



## Metyleenibis(2-kloorianiliini), MOCA, MbOCA

### PERUSTELUMUISTIO MOCAN BIOLOGISEN ALTISTUMISIINDIKAATTORIN OHJERAJA-ARVOLLE

#### Yksilöinti ja ominaisuudet

CAS No:	101-14-4
EY No:	612-078-00-9
EINECS No:	202-918-9
Kaava:	$\text{CH}_2(\text{C}_6\text{H}_3\text{ClNH}_2)_2$ 4,4'-Metyleenibis(2-kloorianiliini) Bis(4-amino-3-kloorifenyyl)metaani
Synonyymit:	4,4'-Diamino-3,3'-diklooridifenyylimetaani Diklooridiaminodifenyylimetaani Metyleeni-o-kloorianiliini
Molekyylipaino:	267,17
Muuntokerroin:	$1 \text{ ppm} = 10,9 \text{ mg/m}^3$ $1 \text{ mg/m}^3 = 0,092 \text{ ppm}$ $1 \text{ }\mu\text{g/L} = 3,745 \text{ nmol/L}$
Tiheys:	1,44 g/cm <sup>3</sup>
Sulamispiste:	110 °C
Kiehumispiste:	
Höyrynpaine:	$1,3 \times 10^{-6} \text{ kPa (25 °C)}$ $1,7 \times 10^{-6} \text{ kPa (60 °C)}$
Leimahduspiste:	

MOCA on huoneenlämmössä väritön tai vaaleanruskea kiteinen aine.

Se liukenee huonosti veteen (13,9 mg/l), mutta liukenee hyvin bentseeniin, dietyylieetteriin ja etanoliin. (1, 2, 3)

Varoitusmerkki:	T, N
R-lauseet:	22-45-50/53
S-lauseet:	45-53-60-61

#### Käyttö ja esiintyminen

Metyleenibis(2-kloorianiliini) (MOCA) on käytössä muovi- ja kumiteollisuudessa ja joidenkin polyuretaanien valmistuksessa kovettimena (4). Työterveyslaitoksen julkaiseman ASA-rekisterin v.2004 mukaan MOCA:lle ja sen suoloille altistuneita oli Suomessa 23 henkilöä (5).



## I imeytyminen elimistöön

MOCA imeytyy elimistöön hengitysteitse, ihon kautta ja ruuansulatuskanavasta. MOCA:lle altistuttaessa merkittävintä on sen nopea ja tehokas imeytyminen ihon läpi. Vähäisen höyrystymisen johdosta imeytyminen hengitysteitse on yleensä vähäistä, mutta on mahdollista lähinnä hengittämällä MOCA:n pölyä ja aerosolia sulaa ainetta käsitellessä. Rotilla tehdyissä kokeissa MOCA imeytyy ruuansulatuskanavan kautta tehokkaasti. (1, 6, 7, 8)

## Poistuminen elimistöstä

Eläinkokeiden perusteella arvioidaan, että MOCA erittyy pääasiassa virtsaan. Osa erittyy sellaisenaan ja osa konjugoituneena lähinnä glukuronidi - ja asetyylikonjugaateiksi. (6, 9)

## Aineenvaihdunta

MOCA:n jakautumista ihmisen elimistöön ei tunneta tarkasti. Eläinkokeiden perusteella tiedetään, että se jakautuu nopeasti maksaan, ohutsuoleen, rasvakudokseen, keuhkoihin ja ihoon, muttei kerääntynyt niihin. Eläinkokeiden perusteella arvioidaan, että se erittyy pääasiassa virtsaan. Osa erittyy sellaisenaan ja osa konjugoituneena lähinnä glukuronidi - ja asetyylikonjugaateiksi. Ihmisen maksassa MOCA:n on todettu oksidatiivisen metabolian kautta synnyttävän ensivaiheessa kolmea metaboliittia: N-hydroksi-MOCA, 6-hydroksi-MOCA ja metyleenihydroksi-MOCA, ensin mainitun on todettu olevan päämetaboliitti yli 80 % osuudella oksidaatiotuotteista. Akuutissa työntekijän altistumisessa on havaittu, että MOCA:n erityksvirtsaan oli suurimmillaan noin 4 tuntia altistumisen jälkeen.

