



# Benzen

## Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego<sup>1,2</sup>

### Benzene

### Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

prof. dr hab. JADWIGA SZYMAŃSKA  
<https://orcid.org/0000-0002-3320-008X>  
e-mail: [jadwiga.szymanska@umed.lodz.pl](mailto:jadwiga.szymanska@umed.lodz.pl)

dr BARBARA FRYDRYCH  
<https://orcid.org/0000-0002-9383-5319>

dr hab. ELŻBIETA BRUCHAJZER, prof. UM  
<https://orcid.org/0000-0002-4494-5722>

Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
Medical University of Lodz, Poland

<b>NDS</b>	0,66 mg/m <sup>3</sup> (0,2 ppm)
<b>NDSch</b>	nie ustalono
<b>NDSP</b>	nie ustalono
<b>DSB</b>	2,5 µg benzenu/l moczu 9,0 µg kwasu 5-fenylomerkapturowego/g kreatyniny
<b>Carc.</b>	1A
<b>Muta.</b>	1B
<b>Skóra</b>	wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 19-21.10.2020 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 18.03.2022 r.

#### Streszczenie

Benzen jest bezbarwną lub lekko żółtą cieczą o charakterystycznym zapachu. Naturalnymi źródłami benzenu są gazy emitowane z wulkanów i pożarów lasów oraz produkty ropopochodne. Benzen stosuje się przede wszystkim jako rozpuszczalnik oraz materiał wyjściowy w syntezie wielu chemikaliów. W Polsce w 2020 r. 28 osób pracowało w narażeniu na benzen o stężeniach powyżej obowiązującej wartości NDS. Benzen działa narkotycznie w warunkach zatrucia ostrego. Ciekły działa drażniąco. Po narażeniu przewlekłym u ludzi obserwowano zmiany hematologiczne we krwi oraz nowotwory, w tym ostrą białaczkę szpikową. Podobne efekty obserwowano u zwierząt laboratoryjnych. Benzen i/lub jego metabolity wykazują działanie genotoksyczne. Takie działanie benzenu wykazano u ludzi zawodowo narażonych na związek

<sup>1</sup> Wartość NDS benzenu została w dniu 18.03.2022 r. przyjęta na 101. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i następnie została przedłożona ministrowi właściwemu ds. pracy (wniosek nr 117) w celu jej wprowadzenia do rozporządzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych w środowisku pracy.

<sup>2</sup> Opracowano i wydano na podstawie wyników V etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Projekt nr IL.PB.03 pt. „Opracowanie dokumentacji dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego dla 30 czynników chemicznych szkodliwych dla zdrowia, w tym rakotwórczych”. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy

o stężeniu  $<3,2 \text{ mg/m}^3$  ( $<1 \text{ ppm}$ ). Benzen nie jest teratogenem dla zwierząt. Jako wartość NDS dla benzenu proponuje się przyjąć stężenie rekomendowane w dyrektywie Parlamentu Europejskiego i Rady, zmieniającej dyrektywę 2004/37/WE, tj.  $0,66 \text{ mg/m}^3$ . Ryzyko wystąpienia białaczki u pracowników zawodowo narażonych na benzen o stężeniu  $0,66 \text{ mg/m}^3$  mieści się w zakresie  $2,7 \cdot 10^{-4} \div 1 \cdot 10^{-3}$ . Proponuje się także dodać notacje: „Carc. 1A” (substancja rakotwórcza kategorii zagrożenia 1A); „skóra” (wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową); „Muta. 1B” (działanie mutagenne na komórki rozrodcze kategorii zagrożenia 1B). Jako biomarkery zawodowego narażenia na benzen zaproponowano stężenie benzenu  $2,5 \text{ } \mu\text{g/l}$  moczu oraz stężenie kwasu S-fenylmerkapturowego (S-PMA) na poziomie  $9,0 \text{ } \mu\text{g/g}$  kreatyniny w moczu. Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu i inżynierii środowiska.

**Słowa kluczowe:** benzen, toksyczność, rakotwórczość, narażenie zawodowe, NDS, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

## Abstract

Benzene is a colorless to slightly yellow liquid with the characteristic odor. Gases emitted from volcanoes and forest fires as well as petroleum products are natural sources of benzene. It is used primarily as a solvent and a starting material in the synthesis of many chemicals. In 2020 Poland, 28 people were exposed to benzene in concentrations exceeding the current TLV value. Benzene is a narcotic under the severe poisoning conditions. The liquid is irritating. Haematological changes in the blood and neoplasms, including acute myeloid leukemia, have been observed in humans after chronic exposure. Similar effects were seen in laboratory animals. Benzene and/or its metabolites are genotoxic. Such an effect of benzene was demonstrated in people occupationally exposed to the compound at a concentration of  $<3.2 \text{ mg/m}^3$  ( $<1 \text{ ppm}$ ). Benzene is not an animal teratogen. As the value of TLV for benzene, it is proposed to adopt the concentration recommended in the Directive of the European Parliament and of the Council amending Directive 2004/37/EC, i.e.  $0.66 \text{ mg/m}^3$ . The risk of leukemia at employees professionally exposed to benzene at a concentration of  $0.66 \text{ mg/m}^3$  is within the range from  $2.7 \cdot 10^{-4}$  to  $1 \cdot 10^{-3}$ . It is also proposed to add the following notations: “Carc. 1A” (carcinogenic substance of hazard category 1A); “Skin” (the absorption of substances through the skin may be as important as for inhalation exposure); “Muta. 1B” (germ cell mutagenicity, hazard category 1B). Benzene concentration of  $2.5 \text{ } \mu\text{g/l}$  of urine and the concentration of S-phenylmercapturic acid (S-PMA) at the level of  $9.0 \text{ } \mu\text{g/g}$  of creatinine in urine were proposed as biomarkers of occupational exposure to benzene. This article discusses the problems of occupational safety and health, which are covered by health sciences and environmental engineering.

**Keywords:** benzene, toxicity, carcinogenicity, occupational exposure, MAC, health sciences, environmental engineering.

## CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

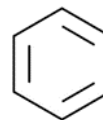
### Ogólna charakterystyka substancji

Benzen jest nazwą zatwierdzoną obecnie przez IUPAC dla czystej substancji, chociaż w starszej literaturze odnoszącej się do produktu komercyjnego występuje termin „benzol”.

Główne zanieczyszczenia występujące w produktach handlowych to toluen, ksylen, fenol, tiofen, disiarczek węgla, acetylonitryl i pirydyna (NIOSH 1974). Handlowy rafinowany benzen nie zawiera siarkowodoru i ditlenku siarki, ale zawiera maksymalnie  $1 \text{ ppm}$  tiofenu i maksymalnie  $0,15\%$  substancji niearomatycznych. Rafinowany benzen o czystości do nitrowania nie zawiera siarkowodoru i ditlenku siarki (HSDB 2007; Toxicological profile... 2007).

Ogólna charakterystyka benzenu (DECOS 2014; EPA 2002; Toxicological profile... 2007):

- wzór sumaryczny  $\text{C}_6\text{H}_6$
- wzór strukturalny



- nazwa chemiczna benzen
- numer CAS 71-43-2
- numer RTECS CY-1400000
- numer indeksowy 601-020-00-8
- numer EC 200-753-7
- synonimy: benzol, cykloheksatrien, fenzen, woderek fenylu,

- wodorowęglan  
wodoru,  
pyrobenzol,  
nafta węglowa,  
benzen  
silnikowy  
NCI-C55276
- współczynniki  
przeliczeniowe: 1 ppm = 3,26 mg/m<sup>3</sup>  
(1 atm., 20 °C);  
1 mg/m<sup>3</sup> = 0,31 ppm;  
1 mg/l = 313 ppm.

Zharmonizowaną klasyfikację i oznakowanie benzenu zgodnie z tabelą 3 załącznika VI rozporządzenia 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 dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Dz. Urz. UE z dnia 31.12.2008 r. L 353 z późn. zm.) przedstawiono w tabeli 1.

**Tabela 1.** Zharmonizowana klasyfikacja oraz oznakowanie benzenu (Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady nr 1272/2008 z późn. zm.)

**Table 1.** Harmonized classification and labeling of benzene (Regulation of the European Parliament and of the Council No. 1272/2008, as amended)

Międzynarodowa terminologia chemiczna	Numer indeksowy	Numer WE	Numer CAS	Klasyfikacja		Oznakowanie		Specyficzne stężenia graniczne i współczynniki „M”
				klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody haseł ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	
Benzen	601-020-00-8	200-753-7	71-43-2	Flam. Liq. 2 Carc. 1A Muta. 1B STOT RE 1 Asp. Tox. 1 Eye Irrit. 2 Skin Irrit. 2	H225 H350 H340 H372 H304 H319 H315	GHS02 GHS08 GHS07 Dgr	H225 H350 H340 H372 H304 H319 H315	

Objaśnienia:

Flam. Liq. 2 – substancja ciekła łatwopalna, kat. zagrożenia 2.

H225 – wysoce łatwopalna ciecz i pary.

Carc. 1A – rakotwórczość, kat. zagrożenia 1A.

H350 – może powodować raka.

Muta. 1B – mutagenność, kat. zagrożenia 1B.

H340 – może powodować wady genetyczne.

STOT RE 1 – działanie toksyczne na narządy docelowe – narażenie powtarzane, kat. zagrożenia 1.

H372 – powoduje uszkodzenie narządów poprzez długotrwałe lub powtarzane narażenie.

Asp. Tox. 1 – zagrożenie spowodowane aspiracją, kat. zagrożenia 1.

H304 – połknięcie i dostanie się przez drogi oddechowe może grozić śmiercią.

Eye Irrit. 2 – poważne uszkodzenie oczu / działanie drażniące na oczy, kat. zagrożenia 2.

H319 – działa drażniąco na oczy.

Skin Irrit. 2 – działanie żrące/drażniące na skórę, kat. zagrożenia 2.

H315 – działa drażniąco na skórę.

Piktogramy wskazujące rodzaj zagrożenia:



GHS02



GHS07



GHS08

## Właściwości fizykochemiczne

Właściwości fizykochemiczne benzenu (Carl Roth 2019; DECOS 2014; IPCS/INCHEM 1993; Sigma-Aldrich 2013; Toxicological profile... 2007):

- postać bezbarwna lub lekko żółta ciecz o charakterystycznym aromatycznym zapachu
- masa cząsteczkowa 78,1 g/mol
- temp. topnienia 6 °C
- temp. wrzenia 80 °C
- temp. zapłonu -11 °C
- temp. samozapłonu 498 °C
- współczynnik podziału log Kow 2,13
- gęstość względna 0,88 g/cm<sup>3</sup> (15 °C)
- gęstość par w stosunku do powietrza 2,7
- lepkość dynamiczna 0,604 mPa·s (20 °C)
- przepływność par 10 kPa (75 mm Hg, 20 °C)
- stała Henry'ego 5,5 · 10<sup>-3</sup> atm·m<sup>3</sup>/mol
- próg smaku 0,5 ÷ 4,5 mg/l
- t<sub>1/2</sub> w powietrzu 13,4 dnia
- rozpuszczalność w wodzie bardzo słaba (1,79 g/l w 25 °C)
- rozpuszczalny w tetrachloru węgla
- mieszalny: z acetonem, chloroformem, eterem dietylowym i etanolem.

Benzen jest dobrym rozpuszczalnikiem dla wosków, tłuszczów, naftalenu i innych niepolarnych związków chemicznych.

## Występowanie, otrzymywanie, zastosowanie i narażenie zawodowe

### Występowanie

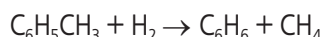
Benzen występuje naturalnie w produktach ropopochodnych, tj. ropie naftowej, benzynie itp. Naturalne źródła benzenu obejmują również emisje gazów z wulkanów i pożarów lasów.

Do czasów II wojny światowej główną metodą otrzymywania benzenu była ekstrakcja ze smoły

pogazowej (produkt uboczny w przemyśle koksowniczym i gazowniczym). W latach 50. XX wieku w związku ze wzrostem zapotrzebowania na benzen, głównie ze strony przemysłu tworzyw sztucznych, konieczna stała się produkcja na wielką skalę z ropy naftowej (Podręczny słownik... 2004).

Obecnie oprócz ekstrakcji ze smoły pogazowej stosuje się następujące metody otrzymywania benzenu:

- piroliza lekkich frakcji ropy naftowej z parą wodną (krawing parowy),
- reforming lekkich frakcji ropy naftowej,
- dealkilacja toluenu polegająca na przepuszczaniu mieszaniny toluenu i wodoru nad katalizatorem (chrom, molibden lub tlenek platyny) w temperaturze 500 ÷ 600 °C pod ciśnieniem 40 ÷ 60 atmosfer (czasem zamiast katalizatora używa się większych temperatur):



W Europie 55% benzenu pochodzi z gazu pirolitycznego, 20% z reformatu, a kilka procent z destylacji smoły węglowej. Pozostałe zapotrzebowanie jest pokrywane przez chemiczną przeróbkę innych aromatów. Około 50% produkcji benzenu zużywa się do produkcji styrenu, który z kolei przerabia się na polistyren. Dalsze 21% benzenu służy do produkcji kumenu, a ten do fenolu i acetonu. Około 13% benzenu przerabia się na cykloheksan, surowiec do produkcji kwasu adypinowego i poliamidów.

Roczną światową produkcję benzenu szacuje się na ponad 50 mln ton, co sprawia, że jest on trzecim po etylenie (120 mln ton/rok) i propylenie (100 mln ton/rok) podstawowym półproduktem chemicznym. Do końca lat 80. ¼ światowych zdolności produkcyjnych i produkcji benzenu pochodziło z Europy Zachodniej i Ameryki Północnej. Przez kolejne 20 lat zdolności produkcyjne i sama produkcja w tych regionach znacznie się zmniejszyły, natomiast wielokrotnie zwiększyły się zdolności produkcyjne i produkcja w Azji (głównie w Chinach), (Wiertelorz 2019).

Głównymi producentami benzenu w Unii Europejskiej są Niemcy, Holandia i Wielka Brytania (Mihułka 2003). W Polsce związek ten jest produkowany przez zakłady przemysłu

petrochemicznego i koksowniczego – Kędzierzyn-Koźle SA, Petrochemia-Blachownia SA, Polski Koncern Naftowy ORLEN SA, Synthos SA.

### Zastosowanie

Benzen stosuje się przede wszystkim jako rozpuszczalnik w przemyśle chemicznym i farmaceutycznym, jako materiał wyjściowy i półprodukt w syntezie wielu chemikaliów. Jako surowiec jest wykorzystywany do syntezy (RoC 2016):

- etylobenzenu (używanego do produkcji styrenu), (53%),
- kumenu (używanego do produkcji fenolu i acetonu), (22%),
- cykloheksanu (12%),
- nitrobenzenu (używanego do produkcji m.in. aniliny), (5%),
- alkilatów detergentów (liniowe alkilbenzenosulfoniany), (3%) oraz
- chlorobenzenu i innych produktów (5%).

Benzen jest używany jako rozpuszczalnik dla tłuszczów, wosków, żywic, olejów, tuszy, farb, tworzyw sztucznych i gumy. Stosuje się go również jako półprodukt chemiczny do produkcji gumy, smarów, barwników, środków czyszczących i pestycydów. Ponadto benzen jest stosowany jako dodatek do benzyny w celu zwiększenia liczby oktanowej benzyny bezołowiowej. Zawartość benzenu w paliwach różni się w zależności od kraju i wynosi około 1 ÷ 2% (ATSDR 2007; 2015; HSDB 2007; Yoon i in. 2018).

### Narażenie

Główną drogą narażenia ludzi na benzen jest droga inhalacyjna. Obecność benzenu w atmosferze wiąże się zarówno ze źródłami naturalnymi (pożary lasów, wyciek ropy), jak i ze źródłami przemysłowymi.

Narażenie populacji ogólnej na niskie stężenie benzenu jest nieuniknione ze względu na jego wszechobecność w środowisku. W powietrzu, którym codziennie oddychamy, jego źródłem może być:

- parująca benzyna na stacjach paliw,
- dym drzewny lub węglowy,
- dym tytoniowy,
- spaliny samochodowe,
- emisja przemysłowa.

Ogólna populacja może być również narażona na działanie benzenu przez picie zanieczyszczonej

wody lub spożywanie skażonej żywności. Benzen wykryto w owocach, warzywach, orzechach, produktach mlecznych, jajach i rybach. Narażenie na benzen z tych źródeł w populacji ogólnej zostało znacznie zmniejszone dzięki obniżeniu zawartości benzenu w benzynie i zakazowi palenia w wielu miejscach publicznych (Capleton, Levy 2005; RoC 2016; Weisel 2010).

