcza się w większości rozpuszczalników organicznych i tłuszczów

Właściwości fizykochemiczne substancji

Właściwości fizykochemiczne 3,3'-dimetoksybenzodyny (ARB/SSD/SES 1997; Merck ... 2006; NIOSH 2014):

- wygląd i zapach bezbarwne kryształy przyjmujące barwę fioletową podczas przechowywania, brak zapachu
- masa cząsteczkowa 244,29 g/mol
- temperatura topnienia 137,5 °C
- temperatura zapłonu 206 °C
- prężność par $1,17 \cdot 10^{-8}$ hPa (w temp. 25 °C)
- gęstość par 8,43 (powietrze = 1)
- log Pow 1,81
- rozpuszczalność: w wodzie 0,06 g/L (w temp. 25 °C);
- w rozpuszczalnikach: etanolu, eterze, acetonie, benzenie oraz chloroformie; prawdopodobnie

Otrzymywanie, zastosowanie, narażenie zawodowe

3,3'-Dimetoksybenzodyna nie występuje jako substancja naturalna. Jest ona związkiem syntetycznym, otrzymywanym na drodze redukcji eteru metylo-*o*-nitrofenolowego (*o*-nitroanizolu) do hydrazoanizolu, który następnie w środowisku kwaśnym ulega przekształceniu do 3,3'-dimetoksybenzodyny (IARC 1974).

Produkcja 3,3'-dimetoksybenzodyny w USA miała charakter średnionazowy. W 1967 r. całkowita produkcja tego związku wynosiła 167 t, podczas gdy jego import w 1971 r. wynosił 124 t. Brak jest danych w dostępnym piśmiennictwie co do ilości produkowanej 3,3'- dimetoksybenzodyny w innych państwach. W 1967 r. w RFN był zarejestrowany tylko jeden producent tego związku, również we Włoszech był tylko jeden producent (1969 r.), w Wielkiej Brytanii było dwóch producentów (1970 r.), a w Japonii trzech producentów (1972 r.), (IARC 1974). W 2009 r. w USA nie produkowano 3,3'-dimetoksybenzodyny, natomiast było 25 i 13 dostawców tego związku w postaci odpowiednio wolnej zasady i jej dichlorowodorku (<http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/content/profiles/dimethoxybenzidineanddyes.pdf>). W Europie

substancja ta nie została zarejestrowana i wskutek tego nie ma danych o jej produkcji.

3,3'-Dimetoksybenzydyna i jej dichlorowodorek były stosowane jako półprodukty do produkcji 89 barwników azowych. Kolejnym, najważniejszym zastosowaniem 3,3'-dimetoksybenzydyny jest produkcja diizocyjanianu *o*-dianizydyny (3,3'-dimetoksy-4,4'-difenylenodiizocyjanianu). Związek ten, produkowany wyłącznie w USA w ilości 500 t/rok, był stosowany jako czynnik przylegający oraz składnik poliuretanowych elastomerów. 3,3'-Dimetoksybenzydynamę stosowano również w analizie chemicznej do wykrywania: metali, tiocyjanianów i azotynów. Dawnej 3,3'-dimetoksybenzydynamę stosowano także do barwienia sztucznego jedwabiu octanowego.

Barwniki i pigmenty na bazie 3,3'-dimetoksybenzydyny są przydatne do barwienia: skóry, papieru, tworzyw sztucznych, gumy oraz tkanin i dlatego jest stosowany w przemyśle: celulozowo-papierniczym, drukarskim, tworzyw sztucznych, gumowym i tekstylnym.

Narażenie zawodowe na 3,3'-dimetoksy-

benzydynamę występuje podczas: syntezy tego związku i produkcji barwników na jego bazie oraz ich stosowania. Na podstawie wyników badań przeprowadzonych w USA w 1986 i 1987 r. wykazano, że w pomieszczeniach roboczych, w których ważono sproszkowane barwniki do farbowania i drukowania tkanin w 24 zakładach wybranych losowo, średnie stężenie barwników w powietrzu wynosiło 0,085 mg/m³ (EPA 1990). W latach 1981-1983 w USA około 2 482 robotników było narażonych na 3,3'-dimetoksybenzydynamę. Obecnie procesy, w których jest stosowana 3,3'-dimetoksybenzydyna i barwniki na jej bazie, nie występują (HSDB 1991). Do narażenia na te związki może jeszcze dochodzić w laboratoriach klinicznych, gdzie związki te są stosowane w celach analitycznych.

W Polsce liczba osób narażonych na 3,3'-dimetoksybenzydynamę w latach 2005-2013 stopniowo rosła, osiągając wartość 364 osób w 2013 r. (tab. 2).

Tabela 2.

Narażenie na 3,3'-dimetoksybenzydynamę w Polsce w latach 2005-2010 (Centralny Rejestr... 2014)

Substancja	Rok	Liczba zakładów	Liczba osób narażonych
3,3'-Dimetoksybenzydyna	2005	6	105
	2006	5	84
	2007	8	33
	2008	10	198
	2009	9	121
	2010	10	364
	2011	12	227
	2012	11	408
	2013	13	364
	Sole 3,3'-dimetoksybenzydyny	2005	1
2006		1	0
2007		1	7
2008		–	–
2009		2	8
2010		1	43
2011		3	59
2012		1	16

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne.

Zatrucia ostre ludzi

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat zatrucia ostrego ludzi 3,3'-dimetoksybenzydynam.

Obserwacje kliniczne.

Zatrucia przewlekłe ludzi

Zatrucie przewlekłe ludzi 3,3'-dimetoksybenzydynam może się manifestować ogólnym niedotlenieniem tkanek spowodowanym methemoglobinemią i hematurią. Wczesnymi objawami zatrucia są: bóle głowy oraz sinica warg, błon śluzowych i języka. W stanach hipoksji narasta: ogólne osłabienie, zawroty głowy i sen-

ność, a następnie pojawia się: zamroczenie, utrata świadomości i śmierć. U robotników narażonych na 3,3'-dimetoksybenzydynam obserwowano przejściową hematurię, prawdopodobnie nerkowego pochodzenia, przy braku zmian w błonie śluzowej pęcherza moczowego. Przedłużony lub powtarzany kontakt skóry z tym związkem może powodować nadmierne wysuszenie skóry (Harbison 1998).

Badania epidemiologiczne

Badania epidemiologiczne dotyczące częstości występowania nowotworów u osób zawodowo narażonych na 3,3'-dimetoksybenzydynam i inne aminy aromatyczne zostały omówione w rozdziale: „Działanie rakotwórcze”.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra

Mediana dawki śmiertelnej (DL_{50}) u szczura po podaniu 3,3'-dimetoksybenzydynam do żołądka wynosi 1 920 mg/kg mc. (Sax's... 2000). W związku z tym, związek ten można zakwalifikować do substancji szkodliwych.

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Grupy liczące po 10 szczurów Fischer 344, każdej płci, narażano na działanie 3,3'-dimetoksybenzydynam o stężeniach: 0-; 0,017-; 0,033-; 0,063-; 0,125- lub 0,25-procentowych w wodzie do picia przez 13 tygodni. Wszystkie szczury przeżyły cały okres narażenia. U szczurów narażonych obserwowano wzrost masy wątroby i nerek. Narządami krytycznymi u tych zwierząt były nerki i tarczyca. Wykazano przewlekłą nefropatię i zwiększoną zawartość barwnika w komórkach pęcherzyków tarczycy (Morgan i in. 1989).