MOCA:n puoliintumisaika on noin 23 tuntia. Virtsan mukana poistuneesta MOCA:sta 35 % erittyy konjugaatteina. Virtsan päämetaboliitiksi on todettu MOCA:n N-glukuronidi, jota on löydetty 2-3 kertaa enemmän kuin sitoutumatonta kemikaalia. MOCA:n N-asetyylikonjugaattia on havaittu <9 % virtsan sisältämästä kokonaispitoisuudesta.

MOCA:lla ja muilla aromaattisilla amiineilla on havaittu metabolinen aktivoituminen elektrofiiliseksi välituotteiksi, jotka sitoutuvat elimistössä proteiineihin ja muodostavat mm. DNA- ja hemoglobiiniaddukteja. MOCA:n aktivoituminen tapahtuu CYP3A4 -entsyymien katalysoimassa reaktiossa, jossa syntyy todennäköinen karsinogeeni N-hydroksi-MOCA. Syntynyt välituote sitoutuu DNA:han muodostaen N-hydroksi-MOCA-DNA -adduktin. Virtsarakon soluissa DNA-adduktin pitoisuuden on todettu olevan korkeimmillaan 4 tuntia altistumisesta, alentuen viidesosaan 19 tuntia altistumisesta ja 98 tunnin jälkeen addukteja ei enää havaittu. MOCA:n on myös osoitettu sitoutuvan hemoglobiiniin. (1, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14)

## Ei-työperäinen altistuminen

Työn ulkopuolella tapahtuva (mm. ravinto- tai ympäristöperäinen) altistuminen on epätodennäköistä. MOCA on synteettinen valmiste ja sille voi altistua vain kontaminaation kautta (1, 6).



## Terveysvaikutukset

### Eläinkokeiden havainnot

MOCA:n on todettu olevan genotoksinen ja karsinogeeninen eläimille. Eläinkokeet jyrksijöillä osoittavat MOCA:n aiheuttavan kasvaimia mm. maksassa, keuhkoissa ja maitorauhasissa. Koirilla tehdyissä tutkimuksissa on todettu virtsarakon syöpäkasvaimia. (1, 4, 6, 14, 15)

### Ihmisiä koskevat tiedot

Työperäinen altistuminen ei yleensä aiheuta akuutteja myrkytyksiä. Akuutissa altistumisessa voi esiintyä syanoosia, methemoglobiinin muodostumista, sekavuutta, kouristuksia, päänsärkyä ja vatsakipua (1, 3, 4, 6, 14). MOCA:lle altistuneiden työntekijöiden seulonnoissa on todettu merkkejä genotoksisuudesta, yksittäisiä virtsarakon syöpätapauksia ja verivirtsaisuutta (1, 15, 16, 17, 18, 19). International Agency for Research on Cancer (IARC) on luokitellut MOCA:n todennäköisesti ihmiselle syöpää aiheuttavaksi aineeksi (luokka 2A) (1). Euroopan Unioni on luokitellut MOCA:n ja sen suolat syöpää aiheuttavaksi (ryhmä 2, R45). Valtioneuvoston asetuksen 1335/2004 mukaan tähän ryhmään luokiteltujen kemikaalien voidaan arvioida vaarantavan äidin ja sikiön terveyden (20). Yhdysvalloissa The American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH):n asettaman Threshold Limit Value (TLV) -arvon perusteluna on altistumisesta aiheutuva methemoglobiinin muodostuminen ja tutkimuksiin pohjautuva epäily MOCA:n aiheuttamasta virtsarakon syöpäriskistä (21).

### HTP-arvo

MOCA:lle ja sen suoloille asetettu haitallinen tunnettu pitoisuus (HTP-arvo) on 0,02 ppm (0,22 mg/m<sup>3</sup>) 8 tunnin keskiarvona ja 0,06 ppm (0,67 mg/m<sup>3</sup>) 15 min. pitoisuutena (22).