### Narażenie zawodowe

Benzen występuje naturalnie w ropie naftowej w ilości do 4 g/l, stąd działalność człowieka wykorzystująca ropę prowadzi do narażenia na ten związek. Działalność ta obejmuje przetwarzanie produktów ropopochodnych, koksowanie węgla, produkcję styrenu, fenolu, cykloheksanu, etylobenzenu, kumenu i innych związków aromatycznych oraz zastosowanie ich w produktach przemysłowych i konsumenckich, jako półprodukt chemiczny oraz jako składnik benzyn i olejów opałowych. Benzen cechuje duża lotność oraz zdolność występowania w dużych stężeniach w powietrzu. Z tego względu najbardziej ryzykownymi procesami technologicznymi są te, w trakcie których pojawia się duża powierzchnia parowania związku.

Do zatruc najczęściej dochodzi u pracowników związanych z przemysłem:

- rafineryjnym (przy wszystkich rutynowych operacjach wykonywanych przez techników laboratoryjnych, kierowców cystern i operatorów wagonów kolejowych),
- gumowym,
- chemicznym (benzen jest m.in. półproduktem w syntezie organicznej),
- farmaceutycznym,
- farb i lakierów (malowanie, czyszczenie natryskowe, odtłuszczanie części, stosowanie rozcieńczalników),
- tworzyw sztucznych (benzen jest surowcem wykorzystywanym przy produkcji styrenu, aniliny i nitrobenzenu – prekursorów służących do wytwarzania tworzyw sztucznych).

Ponadto narażenie zawodowe na benzen dotyczy pracowników związanych z ruchem drogowym (np. policja), korzystających ze sprzętu z silnikiem benzynowym (np. ogrodnicy), pracowników stacji serwisowych i warsztatów naprawczych.

Gdy porówna się różne grupy zawodowe, największe narażenie na benzen dotyczy przemysłu koksowniczego.

W tabeli 2 zebrano dane dotyczące liczby pracowników narażonych na benzen w Polsce w latach 2005-2019.

Dane dotyczące poziomów narażenia na benzen w Polsce w różnych gałęziach gospodarczych przedstawiono w tabeli 3 (GIS 2021).

**Tabela 2.** Narażenie na benzen w Polsce w latach 2005-2019 wg danych z Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje Chemiczne, ich Mieszanki, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym prowadzonego w Instytucie Medycyny Pracy w Łodzi

**Table 2.** Exposure to benzene in Poland in 2005-2019 according to data from the Central Register of Data on Exposure to Chemical Substances, their Mixtures, Agents or Technological Processes with Carcinogenic or Mutagenic Effects kept at the Institute of Occupational Medicine in Łódź

Rok	Liczba województw	Liczba zakładów pracy	Liczba narażonych mężczyzn	Liczba narażonych kobiet		Liczba osób narażonych ogółem
				ogółem	<45 lat	
2005	16	523	7 694	3 399	bd.	11 093
2006	16	551	8 384	3 583	bd.	11 967
2007	16	907	9 288	3 603	bd.	12 891
2008	16	794	6 516	3 758	bd.	10 274
2009	16	832	6 744	3 314	bd.	10 058
2010	16	789	6 448	3 413	bd.	9 861
2011	16	794	5 576	2 883	bd.	8 459
2012	16	746	5 136	2 785	1 628	7 921
2013	16	751	6 384	4 211	2 943	10 595
2014	16	823	6 110	3 847	2 754	9 957
2015	16	724	6 923	2 946	1 943	9 869
2016	16	673	6 859	3 029	1 963	9 888
2017	16	953	8 573	4 120	2 960	12 693
2018	16	788	7 989	3 354	2 279	11 343
2019	16	802	7 888	3 618	2 503	11 506
2020	16	752	6 984	3 115	2 088	10 099

Objaśnienie:

bd. – brak danych.

**Tabela 3.** Narażenie zawodowe na benzen w Polsce w latach 2019-2020 (GIS 2021)

**Table 3.** Occupational exposure to benzene in Poland in 2019-2020 (GIS 2021)

Nazwa substancji [CAS]	PKD (nr)	Polska Klasyfikacja Działalności	2019 r.			2020 r.		
			liczba pracowników zatrudnionych w warunkach			liczba pracowników zatrudnionych w warunkach		
			>0,1 NDS ÷ 0,5 NDS	>0,5 NDS ÷ NDS	>NDS	>0,1 NDS ÷ 0,5 NDS	>0,5 NDS ÷ NDS	>NDS
Benzen [71-43-2]	06	Górnictwo ropy naftowej i gazu ziemnego	137	3	-	139	3	-
	14	Produkcja odzieży	1	-	-	-	-	-
	17	Produkcja papieru i wyrobów z papieru	3	-	-	-	-	-
	19	Wytwarzanie i przetwarzanie koksu i produktów rafinacji ropy naftowej	184	505	18	111	54	7
	20	Produkcja chemikaliów i wyrobów chemicznych	83	41	-	75	36	21
	21	Produkcja podstawowych substancji farmaceutycznych oraz leków i pozostałych wyrobów farmaceutycznych	33	-	-	-	-	-

cd. tab. 3 / Table 3 cont.

Nazwa substancji [CAS]	PKD (nr)	Polska Klasyfikacja Działalności	2019 r.			2020 r.		
			liczba pracowników zatrudnionych w warunkach			liczba pracowników zatrudnionych w warunkach		
			>0,1 NDS ÷ 0,5 NDS	>0,5 NDS ÷ NDS	>NDS	>0,1 NDS ÷ 0,5 NDS	>0,5 NDS ÷ NDS	> NDS
	20	Produkcja chemikaliów i wyrobów chemicznych	83	41	-	75	36	21
	21	Produkcja podstawowych substancji farmaceutycznych oraz leków i pozostałych wyrobów farmaceutycznych	33	-	-	-	-	-
	22	Produkcja wyrobów z gumy i tworzyw sztucznych	168	-	-	154	-	-
	23	Produkcja wyrobów z pozostałych mineralnych surowców niemetalicznych	5	266	-	-	257	-
	24	Produkcja metali	38	-	-	39	-	-
	25	Produkcja metalowych wyrobów gotowych, z wyłączeniem maszyn i urządzeń	57	11	-	5	-	-
	28	Produkcja maszyn i urządzeń, gdzie indziej nieklasyfikowana	4	-	-	2	-	-
	29	Produkcja pojazdów samochodowych, przyczep i naczep, z wyłączeniem motocykli	21	-	-	4	-	-
	31	Produkcja mebli	22	-	-	2	-	-
	33	Naprawa, konserwacja i instalowanie maszyn i urządzeń	153	49	-	106	5	-
	35	Wytwarzanie i zaopatrywanie w energię elektryczną, gaz, parę wodną, gorącą wodę i powietrze do układów klimatyzacyjnych	-	-	-	1	-	-
	36	Pobór, uzdatnianie i dostarczanie wody	2	-	-	16	-	-
	37	Odprowadzanie i oczyszczanie ścieków	1	-	-	1	-	-
	38	Działalność związana ze zbieraniem, przetwarzaniem i unieszkodliwianiem odpadów, odzysk surowców	-	-	-	-	-	-
	42	Roboty związane z budową obiektów inżynierii lądowej i wodnej	4	-	-	4	-	-
	45	Handel hurtowy i detaliczny pojazdami samochodowymi; Naprawa pojazdów samochodowych	41	-	-	12	-	-
	46	Handel hurtowy, z wyłączeniem handlu pojazdami samochodowymi	18	-	-	-	-	-
	47	Handel detaliczny, z wyłączeniem handlu detalicznego pojazdami samochodowymi	266	4	-	90	4	-
	49	Transport lądowy oraz transport rurociągowy	4	-	-	-	-	-
	51	Transport lotniczy	8	-	-	-	-	-
	68	Działalność związana z obsługą rynku nieruchomości	5	-	-	14	-	-
	71	Działalność w zakresie architektury i inżynierii; badania i analizy techniczne	116	17	-	-	17	-
	72	Badania naukowe i prace rozwojowe	3	-	-	3	-	-
	91	Działalność związana z grami losowymi i zakładami wzajemnymi	1	-	-	1	-	-
		Ogółem:	1378	896	18	779	376	28

Według danych Centralnego Rejestru Chorób Zawodowych IMP w latach 2012-2020 wśród pracowników narażonych na działanie benzenu

odnotowano 19 przypadków nowotworów, które dotyczyły płuc (3 przypadki), układu krwiotwórczego (15 przypadków) i krtani (1 przypadek).

## DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

### Obserwacje kliniczne. Zatrucia ostre

W literaturze pierwsze opisy śmiertelnych zatruc benzenu drogą pokarmową pojawiły się na początku XX wieku (EPA 2002). W większości przypadków wielkości przyjętych dawek benzenu nie były znane. Dawka śmiertelna benzenu po przyjęciu drogą doustną została oceniona na ok. 125 mg/kg mc. (Thiens, Haley 1972). Po przypadkowym lub celowym przyjęciu dużych (śmiertelnych) dawek benzenu u osób zatrutych można obserwować: chwiejny chód, nitkowaty, szybki puls, senność, utratę przytomności, a następnie delirium, zapalenie płuc, depresję ośrodkowego układu nerwowego i zgon. Przyczyną zgonu zatrutego było zatrzymanie oddechu, depresja ośrodkowego układu nerwowego lub zapaść.

U zmarłych wskutek ostrego zatrucia benzenem w badaniach sekcyjnych wykazano: stany zapalne w tchawicy i krtani, przekrwienie bierne w płucach i nerkach, obrzęk płuc i mózgu, zmiany martwicze w wątrobie i nerkach (DECOS 2014; Lebrecht i in. 2003).

Benzen działa drażniąco. Po spożyciu płynnego benzenu stwierdzano podrażnienie błony śluzowej jamy ustnej, przełyku, gardła i żołądka (DECOS 2014). Benzen może także uszkadzać warstwę keratynową naskórka, co prowadzi do powstawania rumienia, pęcherzy oraz złuszczonego zapalenia skóry (Lebrecht i in. 2003). Wysokie stężenia par benzenu działają drażniąco na błony śluzowe oczu, nosa i dróg oddechowych (DECOS 2014).

W zależności od wielkości narażenia (stężenia par benzenu) mogą wystąpić objawy prenakrotyczne lub narkotyczne. Benzen o stężeniach 960 ÷ 9600 mg/m<sup>3</sup> (300 ÷ 3000 ppm) wywierał niekorzystny wpływ na ośrodkowy układ nerwowy (ECHA 2018b). Stężenie benzenu 9600 mg/m<sup>3</sup> może być tolerowane przez 0,5 ÷ 1 h, a objawami narażenia było podrażnienie błon śluzowych oczu i dróg oddechowych. Narażenie na stężenia 61 000 ÷ 64 000 mg/m<sup>3</sup> przez 5 ÷ 10 min może być

przyczyną śmierci. Po narażeniu ludzi na związek o stężeniach 20 000 ÷ 60 000 mg/m<sup>3</sup> w początkowej fazie zatrucia obserwowano: euforię, pobudzenie psychoruchowe, drżenia mięśniowe, bóle i zawroty głowy, a następnie zamroczenie, utratę świadomości, zaburzenia oddychania i krążenia (migotanie komór) prowadzące do śmierci (Lebrecht i in. 2003; Szajewski i in. 2000). Mniejsze stężenia benzenu wywoływały euforię, bóle i zawroty głowy, przyspieszenie akcji serca, zaburzenia rytmu serca, nudności, wymioty oraz przemijające objawy podrażnienia spojówek i błon śluzowych górnych dróg oddechowych. Szybkość ustępowania objawów zatrucia zależy od wielkości i czasu narażenia. Zaburzenia psychiczne i uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego mogą być następstwem zatrucia o ciężkim przebiegu. W przypadkach o lżejszym przebiegu objawy neurologiczne ustępują z reguły bez odległych następstw, ale mogą ujawnić się zmiany w obrazie krwi obwodowej jako następstwo uszkodzenia szpiku kostnego (DECOS 2014; EHC 1993; Toxicological profile... 1997).

### Zatrucia krótkoterminowe, podprzewlekłe i przewlekłe

Obraz zatrucia benzenem u ludzi jest zróżnicowany. Objawy obejmują: bóle głowy, senność, utratę apetytu, osłabienie, złe samopoczucie. Zatrucia manifestują się głównie zmianami hematologicznymi we krwi obwodowej i szpiku kostnym. Zmiany te rozwijają się powoli i we wczesnym etapie zatrucia są słabo widoczne i mało specyficzne. We krwi obwodowej w niektórych przypadkach można stwierdzić podwyższenie liczby czerwonych i białych krwinek. Stopniowo narasta osłabienie i zmniejsza się krzepliwość krwi. Może wystąpić krwawienie z dziąseł, a po urazach mechanicznych zwiększa się skłonność do krwawych podbiegnięć oraz wydłuża się czas krwawienia. Obraz zaburzeń hematologicznych ulega nasileniu w następstwie



przedłużającego się narażenia i obejmuje: niedokrwistość, leukopenię z trombocytopenią, granulocytopenię, limfopenię, a w stanach zaawansowanych znaczne zmniejszenie liczby wszystkich elementów morfotycznych (pancytopenię). W szpiku kostnym początkowo można stwierdzić hyperplazję, a następnie hypoplazję szpiku kostnego oraz zahamowanie czynności płytkotwórczej (EHC 1993; EPA 2002; DECOS 2014; Toxicological profile... 1997;). Skutki narażenia ludzi na benzen obserwowane są niezależnie od drogi podania. Wskaźniki hematotoksyczności i immunotoksyczności są uważane za najczulsze nie-nowotworowe wskaźniki narażenia na benzen zarówno u ludzi, jak i zwierząt. Narzędziem krytycznym w obu przypadkach jest szpik kostny (EPA 2002).

Rothman i in. (1996) badali narażenie na benzen pracowników fabryk w Szanghaju. Grupę badaną stanowiły 44 osoby podzielone w zależności od wielkości narażenia na 2 podgrupy. Osoby te pracowały w narażeniu na benzen w okresie 0,7 ÷ 16 lat. Równoczesne narażenie na toluen i ksylen było niskie, równe lub mniejsze od 0,2 ppm. Grupę kontrolną stanowiły 44 osoby w podobnym wieku. We krwi obwodowej badanych osób oznaczono liczbę krwinek białych (WBC), bezwzględną liczbę limfocytów (ALC), liczbę krwinek czerwonych

(RBC) i płytek krwi, a także hematokryt i średnią objętość krwinki czerwonej (MCV), a w moczu poziom fenolu, katecholu, kwasu mukonowego i hydrochinonu. Uzyskane wyniki zamieszczono w tabelach 4 i 5.

W grupie osób narażonych na niższe stężenia benzenu (<99,2 mg/m<sup>3</sup>, <32 ppm) zanotowano statystycznie istotne obniżenie liczby ALC, RBC i płytek. Zmiany te były silniej zaznaczone w grupie narażonej na benzen o stężeniu powyżej 99,2 mg/m<sup>3</sup> (z wyjątkiem RBC i MCV). Jedynie średnia objętość krwinek czerwonych (MCV) uległa zwiększeniu. Najistotniejsze zmiany zanotowano w przypadku liczby WBC i płytek. Autorzy pracy uważają, że bezwzględna liczba leukocytów (ALC) jest najczulszym wskaźnikiem hematotoksycznego działania benzenu (Rothman i in. 1996), (tab. 4).

Rothman i in. (1996) uważali, że zmiany hematologiczne obserwowane we krwi obwodowej były ściśle skorelowane z powstawaniem metabolitów benzenu: obniżenie liczby ALC wiązało się ze wzrostem stężenia hydrochinonu w moczu, a zwiększenie MCV – z powstawaniem katecholu. Poziom metabolitów benzenu w moczu osób zawodowo narażonych był wyraźnie skorelowany ze stężeniem benzenu w powietrzu (tab. 5).