Szczury F344 obojga płci, otrzymujące

dichlorowodorek 3,3'-dimetoksybenzydynamy w wodzie do picia w dawkach: samce – 0; 6; 12 i 21 mg/kg mc./dzień oraz samice – 0; 7; 14 i 23 mg/kg mc./dzień przez okres 21 miesięcy, wykazywały istotnie krótszy czas przeżycia w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej. Czas ten u samców wynosił odpowiednio: 552, 420 i 401 dni, podczas gdy u samic: 483, 309 i 304 dni, co wyraźnie wskazuje na większą wrażliwość samic w porównaniu z samcami na toksyczne działanie związku. Średnie dzienne pobranie wody nieznacznie malało ze wzrostem dawki 3,3'-dimetoksybenzydynamy $\cdot 2HCl$, chociaż ilości pobieranego ksenobiotyku u obu płci były podobne. Masa ciała w okresie całego doświadczenia uległa zmniejszeniu w zakresie $6 \div 22\%$ u samców i $7 \div 17\%$ u samic. Do zmian patologicznych (nienowotworowych) zaliczono nadmierną proliferację komórek hemopoetycznych w śledzionie oraz zwyrodnienie wodniczkowe i martwicę hepatocytów w centralnych strefach zrazików wątrobowych (Morgan i in. 1990), (tab. 3).

Tabela 3.

Liczba szczurów F344, u których obserwowano zmiany nienowotworowe w wątrobie po podaniu dichlorowodorku 3,3'-dimetoksybenzydyny z wodą do picia (Morgan i in. 1990)

Obserwowane zmiany	Samce, dawki, mg/kg mc./dzień				Samice, dawki, mg/kg mc./dzień			
	0	6	12	21	0	7	14	23
Zmiany patologiczne	0	6	12	21	0	7	14	23
Ognisko jasnych komórek	19/60	11/45	16/47	28/60	7/60	11/44	18/75	15/60 ^a
Zwyrodnienie wodniczkowe	13/60	23/45 ^b	34/74 ^b	28/60 ^b	1/60	2/44	1/75	5/60
Zwyrodnienie centralnozązrikowe	0/60	4/45 ^a	9/74 ^b	10/60 ^b	1/60	3/44	8/75 ^a	5/60
Ogniska eozynofilowe	6/60	15/45 ^b	35/74 ^b	38/60 ^b	5/60	7/44	20/75 ^b	28/60 ^b
Proliferacja hematopoetyczna	2/60	15/45 ^b	39/74 ^b	41/60 ^b	1/60	18/44 ^b	43/75 ^b	41/60 ^b
Martwica hepatocytów	4/60	15/45 ^b	18/74 ^b	17/60 ^b	1/60	3/44	13/75 ^b	18/60 ^b
Regeneracja hepatocytów	5/60	7/45	23/74 ^b	18/60 ^b	6/60	3/44	5/75	4/60
Wakuolizacja cytoplazmy	2/60	2/45	7/74	10/60	3/60	1/44	4/75	3/60

Objaśnienia:

^a $p < 0,05$; ^b $p < 0,01$.

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Wyniki testów na mutagenne i genotoksyczne działanie 3,3'-dimetoksybenzydyny podano w tabeli 4.

Tabela 4.

Mutagenne i genotoksyczne działanie 3,3'-dimetoksybenzydyny

Badany(e) związek(i)	Rodzaj testu; badany organizm	Frakcja S9	Wyniki	Piśmiennictwo
3,3'-Dimetoksybenzydyna	mutacje powrotne			<i>Haworth</i> i in. 1983;
<i>N</i> -acetylo-3,3'-dimetoksybenzydyna	<i>S. Typhimurium</i>	+/-	+/-	<i>Reid</i> i in. 1984;
<i>N,N'</i> -diacetylo-3,3'-dimetoksybenzydyna	TA98	+/-	+/-	<i>Morgan</i> i in. 1994
	TA100	+/-	+/-	
	TA1535	+/-	+/-	
	TA1538			
3,3'-Dimetoksybenzydyna	TA98	+	+	<i>Messerly</i> i in. 1987;
3,3'-Dimetoksybenzydyna·2HCl	TA100	+	+	<i>Sariaslani, Stahl</i> 1990;
				<i>You</i> i in. 1993
3,3'-Dimetoksybenzydyna	TA98	+	+	<i>Chung</i> i in. 2000
	TA100	+	+	
	TA1538	+	+	
3,3'-Dimetoksybenzydyna	TA98	+/-	+/-	<i>Caspary</i> i in. 1988;
	TA100	+/-	+/	<i>Myhr, Caspary</i> 1988
3,3'-Dimetoksybenzydyna	mutacje genowe; chłoniak myszy L5178Y	+/-	+/+	<i>Yoon</i> i in. 1985; NTP 1990
3,3'-Dimetoksybenzydyna	recesywne mutacje letalne; <i>Drosophila melanogaster</i>		-	<i>Galloway</i> i in. 1985; 1987

cd. tab. 4.

Badany(e) związek(i)	Rodzaj testu; badany organizm	Fracja S9	Wyniki	Piśmiennictwo
3,3'-Dimetoksybenzydyna	aberracje chromosomowe; komórki CHO	+/-	+/+	<i>You</i> i in. 1993
3,3'-Dimetoksybenzydyna	komórki szpiku myszy in vivo		+	<i>Galloway</i> i in. 1985
3,3'-Dimetoksybenzydyna · 2HCl	wymiany chromatyd siostrzanych; komórki CHO	+/-	+/+	<i>Martelli</i> i in. 2000
3,3'-Dimetoksybenzydyna	uszkodzenie DNA; alkaliczna elucja, test kometowy; komórki pęcherza oraz wątroby człowieka i szczura		+	

Działanie mutagenne 3,3'-dimetoksybenzydyny o zakresie stężeń 0 ÷ 10 mg/płytkę oceniono u *Salmonella* Typhimurium w obecności i bez udziału frakcji S9 homogenatów wątroby szczura i chomika po indukcji Aroclorem enzymów metabolizujących. 3,3'-Dimetoksybenzydyna oraz jej *N*-monoacetylo- i *N,N'*-diacetylo-pochodne były mutagenne u szczepów: TA98, TA100, TA1535 i TA1538 w warunkach aktywacji metabolicznej (*Haworth* i in. 1983; *Reid* i in. 1984; *Morgan* i in. 1994). Aktywność mutagenną 3,3'-dimetoksybenzydyny i jej chlorowodoru wykazano u *S. Typhimurium* TA100 i TA98 w zakresie stężeń 0 ÷ 5 µg/płytkę i w obecności układu aktywującego. Nie wykazano różnic w sile działania mutagennego obu postaci związku (*Messerly* i in. 1987).

W innych badaniach 3,3'-dimetoksybenzydyna o stężeniach: 5; 50 lub 100 µg/płytkę działała mutagenie u *S. Typhimurium*: TA98, TA100 i TA1538 w obecności układu aktywującego (*Sariaslani, Stahl* 1990; *You* i in. 1993).

3,3'-Dimetoksybenzydyna nie indukowała recesywnych mutacji letalnych związanych z płcią u dorosłych samców *Drosophila melanogaster* otrzymujących ten związek przez układ pokarmowy lub inhalacyjnie, odpowiednio w dawkach 100 lub 200 µg/g roztworu (*Yoon* i in. 1985; NTP 1990).

W badaniach sponsorowanych przez NTP (*Caspary* i in. 1988) dichlorowodorek 3,3'-dimetoksybenzydyny działał mutagenie na

komórki chłoniaka myszy L5178Y zarówno w obecności, jak i przy braku układu aktywującego metabolizm. 3,3'-Dimetoksybenzydyna działała mutagenie bez aktywacji metabolicznej w wąskim zakresie stężeń (60 ÷ 90 µg/ml). Stężenie toksyczne wynosiło ≥ 90 µg/ml. Dodatek frakcji S9 zmniejszał toksyczność, lecz nie wpływał na działanie mutagenne związku. 3,3'-Dimetoksybenzydyna o stężeniu 75 µg/ml powodowała 2-krotny wzrost częstości mutacji. Związek o stężeniu toksycznym wynoszącym 250 µg/ml spowodował, że częstość mutacji wzrosła 1,6- ÷ 2,2-krotnie. Nierozpuszczalna ilość 3,3'-dimetoksybenzydyny (300 µg/ml) indukowała 3-krotny wzrost częstości mutacji (*Myhr, Caspary* 1988).