### Yhteenveto

Metyleenibis(2-kloorianiliini) on ihmiselle todennäköisesti syöpää aiheuttava synteettinen kemikaali. Se imeytyy elimistöön pääasiallisesti ihon kautta. Virtsan MOCA-pitoisuuden määrittäminen on käytetty monessa maassa työssä altistumisen arviointiin. Määrittäminen on todettu ilmaisevan hyvin elimistöön kertyneen kemikaalin pitoisuuden. MOCA:lle altistuminen työn ulkopuolella on epätodennäköistä. Raskauden aikana ei pidä altistua lainkaan MOCA:lle tai sen suoloille.

## Virtsan MOCA altistumisen indikaattorina

### Analyttiset menetelmät ja näytteenotto

Virtsan erittyneen vapaan ja suoloihin sitoutuneen MOCA:n kokonaispitoisuus määritetään alkali- hydrolyysin jälkeen nestekromatografisesti elektrokemiallisella detektiolla. Virtsanäyte suositellaan otettavan heti työvuoron päätyttyä (iltanäyte) MOCA:n maksimipitoisuuden mittaamiseksi. (4, 6, 23)



## Altistumattomien 'viitearvot'

Työssään altistumattomilla työntekijöillä ei yleensä ole virtsassa MOCA:a, joten altistumattomien viitearvo on menetelmän määrittämisraja eli 1 µmol/mol kreatiniinia (4).

## Kinetiikka

Akuutissa altistumistapauksessa havaittiin, että MOCA:n erityis virtsaan on suurimmillaan noin 4 tuntia altistumisen jälkeen, puoliintumisaika on noin 23 tuntia. Neljässä päivässä 94 % MOCA:sta oli poistunut elimistöstä. Toisessa altistumistapauksessa korkeita virtsan MOCA-pitoisuuksia on mitattu 5 ja 11 tuntia altistumisen jälkeen. (1, 6)

## Mittaustulosten tulkintaan vaikuttavia tekijöitä

MOCA:n virtsapitoisuuteen suurin vaikuttava altistumisreitti on ihon kautta. Virtsanäytteen ottoaika 0-4 tuntia työvuoron jälkeen tuottaa maksimaalisen vasteen analyysissä, myöhäisemmät näytteenoton ajankohdat antavat pienemmän tuloksen. Virtsan MOCA:n metaboliatuotteiden vajavainen hydrolysoituminen analyysissä pienentää saatavaa tulosta.

## Perustelut viitearvolle

MOCA:n pääasiallinen tie elimistöön työaltistumisessa on imeytyminen ihon läpi. Täten ilman MOCA-pitoisuus ei ole kovin merkityksellinen altistumisen kannalta, eikä sen säätelyllä voida luotettavasti hallita MOCA-altistumista. Sen sijaan virtsan MOCA-pitoisuus kuvaa elimistöön joutuvaa MOCA:n määrää useiden tutkimusten mukaisesti. Virtsan MOCA-pitoisuus on myös biologisesti hyvin merkittävä, koska MOCA:n merkittävin terveydellinen vaikutus on käytettävissä olevan tiedon perusteella sen aiheuttama virtsarakon syöpä. Työterveyslaitos esittää että MOCA-altistumisen arvioinnin ensisijaiseksi menetelmäksi otettaisiin virtsan kokonaisMOCA-pitoisuus (MOCA:n ja sen glukuronidi- ja asetyylikonjugaattien summa).

Työterveyslaitoksen mittauksissa korkein mitattu virtsan MOCA -pitoisuus 2000-2006 otetuissa biomonitorointinäytteissä on loppuviikon iltapäivänäytteessä on ollut 5 µmol/mol kreatiniinia. Työterveyslaitos esittää, että tämä pitoisuus, jonka voidaan katsoa edustavan hyviä työtapoja suomalaisessa altistumisskenaariossa, asetettaisiin MOCA:n biologiseksi raja-arvoksi.