**Tabela 4.** Porównanie parametrów krwi obwodowej osób zawodowo narażonych na benzen i grupy kontrolnej (Rothman i in. 1996). W tabeli podano wartości średnie, odchylenie standardowe oraz zakres wyników

**Table 4.** Comparison of peripheral blood parameters of occupationally benzene-exposed individuals and a control group (Rothman et al. 1996). The table shows the mean values, standard deviation and range of results

Wielkość narażenia, liczba osób	WBC, ×10 <sup>3</sup> µl krwi	ALC, ×10 <sup>3</sup> µl krwi	RBC, ×10 <sup>6</sup> µl krwi	Hematokryt, %	MCV, µm <sup>3</sup>	Płytki, ×10 <sup>3</sup> µl krwi
Kontrola (n = 44)	6,8±1,7 (3,1 ÷ 12,5)	1,9±0,4 (1,1 ÷ 2,8)	4,7±0,6 (3,0 ÷ 5,6)	42,0±5,6 (27,7 ÷ 50,7)	88,9±4,9 (71,2 ÷ 96,6)	166±5,9 (62 ÷ 313)
Stężenie benzenu: ≤99,2 mg/m <sup>3</sup> (<32 ppm), (n = 22)	6,4±1,8 (3,5 ÷ 11,1)	1,6±0,3 <sup>a</sup> (1,1 ÷ 2,5)	4,6±0,6 <sup>b</sup> (3,2 ÷ 5,7)	41,2±5,7 (29,5 ÷ 49,7)	89,8±3,9 (80,1 ÷ 99,8)	132±4,5 <sup>b</sup> (59 ÷ 204)
Stężenie benzenu: >99,2 mg/m <sup>3</sup> (>32 ppm), (n = 22)	5,6±1,9 <sup>a</sup> (3,8 ÷ 11,4)	1,3±0,3 <sup>c</sup> (0,9 ÷ 2,3)	4,2±0,6 (3,5 ÷ 5,3)	38,8±5,3 <sup>b</sup> (31,6 ÷ 50,9)	92,9±3,4 <sup>c</sup> (85,7 ÷ 98,3)	121±43 <sup>a</sup> (65 ÷ 216)

Objaśnienia:

WBC – liczba krwinek białych.

RBC – liczba krwinek czerwonych.

ALC – bezwzględna liczba limfocytów.

MCV – średnia objętość krwinki czerwonej.

<sup>a</sup> p < 0,01.

<sup>b</sup> p < 0,05.

<sup>c</sup> p < 0,001.

**Tabela 5.** Poziom metabolitów benzenu w moczu osób zawodowo narażonych na benzen i w grupie kontrolnej (Rothman i in. 1996). W tabeli podano medialne wartości średnie oraz zakres wyników

**Table 5.** Levels of benzene metabolites in the urine of occupationally exposed subjects and controls (Rothman et al. 1996). The table shows the median mean values and the range of results

Wielkość narażenia, liczba osób	Fenol, µg/mg kreatyniny	Katechol, µg/mg kreatyniny	Kwas mukonowy, µg/mg kreatyniny	Hydrochinon, µg/mg kreatyniny
Kontrola (n = 44)	17,3 (3,7 ÷ 55,3)	3,2 (1,6 ÷ 8,7)	0,18 (0,1 ÷ 0,8)	1,6 (0,9 ÷ 6,7)
Stężenie benzenu: ≤99,2 mg/m <sup>3</sup> (≤32 ppm), (n = 22)	38,9 (15,2 ÷ 217,1)	7,0 (2,5 ÷ 38,9)	8,15 (2,3 ÷ 55,3)	12,8 (3,2 ÷ 61,0)
Stężenie benzenu: >99,2 mg/m <sup>3</sup> (>32 ppm), (n = 22)	349,7 (36,8 ÷ 516,7)	65,7 (5,0 ÷ 84,2)	46,8 (8,6 ÷ 103,4)	64,3 (9,7 ÷ 196,6)

W wyniku przewlekłego zatrucia benzenem poza zmianami w układzie krwiotwórczym obserwowano również zmiany w innych układach. Zaburzenia czynnościowe ze strony ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego obejmowały: bóle i zawroty głowy, nadmierną senność, zaburzenia koordynacji ruchowej i nieprawidłowy zapis EEG, a także zaburzenia w przewodnictwie mięśniowo-nerwowym (Baslo, Aksoy 1982; Kraut i in. 1988; Yin i in. 1987a). Na bóle i zawroty głowy uskarżały się osoby narażone na benzen o stężeniach 799 ÷ 9584 mg/m<sup>3</sup> (250 ÷ 300 ppm). Po narażeniu na stężenia benzenu 2236 ÷ 9584 mg/m<sup>3</sup> (700 ÷ 3000 ppm) notowano senność, drżenia, utratę przytomności. Po przerwaniu narażenia objawy ustępowały. Kahn i Muzyka (1973) podali, że narażenie przez okres 2 ÷ 9 lat na benzen o stężeniach 20 ÷ 50 mg/m<sup>3</sup> może spowodować częste bóle głowy, łatwe męczenie się, kłopoty z zasypianiem i utratę pamięci.

W wyniku inhalacyjnego przewlekłego narażenia na benzen może dojść do uszkodzenia oraz immunosupresji układu odpornościowego (Lebrecht i in. 2003). Zmiany w układzie oddechowym mogą prowadzić do rozedmy płuc, przewlekłego zapalenia oskrzeli i astmy. Przewlekłe narażenie na benzen może prowadzić także do kłębuszkowego zapalenia nerek i przekrwienia tego narządu oraz anurii (EPA 2002).

Benzen jest również istotnym czynnikiem ryzyka dla populacji generalnej, szczególnie dla dzieci. Narażenie dzieci w warunkach środowiskowych może być przyczyną zaburzeń hematologicznych, uszkodzeń wątroby i układu oddechowego (D'Andrea, Reddy 2018).

### Badania epidemiologiczne

Wyniki badań dużych grup pracowników narażonych na benzen o różnych stężeniach wykazały, że

zdrowotnymi skutkami przewlekłego narażenia na benzen były zmiany nowotworowe i hematologiczne. Zmiany nowotworowe zostaną omówione w rozdziale „Działanie rakotwórcze na ludzi”.

We wcześniejszych opracowaniach skupiano się na omówieniu zmian hematologicznych powstających w wyniku zawodowego narażenia na różne stężenia benzenu (EPA 2002; polskie opracowania: Lebrecht i in. 2001; 2003; Starek – dane nieopublikowane).

W wyniku zawodowego narażenia na benzen we krwi obwodowej pracowników najczęściej stwierdzano: obniżenie poziomu hemoglobiny, hematokrytu, liczby RBC, WBC, ALC, neutrofilii oraz płytek krwi. Charakterystyczną zmianą we krwi obwodowej osób narażonych jest zwiększenie średniej objętości krwinki czerwonej (MCV), (tab. 5).

Lan i in. (2004) ocenili wpływ narażenia na benzen na obraz krwi obwodowej u 250 robotników zakładów produkujących obuwie. Grupę kontrolną stanowili pracownicy zakładów odzieżowych (140 osób), (tab. 6). Do oceny narażenia zastosowano technikę dozymetrii indywidualnej. Średni wiek osób badanych to 29,9±8,4 lat, kobiety stanowiły ok. 2/3 wszystkich badanych. Próbkę moczu były zbierane od każdej z osób po zakończeniu zmiany roboczej. Wszystkie badane osoby zostały podzielone na 4 grupy w zależności od wielkości narażenia na benzen. Uzyskane wyniki od 28 osób narażonych podano w tabeli 6. Porównując wyniki otrzymane dla grupy osób narażonych na najniższe stężenia benzenu z grupą kontrolną, stwierdzono statystycznie znamienne zmniejszenie poziomu WBC, granulocytów, sumy limfocytów, komórek T-CD4+, limfocytów B, monocytów i płytek krwi. Dodatkowo w grupie 29 osób narażonych na benzen oraz 24 osób z grupy kontrolnej oceniono ilość komórek progenitorowych i ich zdolność do

tworzenia kolonii. Sprawdzono wpływ benzenu na komórki tworzące kolonie: granulocytowo-makrofagowe (CFU-GM), erytroidalne (BFU-E) i granulocytów, erytroidów, makrofagów, megakariocytów (CFU-GEMM). Zanotowano istotne zmniejszenie zdolności komórek do tworzenia kolonii, szczególnie po narażeniu na benzen o stężeniu równym lub większym od 32 mg/m<sup>3</sup>. *Lan* i in. (2004) sugerują, że wczesne komórki progenitorowe są bardziej wrażliwe na hematotoksyczne działanie benzenu niż komórki dojrzałe.

*Ray* i in. (2007) badali wybrane parametry krwi obwodowej pracowników stacji benzynowych (25 osób) i serwisów samochodowych (25 osób). Grupę kontrolną stanowiła grupa 35 osób (tab. 7). Na podstawie stężenia kwasu *trans,trans*-mukonowego przyjęto, że grupa badana była narażana na wysokie stężenia benzenu. W moczu osób narażonych na benzen stężenie tego kwasu było 3,8 razy wyższe niż w moczu osób z grupy kontrolnej. Uzyskane przez *Raya* i in. (2007) wyniki wskazują na hematotoksyczne i immunotoksyczne działanie benzenu.

Obecnie autorzy szeregu badań zwracają uwagę na możliwość wystąpienia zmian hematologicznych we krwi obwodowej po narażeniu na benzen o stężeniach równych lub niższych od 1 ppm

(3,2 ÷ 3,3 mg/m<sup>3</sup>). Takie obserwacje opisali m.in. *Qu* i in. (2002), *Lan* i in. (2004), *Schmutter* i in. (2010), (tab. 7), *Ye* i in. (2015), *Koh* i in. (2015).

*Ye* i in. (2015) badali wpływ benzenu na poziom krwinek białych (WBC) we krwi obwodowej pracowników fabryk obuwia w Chinach. Grupę badaną stanowiło 385 osób narażonych na benzen o stężeniach 2,6 ÷ 57 mg/m<sup>3</sup> (mediana 6,4 mg/m<sup>3</sup>). Narażonych podzielono na 3 grupy w zależności od stężenia benzenu: poniżej 3,25 mg/m<sup>3</sup>, poniżej 6 mg/m<sup>3</sup> i stężenie równe lub powyżej 6 mg/m<sup>3</sup>. W grupach narażonych na najniższe i najwyższe stężenia benzenu zanotowano istotne obniżenie liczby WBC.

*Koh* i in. (2015) przeanalizowali badania krwi obwodowej i wielkość narażenia na benzen 10 702 pracowników różnych fabryk (191 zakładów) w Korei wykonane w latach 2000-2008. Narażenie na benzen wahało się 0,032 ÷ 19,0 mg/m<sup>3</sup>. We krwi oznaczono liczbę WBC, RBC, limfocytów, neutrofilii i płytek. Istotne obniżenie liczby krwinek czerwonych (RBC) zanotowano tylko w grupie mężczyzn narażonych na stężenie benzenu poniżej 3,2 mg/m<sup>3</sup>. Autorzy pracy sugerują, że otrzymane wyniki mogą wskazywać na potencjalne hematotoksyczne działanie benzenu w niskich stężeniach.

**Tabela 6.** Stężenia benzenu w powietrzu i w moczu oraz poziomy elementów krwi obwodowej osób narażonych na benzen. W tabeli podano wartości średnie i odchylenia standardowe (*Lan* i in. 2004)

**Table 6.** Concentrations of benzene in air and urine, as well as levels of peripheral blood elements of people exposed to benzene. The table shows mean values and standard deviations (*Lan et al.* 2004)

Badany parametr	Grupa kontrolna (n = 140)	Stężenie benzenu, mg/m <sup>3</sup>		
		<3,2 (n = 9)	3,2 ÷ <32,0 (n = 110)	≥32 (n = 31)
Benzen w powietrzu, mg/m <sup>3</sup>	<0,128	1,82±0,77	9,12±6,75	91,94±66,37
Benzen w moczu, µg/l	0,38±1,24	13,4±18,3	86,0±130	847±1250
Elementy krwi obwodowej, liczba komórek/µl krwi				
WBC	6480±1710	5440±1220*	5660±1500	6480±1710
Granulocyty	4110±1410	3360±948*	3480±1170	2790 ± 50
Limfocyty (suma)	2130±577	1960±541*	1960±533	1800±392
Komórki T-CD4+	742±262	635±187*	623±177	576±188
Komórki T-CD8+	553±208	543±212	564±229	549±160
Stosunek CD4+/CD8+	1,46±0,58	1,26±0,41*	1,22±0,45	1,09±0,35
Limfocyty B	218±94	186±95*	170±75	140±101
Limfocyty NK	586±318	558±299	566±271	415±188
Monocyty	241±92	217±97*	224±93	179±74
Płytki krwi (×10 <sup>3</sup> )	230±59,7	214±48,8*	200±3,4	172±44,8
Hemoglobina, g/dl	14,5±1,6	14,7±1,5	14,5±1,7	13,6±1,6

Objaśnienie: \*  $p < 0,05$  w stosunku do kontroli.

**Tabela 7.** Skutki działania toksycznego benzenu obserwowane u ludzi zawodowo narażonych na jego działanie  
**Table 7.** Toxic effects of benzene observed in humans occupationally exposed to it

Produkcja/przemysł	Opis badania	Mierzony parametr	Stężenie benzenu	Wynik badania	Piśmiennictwo
Produkcja obuwia	grupa badana ( $n = 250$ ), grupa kontrolna ( $n = 140$ ), średni wiek – $29,9 \pm 8,4$ lat, czas narażenia – $6,1 \pm 2,9$ lat	elementy krwi obwodowej (tab. 5)	4 grupy: kontrola; osoby narażone na benzen o stężeniu: $<3,2$ mg/m <sup>3</sup> , $3,2 \div 32,0$ mg/m <sup>3</sup> $\geq 32$ mg/m <sup>3</sup>	znaczne obniżenie liczby WBC, granulocytów, sumy limfocytów, komórek T-CD4+, limfocytów B, monocytów i płytek krwi	Lan i in. 2004
Produkcja kleju i obuwia	grupa badana ( $n = 130$ ), grupa kontrolna ( $n = 51$ ), zatrudnienie w warunkach narażenia na benzen min. 3 lata	RBC, WBC, neutrofile, limfocyty, płytki krwi, HCT, aberracje chromosomalne	w dniu pobierania krwi stężenie benzenu: $0,19 \div 390,4$ mg/m <sup>3</sup> , średnie 4-tygodniowe stężenie benzenu: $0,26 \div 174,4$ mg/m <sup>3</sup>	istotne obniżenie liczby RBC, WBC i neutrofilii; wystąpienie aberracji chromosomalnych	Qui i in. 2002
Produkcja gumy, obuwia, farmaceutyków	grupa badana ( $n = 928$ ), ocena narażenia w latach 2003-2007	stężenie Hb, RBC, WBC, limfocyty, neutrofile, eozynofile, płytki, MPV	stężenie benzenu: $0,07 \div 872$ mg/m <sup>3</sup> ; mediana: $7,4$ mg/m <sup>3</sup>	anemia i makrocytoza przy stężeniach benzenu $>32$ mg/m <sup>3</sup>	Schnatter i in. 2010
Przemysł chemiczny	grupa badana ( $n = 387$ ), grupa kontrolna ( $n = 553$ ), ocena narażenia w latach 1979-1988	stężenie Hb, RBC, WBC, MCV, płytki	stężenie benzenu: $0,03 \div 4,5$ mg/m <sup>3</sup>	brak zmian	Collins i in. 1991; 1997
Przemysł chemiczny	grupa badana ( $n = 701$ ), grupa kontrolna ( $n = 1059$ ), obserwacje pracowników prowadzono w latach 1980-2000	stężenie Hb, HCT, WBC, limfocyty, neutrofile, eozynofile, bazofile, monocyty	4 grupy: kontrola; osoby narażone na benzen o stężeniu: $<1,6$ mg/m <sup>3</sup> , $1,6 \div 3,2$ mg/m <sup>3</sup> i $>3,2$ mg/m <sup>3</sup>	brak zmian	Swaen i in. 2010
Produkcja ropy naftowej	grupa badana ( $n = 1200$ ), grupa kontrolna ( $n = 3227$ )	stężenie Hb, HCT, WBC, RBC, limfocyty, MCV, płytki	średnie stężenie benzenu w okresie obserwacji: w latach 1977-1988 – $2,0$ mg/m <sup>3</sup> ; w latach 1988-2002 – $0,45$ mg/m <sup>3</sup>	brak zmian	Tsai i in. 2004
Stacje paliw/serwis samochodowy	grupa badana ( $n = 50$ ), grupa kontrolna ( $n = 35$ ), okres zatrudnienia – min. 7 lat	stężenie Hb, HCT, RBC, MCV, MCH, MCHC, WBC, płytki, limfocyty, CD4+, CD8+, CD16+, komórki CD19+, CD56+, komórki T i B, eozynofile, neutrofile, monocyty	narażenia na wysokie stężenia benzenu; wielkość narażenia oceniono na podstawie wydalania kwasu <i>trans,trans</i> -mukonowego	istotne obniżenie stężenia Hb, liczby RBC, płytek, leukocytów, CD4+, CD8+, CD19+ zwiększenie MCV, liczby WBC, neutrofilii, monocytów; CD16+, CD56+	Ray i in. 2007

cd. tab. 7 / Table 7 cont.