Dichlorowodorek 3,3'-dimetoksybenzydyny, w zakresie stężeń 0,005 ÷ 5000 µg/ml, indukował aberracje chromosomowe w komórkach jajnika chomika chińskiego (CHO) w obecności i bez udziału układu aktywującego metabolizm (*Galloway* i in. 1985; 1987). Również w badaniu w warunkach in vivo u myszy, dawka 100 mg/kg mc. tego związku wywołała istotny statystycznie wzrost częstości aberracji chromosomowych w komórkach szpiku kostnego (5,25 ± 0,96%; indeks mitotyczny 2,05 ± 0,15%). Za pozytywną kontrolę przyjęto dawkę 100 mg/kg mc. 7,12-didimetylobenzo[*a*]-*a*-antracenu, który okazał silniejsze działanie genotoksyczne niż 3,3'-dimetoksybenzydyna (*You* i in. 1993).

Dichlorowodorek 3,3'-dimetoksybenzydyny w zakresie stężeń $0,005 \div 5000 \mu\text{g/ml}$ indukował wymiany chromatyd siostrzanych (SCEs) w komórkach CHO, w warunkach aktywacji i bez aktywacji metabolicznej (Galloway i in. 1985).

Na podstawie wyników badań w warunkach *in vitro* na izolowanych hepatocytach i komórkach błony śluzowej pęcherza moczowego człowieka i szczura wykazano, zależny od wielkości dawki 3,3'-dimetoksybenzydyny w zakresie $56 \div 180 \mu\text{M}$, wzrost częstości fragmentacji DNA techniką alkalicznej elucji i testem kometowym. Również w badaniach w warunkach *in vivo* u szczurów samców Sprague-Dawley, którym podano *per os* dawkę 960 mg/kg mc. badanego związku, wykazano uszkodzenie DNA w teście kometowym tylko w błonie śluzowej pęcherza moczowego (Martelli i in. 2000).

W podsumowaniu należy stwierdzić, że 3,3'-dimetoksybenzydyna jest mutagenem u *S. Typhimurium* w warunkach egzogennej aktywacji metabolicznej. Związek ten indukuje mutacje w komórkach chłoniaka myszy oraz aberracje chromosomowe i SCEs w komórkach CHO w warunkach *in vitro* w obecności i bez udziału egzogennej aktywacji i bez udziału egzogennej aktywacji układu aktywującego metabolizm. Ponadto, związek ten indukuje aberracje chromosomowe w warunkach *in vivo* i działa klastogennie.

Działanie rakotwórcze

Działanie rakotwórcze na ludzi

W kohorcie liczącej 704 pracowników zatrudnionych w zakładach chemicznych w Connecticut (USA) w latach 1965-1986 oceniono częstość występowania nowych nowotworów złośliwych. Badaniami objęto 698 robotników w wieku $28,2 \pm 8,3$ lat, w tym 583 mężczyzn i 115 kobiet. Zakłady produkowały różne chemikalia obejmujące aminy aromatyczne, w tym: dichlorobenzodynę, 3,3'-dimetoksy-

benzydynam i 3,3'-dimetylobenzodynę (DMB). Względne ilości wyprodukowanych związków w latach 1965-1989 wynosiły: 9; 4; 1, odpowiednio dla: dichlorobenzodyny, 3,3'-dimetoksybenzydyny i DMB. Produkcję benzydyny zakończono przed 1965 r.

Do badania kohortowego zakwalifikowano tylko tych robotników, którzy nigdy nie byli narażeni na benzydynam. Narażenie oceniano na podstawie analizy procesu pracy: byłych i aktualnie zatrudnionych, potencjalnego narażenia i historii pracy oraz rocznego skumulowanego, indywidualnego narażenia wyrażonego wskaźnikiem *score* w zakresie $0 \div 64,4$. Zidentyfikowano ogółem 27 przypadków raka, w tym 23 wśród mężczyzn i 4 wśród kobiet. U mężczyzn stwierdzono znamienne wzrost ryzyka raka pęcherza moczowego z wartością standaryzowanego współczynnika występowania (SIR) 8,3 (95-procentowy wskaźnik CI: $3,3 \div 17,1$) oraz raka jąder – SIR 11,4 (95-procentowy CI: $1,4 \div 41,1$). U kobiet występowało nieistotne, podwyższone ryzyko raka piersi z wartością SIR 1,9 (95-procentowy CI: $0,4 \div 5,6$). Wszystkie przypadki raka pęcherza moczowego stwierdzono u narażonych na aminy aromatyczne. Rak jąder i rak piersi występował również w grupie nienarażonej. Ryzyko raka pęcherza moczowego, wyrażone wartościami SIR wynoszącymi: 0; 5,5 i 16,4, wzrastało odpowiednio przy braku narażenia oraz w warunkach małego i umiarkowanego narażenia na aminy aromatyczne. Wszystkie osoby, u których wykryto raka pęcherza, były aktualnymi lub byłymi palaczami papierosów. Okres latencji obserwowanych nowotworów wynosił $0,7 \div 27,9$ lat. Według autorów pracy palenie papierosów może mieć pewien udział w ryzyku raka pęcherza, ale prawdopodobnie nie może odpowiadać wyłącznie za 8-krotny wzrost ryzyka (Rench i in. 1995; Ouellet-Hellstrom, Rench 1996). Słabą stroną tego badania był brak informacji odnośnie do wielkości narażenia na poszczególne aminy aromatyczne.

W innym badaniu, w grupie 438 robotników

japońskich zatrudnionych przy produkcji amin aromatycznych, obejmujących: siarczan benzydyny, β -naftyloaminę, α -naftyloaminę i 3,3'-dimetoksybenzydynamę, odnotowano 88 nowych przypadków raka nabłonka układu moczowego w latach 1949-1995. Wskaźnik częstości występowania raka wynosił 20,1%, a średnia długość czasu narażenia dla tych przypadków sięgała 7,4 lat. Wśród większości pracowników z chorobą nowotworową przeważał rak pęcherza moczowego, a pozostałe przypadki to nowotwory łagodne górnych dróg moczowych. W grupie 13 robotników narażonych łącznie na siarczan benzydyny i 3,3'-dimetoksybenzydynamę stwierdzono 2 przypadki raka nabłonka pęcherza moczowego. Okres latencji u jednego chorego był krótszy od 20 lat, podczas gdy u drugiego wynosił ≥ 20 lat. W pracy tej nie podano informacji na temat wielkości narażenia (Hamasaki i in. 1996).

W 4-letnim badaniu przesiewowym 400 mężczyzn w wieku 38 ÷ 79 lat, pracowników przemysłu tekstylnego (farbiarze i drukarze tkanin) w USA (N. York i N. Jersey), stwierdzono 4 przypadki raka pęcherza moczowego. Pracownicy byli narażeni na barwniki pochodne 3,3'-dimetylobenzydyny i 3,3'-dimetoksybenzydyny. Średni okres latencji obserwowanych nowotworów wynosił 23,3 lat. W pracy nie podano informacji odnośnie do wielkości narażenia na poszczególne aminy aromatyczne (Frumin i in. 1990).

W podsumowaniu należy stwierdzić, że brak jest w dostępnym piśmiennictwie wyników badań nad rakotwórczym działaniem samej 3,3'-dimetoksybenzydyny u ludzi. Cytowane prace dotyczą występowania nowotworów u ludzi narażonych w przemyśle na mieszaniny amin aromatycznych. W żadnej pracy nie ma udokumentowanej, ilościowej oceny wielkości narażenia.

Działanie rakotwórcze na zwierzęta

W badaniu przeprowadzonym przez 3 tygodnie na 42 szczurach obojga płci podawano zwie-

rzętom *per os* dawkę 30 mg/szczura 3,3'-dimetoksybenzydyny w oleju słonecznikowym 3 razy w tygodniu. Po 3 tygodniach narażenia dawkę zmniejszono do 15 mg/szczura z powodu częstych padnięć zwierząt. Narażenie kontynuowano przez 13 miesięcy. Wśród 18 szczurów, które przeżyły 14-miesięczny okres narażenia, obserwowano: u 2 szczurów nowotwory gruczołu Zymbala, u jednego gruczolakowłóknia sutka oraz u jednej samicy raka jajnika. W grupie kontrolnej, złożonej z 50 szczurów, nie było nowotworów o wymienionej lokalizacji (NTP 1990).