Tämän raja-arvon yhteydestä terveydellisiin vaikutuksiin ei ole yksiselitteistä tietoa, mutta Dutch Expert Committee on Occupational Standards (DECOS) on arvioinut eläinkokeista lineaarista mallia soveltaen, että metyleenibis(kloorianiliinin) aiheuttama syöpävaarallisuus on (enintään)  $3,7 \times 10^{-2}$  päiväannoksella 1 mg /kg (24). Työntekijän (70 kg) päivittäinen MOCA-annos 1 mg, olettaen 40-vuoden työaika ja 75 vuoden elinaika, 48 viikon vuosittainen työaika, 5 päivän työviikko, ja 8 tunnin työpäivä, vastaa siten riskiä:

$$3,7 \times 10^{-2} \times \frac{40y}{75y} \times \frac{48w}{52w} \times \frac{5d}{7d} \times \frac{1 \text{ kg}}{70 \text{ kg}} = 1,9 \times 10^{-4}$$

MOCA:lle raportoitu virtsaan erittymisen puoliintumisaika ihmisellä on 23t. Esitetty biologinen raja-arvo, 5 µmol/mol kreatiniinia loppuviikon iltanäytteessä, olettaen, että erittyminen virtsaan vähe-nee ajan mukana monoeksponentiaalisesti (jakautuminen yksitilamallin mukaisesti), vastaa viisipäiväisen työviikon ensimmäisenä altistumispäivänä iltapäivänäytteen MOCA-pitoisuutta n. 2,65



$\mu\text{mol/mol}$  kreatiniinia. Ottaen huomioon, että 50-vuotiaan 70 kiloa painavan henkilön kreatiniinieritys vuorokaudessa on keskimäärin 12 mmol, voidaan arvioida, että tämä virtsapitoisuuden huippuarvo ensimmäisen altistuspäivän lopulla vastaa virtsaan erittyvää kokonaismäärää. 0,049  $\mu\text{mol}$  (yksitilamalli, integrointi ajankohdasta nolla äärettömään). Kun oletetaan että elimistöön imeytyneestä MOCA:sta puolet erittyy mitattavina metaboliitteina virtsaan, tämä vastaa päivittäistä annosta 0,098  $\mu\text{mol}$  = 0,0263 mg. DECOS:in mallin mukaisesti tämä annos vastaa elinikäistä kumulatiivista syöpäriskiä  $5 \times 10^{-6}$ . Täten esitetty, hyvistä työkäytännöistä johdettu raja-arvo ei ole ristiriidassa terveysperusteisesti arvioidun raja-arvon kanssa.

Hyvästä työkäytännöstä johdettu pitoisuus pohjautuu työpaikkojen pitkäaikaiseen seurantaan ja sen seurauksena toteutettuihin työympäristöä parantaviin toimenpiteisiin. Siten on saatu työpaikan altistumistaso alenemaan hyvin hoidetun työpaikan tasolle. Iso-Britanniassa on määritetty virtsan MOCA-pitoisuuksia työntekijöiltä yli 30 vuoden ajan. Iso-Britanniassa on altistuneiden työntekijöiden virtsan MOCA pitoisuuden 90. persenttiilistä johdettu MOCA altistumisen biologinen raja-arvo 15  $\mu\text{mol/mol}$  kreatiniinia (v.1996 lähtien) (25). Toimenpiteiden kohdistaminen ohjearvon ylittävään 10 %:iin tuloksista on saanut altistumisen laskemaan vähitellen kontrolloitavalle tasolle.

## Ohjearvo biologiselle altistusindikaattorille

Työterveyslaitoksen asettama voimassa oleva toimenpideraja (työvuoron jälkeen otettava näyte) virtsan metyleenibis(2-kloorianiliini)n kokonaispitoisuudelle on 15  $\mu\text{mol/mol}$  kreatiniinia (20). Työterveyslaitos esittää MOCA:n uudeksi biologiseksi ohjearva-arvoksi 5  $\mu\text{mol/mol}$  kreatiniinia.