Produkcja/przemysł	Opis badania	Mierzony parametr	Stężenie benzenu	Wynik badania	Piśmiennictwo
Zakłady przemysłowe	grupa badana ( $n = 114$ ), grupa kontrolna ( $n = 114$ ), okres zatrudnienia – min. 2 lat	stężenie Hb; WBC, RBC, limfocyty, neutrofile, płytki; 27 różnych cytokin	stężenie benzenu: grupa kontrolna: $0,05 \div 0,3 \text{ mg/m}^3$ ; grupa badana: $0,15 \div 0,3 \text{ mg/m}^3$	obniżenie liczby WBC, obniżenie poziomu interleukiny	Wang i in. 2021

Objaśnienia:

WBC – liczba krwinek białych.

RBC – liczba krwinek czerwonych.

ALC – bezwzględna liczba limfocytów.

MCV – średnia objętość krwinki czerwonej.

Hb – hemoglobina.

CD4+, CD8+, CD19+, CD16+, CD56+ – typy monocytów.

We krwi 114 pracowników chińskich zakładów przemysłowych oznaczono stężenie Hb, WBC, RBC, limfocytów, neutrofilii, płytek oraz poziom 27 różnych cytokin (tab. 7), (Wang i in. 2021). Pracownicy byli narażeni na niskie stężenia benzenu. Zaobserwowano istotne obniżenie liczby WBC i poziomu interleukiny 9 (IL-9). Autorzy uważają, że IL-9 może być wczesnym markerem hematotoksycznego działania benzenu (tab. 7).

Na podstawie badań przeprowadzonych przez Lan i in. (2004) wyznaczono wartość LOAEL dla skutków hematotoksycznych (DECOS 2014). W grupie o najniższym narażeniu średnie stężenie benzenu wynosiło  $1,8 \text{ mg/m}^3$  (0,6 ppm) i tę wartość przyjęto za LOAEL (tab. 8). W toku dalszej analizy z grupy badanej wydzielono podgrupę, którą stanowiły osoby narażone na benzen o stężeniu  $0,9 \text{ mg/m}^3$ . W tej grupie również zanotowano obniżenie poziomu elementów krwi obwodowej (tab. 8).

Qu i in. (2002) ocenili narażenie na benzen 130 pracowników 3 chińskich fabryk (fabryki: kleju, gumy i obuwi), (tab. 8). Po analizie otrzymanych wyników stężenie benzenu  $1,6 \text{ mg/m}^3$  (0,5 ppm) przyjęto jako wartość LOAEL zarówno dla skutków hematotoksycznych, jak i występowania aberracji chromosomalnych (tab. 8), (DECOS 2014). Schnatter i in. (2010) również zanotowali zmiany hematologiczne (anemia) u pracowników narażonych na niskie stężenia benzenu. Na podstawie ich badań określono wartość LOAEL –  $3,3 \text{ mg/m}^3$  (1 ppm).

Collins i in. (1997), Swaen i in. (2010) oraz Tsai i in. (2004), oceniając poziom krwinek białych i czerwonych we krwi obwodowej pracowników narażonych na niskie stężenia benzenu, stwierdzili, że są one porównywalne z wartościami

kontrolnymi. Na podstawie badań Collinsa i in. (1997) wartość  $1,8 \text{ mg benzenu/m}^3$  przyjęto za NOAEL. Wyniki badań Swaena i in. (2010) pozwoliły na przyjęcie stężenia benzenu  $3 \text{ mg/m}^3$  (0,9 ppm) za wartość NOAEL, a z wyników Tsai i in. (2004) wyznaczono wartość NOAEL równą  $2 \text{ mg/m}^3$  (0,6 ppm).

Kolejną istotną przesłanką do badań wpływu niskich stężeń benzenu na organizm człowieka są doniesienia, że w tych warunkach obok zaburzeń hematologicznych ujawnia się też działanie genotoksyczne substancji. Kim i in. (2004) obserwowali aberracje chromosomalne u robotników pracujących przy piecu koksowniczym i stwierdzili, że były one wynikiem narażenia na benzen o stężeniach  $0,03 \div 2,4 \text{ mg/m}^3$  (średnia geometryczna  $1,8 \text{ mg/m}^3$ ). Podobne obserwacje opisali również Qu i in. (2002).

Podsumowując, przewlekłe narażenie ludzi na benzen wiąże się ze zmniejszoną produkcją erytrocytów, leukocytów i płytek, co może prowadzić do powstania anemii aplastycznej, trombocytopenii i pancytopenii. Na wpływ benzenu na układ odpornościowy wskazuje supresja WBC, szczególnie limfocytów takich jak CD4+T, komórek B i Nk (Carbonari i in. 2016; Guo i in. 2020; Lan i in. 2004; Qu i in. 2002; Schnatter i in. 2010). Powyższe badania wskazują, że wartości NOAEL wahają się  $1,8 \div 3 \text{ mg benzenu/m}^3$ , a wartości LOAEL  $0,9 \div 3,3 \text{ mg benzenu/m}^3$  (DECOS 2014). Schnatter i in. (2020) przeprowadzili analizę 36 badań hematotoksycznego działania benzenu w warunkach zawodowego narażenia. Na tej podstawie określili dla benzenu wartości LOAEC i NOAEC, odpowiednio  $6,4 \text{ mg/m}^3$  (2 ppm) i  $1,6 \text{ mg/m}^3$  (0,5 ppm).

**Tabela 8.** Podsumowanie wyników badań parametrów hematologicznych u ludzi narażonych na niskie stężenia benzenu (DECOS 2014)  
**Table 8.** Summary of studies of hematological parameters in humans exposed to low concentrations of benzene (DECOS 2014)

Produkcja/przemysł	Liczba narażonych	Średnie stężenie benzenu (zakres)		Obserwowany skutek <3,3 mg/m <sup>3</sup> (1 ppm)	Piśmiennictwo
		mg/m <sup>3</sup>	ppm		
Produkcja obuwia	250	0,9	0,3	+	Lani in. 2004
Produkcja kleju i obuwia	131	0,5 (0 ÷ 1,6)	0,14 (0 ÷ 0,5)	+	Qui in. 2002
Produkcja gumy, obuwia, farmaceutyków	928	7,4 (0,1 ÷ 872)	2,3 (0 ÷ 268)	+	Schnatter i in. 2010
Przemysł chemiczny	200	(0 ÷ 4,6)	(0 ÷ 1,4)	-	Collins i in. 1991
Przemysł chemiczny	387	1,8	0,6	-	Collins i in. 1997
Przemysł chemiczny	701	(0,5 ÷ 3,0)	(0,1 ÷ 0,9)	-	Swaen i in. 2010
Produkcja ropy naftowej	1200	<2,0	<0,6	-	Tsai i in. 2004

Objaśnienie:

+ – liczba elementów morfotycznych krwi uległa zmniejszeniu.

## DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

### Toksyczność ostra i krótkoterminowa

W tabeli 9 podano wartości LD<sub>50</sub> i LC<sub>50</sub> dla różnych gatunków zwierząt narażonych na benzen.

Dane przedstawione w tabeli 9 wskazują na niewielką toksyczność ostrą benzenu. Po dożołądkowym podaniu benzenu wartości LD<sub>50</sub> osiągają wartości w granicach od 930 mg/kg mc. do powyżej 5000 mg/kg mc., w zależności od gatunku badanego zwierzęcia. *Withey* i *Hall* (1975) po dożołądkowym podaniu szczurom benzenu w dawce 5,97 g/kg mc. obserwowali u zwierząt: porażenie tylnych kończyn, krwawe wybroczyny z nosa i dróg moczowych, niezbyt żołądka ze złuszczeniem nabłonka części gruczołowej. Po narażeniu zwierząt na benzen drogą inhalacyjną wartości LC<sub>50</sub> osiągają stężenia powyżej 30 000 mg/m<sup>3</sup>. Narażenie na benzen drogą inhalacyjną w wysokich stężeniach powodowało padnięcie zwierząt. U padłych zwierząt stwierdzano głównie przekrwienie narządów wewnętrznych, przede wszystkim płuc i wątroby (DECOS 2014; *Lebrecht* i in. 2003).

Narażenie na benzen o dużym stężeniu spowodowało u małych kotów zaburzenia w układzie sercowo-naczyniowym. W zapisie EKG stwierdzono tachykardię komorową oraz skurcze dodatkowe. Arytmię komorową obserwowano u szczurów w wyniku narażenia przez 15 min na benzen

o stężeniach 8283 ÷ 26 316 mg/m<sup>3</sup> (*Lebrecht* i in. 2003).

Benzen wykazywał u zwierząt działanie drażniące. Po nałożeniu benzenu na skórę królika obserwowano rumień, obrzęk oraz martwicę w stopniu umiarkowanym. Benzen działał drażniąco również na błony śluzowe oczu, dróg oddechowych, jamy ustnej, przełyku i żołądka (DECOS 2014).

Badanie działania toksycznego benzenu w warunkach zatrucia krótkoterminowego przeprowadzono na myszach i szczurach po narażeniu inhalacyjnym oraz po podaniu podskórnym. Przykłady tego typu badań przedstawiono w tabeli 10.

*Sun* i in. (2014) badali wpływ benzenu na parametry krwi i szpiku kostnego, podając związek myszom C3H/He podskórnym przez 7 dni (tab. 10). Po podaniu dawki 600 mg/kg mc. zwierzęta były początkowo pobudzone, a później ospałe. Po podaniu obu dawek benzenu (300 i 600 mg/kg mc.) zanotowano obniżenie względnej masy płuc i śledziony oraz stężenia Hb i liczby RBC. Zanotowano zmiany (w stosunku do kontroli) liczby oznaczanych komórek w szpiku kostnym. Stwierdzono także, że podanie benzenu miało wpływ na poziom lizyny, fenyloalaniny i tyrozyny w komórkach szpiku kostnego. Poziom lizyny uległ obniżeniu, a pozostałych 2 aminokwasów podwyższeniu.

**Tabela 9.** Mediany dawek śmiertelnych ( $LD_{50}$ ) i stężeń śmiertelnych ( $LC_{50}$ ) benzenu dla zwierząt (ATSDR 2007; ChemIDplus 2021; DECOS 2014)**Table 9.** Median lethal doses ( $LD_{50}$ ) and lethal concentrations ( $LC_{50}$ ) of benzene for animals (ATSDR 2007; ChemIDplus 2021; DECOS 2014)

Droga podania	Gatunek zwierząt	Wartość $LD_{50}/LC_{50}$
Dożołądkowa	ssaki (brak inf. o gatunku)	5 700 mg/kg mc.
	mysz	4 700 mg/kg mc.
	szczur	930 mg/kg mc.
Dootrzewnowa	mysz	340 mg/kg mc.
Dermalna	kawia domowa (świnka morska)	>9 400 $\mu$ l/kg mc. >8 260 mg/kg mc.
	mysz	48 mg/kg mc.
	królik	>9 400 $\mu$ l/kg mc. >8 260 mg/kg mc.
Inhalacyjna	szczur	32 000 mg/m <sup>3</sup> /7 h
	szczur	44 500 mg/m <sup>3</sup> /4 h
	mysz	31 940 mg/m <sup>3</sup>

Farris i in. (1997a; 1997b) przeprowadzili kilkutygodniowe badania działania hematotoksycznego benzenu na myszach (tab. 10). Statystycznie znamienne obniżenie liczby limfocytów śledziony, grasicy i udowej krwi tętniczej zanotowano po narażeniu inhalacyjnym na 2 najwyższe stężenia benzenu (319 i 639 mg/m<sup>3</sup>). Na podstawie uzyskanych wyników określono wartość NOAEL – 32 mg/m<sup>3</sup> i LOAEL – 319 mg/m<sup>3</sup>.

Ocenę neurotoksycznego działania benzenu badano na myszach szczepu Kunming, które były narażane inhalacyjnie (Sun i in. 1992), (tab. 10). Najniższe stężenie benzenu (2,5 mg/m<sup>3</sup>) spowodowało wzrost siły chwytnej kończyn przednich i wzmożoną aktywność ruchową, po narażeniu na stężenie 40 mg/m<sup>3</sup> efekt był odwrotny. Po narażeniu zwierząt na stężenie benzenu 10 mg/m<sup>3</sup> wyniki testów były niejednoznaczne. Aktywność acetylocholinoesterazy (AChE) we krwi i mózgu była obniżona po stężeniach 10 i 40 mg/m<sup>3</sup>. Inhibicja układów biało- i czerwonekrowinkowego szpiku kostnego, szczególnie istotna w grupie zwierząt

narażonych na najwyższe stężenie benzenu, skutkowało procentowym obniżeniem poziomu mieloblastów, premyelocytów, mielocytów, erytroblastów i megakariocytów. Autorzy (Sun i in. 1992) jako LOAEL dla efektu neurotoksycznego proponowali najniższe stężenie benzenu, tj. 2,5 mg/m<sup>3</sup> (tab. 10).

Przeprowadzone przez Robinsona i in. (1997) badania na szczurach miały na celu ocenę immunotoksycznego i immunosupresyjnego działania benzenu. Zwierzęta narażane były inhalacyjnie przez 2 lub 4 tygodnie (tab. 10). Oceniono stan grasicy i śledziony oraz liczbę limfocytów. Statystycznie istotne zmiany zanotowano po narażeniu szczurów na stężenie benzenu 1278 mg/m<sup>3</sup> (najwyższe z zastosowanych stężeń, LOAEL). Uzyskane wyniki sugerują, że po narażeniu szczurów przez 6 h dziennie, 5 dni w tygodniu przez 2 lub 4 tygodnie na benzen o stężeniach 639 mg/m<sup>3</sup> (NOAEL) i niższych nie występują efekty immunotoksycznego działania benzenu.

**Tabela 10.** Skutki działania toksycznego benzenu na zwierzęta laboratoryjne w warunkach wielokrotnego narażenia krótkoterminowego  
**Table 10.** Effects of benzene toxicity on laboratory animals under repeated short-term exposure conditions

Gatunek zwierząt, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Mierzone parametry	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy C3H/He, ♂ (n = 6)	podanie podskórne; grupa kontrolna – olej słonecznikowy, grupa badana – benzen w oleju słonecznikowym, 1 raz dziennie przez 7 dni w dawkach: 0 (kontrola), 300, 600 mg/kg mc.	ocena masy ciała, względnej masy wątroby, płuc, śledziony, nerek; krew – stężenie Hb, WBC, RBC, płytki; szpik kostny – komórki mieloidalne i erytroidalne	brak zmian masy ciała, obniżenie masy płuc i śledziony; istotne obniżenie stężenia Hb i liczby RBC; zwiększenie liczby komórek mieloidalnych, zależne od dawki obniżenie liczby komórek erytroidalnych	Sun i in. 2014
Myszy Kunming, ♂ (n = 10)	narażenie inhalacyjne; stężenie benzenu: 0 (kontrola); 2,5; 10, 40 mg/m <sup>3</sup> ; 2 h/dzień, 6 dni/tyg. 30 dni	test biegania w labiryncie Y, aktywność lokomotoryczna, siła chwytana kończyn przednich, aktywność AChE we krwi i mózgu; proliferacja układu biało- i czerwono-krwinkowego	stężenie 2,5 mg/m <sup>3</sup> – zwiększenie siły chwytnej kończyn przednich, wzmożona aktywność ruchowa; stężenie 40 mg/m <sup>3</sup> – obniżenie siły uchwytu kończyn i zahamowanie aktywności ruchowej; aktywność AChE obniżona po stężeniach 10 lub 40 mg/m <sup>3</sup> ; inhibicja układów biało- i czerwono-krwinkowego LOAEL dla efektu neurotoksycznego 2,5 mg/m <sup>3</sup>	Sun i in. 1992
Myszy B6C3F1, ♂ (n = 3 ÷ 9)	narażenie inhalacyjne; badania podzielono na 2 etapy, stężenie benzenu w 1. etapie: 0 (kontrola); 3,2; 32; 319; 639 mg/m <sup>3</sup> ; 6 h/dzień, 5 dni/tyg. przez 1, 2, 4 lub 8 tygodni; w 2. etapie: 0 (kontrola); 3,2; 16; 32 mg/m <sup>3</sup> ; 6 h/dzień, 5 dni/tyg. przez 1, 2 i 4 tygodnie	etap 1 – ocena liczby limfocytów grasicy i śledziony, liczby i replikacji B-limfocytów pobranych z tętnicy udowej; ocena apoptozy; etap 2 – ocena liczby T- i B-limfocytów śledziony oraz T-limfocytów grasicy	znamiennie obniżenie liczby limfocytów śledziony, grasicy i z udowej krwi tętniczej po narażeniu na benzen o stężeniu 319 i 639 mg/m <sup>3</sup> ; odsetek B-limfocytów w udowej krwi tętniczej i T-limfocytów grasicy w apoptozie był odpowiednio 6 i 15 razy większy po narażeniu na 319 lub 630 mg/m <sup>3</sup> niż w grupie kontrolnej; po narażeniu na stężenia 3,2 lub 32 mg/m <sup>3</sup> nie obserwowano zmian; NOAEL – 32 mg/m <sup>3</sup> LOAEL – 319 mg/m <sup>3</sup>	Farris i in. 1997a; 1997b
Szczury Sprague-Dawley, ♂ (n = 16)	narażenie inhalacyjne; stężenie benzenu: 0 (kontrola); 96, 639 i 1278 mg/m <sup>3</sup> ; 6 h/dzień, 5 dni/tyg., 2 lub 4 tygodnie	ocena masy ciała, śledziony i grasicy; ocena ogólnej liczby komórek śledziony i komórkowości szpiku kostnego; ocena poziomu limfocytów B, T (CD4+/CD5+, CD5+)	1278 mg/m <sup>3</sup> – po 2 tygodniach redukcja liczby B-limfocytów, 1278 mg/m <sup>3</sup> – po 4 tygodniach: redukcja masy grasicy o 28% i ogólnej liczby komórek śledziony o 29%; redukcja liczby B- i T-limfocytów (CD4+/CD5+ oraz CD5+) NOAEL – 639 mg/m <sup>3</sup> LOAEL – 1278 mg/m <sup>3</sup>	Robinson i in. 1997

Objaśnienia:

♂ – samce.