W innym badaniu szczury Fischer 344 obojga płci (grupy liczące 30 samców i 30 samic) otrzymywały drogą pokarmową 3,3'-dimetoksybenzydynamę 5 dni w tygodniu w dawkach: 0,1; 0,3; 1,0; 3,0; 10,0 lub 30,0 mg/szczura, przez 52 tygodnie, a następnie były obserwowane przez 6 miesięcy. Grupa kontrolna liczyła 360 zwierząt. U zwierząt narażonych wykryto nowotwory o różnej lokalizacji obejmującej: pęcherz moczowy (2 brodawczaki), skórę (5 raków), przewód pokarmowy (3 raki) i gruczoł Zymbala (3 raki). Nowotwory były widoczne od 293. dnia narażenia, ale większość z nich wykryto podczas sekcji przeprowadzonej pod koniec doświadczenia. W grupie kontrolnej nie stwierdzono nowotworów (Hadidian i in. 1968; NTP 1990).

Działanie rakotwórcze dichlorowodoru 3,3'-dimetoksybenzydyny oceniono na 5-tygodniowych szczurach Fischer 344/N obojga płci (Morgan i in. 1990). Badany związek podawano w wodzie do picia o stężeniach: 0; 80; 170 lub 330 mg/l, co odpowiadało dawkom 3,3'-dimetoksybenzydyny wynoszącym: 0; 6; 12 lub 21 mg/kg mc./dzień u samców i 0; 7; 14 lub 23 mg/kg mc./dzień u samic. Chociaż zaplanowano czas narażenia na 104 tygodnie, to jednak skrócono go do 84 tygodni, ze względu na częste padnięcia zwierząt. Wśród samców liczba zwierząt, które przeżyły, wynosiła: w grupie kontrolnej 44, po małej dawce (6 mg/kg mc./dzień) – 8, a w pozostałych grupach – 0. W grupach samic przeżyło: 45 w grupie kontro-

lnej, 15 po małej dawce (7 mg/kg mc./dzień), 6 po średniej dawce (14 mg/kg mc./dzień) oraz 0 po największej dawce (23 mg/kg mc./dzień). Częstość występowania nowotworów podano w tabeli 5. Częstość gruczolaków lub raków gruczołu napletkowego lub gruczołu łechtaczkowego była istotnie większa u zwierząt narażonych na 3,3'-dimetoksybenzydynam \cdot 2HCl. Częstość ta była odpowiednio 7- i 10-krotnie większa w stosunku do nienarażonych zwierząt w kontrolach historycznych. Występowanie nowotworów u zwierząt narażonych na 3,3'-dimetoksybenzydynam było wcześniejsze (u samców w 32. tygodniu, u samic w 39. tygodniu) niż w grupach kontrolnych (u samców w 87. tygodniu). Podawanie 3,3'-dimetoksybenzydynam spowodowało również istotny, zależny od wielkości dawki, wzrost częstości występowania gruczolaków lub raków gruczołu Zymbala oraz nowotworów skóry. U 72% samców otrzymujących 3,3'-dimetoksybenzydynam i u 3% w grupie kontrolnej stwierdzono nowotwory komórek warstwy podstawnej naskórka lub gruczolów łojowych. U samic częstość tych nowotworów była mniejsza, ale ich typ morfologiczny był taki sam jak u samców, zatem uznano je za przyczynowo związane z narażeniem na 3,3'-dimetoksybenzydynam. Po dużej dawce 3,3'-dimetoksybenzydynam obserwowano również zwiększoną częstość występowania gruczolakoraków i gruczolakowatych polipów jelita grubego i jelita cienkiego, odpowiednio u 9 i 5% samców i samic. Tego rodzaju zmiany są rzadkie u szczurów. Zwiększoną częstość występowania nowotworów w jelitach uznano za wynik narażenia na dichlorowodorek 3,3'-dimetoksybenzydynam. W konkluzji stwierdzono, że badanie to dostarczyło: „jasnego dowodu na aktywność rakotwórczą” dichlorowodoru 3,3'-dimetoksybenzydynam u samców i samic szczurów Fischer 344/N (Morgan i in. 1990).

W grupach liczących po 30 samców i 30 samic syryjskich chomików złocistych podawano 3,3'-dimetoksybenzydynam w paszy o stężeniach 0,1- lub 1-procentowych przez 144 tygodnie. Nie podano liczby zwierząt w grupie kontrolnej (IARC 1974). Tylko u jednego chomika po zakończeniu narażenia na badany związek o stężeniu 1-procentowym wykazano nowotwór złośliwy w postaci raka z nabłonka przejściowego pęcherza moczowego. Nowotwór ten jest rzadki u chomików, a zatem był wynikiem narażenia na 3,3'-dimetoksybenzydynam. Ponadto, stwierdzono brodawczaki przedłożadka u 37% zwierząt narażonych na większe stężenie 3,3'-dimetoksybenzydynam (1,0%) i u 2% zwierząt w grupie kontrolnej (Sellakumar i in. 1969).

Działanie rakotwórcze dichlorowodoru 3,3'-dimetoksybenzydynam oceniono u myszy BALB/cStCrIC3Hf/Nctr, którym związek podawano w wodzie do picia. Czterotygodniowe myszy (166 samców i 165 samic) pojono przez okres do 112 tygodni wodą zawierającą 3,3'-dimetoksybenzydynam o stężeniach: 0; 20; 40; 80; 160; 315 lub 630 mg/l. Zwierzęta zabijano po: 13, 26, 39, 52, 78 lub 112 tygodniach narażenia. Największe stężenie badanego związku (630 mg/l) odpowiadało jego wartości LD_{50} przy założeniu, że mysz o masie 30 g wypija 28 g wody w ciągu tygodnia. We wszystkich grupach narażonych myszy pobieranie wodnych roztworów 3,3'-dimetoksybenzydynam było zmniejszone. Chociaż przyrost masy ciała, zwłaszcza w przypadku największego stężenia (630 mg/l) w okresie pierwszego roku narażenia był zahamowany, to jednak nie wpłynęło to na liczbę samców i samic, które padły. Nie obserwowano wzrostu liczby nowotworów w badanych tkankach, w tym w: śledzionie, gruczole Harderiana, wątrobie i płucach (Schiefelstein i in. 1990).

Tabela 5.
Lokalizacja narządowa i częstość występowania nowotworów u szczurów F344 narażonych na dichlorowodorek 3,3'-dimetoksybenzydyny (Morgan i in. 1990).