## Eri maiden ohjearvot

- Iso-Britannia, Health and Safety Executive (HSE) 2005, virtsan MOCA-kokonaispitoisuudelle Biological Monitoring Guidance Value (BMGV) on 15  $\mu\text{mol/mol}$  kreatiniinia. TWA-pitoisuus 0,005  $\text{mg/m}^3$  (8 tuntia) (26).
- Japani 1995, suositeltu Occupational Exposure Limit (OEL) on 50  $\mu\text{g/g}$  kreatiniinia (~ 20  $\mu\text{mol/mol}$  kreatiniinia) (27).
- Länsi-Australia, The Division of Safety and Health (DSH) 1989, toimenpideraja vapaan MOCA:n pitoisuudelle 45  $\mu\text{g/L}$  (~15  $\mu\text{mol/mol}$  kreatiniinia) (21).
- Saksa, Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) 2007, ohjearvoja ei ole asetettu (28).
- Yhdysvallat, ACGIH 2007, TLV-pitoisuus 0,01ppm, 0,11  $\text{mg/m}^3$  (8 tuntia). Biologisen altistumisen mittaamiseen suositellaan virtsan kokonais-MOCA:n määrittämistä, Biological Exposure Indice (BEI) -arvoa ei ole asetettu (29).
- Yhdysvallat, National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH) 2005, Recommended Exposure Limit (REL) on 0,003  $\text{mg/m}^3$  (30).
- Yhdysvallat, Occupational Safety and Health Administration (OSHA) 2006, Permissible Exposure Limit (PEL) -arvoa MOCA:lle ei ole asetettu (7, 30).
- Yhdysvallat, Kalifornia/OSHA 2001, suositeltu ohjearvo 100  $\mu\text{g/l}$  (kokonaisMOCA) (21).

## Muut biologiset indikaattorit

Methemoglobiinin pitoisuuden määrittäminen verestä on ollut käytössä arvioitaessa altistumista mm. aromaattisille amiineille (11). Menetelmä ei ole spesifinen MOCA:lle vaan kertoo kokonaisaltistumisesta methemoglobiinia muodostaville aineille. Menetelmä vaatii myös pikaisen analyysin suorituksen näytteenoton jälkeen methemoglobiinin nopean pelkistymisen johdosta. MOCA:n hemo-globiini- ja DNA-adduktien määrittämisestä ihmisessä on raportoitu, mutta käyttö altistumisen indikaattorina on ollut vähäinen.



## Viitteet

- 1) IARC: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 57, Occupational Exposures of Hairdressers and Barbers and Personal Use of Hair Colourants; Some Hair Dyes, Cosmetic Colourants, Industrial Dyestuffs and Aromatic Amines, 1993:271-303.
- 2) The Merck Index, 13th ed. USA: NJ, 2001.
- 3) WHO: International Programme on Chemical Safety (IPCS). International Chemical Safety Card on 4,4'-Methylenebis(2-chloroaniline). Geneva: Switzerland, 1998.
- 4) Aitio A, Luotamo M, Kiilunen M (toim.). Kemikaalialtistumisen biomonitorointi. Työterveyslaitos: Helsinki, 1995:193-195.
- 5) Saalo A, Soosaar A, Vuorela R, Kauppinen T. ASA 2004. Syöpäsairauden vaaraa aiheuttaville aineille ja menetelmille ammatissaan altistuneiksi ilmoitetut Suomessa. Työterveyslaitos: Helsinki, 2006.
- 6) World Health Organization (WHO). Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace Guidelines, Occupational Health for All, Volume 2, Aromatic Amines, 1996. pp. 166-189.
- 7) Fairfax R, Porter E. Evaluation of Worker Exposure to TDI, MOCA and Methylene Chloride. J Occup Environ Hyg 2006;3:D50-3.
- 8) Hewitt PG, Hotchkiss AM, Caldwell J. Decontamination Procedures after *in Vitro* Topical Exposure of Human and Rat Skin to 4,4'-Methylenebis(2-chloroaniline) and 4,4'-Methylenedianiline. Fundam Appl Toxicol 1995;26:91-8.
- 9) Cocker J, Boobis AR, Wilson HK, Gompertz D. Evidence that a  $\beta$ -N-glucuronide of 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) (MBOCA) is a major urinary metabolite in man: implications for biological monitoring. Br J Ind Med 1990;47:154-61.
- 10) Robert A, Ducos P, Francin JM. Biological monitoring of workers exposed to 4,4'-methylenebis-(2-ortho-chloroaniline)(MOCA). II. Comparative interest of "free" and "total" MOCA in the urine of exposed workers. Int Arch Occup Environ Health 1999;72:229-37.
- 11) Lauwerys RR, Hoet P. Industrial Chemical exposure: Guidelines for Biological Monitoring. 3rd ed., 2001. pp. 399-417.
- 12) Kaderlik KR, Talaska G et al. 4,4'-Methylene-bis(2-chloroaniline)-DNA Adduct Analysis in Human Exfoliated Urothelial Cells by <sup>32</sup>P-Postlabeling, Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev 1993;2:63-9.
- 13) Yun CH, Shimada T, Guengerich FP. Contributions of human liver cytochrome P450 enzymes to the N-oxidation of 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline). Carcinogenesis 1992;13 (2):217-22.
- 14) U.S. National Toxicology Program. The National Library of Medicine's Hazardous Substance Database, 2006. <http://ntp.niehs.nih.gov/index.cfm?objectid=E87B81A2-BDB5-82F8-FEF00B6B8F767786>