BFU-E – komórki tworzące kolonie erytroidalne.

CFU-GEMM – komórki tworzące kolonie granulocytów, erytroidów, makrofagów, megakariocytów.

CFU-GM – komórki tworzące kolonie granulocytowo-makrofagowe.

CFU-G – komórki tworzące kolonie granulocytów.

CFU-M – komórki tworzące kolonie makrofagów.



## Toksyczność podprzewlekle

Badania myszy i szczurów po 3-miesięcznym inhalacyjnym narażeniu na benzen przeprowadzili Ward i in. (1985), (tab. 11). W przypadku obu gatunków zwierząt nie obserwowano zmiany masy ciała ani objawów klinicznych, a statystycznie istotne zmiany parametrów biochemicznych zanotowano po narażeniu na największe stężenie benzenu – 958 mg/m<sup>3</sup>. U myszy zanotowano obniżenie stężenia Hb, hematokrytu, RBC, liczby leukocytów i płytek, stosunku M/E, wzrost MCV i MCH. U szczurów wpływ benzenu był mniej zaznaczony (tab. 11). Wyniki uzyskane przez Warda i in. (1985) wskazują, że szczury są bardziej odporne na działanie benzenu niż myszy.

Po inhalacyjnym narażeniu myszy na benzen o stężeniach 80 ÷ 1278 mg/m<sup>3</sup> (tab. 11) stwierdzono istotne, zależne od stężenia obniżenie liczby limfocytów, komórkowości szpiku kostnego, liczby komórek śledziony tworzących kolonie (CFU-S) oraz wzrost frakcji CFU-S w syntezie DNA. Poprawa badanych parametrów była szybka, a powrót do wartości kontrolnych zanotowano 2 ÷ 4 tygodnie po narażeniu myszy. Po narażeniu myszy na stężenie benzenu 32 mg/m<sup>3</sup> przez 2 tygodnie nie obserwowano hematotoksycznego działania benzenu (Cronkite i in. 1989).

Myszy B6C3F1 otrzymywały w oleju kukurydzianym benzen o różnych stężeniach: 25, 50, 100, 200, 400 lub 600 mg/kg (co EPA (2002) oszacowała na dawki, odpowiednio: 18, 36, 71, 143, 286 lub 429 mg/kg mc./dzień) przez 17 tygodni (tab. 11). W okresie narażenia nie zanotowano śmierci zwierząt spowodowanej narażeniem na benzen, ale po 2 największych dawkach w czasie 3 ostatnich tygodni eksperymentu sporadycznie występowały u myszy drżenia. Były one bardziej widoczne u samic niż samców. Leukopenię i limfocytopenię obserwowano dopiero po 120 dniach. Na podstawie otrzymanych wyników wyznaczono dla efektów hematologicznych wartości NOAEL i LOAEL, które różniły się dla samic i samców. Wynosiły one odpowiednio: NOAEL: 200 i 25 mg/kg w oleju słonecznikowym (wg EPA to 143 i 18 mg/kg mc./dzień) oraz LOAEL: 400 i 50 mg/kg

w oleju słonecznikowym (wg EPA to 286 i 36 mg/kg mc./dzień), (EPA 2002; Huff i in. 1989; NTP 1986).

Podobne badania (17 tygodni narażenia na benzen w dawkach 25 ÷ 600 mg/kg w oleju słonecznikowym (wg EPA odpowiadających 18 ÷ 429 mg/kg mc./dzień) przeprowadzono również na szczurach F344 (tab. 11), (NTP 1986). Głównymi skutkami hematotoksycznego działania benzenu były leukopenia i limfocytopenia. Obserwowano również zwiększenie hematopoezy pozaszpikowej w śledzionie. Nie wyznaczono NOAEL, natomiast wartości LOAEL dla samic i samców wynosiły odpowiednio 25 i 200 mg/kg w oleju słonecznikowym (co odpowiadało wg EPA 18 i 143 mg benzenu/kg mc./dzień). Doświadczenia, w których podawano benzen przez 17 tygodni, stanowiły przygotowanie do badań długoterminowych (narażenie przez 103 tygodnie) i były podstawą do wyznaczenia dawek w tych badaniach (EPA 2002; Huff i in. 1989; NTP 1986).

W kolejnych badaniach Sun i in. (2015) oceniali wpływ benzenu na zdolność komórek progenitorowych do tworzenia kolonii oraz ekspresję genów w HS/PCs (*hematopoietic stem or progenitor cells* – hematopoetyczne komórki macierzyste lub progenitorowe) u myszy. Stwierdzono istotne obniżenie zdolności komórek progenitorowych do tworzenia kolonii: BFU-E, CFU-GEMM, CFU-GM, natomiast w przypadku CFU-G i CFU-M otrzymane wyniki nie różniły się od wyników uzyskanych w grupie kontrolnej. Zmiany w badanych genach (Wnt, Notch i Hedgehog (Hh)) mogą mieć wpływ na proces apoptozy, cykl komórkowy, proliferację i różnicowanie komórek w HS/PCs. Zanotowane w tych badaniach zmiany w ekspresji badanych genów nie były istotne statystycznie, ale autorzy pracy uważają, że zmiany te mogą utrzymywać się po zakończonym narażeniu na benzen i odgrywać rolę w indukcji hematotoksycznego działania benzenu. Po obu zastosowanych dawkach benzenu (150 i 300 mg/kg mc.) po 3 miesiącach narażenia i 10 miesiącach obserwacji stwierdzono istotne obniżenie stężenia Hb i liczby WBC, RBC i płytek (tab. 11).

**Tabela 11.** Skutki działania benzenu na zwierzęta laboratoryjne w warunkach narażenia podprzewlekłego  
**Table 11.** Effects of benzene on laboratory animals under subchronic exposure conditions

Gatunek zwierząt, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Mierzone parametry	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy C57B1/6 BNL, ♂ ( <i>n</i> = 5 ÷ 10)	narażenie inhalacyjne; stężenie benzenu: 0 (kontrola); 32; 80, 319, 957 lub 1278 mg/m <sup>3</sup> ; 6 h/dzień, 5 dni/tyg. od 2 do 16 tygodni	hematokryt, WBC i wzór odsetkowy, RBC, komórkowość szpiku kostnego, liczba komórek tworzących kolonie w szpiku kostnym i śledzienie (CFU-S)	limfopenia po 80 mg/m <sup>3</sup> ; stężenia benzenu 319 mg/m <sup>3</sup> i większe – zależne od wielkości narażenia obniżenie liczby limfocytów, komórkowości szpiku kostnego, liczby komórek śledziony tworzących kolonie (CFU-S) oraz wzrost frakcji CFU-S w syntezie DNA; po narażeniu na 957 mg/m <sup>3</sup> przez 2, 4, 8 i 16 tygodni – ciężka limfopenia i obniżenie szpikowej frakcji CFU-S; NOAEL – 32 mg/m <sup>3</sup> LOAEL – 80 mg/m <sup>3</sup>	<i>Cronkite</i> i in. 1989
Myszy CD-1, ♂, ♀ ( <i>n</i> = 20)	narażenie inhalacyjne; stężenie benzenu: 0 (kontrola); 3,2; 32; 96 i 956 mg/m <sup>3</sup> ; 6 h/dzień, 5 dni/tyg. do 91 dni; badania przeprowadzano po 7, 14, 28, 56 i 91 dniach	ocena masy ciała, narządów; ocena histopatologiczna, we krwi oznaczono stężenie Hb, hematokryt, RBC, MCV, MCH, liczbę płytek, retikulocytów, leukocytów; stosunek M/E w szpiku kostnym	zmiany mikroskopowe w grasicy, szpiku kostnym, węzłach chłonnych, śledzienie, jajnikach i jądrach; zmiany u samców były silniej zaznaczone niż u samic; po narażeniu na benzen o stężeniu 958 mg/m <sup>3</sup> – obniżenie stężenia Hb, hematokrytu, RBC, liczby leukocytów i płytek, stosunku M/E, wzrost MCV i MCH; NOAEL – 96 mg/m <sup>3</sup> LOAEL – 958 mg/m <sup>3</sup>	<i>Ward</i> i in. 1985
Myszy B6C3F1, ♂, ♀ ( <i>n</i> = 10; 17-tygodniowe)  badanie dodatkowe ( <i>n</i> = 5)	droga pokarmowa; benzen w dawkach: 0 (kontrola); 25; 50; 100; 200; 400 i 600 mg/kg w oleju kukurydzianym*; 5 dni/tyg. przez 17 tygodni; badania dodatkowe: 0 (kontrola), 200 lub 600 mg/kg* po 60 dniach	ocena: śmiertelności zwierząt, stanu klinicznego i masy ciała; analiza hematologiczna; RBC, WBC i wzór odsetkowy	zmniejszenie masy ciała – po dawce 71, 143, 286 lub 429 mg/kg mc./dzień* – o 4 ÷ 10%; 36, 71, 143, 286 i 429* mg/kg mc./dzień – po 120 dniach – leukopenia i limfocytopenia (samce); 286 mg/kg mc./dzień* – po 120 dniach – limfocytopenia (samice); 286 lub 429 mg/kg mc./dzień* – po 120 dniach – leukopenia i limfocytopenia (samice); NOAEL <sub>samice</sub> – 143 mg/kg mc./dzień* LOAEL <sub>samice</sub> – 286 mg/kg mc./dzień* NOAEL <sub>samce</sub> – 18 mg/kg mc./dzień* LOAEL <sub>samce</sub> – 36 mg/kg mc./dzień*	NTP 1986; <i>Huff</i> i in. 1989; EPA 2002
Myszy C3H/He-♂ ( <i>n</i> = 20)	podanie podskórne, benzen w oleju słonecznikowym, 1 raz dziennie/5 dni/tyg., przez 3 miesiące w dawkach: 0 (kontrola), 150, 300 mg/kg mc; obserwacja 10 miesięcy po narażeniu	ocena masy ciała, względnej masy wątroby, płuc, śledziony, nerek; krew – stężenie Hb, WBC, RBC, płytki; tworzenie kolonii przez komórki progenitorowe BFU-E, CFU-GEMM, CFU-GM, CFU-G, CFU-M; ocena ekspresji genów Wnt, Notch i Hedgehog (Hh)	150 mg/kg – obniżenie masy ciała o 8%, brak zmian względnej masy narządów; 300 mg/kg – obniżenie masy ciała o 15% i zwiększenie względnej masy śledziony; po obu dawkach: istotne obniżenie stężenia Hb i liczby WBC, RBC i płytek; istotne obniżenie zdolności komórek progenitorowych do tworzenia kolonii: BFU-E, CFU-GEMM, CFU-GM	<i>Sun</i> i in. 2015

cd. tab. 11 / Table 11 cont.

Gatunek zwierząt, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Mierzone parametry	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury F344, ♂, ♀ (n = 10; 17-tygodniowe) badanie dodatkowe (n = 5)	droga pokarmowa; benzen w dawkach: 0 (kontrola); 25; 50; 100; 200; 400 lub 600 mg/kg w oleju kukurydzianym*; 5 dni/tyg. przez 17 tygodni; badanie dodatkowe: 0 (kontrola); 200 lub 600 mg/kg* po 60 dniach	ocena: śmiertelności zwierząt i masy ciała; analiza hematologiczna; RBC, WBC i wzór odsetkowy, ocena hematopoezy pozaszpikowej	zmniejszenie masy ciała po dawce 143, 286 lub 429 mg/kg mc./dzień* – o 14 ÷ 22%; 143 lub 429 mg/kg mc./dzień* – po 60 dniach narażenia leukopenia i limfocytopenia u samców i samic; 18 mg/kg mc./dzień* – po 120 dniach limfocytopenia u samic; obniżenie liczby komórek B w śledzionie u wszystkich zwierząt po dawce 429 mg/kg mc./dzień*; zwiększenie hematopoezy pozaszpikowej w śledzionie – u 4/5 samców i 3/5 samic po dawce 429 mg/kg mc./dzień* LOAEL <sub>samic</sub> – 18 mg/kg mc./dzień* LOAEL <sub>samce</sub> – 143 mg/kg mc./dzień*	NTP 1986; Huff i in. 1989; EPA 2002
Szczury Sprague-Dawley, ♂, ♀ (n = 20)	narażenie inhalacyjne; stężenie benzenu: 0 (kontrola); 3,2; 32; 96 i 956 mg/m <sup>3</sup> ; 6 h/dzień, 5 dni/tyg., do 91 dni; badania przeprowadzono po 7, 14, 28, 56 i 91 dniach	ocena masy ciała, narządów; ocena histopatologiczna; we krwi oznaczono stężenie Hb, hematokryt, RBC, MCV, MCH, liczbę płytek, retikulocytów, leukocytów; stosunek M/E w szpiku kostnym	ocena histopatologiczna – brak zmian; 96 mg/m <sup>3</sup> – w grupie samic zwiększenie względnej masy tarczycy; 956 mg/m <sup>3</sup> – niewielkie zmniejszenie komórkowości szpiku kostnego, zmniejszenie liczby leukocytów, zwiększenie liczby neutrofilii NOAEL – 96 mg/m <sup>3</sup> LOAEL – 958 mg/m <sup>3</sup>	Ward i in. 1985

Objaśnienia:

♂ – samce.

♀ – samice.

BFU-E – komórki tworzące kolonie erytroidalne.

CFU-GEMM – komórki tworzące kolonie granulocytów, erytroidów, makrofagów, megakariocytów.

CFU-GM – komórki tworzące kolonie granulocytowo-makrofagowe.

CFU-G – komórki tworzące kolonie granulocytów.

CFU-M – komórki tworzące kolonie makrofagów.

\* dawki: 25; 50; 100; 200; 400 i 600 mg/kg w oleju kukurydzianym zostały ponownie oszacowane przez EPA (2002) na: 18; 36; 71; 143; 286 lub 429 mg/kg mc./dzień.

### Toksyczność przewlekła

W badaniach przeprowadzonych przez NTP (1986) benzen podawano w oleju kukurydzianym szczurom F344 i myszom B6C3F1 przez 103 tygodnie. Wyniki tych badań zostały opublikowane również przez Huffa i in. (1989). Po 4 ÷ 5 miesiącach narażenia obserwowano u ok. 10% szczurów (obu płci) wydzielinę z oczu początkowo bezbarwną, a w okresie późniejszym zabarwioną na kolor żółty lub czerwony. Zarówno u samic, jak i samców obserwowano leukopenię (tab. 12). W grasicy i śledzionie samców zanotowano zależne od dawki obniżenie liczby komórek limfoidalnych. Nie wyznaczono wartości NOAEL, natomiast wartości LOAEL dla samic i samców wynosiły odpowiednio: 25 i 50 mg/kg w oleju słonecznikowym

(co EPA (2002) oszacowała na dawki 18 i 36 mg benzenu/kg mc./dzień).

Myszy B6C3F1 otrzymywały benzen przez 103 tygodnie (tab. 12), (Huff i in. 1989; NTP 1986). Zarówno u samów, jak i samic we krwi obwodowej obserwowano przede wszystkim obniżenie liczby leukocytów i limfocytów. Zanotowano również hiperplazję szpiku kostnego i zwiększenie procesu hematopoezy w śledzionie. U samic obserwowano zwiększoną liczbę przypadków hiperplazji nabłonka jajników i atrofii jajników w porównaniu z kontrolą. Nie wyznaczono wartości NOAEL, natomiast wartość LOAEL dla samic i samców wynosiła 25 mg/kg w oleju słonecznikowym (wg EPA to 18 mg benzenu/kg mc./dzień). Podstawą wyznaczenia tej wartości były leukopenia i limfocytopenia.