Lokalizacja narządowa nowotworów	Samce				Samice			
	wielkość narażenia, mg/kg/dzień							
	0	6	12	21	0	7	14	23
Gruzoł Zymbala:	1/59	9/45 ^b	13/75 ^b	14/60 ^b	0/60	5/45 ^a	14/75 ^b	13/60 ^b
– rozrost								
– gruczolak	0/59	4/45 ^a	11/75 ^b	9/60 ^b	0/60	3/45	4/75 ^a	3/60 ^a
– rak	0,59	7/45 ^b	14/75 ^c	21/60 ^c	1/60	10/45 ^c	17/75 ^c	13/60 ^c
Gruzoł napletkowy/ łechtaczkowy:								
– rozrost	2/60	7/43 ^a	10/73 ^a	12/59 ^b	4/58	9/44 ^a	8/74	6/55
– gruczolak	14/60	6/43	19/73	12/59	5/58	13/44 ^b	13/74	16/55 ^b
– rak	2/60	6/43	15/73 ^b	19/59 ^c	2/58	17/44 ^c	41/74 ^c	30/55 ^c
Skóra:								
– gruczolak podstawno- -komórkowy	1/60	31/45 ^c	47/75 ^c	35/60 ^c	0/60	3/45	3/75	2/60
– rak podstawno-komór- kowy	1/60	4/45	18/75 ^c	17/60 ^c	0/60	1/45	0/75	0/60
– brodawczak płaskoko- mórkowy	0/60	5/45 ^a	7/75 ^b	5/60 ^a	0/60	0/45	3/75	0/60
– rak płaskokomórkowy	0/60	9/45 ^c	24/75 ^c	21/60 ^c	0/60	0/45	0/75	0/60
Jelito grube:								
– polip gruczolakowaty	0/60	1/45	4/75	5/60 ^a	0/60	0/45	1/75	2/60
– gruczolakorak	0/60	0/45	4/75	3/60	0/60	1/45	0/75	1/60
Łącznie:	0/60	1/45	8/75 ^b	8/60 ^b	0/60	1/45	1/75	3/60 ^a
Jelito cienkie:								
– gruczolakorak	0/60	4/45 ^a	7/75 ^a	5/60 ^a	0/60	0/45	0/75	0/60
Jama ustna:								
– brodawczak	1/60	7/45 ^b	10/75 ^a	9/60 ^b	2/60	2/45	3/75	3/60
– rak	0/60	1/45	0/75	2/60	0/60	0/45	3/75	2/60
Gruzoł mleczny:								
– gruczolakowłókniak	0/60	0/45	0/75	0/60	14/60	11/45	9/75	4/60
– gruczolakorak	0/60	0/45	0/75	0/60	1/60	2/45	14/75 ^c	20/60 ^c
Wątroba:								
– guzek nowotworowy	0/60	3/45	7/74 ^b	6/60 ^b	0/60	1/44	0/75	2/60
– rak	1/60	1/45	0/74	2/60	0/60	0/44	0/75	1/60
Łącznie:	1/60	4/45	7/74 ^a	8/60 ^c	0/60	1/44	0/75	3/60

Objaśnienia: ^a $p < 0,05$; ^b $p < 0,01$; ^c $p < 0,001$.

Jakościowa ocena działania rakotwórczego

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) zaklasyfikowała 3,3'-dimetoksybenzydynam do czynników przypuszczalnie rakotwórczych dla człowieka i zaliczyła ją do grupy 2.B. Klasyfikację tę oparto na niewystarczającym dowodzie rakotwórczości związku dla ludzi oraz wystarczającym dowodzie rakotwórczości dla zwierząt doświadczalnych (IARC 1987).

W Niemczech 3,3'-dimetoksybenzydynam zaliczono do czynników rakotwórczych grupy 2., czyli substancji ocenianych jako rakotwórcze dla ludzi (ACGIH 2006).

W USA uznano w NIOSH 3,3'-dimetoksybenzydynam za potencjalny kancerogen zawodowy (Ca), podczas gdy w NTP za czynnik podejrzany o działanie rakotwórcze na ludzi (R), (ACGIH 2006). Z kolei w EPA sklasyfikowano ten związek jako prawdopodobny ludzki kancerogen (Grupa B2), (EPA 1997).

3,3'-Dimetoksybenzydynam została również uznana za czynnik rakotwórczy w takich innych państwach, jak: Austria, Finlandia, Francja, Szwecja, Szwajcaria i Wielka Brytania (RTECS 2006).

Eksperti Unii Europejskiej zaklasyfikowali 3,3'-dimetoksybenzydynam jako substancję rakotwórczą kat. 1.B, z przypisanym zwrotem

określającym rodzaj zagrożenia H350 – „może powodować raka” (tabela 3.1. załącznika VI do rozporządzenia CLP).

Ilościowa ocena działania rakotwórczego

Powszechnie uważa się, że 3,3'-dimetoksybenzydyna jako pochodna benzydyny, może być rakotwórcza dla człowieka. Dlatego w kilku pracach podejmowano próby ilościowego oszacowania ryzyka nowotworowego. Podstawą obliczenia stosownych mierników ryzyka były wyniki badań doświadczalnych przeprowadzonych na szczurach, którym dichlorowodorek 3,3'-dimetoksybenzydyny podawano w wodzie do picia (NTP 1990).

W Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska (EPA) obliczono współczynnik nachylenia krzywej dawka-odpowieź (SF) pobrania przez układ pokarmowy 3,3'-dimetoksybenzydyny wynoszący 0,014 mg/kg mc./dzień, podczas gdy ryzyko jednostkowe dla tego samego sposobu pobrania wynosi $4,0 \cdot 10^{-7}$ µg/l (EPA 1997).

W Kalifornijskiej EPA (OEHHA) obliczono siłę działania rakotwórczego dla 3,3'-dimeto-

ksybenzydyny i dichlorowodoru 3,3'-dimetoksybenzydyny u szczurów samców jako górną granicę 95-procentowego przedziału ufności dla zależności dawka-odpowieź, odpowiednio na poziomach 4,8 i 3,7 mg/kg mc./dzień oraz nieistotne ryzyko nowotworowe (NSRL) wynoszące odpowiednio 0,15 i 0,19 µg/dzień (OEHHA 2002).

Szymańska i in. obliczyli ryzyko nowotworowe wynoszące $1,4 \cdot 10^{-3}$ u osób narażonych na ten związek o stężeniu 2 mg/m³ w powietrzu przez okres 11 lat, przyjmując za skutki krytyczne rakotwórczego działania dichlorowodoru 3,3'-dimetoksybenzydyny łączne występowanie polipów gruczolakowatych i gruczolakoraków jelita grubego u szczurów (*Szymańska* i in. 2006).

Na podstawie danych empirycznych uzyskanych w badaniach na szczurach F344 obliczono siłę działania rakotwórczego i NSRL dla 3,3'-dimetoksybenzydyny i jej dichlorowodoru (tab. 6.) oraz siłę działania rakotwórczego dichlorowodoru 3,3'-dimetoksybenzydyny u samców oraz samic szczurów F344 (NTP 1990), (tab. 7.).

Tabela 6.

Siła działania rakotwórczego i nieistotne ryzyko nowotworowe (NSRL) dla 3,3'-dimetoksybenzydyny i jej dichlorowodoru u szczurów (OEHHA 2002)

Substancja badana	Siła działania rakotwórczego, mg/kg mc./dzień	Nieistotne ryzyko nowotworowe NSRL, µg/dzień
3,3'-Dimetoksybenzydyna	4,8	0,15
Dichlorowodorek 3,3'-dimetoksybenzydyny	3,7	0,19

Tabela 7.

Siła działania rakotwórczego dichlorowodoru 3,3'-dimetoksybenzydyny na szczury F344 (OEHHA 2002)

Lokalizacja nowotworu	Siła działania rakotwórczego, mg/kg mc./dzień	
	samce	samice
Raki lub gruczolaki łechtaczki:		
– po usunięciu grupy z największą dawką	–	0,73
Raki lub gruczolaki komórek podstawnych skóry:		
– po usunięciu grupy z największą dawką	1,0	0,89
– po usunięciu grup ze średnią i największą dawką	1,1	NI
	2,6	NI

cd. tab. 7.

Lokalizacja nowotworu	Siła działania rakotwórczego, mg/kg mc./dzień	
	samce	samice
Raki płaskokomórkowe skóry lub brodawczaki	0,41	–
Raki lub gruczolaki gruczołu Zymbala: – po usunięciu grupy z największą dawką	0,35 NI	0,23 0,33
Gruczolakoraki gruczołu mlecznego	–	0,15
Płaskokomórkowe raki lub brodawczaki jamy ustnej	0,14	0,06
Raki lub gruczolaki gruczołu napletkowego	0,25	–
Gruczolakoraki lub polipy gruczolakowate jelita grubego	0,094	0,049
Gruczolakoraki lub polipy gruczolakowate jelita cienkiego	0,085	–
Raki komórkowo-wątrobowe lub guzki nowotworowe	0,14	0,039
Mesotelioma	0,067	–
Gwiaździaki mózgu	0,066	–
Raki lub gruczolaki szyjki macicy	–	0,072
Wszystkie nowotwory	3,7	–

Objaśnienia: NI – nieistotne.

Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

Ciężarnym myszom podawano dożołądkowo 3,3'-dimetoksybenzydynam oraz różne barwniki

azowe (nie podano informacji o wielkości dawek) w okresie między 8. i 12. dniem ciąży. W okresie pourodzeniowym u 45- ÷ 50-dniowych samców oceniono zmiany w gonadach. Nie stwierdzono żadnych zmian w tym narządzie (*Gray, Ostby 1993*).

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie

3,3'-Dimetoksybenzydynam wchłania się do organizmu: z przewodu pokarmowego, z dróg oddechowych lub przez skórę. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono ilościowych danych na ten temat.

Rozmieszczenie

Znakowana węglem ¹⁴C 3,3'-dimetoksybenzydynam podana dożylnie jednorazowo w dawce 2,5 mg/kg mc. szybko ulegała rozmieszczeniu w większości tkanek i narządów. W czasie od 0,5 do 4 h po podaniu największe stężenia znacznika stwierdzono w: mięśniach, wątrobie, tkance tłuszczowej, skórze, jelicie cienkim

i nerkach. W późniejszym okresie, tj. po 8 ÷ 72 h, stężenia te wyraźnie się zmniejszały, natomiast gwałtownie się zwiększały ilości znacznika w: kale, moczu i pęcherzu moczowym. Po 72 h od podania związku znakowanego węglem ¹⁴C 2,8% dawki pozostawało w organizmie zwierząt, z tym, że 50% tej ilości wykazano w wątrobie, głównie w postaci metabolitów kowalencyjnie związanych z tkankami. W tym samym czasie stosunki ilości kowalencyjnie związanej 3,3'-dimetoksybenzydynam do wolnego związku były podobne w: wątrobie, nerkach i mięśniach, natomiast stężenie znacznika związanego w wątrobie było 14 razy większe niż w mięśniach. Można przypuszczać, że wątrobowy metabolizm 3,3'-dimetoksybenzydynam prawdopodobnie poprzedza proces wiąza-

nia z tkankami (Rodgers i in. 1983).

Metabolizm

Biotransformacja 3,3'-dimetoksybenzydiny przebiega w sposób oksydacyjny przy udziale mikrosomalnych monoooksygenaz oraz syntazy prostaglandyny H pochodzącej z mikrosomów komórek nabłonka pęcherza moczowego (Rodgers i in. 1983; Wise i in. 1984). Głównymi reakcjami oksydacyjnymi są: procesy hydroksylacji pierścieni aromatycznych, *O*-demetylacja i tworzenie chinonodiiminy. Jednocześnie zachodzą takie reakcje sprzęgania, jak: *N*-acetylowanie, glukuronidacja i sprzęganie z glutationem (GSH), (Rodgers i in. 1983; Wise i in. 1985). W moczu szczurów zidentyfikowano, oprócz niezmienionej 3,3'-dimetoksybenzydiny, 7 metabolitów tego związku, a mianowicie: hydroksy-3,3'-dimetoksybenzydinę, acetylohydroksy-3,3'-dimetoksybenzydinę, acetylo-3,3'-dimetoksybenzydinę, diacetylo-3,3'-dimetoksybenzydinę, acetylo-*O*-demetylo-3,3'-dimetoksybenzydinę, diacetylo-*O*-demetylo-3,3'-dimetoksybenzydinę i diacetylo-*O*-didemetylo-3,3'-dimetoksybenzydinę.

Źródłem 3,3'-dimetoksybenzydiny i jej metabolitów w organizmie mogą być również takie barwniki azowe otrzymane na jej bazie, jak

3,3'-dimetoksybisazobifenyl (Lynn i in. 1980). Barwniki azowe ulegają, tzw. azoredukcji przy udziale beztlenowej flory jelitowej (Cerniglia i in. 1982; Bowman i in. 1983).

Wydalenie

Drogami wydalania niezmienionej 3,3'-dimetoksybenzydiny i jej metabolitów są nerki oraz przewód pokarmowy. U szczurów po podaniu tego związku *per os* wykazano, że poniżej 5% dawki wydalano się z moczem w postaci macierzystej (Lynn i in. 1980).

U samców szczurów F344 po dożylnym podaniu dawki jednorazowej 2,5 mg/kg mc. ¹⁴C-3,3'-dimetoksybenzydiny 70% dawki wydalano się z żółcią, podczas gdy 50% kumulowało się w jelitach oraz 50% było wydalane z kałem. Po dożołądkowym podaniu tego związku w dawkach 1,08 lub 50 mg/kg mc. procentowe ilości znacznika wydalane z moczem i kałem po 24 ÷ 72 h nie zależały od wielkości dawki i wynosiły odpowiednio około 30 i 50%. W trzecim dniu po dożylnym podaniu 3,3'-dimetoksybenzydiny ilość znacznika wydalona z żółcią wynosiła 72% dawki, natomiast wydalona z kałem – 48% dawki. Wskazuje to na krążenie wątrobowo-jelitowe 3,3'-dimetoksybenzydiny (Rodgers i in. 1983).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat mechanizmów toksycznego działania 3,3'-dimetoksybenzydiny na ludzi.

Mechanizm genotoksycznego i rakotwórczego działania 3,3'-dimetoksybenzydiny na zwierzęta jest związany z aktywacją metaboliczną tego związku przy udziale syntazy prostaglandyny H obecnej w mikrosomach komórek nabłonkowych pęcherza moczowego. Wynikiem tej aktywacji jest powstawanie wolnego rodnika 3,3'-dimetoksybenzydiny o charakterze kationu, który bezpośrednio re-

aguje z białkami tRNA i DNA, tworząc addukty w nabłonku pęcherza moczowego. Aktywację tę wykazano w warunkach *in vitro* w obecności mikrosomów z pęcherza moczowego psa (Weis i in. 1984). Pies jest gatunkiem najbardziej wrażliwym na kancerogenne działanie amin aromatycznych indukujących raka pęcherza moczowego. Gatunek ten, w przeciwieństwie do szczura, z trudnością acetyluje aminy aromatyczne, dlatego są one obecne w moczu w postaci wolnej, stanowiącej substrat dla syntazy prostaglandyny H. U szczura 3,3'-dime-

toksybenzydyna łatwo ulegała acetylacji i innym przemianom metabolicznym w wątrobie i skutkiem tego jest ona łatwo wydalana przez nerki. 3,3'-Dimetoksybenzydyna nie indukuje dlatego nowotworów w pęcherzu moczowym szczura. Syntaza prostaglandyny H utlenia 3,3'-dimetoksybenzydynam do odpowiedniej

chinonodiiminy (diimina 3,3'-dimetoksybenzydyny), metabolitu elektrofilowego, uważanego za końcowy kancerogen. GSH przeciwdziała wiązaniu chinonodiiminy z DNA w wyniku redukcji tego metabolitu do związku macierzystego lub bezpośredniego sprzężania 3,3'-dimetoksybenzydyny (*Wise i in.* 1985).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji na temat łącznego działania 3,3'-di-

metoksybenzydyny z innymi ksenobiotykami.

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Zależność skutków działania rakotwórczego dichlorowodorku 3,3'-dimetoksybenzydyny od

wielkości narażenia drogą pokarmową u szczurów F344/N obojga płci przedstawiono w tabeli 5.

NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIA W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

Istniejące wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń i ich podstawy

Dotychczas w Polsce nie ustalono wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla 3,3'-dimetoksybenzydyny. Wartości dopuszczalnych stężeń dla tego związku w środowisku pracy ustalono tylko w następujących państwach WE:

- Holandia (2009) wartość OEL: 0,03 mg/m³ (0,003 ppm) ustalona przez przemysł
- Szwajcaria (2014) wartość OEL: 0,03 mg/m³
- Austria (2011) wartość techniczna TRK: 0,03 mg/m³; STEL: 0,12 mg/m³ (http://limitvalue.ifa.dguv.de/WebForm_ueliste.aspx)
- Niemcy (2014): nie ustalono wartości MAK, grupa 2. rakotwórczości (substancje, które są rozważane jako rakotwórcze dla ludzi, ponieważ wystarczające dane z długoterminowych badań na zwierzętach uzasadnione dowodami pochodzącymi z badań epidemiologicznych

wskazują na ich znaczny wpływ na ryzyko wystąpienia raka. Ograniczone dane pochodzące z badań na zwierzętach mogą być poparte: dowodami potwierdzającymi, że substancja wywołuje raka na drodze mechanizmów charakterystycznych dla człowieka oraz wynikami testów w warunkach *in vitro* oraz krótkoterminowych badań na zwierzętach).