- 15) U.S. National Toxicology Program. Substance Profile, 4,4'-Methylenebis(2-Chloroaniline), Report on Carcinogens, 11th ed., USA, 2005.
- 16) Murray EB, Edwards JW. Differential induction of micronuclei in peripheral lymphocytes and exfoliated urothelial cells of workers exposed to 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) (MOCA) and bitumen fumes. *Rev Environ Health* 2005;20(3):163-76.
- 17) Vineis P, Pirastu R. Aromatic amines and cancer. *Cancer Causes and Control* 1997;8:346-55.
- 18) Liu CS, Chen HI et al. Occupational Bladder Cancer in a 4,4'-Methylenebis(2-chloroaniline) (MbOCA)-Exposed Worker. *Environ Health Perspect* 2005;113:771-4.
- 19) Chen HI, Liou SH et al. Bladder cancer screening and monitoring of 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) exposure among workers in Taiwan. *Urology* 2005;66(2):305-10.
- 20) Kemikaalialtistumisen biomonitorointi. Näytteenotto-ohje 2007-2008. Helsinki: Työterveyslaitos, 2007.
- 21) Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices, 7th ed. Cincinnati, USA: ACGIH, 2001.
- 22) HTP-arvot 2007. Haitallisiksi tunnetut pitoisuudet. Helsinki Sosiaali- ja terveysministeriö, 2007.
- 23) Robert A, Ducos P, Francin JM. Biological monitoring of workers exposed to 4,4'-methylenebis-(2-ortho-chloroaniline)(MOCA). I. A new and easy determination of "free" and "total" MOCA in urine. *Int Arch Occup Environ Health* 1999;72:223-8.
- 24) Health Council of the Netherlands: Dutch Expert Committee on Occupational Standards (DECOS). 4,4'-Methylene bis (2-chloroaniline); Health-based calculated occupational cancer risk values, publication no. 2000/09OSH. Haag, Netherlands: Health Council of the Netherlands, 2000.
- 25) Cocker J, Jones K, Morton J, Mason HJ. Biomonitoring at the UK Health and Safety Laboratory. *Int J Hyg Environ Health* 2007;210:383-6.
- 26) HSE:EH40/2005 Workplace exposure limits. Iso-Britannia: HSE, 2005.
- 27) The Japan Society for Occupational Health (JSOH): Recommendation of Occupational Exposure Limits (2007-2008). *J Occup Health* 2007;49:328-44.
- 28) DFG: MAK- und BAT-Werte-Liste 2007, Bonn, Saksa: DFG, 2007
- 29) Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological Exposure Indices. Cincinnati, USA: ACGIH, 2007.
- 30) 2007 Guide to Occupational Exposure Values. Cincinnati, USA: ACGIH, 2007.