**Tabela 12.** Skutki działania benzenu na zwierzęta laboratoryjne w warunkach narażenia przewlekłego  
**Table 12.** Effects of benzene on laboratory animals under chronic exposure conditions

Gatunek zwierząt, liczebność grup badanych	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Mierzone parametry	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy B6C3F1, ♀, ♂ (n = 60)	droga pokarmowa; benzen w dawkach: 0 (kontrola); 25; 50 i 100 mg/kg mc. w oleju kukurydzianym*; 5 dni/tyg. 103 tygodnie	ocena: śmiertelności zwierząt i masy ciała; histopatologia; analiza hematologiczna: stężenie Hb, RBC, MCV, WBC i wzór odsetkowy, ocena hematopojezy w śledzionie i szpiku kostnym	samce i samice – po najwyższej dawce śmiertelność istotnie wyższa niż w kontroli, zmniejszenie masy ciała o 10% lub więcej; samce – istotne obniżenie liczby leukocytów i limfocytów po 2 wyższych dawkach; samice – leukopenia i limfocytopenia po wszystkich dawkach tylko w 12. i 18. miesiącu narażenia; hyperplazja szpiku kostnego zależna od dawki, odpowiednio: samce – 0/49; 11/48; 10/50; 25/49; samice – 3/49; 14/45; 8/50; 13/49; zwiększenie hematopojezy w śledzionie: samce – 5/49; 9/48; 19/49; 24/47; samice – 9/49; 10/45; 6/50; 14/49; LOAEL – 18 mg/kg mc./dzień*	NTP 1986; Huff i in. 1989; EPA 2002
Szczury F344, ♂, ♀ (n = 60)	droga pokarmowa; benzen w dawkach: samce – 0 (kontrola); 50, 100 lub 200 mg/kg mc. w oleju kukurydzianym*; samice – 0 (kontrola); 25; 50 lub 100 mg/kg mc. w oleju kukurydzianym*; 5 dni/tyg., 103 tygodnie	ocena: śmiertelności zwierząt i masy ciała; histopatologia; analiza hematologiczna: stężenie Hb, RBC, MCV, WBC i wzór odsetkowy, ocena liczby komórek limfoidalnych w grasicy i śledzionie	samce – po najwyższej dawce śmiertelność istotnie wyższa niż w kontroli, zmniejszenie masy ciała o 10% lub więcej; samice – po dawce średniej i najwyższej śmiertelność wyższa niż w kontroli; samce – po wszystkich dawkach leukopenia; samice – po wszystkich dawkach leukopenia do 12. miesiąca narażenia, 15. ÷ 24. miesiąca liczba leukocytów porównywalna z kontrolą; grasica – zależne od dawek obniżenie liczby komórek limfoidalnych u samców, odpowiednio: 0/44; 4/42; 8/41; 10/34; śledziona – zależne od dawek obniżenie liczby komórek limfoidalnych u samców, odpowiednio: 0/49; 19/58; 8/47; 23/47; LOAEL <sub>samice</sub> – 18 mg/kg mc./dzień* LOAEL <sub>samce</sub> – 36 mg/kg mc./dzień*	NTP 1986; Huff i in. 1989; EPA 2002
Myszy B6.129-Cdkn2 kongeniczne, heterozygotyczne, ze zmniejszoną ekspresją białka supresorowego nowotworu p16Ink4a oraz wariantu transkrypcyjnego p19Arf (haploinsufficient p16 <sup>ink4a</sup> /p19 <sup>Arf</sup> ), ♂, ♀ (n = 15)	droga pokarmowa, benzen w oleju kukurydzianym w dawkach: 0 (kontrola); 25; 50; 100 lub 200 mg/kg mc., 5 dni/tyg., przez 27 tygodni; pobranie krwi po 13 i 27 tygodniach	ocena: śmiertelności zwierząt i masy ciała; histopatologia; analiza hematologiczna: hematokryt, stężenie Hb, RBC, MCV, WBC i wzór odsetkowy	niska śmiertelność – padło 1 zwierzę po najwyższej dawce; masa zwierząt narażanych była niższa niż w grupach kontrolnych, obniżenie masy ciała zależało od dawki benzenu; samce – po dawkach 25 mg/kg mc. i wyższych zależne od dawki obniżenie: hematokrytu, stężenia Hb, liczby RBC, WBC; wzrost MCV; samice – po dawkach 50 mg/kg mc. i wyższych: obniżenie liczby limfocytów i leukocytów; 100 lub 200 mg/kg mc. – obniżenie hematokrytu, stężenia Hb, RBC, WBC, zwiększenie MCV; zmiany nienowotworowe: samce – szpik kostny – atrofia i przebarwienia hemosyderynowe; śledziona – proliferacja komórek krwiotwórczych i zanik pęcherzyków limfatycznych; węzły chłonne żuchwy, śródpiersia i krezki – atrofia; skóra – przebarwienia; samice – skóra – przebarwienia; węzły chłonne krezki – atrofia	NTP 2007

Objaśnienie:

\* dawki: 25; 50; 100 lub 200 mg/kg w oleju kukurydzianym zostały ponownie oszacowane przez EPA (2002) na: 18; 36; 71 lub 143 mg/kg mc./dzień.

W badaniach NTP (2007) badanie hematologicznego działania benzenu przeprowadzono na kongenicznych, heterozygotycznych myszach B6.129-Cdkn2a (allel Cdkn2a typu null i dzikiego) ze zmniejszoną ekspresją zarówno białka supresorowego nowotworu p16Ink4a, jak i wariantu transkrypcyjnego p19Arf (NTP 2007; Serrano i in. 1996). Po najwyższej dawce benzenu (200 mg/kg mc.) masa ciała samców była obniżona o 24%, a samic o 7%. U samców po wszystkich dawkach, a u samic po dawkach 50 mg/kg mc. i wyższych zanotowano czarne, brązowe lub szare przebarwienia skóry kończyn. Badania hematologiczne przeprowadzono w 13. i po 27. tygodniu. U samców już po najniższej dawce benzenu (25 mg/kg mc.) zarówno po 13., jak i 27. tygodniu obserwowano istotne obniżenie stężenia hemoglobiny, a także liczby RBC, WBC, leukocytów i limfocytów. Hematokryt i liczba neutrofilów ulegały zmianie po dawkach 50 mg/kg mc. i wyższych. MCV była istotnie wyższa po wszystkich zastosowanych dawkach. Zmiany u samic były mniej zaznaczone, po dawce 50 mg/kg mc. istotnie obniżone były liczby limfocytów i leukocytów, a dopiero po dawkach 100 lub 200 mg benzenu/kg mc. zanotowano zmiany wszystkich mierzonych parametrów. W badaniach histopatologicznych stwierdzono, przede wszystkim u samców, szereg zmian nienowotworowych (tab. 11). Częstość występowania tych zmian zależała od dawki benzenu. U samic zauważono jedynie przebarwienia skóry i atrofię węzłów chłonnych krezki.

Podsumowując badania toksyczności podprzewlekłej i przewlekłej benzenu, można zauważyć, że niezależnie od drogi narażenia obserwowanymi u myszy lub szczurów dominującymi zmianami zależnymi od wielkości narażenia na benzen są leukemia i limfocytopenia. Wartości NOAEL dla tych zmian w przypadku myszy oceniono na 32 lub 96 mg/m<sup>3</sup>, a LOAEL 319 lub 958 mg/m<sup>3</sup>, a w przypadku szczurów odpowiednio na 96 lub 639 mg/m<sup>3</sup> oraz 958 lub 1278 mg/m<sup>3</sup>. Po 3-miesięcznym lub dłuższym narażeniu zwierząt na benzen również obserwowano hematotoksyczne działanie benzenu. Wartości NOAEL i LOAEL dla myszy po narażeniu inhalacyjnym oceniono odpowiednio na 32 lub 80 mg/m<sup>3</sup>.

Po podaniu benzenu drogą pokarmową wartości NOAEL dla myszy wyniosły dla samców i samic odpowiednio 25 lub 200 mg/kg w oleju słonecznikowym (wg EPA – 18 lub 143 mg/kg mc./dzień), a LOAEL 50 lub 400 mg/kg w oleju słonecznikowym (wg EPA to 36 lub 286 mg/kg mc./dzień). W badaniach NTP (1986) po podaniu szczurom drogą pokarmową benzenu nie wyznaczono wartości NOAEL. Wartości LOAEL dla samic i samców po 17-tygodniowym narażeniu wynosiły odpowiednio 25 lub 200 mg/kg w oleju słonecznikowym (wg EPA to 18 lub 143 mg/kg mc./dzień), a dla samic i samców po 103-tygodniowym narażeniu wynosiły odpowiednio 25 lub 50 mg/kg w oleju słonecznikowym (wg EPA – 18 lub 36 mg/kg mc./dzień), (tab. 12), (EPA 2002; NTP 1986).

## ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

### Działanie mutagenne i genotoksyczne

#### Badania in vitro

Test Ames, testy z użyciem różnych systemów (drożdży, mysich komórek chłoniaka, komórek jajnika chomika chińskiego (CHO), ludzkich limfoblastów) nie wykazały, że benzen jest mutagenem. Testy mające na celu wykrycie transformacji komórek nowotworowych, takie jak test na fibroblastach myszy BALB/c 3T3, test na komórkach myszy C3H IT1/2, test na CHO oraz test na wzmocnienie transformacji wirusowej (SA79) były również ujemne (Dean 1985).

Badania w warunkach in vitro zdecydowanie wskazują, że mutagenne działanie benzenu wiąże

się z jego metabolitami. Dodatkowo wyniki mutacji genów w testach z użyciem *Salmonella Typhimurium* (Glatt i in. 1989; Kaden i in. 1979; Seixas i in. 1982) oraz wymiany chromatyd siostrzanych w hodowli komórek limfocytów ludzkich (Morimoto 1983) uzyskano tylko wtedy, gdy stosowano egzogenne aktywatory metaboliczne benzenu.

Do zaobserwowania wpływu benzenu na syntezę DNA w hodowli hepatocytów szczura (Glauert i in. 1985), tworzenie adduktów DNA w mitoplastach wątroby szczura (Rushmore i in. 1984), syntezę RNA w mitoplastach wątroby szczura oraz w mitoplastach szpiku kostnego królika i kota (Kalfi i in. 1982) wymagana była także endogenna aktywacja metaboliczna (zachodzi w sposób naturalny dzięki

obecności enzymów w komórkach). W jednym z badań z użyciem benzenu i 13 możliwych metabolitów Glatt i in. (1989) stwierdzili, że *trans*-1,2-dihydrodiol (z aktywatorami metabolicznymi) i epoksydy diolu (z aktywatorami metabolicznymi lub bez nich) wywołały rewersję histydyny w *S. Typhimurium*. Ci sami badacze zbadali również genotoksyczność 13 proponowanych metabolitów w komórkach chomika chińskiego V79 – stwierdzono, że epoksydy, 1,2,3-trihydroksybenzen, 1,2,4-trihydroksybenzen, chinon, hydrochinon, katechol, fenol oraz 1,2-dihydrodiol wywoływały skutki genotoksyczne, tj. wymianę chromatyd siostrzanych, test mikrojądrowy, mutacje genowe (Glatt i in. 1989). Podobne badania z aldehydem *t,t*-mukonowym wykazały, że metabolit ten jest silnie mutageny w testach z użyciem komórek V79 oraz słabo mutageny w testach na bakteriach (Glatt, Witz 1990).

Winn (2003) obserwował w komórkach jajnika chomika chińskiego narażonych na fenol, katechol lub benzochinon zwiększoną rekombinację genetyczną, która może prowadzić do niekorzystnych zmian genetycznych (nowy genotyp). Benzen nie powodował takiego skutku. Autor pracy sugeruje, że metabolity benzenu działają poprzez wywołanie stresu oksydacyjnego, ponieważ dodanie do komórek katalazy hamowało ten efekt (Winn 2003).

Uszkodzenia oksydacyjne (zerwanie nici DNA) obserwowano w komórkach HL60 poddanych działaniu 1,4-benzochinonu lub 1,4-hydrochinonu (Hiraku, Kawanishi 1996). Metabolity te indukowały pęknięcie nici DNA w komórkach jajnika chomika chińskiego, podczas gdy fenol, katechol, 1,2,4-benzenetriol, kwas *trans*, *trans*-mukonowy i kwas S-fenylomerkapturowy nie powodowały tego zjawiska (Sze i in. 1996). Nie obserwowano synergizmu pomiędzy hydrochinonem a innymi metabolitami.

Metabolity benzenu indukowały wymianę chromatyd siostrzanych (SCE) – fenol, katechol i hydrochinon wywoływały w ludzkich limfocytach *in vitro* SCE w sposób zależny od dawki, przy braku dodatkowej aktywacji metabolicznej, a skutek ten był powstrzymywany przez glutation. Wymiana chromatyd siostrzanych była indukowana z następującą kolejnością siły działania: katechol > 1,4-benzochinon > hydrochinon, 1,2,4-benzenetriol > fenol (Erexson i in. 1985).

Fenol, katechol, hydrochinon i benzen indukowały transformację morfologiczną i mutacje

genów w komórkach embrionu chomika syryjskiego (Tsutsui i in. 1997). Aberracje chromosomowe, wymiana chromatyd siostrzanych oraz nieplanowana synteza DNA zostały wywołane narażeniem na metabolity benzenu, podczas gdy aneuploidię obserwowano w komórkach poddanych działaniu benzenu lub katecholu (Tsutsui i in. 1997).

Nie stwierdzono istotnego zwiększenia fragmentacji DNA w ludzkich komórkach nabłonka oddechowego narażonych na działanie benzenu o stężeniu 5 mg/m<sup>3</sup> przez 8 h, chociaż istniały dowody na wystąpienie odpowiedzi zapalnej (Gosepath i in. 2003). Pęknięcia chromosomalne i hiperdiploidię obserwowano w badaniach *in vitro* na ludzkich limfocytach narażonych na hydrochinon (Eastmond i in. 1994). Aneusomię chromosomów 7 i 8 (mozaikowatość – różna liczba chromosomów) obserwowano w ludzkich komórkach krwi pępowinowej poddanych działaniu hydrochinonu (o stężeniach 2, 10 lub 50 μM) przez 72 h (Smith i in. 2000). Monosomia 7 i trisomia 8 są dwiema częstymi aberracjami klonalnymi obserwowanymi w białaczkach szpikowych (Smith i in. 2000). Hydrochinon (o stężeniach 26 ÷ 49 μM) również indukował monosomię chromosomów 5, 7 i 8 w ludzkiej linii komórkowej limfoblastów (Stillman i in. 1997). Hydrochinon (stężenia 10 ÷ 100 μM) i 1,2,4-benzenetriol (stężenia 10 ÷ 50 μM) znacząco zwiększyły monosomię 5 i 7 w ludzkich limfocytach i długoramienne delecje w chromosomach 5 i 7 (Zhang i in. 1998b). Wykazano, że metabolity benzenu tworzą addukty DNA w ludzkim szpiku kostnym i komórkach HL-60 (Bodell i in. 1993; Lévy, Bodell 1992).

Zhang i in. (1993) wykazali, że 1,2,4-benzenetriol zwiększał częstość tworzenia się mikrojąder w ludzkich limfocytach w hodowli oraz w komórkach HL-60 w sposób zależny od dawki. Wzrost poziomu uszkodzeń oksydacyjnych DNA został również odnotowany w komórkach HL-60 w hodowli. Benzen (o stężeniach 1 ÷ 5 mM, 48 h) nie wywołał tworzenia się mikrojąder w komórkach krwi pełnej zarówno z aktywacją metaboliczną, jak i bez niej (10-procentowa frakcja S9 wątroby szczura przez 2 h), (Zarani i in. 1999). Chen i Eastmond (1995) wykazali, że metabolity benzenu mogą negatywnie wpływać na ludzkie topoizomerazy, enzymy zaangażowane w replikację i naprawę DNA. Nie zaobserwowano wpływu żadnego z metabolitów na ludzką topoizomerazę I lub na topoizomerazę II w przypadku

hydrochinonu, fenolu, 2,2'-bifenolu, 4,4'-bifenolu i katecholu w stężeniach tak wysokich, jak 500  $\mu\text{M}$ . W badaniach w warunkach *in vitro* ludzka topoizomeraza II była hamowana przez 1,4-benzochinon i 1,2,4-benzenetriol o stężeniach 500 i 250  $\mu\text{M}$  bez aktywacji. Jednakże fenol i 2,2'-bifenol (z aktywacją) wykazywały działanie hamujące już przy stężeniu 50  $\mu\text{M}$ , podczas gdy 4,4'-bifenol hamował topoizomerazę II przy stężeniu 10  $\mu\text{M}$ . Eastmond i in. (2001) wykazali zmniejszenie aktywności topoizomerazy II w zarodkowych komórkach szpiku kostnego myszy, którym podawano benzen dożołądkowo.