Podstawy proponowanej wartości NDS

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat rakotwórczego działania samej 3,3'-dimetoksybenzydyny na ludzi. Jednakże związek ten, będący metoksylową pochodną benzydyny, może być dla człowieka rakotwórczy.

Do obliczenia wartości NDS dla 3,3'-dimetoksybenzydyny wykorzystano współczynnik nachylenia krzywej dawka-odpowiedź (SF) na poziomie 0,014 mg/kg mc./dzień, podany przez U.S. EPA (1997). Najpierw obliczono wchłó-

niętą dawkę 3,3'-dimetoksybenzydyny, przy założonym ryzyku 10^{-4} , na podstawie wzoru:

$$R = SF \cdot D,$$

$$D = \frac{R}{SF},$$

gdzie:

R – ryzyko,

SF – współczynnik nachylenia krzywej dawka-odpowiedź,

D – dawka, mg/kg/dz.

$$D = \frac{1,0 \cdot 10^{-4}}{1,4 \cdot 10^{-2}} = 7,14 \cdot 10^{-3} \text{ mg/kg/dz.},$$

$$\text{NDS} = D \cdot \frac{24}{8} \cdot \frac{365}{240} \cdot \frac{70}{40} \cdot \frac{1}{20} \cdot 70,$$

$$\text{NDS} = 0,00714 \cdot 27,93 = 0,199 \text{ mg/m}^3,$$

gdzie:

24 – doba w godzinach (h),

8 – narażenie dzienne w godzinach (h),

365 – liczba dni w roku,

240 – liczba dni roboczych w roku,

70 – średnia długość życia w latach,

40 – liczba lat pracy,

20 – objętość powietrza wdychanego przez człowieka w metrach sześciennych (m^3) w ciągu doby.

W związku z powyższym, proponuje się przyjęcie stężenia $0,2 \text{ mg/m}^3$ 3,3'-dimetoksybenzydyny za wartości NDS związku. Nie ma merytorycznych podstaw do ustalenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) i dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) 3,3'-dimetoksybenzydyny. Proponuje się także oznakowanie substancji symbolem Carc. 1, który informuje, że substancja jest przypuszczalnie rakotwórcza dla człowieka.

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA

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: wątrobę, nerki i skórę.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, badanie ogólne moczu.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: wątrobę, nerki i skórę.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, badanie ogólne moczu.

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 do prawidłowej oceny stanu zdrowia pracownika lub osoby przyjmowanej do pracy.

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: wątrobę, nerki i skórę.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, badanie ogólne moczu.

Narządy (układy) krytyczne

Narządem krytycznym narażenia na 3,3'-dime-
toksybenzydynam są nerki.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami lekarskimi do zatrudnienia
w warunkach narażenia na 3,3'-dimetoksybenzy-
dynę są:

- choroby przebiegające z upośledzeniem
funkcji nerek
- choroby przebiegające z upośledzeniem
funkcji wątroby
- niedokrwistości
- methemoglobinemia wrodzone i nabyte.

U w a g a

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandy-
datów do pracy.

O przeciwwskazaniach w przebiegu zatrudnienia
powinien decydować lekarz sprawujący opie-
kę profilaktyczną, biorąc pod uwagę wielkość
i okres trwania narażenia zawodowego, a także
ocenę stopnia zaawansowania i dynamikę zmian
chorobowych.

Ze względu na działanie prawdopodobnie rako-
twórcze na ludzi w narażeniu na 3,3'-dimetoksy-
benzydynam nie wolno zatrudniać kobiet w ciąży
i pracowników młodocianych.

Podczas badań profilaktycznych należy poinfor-
mować pracowników o prawdopodobnie rako-
twórczym działaniu 3,3'-dimetoksybenzydynam,
a także uprzedzić o zwiększonym ryzyku raka
pęcherza w przypadku palenia papierosów w po-
łączeniu z narażeniem zawodowym.

PIŚMIENNICTWO

ACGIH (2014) Guide to occupational exposure values.

ARB/SSD/SES (1997) 3,3'-Dimethoxybenzidine.
Toxic air contaminant identification. List summa-
ries – ARB/SSD/SES, September.

*Bowman M.C., Nony C.R., Billedeau S.M., Martin
J.L., Thompson H.C., Jr.* (1983) Metabolism of nine
benzidine-congener-based azo dyes in rats based on
gas chromatographic assays of the urine for poten-
tially carcinogenic metabolites. *J. Analit. Toxicol.* 7,
57–60.

*Caspary W.J., Daston D.S., Myhr B.C., Mitchell
A.D., Rudd C.J., Lee P.S.* (1988) Evaluation of the
L5178Y mouse lymphoma cell mutagenesis assay:
interlaboratory reproducibility and assessment.
Environ. Mol. Mutagen. 12 (suppl. 13), 195–229.

*Cerniglia C.E., Freeman J.P., Franklin W., Pack
L.D.* (1982) Metabolism of azo dyes derived from
benzidine, 3,3'-dimethylbenzidine and 3,3'-dime-
thoxybenzidine to potentially carcinogenic aroma-
tic amines by intestine bacteria. *Carcinogenesis* 3,
1255–1260.

*Chung K-T., Chen S-C., Wong T.Y., Li Y-S., Wei C-I.,
Chou M.W.* (2000) Mutagenicity studies of benzi-
dine and its analogs: structure-activity relationship.
Toxicol. Sci. 56, 351–356.

EPA, Amerykańska Agencja Ochrony Środowiska
(1997) Health effects assessment summary tables.
FY 1997 Update. Solid waste and emergency re-
sponse. Office of Emergency and Remedial Respon-
se, Cincinnati, OH. EPA/540/R-97-036.

*Frumin E., Velez H., Bingham E., Gillen M., Brath-
waite M., LaBarck R.* (1990) Occupational bladder
cancer in textile dyeing and printing workers: six
cases and their significance for screening programs.
J. Occup. Med. 32(9), 887–890.

*Galloway S.M., Armstrong M.J., Reuben C., Colman
S., Brown B., Cannon C., Bloom A.D., Nakamura F.,
Ahmed M., Duk S.* (1987) Chromosome aberrations
and sister chromatid exchanges in Chinese hamster
ovary cells: evaluation of 108 chemicals. *Environ.
Mol. Mutagen.* 10, 1–175.

*Galloway S.M., Bloom A.D., Resnick M., Margolin
B.H., Nakamura F., Zeiger E.* (1985) Development
of a standard protocol for in vitro cytogenetic te-
sting with Chinese hamster ovary cells: comparison
of results for 22 compounds in two laboratories.
Environ. Mutagen. 7, 1–51.

GESTIS (2014) 3,3'-Dimetoksybenzydynam. GE-
STIS International limit values.