Dostępne dane z badań w warunkach *in vitro* sugerują, że sam benzen jest genotoksyczny

(tab. 13). Dwa badania wykazały, że benzen spowodował pęknięcia DNA w komórkach jajnika chomika chińskiego niezależnie od aktywatorów metabolicznych (Douglas i in. 1985; Lakhanisky, Hendrickx 1985). W badaniu przeprowadzonym przez Aubrecht i in. (1995) wykazano, że benzen indukuje rekombinację wewnątrzchromosomalną w hodowli ludzkich komórek limfoblastoidalnych. Dlatego wydaje się, że benzen ma pewne własne zdolności genotoksyczne, ale jego metabolity mają znacznie wyższy potencjał działania genotoksycznego.

**Tabela 13.** Wyniki testów *in vitro* genotoksyczności benzenu (Toxicological profile... 2007)

**Table 13.** Results of *in vitro* benzene genotoxic tests (Toxicological profile ... 2007)

Rodzaj testu	Rodzaj komórek	Wynik	
		z aktywacją	bez aktywacji
Zahamowanie syntezy DNA	<i>Escherichia coli</i>	bd.	-
Aberracje chromosomowe	komórki jajnika (chomik chiński)	-	-
	limfocyty ludzkie	bd.	+
		bd.	-
	limfoblasty ludzkie	bd.	+
Test mikrojądrowy	komórki jajnika (chomik chiński)	-	-
	ludzkie komórki krwi pełnej	-	-
Wymiana chromatyd siostrzanych	komórki jajnika (chomik chiński)	-	-
	limfocyty ludzkie	+	bd.
		bd.	-
Tworzenie adduktów z DNA	komórki szpiku kostnego (królik)	bd.	+
	mitoplasty wątroby ludzkiej	bd.	+
	ludzkie komórki szpiku	bd.	+
	ludzkie komórki białaczki	bd.	+
Pęknięcie nici DNA	hodowla szczurzych hepatocytów	bd.	-
	hodowla komórek jajnika (chomik chiński)	+	+
	hodowla komórkowa V79 (chomik chiński)	-	-
	hodowla komórek L5178Y (mysz)	bd.	-
Uszkodzenia oksydacyjne DNA	ludzkie komórki białaczki	bd.	+
Naprawa DNA	limfocyty ludzkie	bd.	-
Nieplanowana synteza DNA	hodowla szczurzych hepatocytów	bd.	(+)
		bd.	-
	ludzkie komórki HeLa S3	-	-
Zahamowanie syntezy DNA	hodowla komórek szpiku kostnego myszy	bd.	+
		+	(+)
	ludzkie komórki HeLa	-	-
Zahamowanie syntezy RNA	limfocyty śledziony (mysz)	bd.	+
	mitoplasty wątroby (szczur)	bd.	+
	mitoplasty szpiku kostnego (kot, królik)	bd.	+

Objaśnienia:

+ – wynik dodatni.

(+) – wynik słabo dodatni.

- – wynik ujemny.

bd. – brak danych.

### Badania na zwierzętach

Badania *in vivo* na zwierzętach dostarczają przekonujących dowodów na genotoksyczność benzenu (tab. 14). Wyniki wielu badań wskazują, że samce myszy są bardziej wrażliwe niż samice na uszkodzenia chromosomowe wywołane narażeniem na benzen (Armstrong, Galloway 1993; Barale i in. 1985; Choy i in. 1985; Ciranni i in. 1988; Hatakeyama i in. 1992; Meyne, Legator 1980; Siou i in. 1981).

W badaniach na zwierzętach zanotowano zwiększoną częstość występowania mikrojąder. Luke i in. (1988) badali wpływ różnych czasów trwania narażenia inhalacyjnego na erytrocyty polichromatyczne (PCE) i erytrocyty normochromatyczne (NCE) we krwi obwodowej. PCE to nowo powstałe erytrocyty, które zawierają mRNA

i wykazują zabarwienie, gdy są używane odczynniki do barwienia RNA. NCEs to dojrzałe erytrocyty, które nie zawierają mRNA i nie są barwione w tych samych warunkach. Badacze stwierdzili, że PCEs są dobrymi wskaźnikami niedawnego i ostrego narażenia, podczas gdy NCEs są dobrymi wskaźnikami skumulowanego, długotrwałego narażenia (Luke i in. 1988). Chociaż nie znaleziono żadnych badań na ludziach, które donosiłyby o zwiększonej wymianie chromatyd siostrzanych u osób narażonych na benzen, zwiększenie poziomu wymiany chromatyd siostrzanych odnotowano u myszy i szczurów (Erexson i in. 1986; Sharma i in. 1985; Tice i in. 1980; 1982). Badania *in vivo* wykazały, że aldehyd *t,t*-mukonowy również wywołuje znaczące zwiększenie poziomu wymiany chromatyd siostrzanych u myszy (Witz i in. 1990a; 1990b).

**Tabela 14.** Wyniki testów genotoksyczności benzenu w testach *in vivo* (Toxicological profile... 2007)

**Table 14.** Benzene genotoxicity test results *in vivo* (Toxicological profile ... 2007)

Rodzaj testu	Organizm testowany	Wynik
Test mikrojądrowy	myszy, szpik kostny	+
	myszy, komórki krwi obwodowej	+
	szczury, limfocyty	+
	chomik chiński, szpik kostny	+
	ludzie, limfocyty	+
		-
Wymiana chromatyd siostrzanych	myszy, szpik kostny	+
	myszy, limfocyty	+
	szczury, limfocyty	+
	ludzie, limfocyty	+
		-
Mutacje	myszy, limfocyty śledziony	+
	myszy, tkanka płuc	+
	ludzie, szpik kostny	+
Tworzenie adduktów z DNA	myszy, szpik kostny	+
	myszy, leukocyty	+
	myszy, wątroba	+
	szczury, szpik kostny	+
	szczury, wątroba	+
Pęknięcie nici DNA	myszy, limfocyty	+
	szczury, limfocyty, szpik kostny, śledziona, wątroba	+
	ludzie, limfocyty	+
Zahamowanie syntezy DNA	myszy, szpik kostny	+
	króliki, szpik kostny	+
Zahamowanie syntezy RNA	myszy, szpik kostny	+
	szczury, hepatocyty	+

Objaśnienia:

+ – wynik dodatni.

- – wynik ujemny.



Wielu badaczy testowało również inne drogi narażenia (podskórna, dootrzewnowa), wyniki tych eksperymentów były w większości pozytywne dla aberracji chromosomalnych w szpiku kostnym (Anderson, Richardson 1981; Kissling, Speck 1972; 1973; Kolachana 1993; Meyne, Legator 1980; Philip, Jensen 1970), testu mikrojądrowego w szpiku kostnym (Díaz 1980) oraz wymiany chromatyd siostrzanych w komórkach wątroby płodu myszy (Sharma 1985). Ponadto u szczurów i myszy obserwowano wiązanie benzenu i/lub jego metabolitów z DNA, RNA i białkami (Arfellini 1985; Creek i in. 1997; Lévy i in. 1996; Mani i in. 1999; Mazullo i in. 1989; Turteltaub, Mani 2003). Lévy i in. (1996) obserwowali zależne od dawki i czasu tworzenie adduktów DNA w białych krwinkach i komórkach szpiku kostnego myszy, którym podawano benzen dootrzewnowo przez 7 dni.

Turteltaub i Mani (2003) obserwowali wiązanie z DNA i białkami u myszy narażonych dootrzewnowo na benzen w dawce 5 µg/kg mc. W jednym z badań z zastosowaniem podania dootrzewnowego odnotowano (zależne od dawki) zwiększenie liczby nieprawidłowości główki plemników u myszy narażonych na 0,5 lub 0,6 ml benzenu/kg mc./dzień (Topham 1980).

Whysner i in. (2004) dokonali przeglądu ponad 1400 wyników badań genotoksyczności benzenu i jego metabolitów (takich jak: fenol, hydrochinon, benzochinon, katechol, benzenetriol i mukonaldehyd). Autorzy pracy podkreślają, że badania na zwierzętach powiązały je wszystkie z jednym lub kilkoma różnymi efektami genotoksycznymi.

### Obserwacje u ludzi

Genotoksyczne działanie benzenu na przestrzeni kilku dziesięcioleci zostało dogłębnie przebadane, a występowanie uszkodzeń cytogenetycznych u osób narażonych na wysokie poziomy benzenu jest uznawane od lat 60. XX wieku.

W ciągu ostatnich dwóch dekad opublikowano wiele badań dotyczących pracowników narażonych na działanie benzenu. Wykazano istotne powiązania między zawodowym narażeniem na benzen a zwiększonymi wskaźnikami aberracji chromosomowych (np. pęknięcia, delecje, translokacje, aneuploidia) dla wielu chromosomów w limfocytach krwi obwodowej (Ji i in. 2012; Zhang i in. 2005; 2007; 2011; 2012) lub nasienia (Ji i in. 2012; Kim i in. 2010; Marchetti i in. 2012; Schmid i in. 2006; Xing i in. 2010).

Aberracje chromosomowe u ludzi są często wykazywane w limfocytach krwi obwodowej i szpiku kostnym. Chociaż wszystkie drogi wchłaniania benzenu (inhalacyjna, dożołądkowa i skórna) są potencjalnie istotnymi drogami narażenia dla ludzi, dostępne dane z badań w warunkach in vivo pochodzą zazwyczaj ze środowiska zawodowego, w którym najczęstsze jest narażenie inhalacyjne i skórne. W większości tych badań wykryto nieprawidłowości chromosomowe u pracowników narażonych na wysokie stężenia benzenu. Jednakże Qu i in. (2003a; 2003b) odnotowali zależne od stężenia zwiększenie częstości występowania aberracji chromosomowych w szerokim zakresie stężeń narażenia, w tym u pracowników o stosunkowo niskim poziomie narażenia na benzen. Ograniczenia wielu badań zawodowych obejmują: brak dokładnych danych na temat narażenia, możliwe współnarażenie na inne substancje chemiczne oraz brak odpowiednich grup kontrolnych.

Aberracje chromosomowe obserwowane u pracowników przewlekłe narażonych na benzen obejmują głównie hipo- i hiperdiploidię, delecje, pęknięcia i luki (zmiana achromatyczna). Na przykład analiza limfocytów obwodowych pracowników narażonych na pary benzenu o średnim stężeniu 30 ppm (96 mg/m<sup>3</sup>) wykazała znaczne zwiększenie częstości występowania monosomii chromosomów 5, 7 i 8 oraz tri- i/lub tetrasomii chromosomów 1, 5, 7 i 8 (Zhang i in. 1998b; 1999). W innej serii badań epidemiologicznych u pracowników przewlekłe narażonych na benzen pęknięcia chromosomów były dwa razy częstsze w porównaniu z grupą kontrolną (Sasiadek, Jagielski 1990; Sasiadek i in. 1989). Dwadzieścia jeden osób z hematologicznymi objawami przewlekłego zatrucia benzenem wykazywało znacznie więcej nieprawidłowości chromosomalnych niż osoby z grupy kontrolnej (Ding i in. 1983). Znaczące zwiększenie liczby chromosomów dicentrycznych odnotowano u 36 pracowników fabryki obuwia narażonych na benzen przez okres do 32 lat (Kašuba i in. 2000). Również znaczące zwiększenie częstości występowania hiperploidi i oraz translokacji między chromosomami 8 i 21 zaobserwowano u pracowników narażonych na pary benzenu o stężeniu ok. 31 ppm (ok. 99 mg/m<sup>3</sup>), (Smith i in. 1998).

Liu i in. (1996) badali oksydacyjne uszkodzenia DNA u pracowników ( $n = 87$ ) narażonych na benzen, wykonując pomiary 8-hydroksy-2-deoksyguanozyny (8-OHdG) w limfocytach krwi

obwodowej (biomarker oksydacyjnego uszkodzenia DNA). Narażenie na benzen zostało sklasyfikowane jako niskie – 2,46 mg/m<sup>3</sup> (0,78 ppm), średnie – 103 mg/m<sup>3</sup> (32,2 ppm) lub wysokie – 424 mg/m<sup>3</sup> (133 ppm). Poziomy 8-OHdG u narażonych pracowników wzrastała proporcjonalnie do stężenia, jednak statystycznie znamienne zmiany dotyczyły grup średniego i wysokiego narażenia. Toluenu, również wykryty w powietrzu w miejscu pracy, nie zmieniał poziomu 8-OHdG. Tworzenie mikrojąder (miara uszkodzenia chromosomów) było znacząco wyższe niż w grupie kontrolnej i zależało od poziomu narażenia. Stężenia kwasu *t,t*-mukonowego w moczu, biomarkera narażenia na benzen, były skorelowane z poziomami 8-OHdG, które z kolei korelowały z poziomami mikrojąder w badanych limfocytach. Wyniki badań Liu i in. (1996) są poparte wynikami badań Nilssona i in. (1996), w których odnotowano związane ze stężeniem podwyższone poziomy 8-OHdG w moczu u mężczyzn ( $n = 30$ ) zatrudnionych na stacji benzynowej. Stężenia benzenu w strefie oddychania wynosiły średnio 0,13 ppm (0,42 mg/m<sup>3</sup>). U pracowników tych odnotowano również istotne, zależne od stężenia zwiększenie liczby pęknięć pojedynczej nici DNA. Wyniki badań Liu i in. (1996) oraz Nilssona i in. (1996) dostarczają dowodów na to, że metabolity benzenu mogą indukować powstawanie reaktywnych form tlenu, co może prowadzić do oksydacyjnych uszkodzeń DNA i powstawania hydroksylowanych zasad, takich jak 8-OHdG (Liu i in. 1996).

Zhang i in. (2007) obserwowali zwiększoną aneuploidię (znaczące zwiększenie częstości występowania monosomii w chromosomach 2, 4, 6, 11, 12 i 13; trisomii w chromosomach 2, 4, 6, 11 i 18; tetrasomii w chromosomach 2, 4, 6, 11, 12, 13 i 18) i znacznie zwiększoną częstość występowania delecji na długim ramieniu w chromosomie 6 w grupie 22 pracowników narażonych na benzen o stężeniach powyżej 99,2 mg/m<sup>3</sup> (31 ppm) w porównaniu z grupą kontrolną ( $n = 44$ ). Autorzy obserwowali również translokacje między chromosomami 14 i 18 wśród 4/22 pracowników narażonych na stężenia >31 ppm i brak takich zmian wśród 21 pracowników narażonych na stężenia ≤31 ppm oraz w grupie kontrolnej.

Odmienne wyniki uzyskali McHale i in. (2008), którzy stwierdzili, że grupa narażona na benzen – średnie stężenie benzenu 72,32 mg/m<sup>3</sup> (22,6 ppm;  $n = 37$ ) – wykazała niższą częstość występowania translokacji między chromosomami 14 i 18 niż grupa kontrolna ( $n = 31$ ). Autorzy

badania stwierdzili, że widoczną rozbieżność między wynikami (Zhang i in. 2007) można wyjaśnić różnymi populacjami komórek docelowych i zróżnicowaną czułością stosowanych testów.

Tunsaringkarn i in. (2011) ocenili częstość wymiany chromatyd siostrzanych (SCE) w limfocytach krwi obwodowej u 33 pracowników stacji benzynowych oraz 30 pracowników biurowych i studentów (grupa kontrolna). Częstość SCE była znacznie wyższa wśród pracowników stacji benzynowych (13,47±0,26 SCE/komórkę) niż w grupie kontrolnej (8,52±0,40 SCE/komórkę). Szacunkowe dane dotyczące narażenia na benzen nie zostały uwzględnione w raporcie z badania, chociaż poziomy kwasu *t,t*-mukonowego w moczu były znacznie wyższe u pracowników stacji benzynowych niż w grupie kontrolnej.