Gray L.E., Ostby J.S. (1993) The effects of prenatal

- administration of azo dyes on testicular development in the mouse: a structure activity profile of dyes derived from benzidine, dimethylbenzidine or dimethoxybenzidine. *Fundam. Appl. Toxicol.* 20, 177–183.
- Hadidian Z., Fredrickson T.N., Weisburger E.K.* (1968) Tests for chemical carcinogens. Report on the activity of derivatives of aromatic amines, nitrosamines, quinolines, nitroalkanes, amides, epoxides, aziridines, and purine antimetabolites. *J. Natl. Cancer Inst.* 41(4), 985–1036 [cyt. za IARC 1974].
- Hamasaki T., Aramaki K., Hida T., Inatomi H., Fujimoto N., Okamura T., Ozu K., Sugita A.* (1996) Clinical study of occupational uroepithelial cancer. *J. UOEH* 18(4), 247–259 [cyt. za OEHHA 2002].
- Harbison R.D., Spehar A.* (1998) Amino and nitro compounds. [W:] Harbison R.D. (red.) *Hamilton & Hardy's Industrial Toxicology*. 5 ed. Mosby-Year Book, Inc., 336–351.
- Haworth S.T., Lawlor K., Mortelmans W., Speck W., Zeiger E.* (1983) *Salmonella mutagenicity* test results for 250 chemicals. *Environ. Mutagen.* 5, 3–142. [<http://esis.jrc.ec.europa.eu/index.php?PGM=cla>. [<http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/content/profiles/dimethoxybenzidineanddyes.pdf>].
- IARC (1974) Evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man. Some aromatic amines, hydrazine and related substances, *N*-nitroso compounds and miscellaneous alkylating agents. 3,3'-Dimethoxybenzidine. IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Vol. 4, 41–47. Lyon, France, World Health Organization.
- IARC (1987) Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Suppl. 7, 198–199. Lyon, France, World Health Organization.
- IARC (1998) 3,3'-Dimethoxybenzidine (Group 2B). International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, France, World Health Organization. Last updated: 2 March 1998.
- Lynn R.K., Donielson D.W., Ilias A.M., Kennish J.M., Wong K., Matthews H.B.* (1980) Metabolism of bisazobiphenyl dyes derived from benzidine, 3,3'-dimethylbenzidine, or 3,3'-dimethoxybenzidine to carcinogenic aromatic amines in the dog and rat. *J. Toxicol. Appl. Pharmacol.* 56, 248–258.
- Martelli A., Robbiano L., Carrozzino R., Porta Puglia C., Mattioli F., Angiola M., Brambilla G.* (2000) DNA damage induced by 3,3'-dimethoxybenzidine in liver and urinary bladder cells of rats and humans. *Toxicol. Sci.* 53, 71–76.
- Merck Index. The Merck Index (2006) An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 14th ed. Merck & Co., Inc. Whitehouse Station, NJ, USA, 508.
- Messerly L.A., Fekete J.L., Wade D.R., Sinsheimer J.E.* (1987) Structure-mutagenicity relationships of benzidine analogues. *Environ. Mol. Mutagen.* 10, 263–274.
- Morgan D.L., Bucher J.R., Huff J.E., Haseman J.K., Eustis S.L., Lemen J.K., Ulland B.M., Mennear J.H.* (1990) Multi-organ carcinogenicity of 3,3'-dimethoxybenzidine dihydrochloride given in drinking water to F344/N rats. *J. Am. Coll. Toxicol.* 9(1), 79–89.
- Morgan D.L., Dunnick J.K., Goehl T., Jokinen M.P., Matthews H.B., Zeiger E., Mennear J.H.* (1994) Summary of the National Toxicology Program benzidine dye initiative. *Environ. Health Perspect.* 102 (suppl. 2), 63–78.
- Morgan D.L., Jameson C.W., Mennear J.H., Ulland B.M., Lemen J.K.* (1989) Thirteen-week toxicity studies of 3,3'-dimethoxybenzidine and C.I. Direct Blue 15 in the Fischer 344 rat. *Toxicology*, 59, 297–309.
- Myhr B.C., Caspary W.J.* (1988) Evaluation of the L5178Y mouse lymphoma cell mutagenesis assay: intralaboratory results for sixty-three coded chemicals tested at Litton Bionetics, Inc. *Environ. Mol. Mutagen.* 12(Suppl. 13), 103–194.
- NIOSH, National Institute for Occupational Safety and Health (2014) *o*-Dianisidine.
- NTP, National Toxicology Program (1990) Toxicology and carcinogenesis studies of 3,3'-dimethoxybenzidine dihydrochloride in F344/N rats (drinking water studies), (TR-372), 70 National Toxicology Program Technical Report Series.
- OEHHA (2002) No significant risk levels (NSRLS) for the proposition 65 carcinogens 3,3'-dimethoxybenzidine and 3,3'-dimethoxybenzidine dihydrochloride. Office of Environmental Health Hazard Assessment. California Environmental Protection Agency, August 2002.
- Ouellet-Hellstrom R., Rench J.D.* (1996) Bladder cancer incidence in arylamine workers. *J. Occup. Environ. Med.* 38(12), 1239–1247.
- Reid T.M., Wang C.Y., King C.M., Morton K.C.* (1984) Mutagenicity of some benzidine congeners and their *N*-acetylated and *N,N'*-diacetylated derivatives in different strains of *Salmonella typhimurium*.

rium. Environ. Mutagen. 6, 145–151.

Rench J.D., Ouellet-Hellstrom R., Garner R.P., Griffith M.A., Norton J.J. (1995) Cancer incidence study of workers handling mono- and di-arylamines including dichlorobenzidine, ortho-tolidine, and ortho-dianisidine. SRA Technologies, Inc. 8110 Gatehouse Road, 600 West Falls Church, Virginia 22042.

Reynolds S.H., Patterson R.M., Mennear J.H., Maronpot R.R., Anderson M.W. (1990) ras Gene activation in rat tumors by benzidine congeners and derived dyes. Cancer Res. 50, 266–272.

Rodgers R.M., Garvie-Gould C., Scott K.F., Milam D.F., Lynn R.K. (1983) Metabolism, distribution and excretion of the carcinogenic aromatic amine, 3,3'-dimethoxybenzidine in the rat. Formation of mutagenic urinary and biliary metabolites. Drug Metab. Dispos. 11(4), 293–300.

Rozporządzenie ministra pracy i polityki społecznej z dnia 6.06.2014 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU poz. 1817.

Rozporządzenie ministra zdrowia z dnia 2.07.2012 r. w sprawie substancji chemicznych, ich mieszanin lub procesów technologicznych o działaniu rakotwórczym lub mutagennym w środowisku pracy. DzU poz. 890.

RTECS (2014) [Komputerowa baza danych].

Sariaslani F.E., Stahl R.G.J. (1990) Activation of promutagenic chemicals by *Streptomyces griseus* containing cytochrome P-450soy. Biochem. Biophys Res. Commun. 166, 743–749.

Sax's dangerous properties of industrial materials

(2000) O-Dianisidine. [Red.] R.J. Lewis, 10th ed., Wiley-Interscience Publication, Wiley & Sons, Inc., New York.

Schieferstein G.J., Sheldon W.G., Allen R.R., Greenman D.L., Allaben W.T. (1990) Oncogenic evaluation of 3,3'-dimethoxybenzidine dihydrochloride in BALB/c mice. J. Am. Coll. Toxicol. 9(1), 71–77

Sellakumar A.R., Montesano R., Saffiotti U. (1969) Aromatic amines carcinogenicity in hamsters [abstr.]. Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 10, 78.

Szymańska J.A., Frydrych B., Szymczak W. (2006) 3,3'-Dimetoksybenzydyna i jej sole. Wytyczne Szacowania Ryzyka Zdrowotnego dla Czynn timerakotwórczych 1(22). Łódź, IMP 19–39.

Yoon J.S., Mason J.M., Valencia R., Woodruff R.C., Zimmering S. (1985) Chemical mutagenesis testing in *Drosophila* 4. Results of 45 coded compounds tested for the National Toxicology Program. Environ. Mutagen 7, 349–367.

You Z., Brezzell M.D., Das S.K., Espadas-Torre M.C., Hooberman B.H., Sinsheimer J.E. (1993) ortho-Substituent effects on the in vitro and in vivo genotoxicity of benzidine derivatives. Mutat. Res. 319, 19–30.

Wise R.W., Zenser T.V., Kadlubar F.F., Davis B.B. (1984) Metabolic activation of carcinogenic aromatic amines by dog bladder and kidney prostaglandin H synthase. Cancer Res. 44, 189–1897.

Wise R.W., Zenser T.V., Davis B.B. (1985) Prostaglandin H synthase oxidation of benzidine and o-dianisidine: reduction and conjugation of activated amines by thiols. Carcinogenesis 6(4), 579–583.