Zhang i in. (2014) wykazali zwiększoną częstość występowania mikrojąder w limfocytach krwi obwodowej u 385 pracowników fabryki obuwniczej narażonych na działanie benzenu w stosunku do grupy kontrolnej ( $n = 197$ ). Pracowników narażonych na benzen oceniano jako całą grupę, a także pogrupowano według czasu trwania narażenia (≤5,02; >19,90; >31,81 i >59,00 mg/m<sup>3</sup>/rok) oraz według poziomu narażenia (≤3,25; <6,00 oraz ≥6,00 mg/m<sup>3</sup>). Pracownicy narażeni na benzen wykazywali istotnie zwiększoną w porównaniu z grupą kontrolną, zależną zarówno od stężenia, jak i czasu trwania, częstość występowania mikrojąder.

Podobne badanie przeprowadzili Kim i in. (2010) u 30 pracowników narażonych na benzen w procesie rafinacji ropy naftowej (średni poziom narażenia 0,51 ppm, czyli 1,632 mg/m<sup>3</sup>) i 10 pracowników biurowych. Wykazano istotnie większą częstość występowania mikrojąder w grupie narażonych pracowników.

Katukam i in. (2012) pobrali próbki nasienia od 160 pracowników narażonych na działanie benzenu i 200 osób z grupy kontrolnej. U pracowników narażonych na benzen (0 ÷ 5 lat,  $n = 52$ ; 5 ÷ 10 lat,  $n = 73$ ; 10 ÷ 15 lat,  $n = 35$ ) w porównaniu z grupą kontrolną obserwowano zależną od czasu narażenia istotnie zwiększoną długość ogona komety plemnika (miara uszkodzenia DNA).

Bassig i in. (2014) ocenili długość telomerów w leukocytach krwi obwodowej pobranych od pracowników narażonych na benzen ( $n = 43$ ) i w grupie kontrolnej ( $n = 43$ ). Średnia długość telomerów była o 9% dłuższa ( $p = 0,03$ ) wśród pracowników ( $n = 22$ ) z poziomem narażenia na benzen >31 ppm (99,2 mg/m<sup>3</sup>) niż w grupie kontrolnej.

Obecnie przeważa pogląd, iż genotoksyczność (oprócz hematotoksyczności) jest prawdopodobnie wczesnym biomarkerem skutku narażenia na benzen, jakim jest rozwój białaczki. Pogląd ten jest wspierany przez ostatnie decyzje regulacyjne (DECOS 2014; ECHA 2018a; 2018b), które zaliczają benzen do związków posiadających próg, powyżej którego ryzyko nowotworowe staje się istotne. W celu weryfikacji obowiązujących normatywów narażenia zawodowego na benzen coraz częściej zwraca się uwagę na występowanie efektów jego genotoksycznego działania przy niskich stężeniach (poniżej 1 ppm; 3,2 mg/m<sup>3</sup>). Przykłady takich obserwacji u ludzi zawodowo

narażonych na benzen przedstawiono w tabeli 14. Wartość NOAEC dla efektów genotoksycznego działania benzenu wg *Fracasso i in. (2010)*, *Basso i in. (2011)*, *Pitarque i in. (1996)* oraz *Nilssona i in. (1996)* wynosi 0,038 ÷ 0,416 mg/m<sup>3</sup>, większą wartość NOAEC – 1,5 mg benzenu/m<sup>3</sup> raportuje *Carere i in. (1995)*. Najniższe stężenia benzenu (LOAEC), przy których obserwowano działanie genotoksyczne u ludzi, są niższe niż 3,2 mg/m<sup>3</sup> (1 ppm), (tab. 15).

W celu określenia dopuszczalnej wartości narażenia zawodowego na benzen *Schnatter i in. (2020)* poddali ocenie statystycznej 77 badań genotoksyczności benzenu. Najniższe wartości

**Tabela 15.** Wartości LOAEC i NOAEC dla efektów genotoksycznego działania benzenu uzyskane w badaniach osób zawodowo narażonych na benzen

**Table 15.** LOAEC and NOAEC values for the genotoxic effects of benzene obtained in studies of occupationally exposed benzene subjects

Wartość LOAEC, mg/m <sup>3</sup> [ppm]	Skutki działania genotoksycznego po narażeniu na stężenie LOAEL	Wartość NOAEC, mg/m <sup>3</sup> [ppm]	Zakres badań działania genotoksycznego (endpoints)	Piśmiennictwo
-	-	0,038 [0,012]	aberracje chromosomowe (limfocyty krwi obwodowej)	<i>Fracasso i in. 2010</i>
-	-	0,93 [0,29]	tworzenie mikrojąder (limfocyty krwi obwodowej)	<i>Basso i in. 2011; Pitarque i in. 1996</i>
-	-	0,416 [0,13]	pęknięcie nici DNA (leukocyty)	<i>Nilsson i in. 1996</i>
1,09 [0,34]	pęknięcie nici DNA (leukocyty)	-	-	<i>Garte i in. 2005</i>
1,63 [0,51]	tworzenie mikrojąder, aberracje chromosomowe, aneuploidia (limfocyty krwi obwodowej)	-	-	<i>Kim i in. 2008; 2010</i>
4,13 [1,29]	aberracje chromosomowe (limfocyty krwi obwodowej)	-	-	<i>Eastmond i in. 2001; Marcon i in. 1999</i>
>5,12 [>1,6]	aneuploidia, aberracje chromosomowe (plemniki)	-	aberracje chromosomowe, aneuploidia	<i>Ji i in. 2012; Marchetti i in. 2012; Xing i in. 2010</i>
6,08 [1,9]	aberracje chromosomowe, aneuploidia (limfocyty krwi obwodowej)	-	-	<i>Sarto i in. 1984</i>
3,2 ÷ 6,4 [1 ÷ 2]	test kometowy (limfocyty krwi obwodowej)	-	-	<i>Sul i in. 2005</i>
6,4 [2]	tworzenie mikrojąder (limfocyty krwi obwodowej)	1,50 [0,47]	aberracje chromosomowe, wymiana chromatyd siostrzanych, tworzenie mikrojąder (limfocyty krwi obwodowej)	<i>Carere i in. 1995</i>
9,82 [3,07]	aberracje chromosomowe (limfocyty krwi obwodowej)	-	aberracje chromosomowe	<i>Qu i in. 2003a; 2003b</i>
43,52 [13,6]	aneuploidia (limfocyty krwi obwodowej)	-	aneuploidia	<i>Eastmond i in. 2001; Smith i in. 1998; Zhang i in. 1996; 1998a; 2007</i>

LOAEC dla efektów genotoksycznych określono na około  $6,4 \text{ mg/m}^3$  (2 ppm). Natomiast przy stężeniach około  $2,20 \text{ mg/m}^3$  (0,69 ppm) takich efektów nie zanotowano (tab. 15).

Podsumowując, można stwierdzić, że:

- istnieją dowody na to, że benzen indukuje powstawanie mikrojąder, aberracje chromosomalne, aneuploidię, wymianę chromatyd siostrzanych oraz pęknięcie nici DNA u ludzi i zwierząt doświadczalnych,
- indukcja mutacji genowych przez benzen jest możliwa zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*. Jednakże skutki mutagenne obserwowane *in vitro* w komórkach ssaków mogły być wtórne do uszkodzeń chromosomalnych, a skutki mutagenne *in vivo* miały niski poziom (w porównaniu do innych rakotwórczych czynników reagujących z DNA),
- głównym mechanizmem toksyczności benzenu jest jego aktywność klastogenna i aneugeniczna (ECHA 2018b; Whysner i in. 2004).

## Działanie rakotwórcze

### Działanie rakotwórcze u ludzi

Do oceny działania rakotwórczego benzenu u ludzi służą badania epidemiologiczne (retrospektywne, kohortowe, kliniczno-kontrolne). Wnioskowanie w badaniach epidemiologicznych oparte jest na szeregu wskaźników, np. standaryzowanym wskaźniku umieralności SMR (*Standardised Mortality Ratio*) i standaryzowanym wskaźniku zapadalności SIR (*Standardised Incidence Ratio*). Wskaźniki te są ilorazami rzeczywistej i oczekiwanej liczby zgonów (SMR) lub zachorowalności (SIR) w danej populacji. W badaniach kliniczno-kontrolnych (*case control*) analizuje się i określa przypadki przez iloraz szans OR (*Odds Ratio*) mówiący, ile razy prawdopodobieństwo zgonu wśród narażonych jest większe od prawdopodobieństwa zgonu u osób nienarażonych (Kupczewska-Dobecka i in. 2019).

W wielu badaniach epidemiologicznych brano pod uwagę śmiertelność i zachorowalność na raka wśród pracowników przemysłu naftowego i gumowego. W większości jednak badania te były albo zbyt małe, albo nie można było odpowiednio określić ilościowo narażenia na benzen ani ustalić,

czy zgłoszona toksyczność rzeczywiście wiązała się z narażeniem na benzen.

Aksoy i in. (1974; 1976) oraz Aksoy (1980) badali pracowników tureckich zakładów produkujących obuwie i torebki, którzy byli narażeni na benzen o stężeniach  $480 \div 670 \text{ mg/m}^3$ , gdy używano klejów zawierających benzen, a o stężeniach  $48 \div 96 \text{ mg/m}^3$  w innych przypadkach. Szczytowe narażenie na benzen wahało się  $670 \div 2050 \text{ mg/m}^3$ , a czas trwania narażenia oszacowano na średnio 9,7 lat. Spośród 44 osób z pancytopenią 23 (52%) doświadczyły remisji niedokrwistości aplastycznej, 14 (32%) zmarło z powodu powikłań niedokrwistości aplastycznej lub pancytopenii, a 6 (14%) później zmarło z powodu białaczki. Spośród 42 przypadków białaczki 26% było poprzedzonych okresem pancytopenii w czasie od 6 miesięcy do 6 lat. Aksoy (1985a; 1985b) zgłosił aktualizację powyższej kohorty do 1983 r., w której przebadano łącznie 73 osoby przewlekłe narażone na benzen. Na białaczkę było chorych 51 z 73 osób, 12 na chłoniaka złośliwego, 4 na szpiczaka mnogiego, a 6 na raka płuc. Spośród 51 pacjentów z białaczką 13 chorowało na pancytopenię. Średni czas narażenia na benzen wyniósł 9,93 roku.

Infante i in. (1977) dokonali przeglądu aktów zgonu dla kohorty 748 białych robotników płci męskiej, którzy byli zawodowo narażeni na benzen w latach 1940-1949. Poziomy narażenia nie były dokładnie znane, ale wahały się i dochodziły do 100 ppm (pracownicy Goodyear Pliofilm). Stan zdrowia pracowników monitorowano do 1973 r. Odnotowano 5-krotne zwiększenie ryzyka wystąpienia wszystkich białaczek oraz 10-krotne zwiększenie liczby zgonów z powodu białaczek szpikowych i monocytowych. W obserwacji do czerwca 1975 r. Rinsky i in. (1981) odnotowali 7 zgonów z powodu białaczki w porównaniu z oczekiwanym 1,25. Obserwowano znaczny nadmiar (w porównaniu z oczekiwaną liczbą przypadków) przypadków białaczki wśród pracowników zatrudnionych 5 i więcej lat, ale nie wśród zatrudnionych <5 lat. W okresie między 1946 a 1976 r. większość poziomów benzenu była poniżej  $320 \text{ mg/m}^3$  (100 ppm), a niektóre powyżej 100 ppm (Rinsky i in. 1981). Rinsky i in. (1981) cytują dokumenty wskazujące, że pracownicy ci musieli nosić maski oddechowe, gdy byli narażeni nawet chwilowo na stężenia większe niż TWA (w zakresie od maksymalnego dopuszczalnego stężenia 100 ppm w 1941 r. do 8-godzinnego TWA 10 ppm od 1969 r.).

Łącznie 1165 białych mężczyzn z co najmniej 1 ppm-dzień skumulowanego narażenia na benzen (do grudnia 1965 r.) uwzględniono w kohorcie łącznie z ryzykiem 31 612 osobolat. W kohorcie tej zaobserwowano 15 zgonów z powodu raka limfatycznego i hemopoetycznego w porównaniu z oczekiwanymi 6,6 (SMR = 2,27). Zaobserwowano 9 przypadków białaczki w porównaniu z 2,7 oczekiwanymi (SMR = 3,37) i 4 przypadki szpiczaka mnogiego w porównaniu z 1 oczekiwanym (SMR = 4,09), (wszystkie SMR istotne statystycznie). *Rinsky* i in. (1987) zaobserwowali, że skumulowane narażenia na benzen (mierzone jako ppm-lata) było najbardziej wiarygodnym predyktorem zgonu z powodu białaczki indukowanej benzenem. *Rinsky* (1989) sugerował, że narażenie na niskie poziomy benzen może skutkować większym ryzykiem powstawania dobrze zróżnicowanych nowotworów złośliwych, takich jak szpiczak mnogi, natomiast narażenie na wyższe stężenia było ściślej powiązane z indukacją białaczki.

*Yin* i in. (1987a) przeprowadzili retrospektywne badanie kohortowe 28 460 pracowników (15 643 mężczyzn i 12 817 kobiet) narażonych na działanie benzenu o stężeniach  $9,6 \div 986 \text{ mg/m}^3$  (większość była narażona na  $48 \div 480 \text{ mg/m}^3$ ). Kohorta kontrolna składała się z 28 257 pracowników, którzy nie byli narażeni na benzen. W narażonej populacji stwierdzono 30 przypadków białaczki w porównaniu z 4 takimi przypadkami w grupie kontrolnej. W kohorcie benzenowej śmiertelność z powodu białaczki wynosiła 14 na 100 000 osobolat, a w populacji kontrolnej – 2 na 100 000 osobolat (SMR = 5,74).

W dodatkowym badaniu obejmującym 508 818 pracowników przeprowadzonym przez *Yin* i in. (1987b) stężenia benzenu wynosiły średnio  $18 \text{ mg/m}^3$  (5,6 ppm). Niedokrwestość aplastyczna występowała u 12,1 na 100 000 osób w tej kohorcie i było to o 5,8 raza więcej w porównaniu z populacją ogólną. W zaktualizowanych analizach tych danych śmiertelność z powodu białaczki wśród palących mężczyzn narażonych na benzen nie była większa niż śmiertelność z powodu białaczki wśród niepalących mężczyzn narażonych na benzen; jednak osoby niepalące w grupie narażonej na działanie benzenu miały zwiększone ryzyko zgonu z powodu raka płuc w porównaniu z osobami niepalącymi w grupie kontrolnej (*Yin* i in. 1989). Ryzyko białaczki wzrosło, gdy czas

narażenia na benzen wydłużył się do 15 lat, a następnie ryzyko to zmniejszyło się wraz z dodatkowymi latami narażenia na benzen; nie przedstawiono żadnego wyjaśnienia tego pozornego paradoksu. Minimalne średnie stężenie benzenu, na które były narażone osoby z białaczką (30 osób) wynosiło  $6,5 \text{ mg/m}^3$ . Najniższe skumulowane narażenie na benzen w ciągu całego życia związane z białaczką wynosiło  $33,2 \text{ mg/m}^3$ -lata (*Yin* i in. 1989). W aktualizacji z 1995 r. *Yin* (1995) przedstawił dane dotyczące grupy ok. 75 000 pracowników narażonych na benzen i 35 000 nienarażonych pracowników w 12 chińskich miastach. W 1995 r. było 49 przypadków białaczki wśród osób narażonych i 9 wśród grupy referencyjnej. W 2015 r. *Lin* i in. (2015), (tab. 16) ponownie ocenili częstość występowania zmian nowotworowych w tej grupie pracowników.

*Ott* i in. (1978) przeprowadzili badanie śmiertelności w grupie 594 pracowników (mężczyźni) narażonych na benzen w latach 1940-1970. Amerykańska Agencja Bezpieczeństwa i Zdrowia w Pracy (OSHA), (1985) stwierdziła, że kohorta *Otta* była narażona na benzen o średnim stężeniu  $16 \text{ mg/m}^3$  (5 ppm) przez średnio 9 lat. Stwierdzono 3 przypadki białaczki (2 sklasyfikowane jako ostre) w porównaniu z oczekiwanymi 0,8 przypadku.

*Bond* i in. (1986) rozszerzyli definicję kohorty badanej przez *Ott* i in. (1978), obejmując również pracowników, którzy pracowali (w latach 1938-1978) w narażeniu na benzen przez co najmniej 1 miesiąc oraz wydłużyli obserwacje do 1982 r., podnosząc całkowitą liczbę badanych osób do 956. Zaobserwowano 4 zgony z powodu białaczki z oczekiwaną wartością 0,9 (SMR = 4,44). *Bond* i in. (1987) porównali śmiertelność 37 682 mężczyzn zatrudnionych w branży chemicznej. Znaczący nadmiar przypadków białaczki zaobserwowano wśród wszystkich pracowników, którzy pracowali 5  $\div$  19,9 lat w 2 różnych lokalizacjach. OSHA (1985; 1987) wyciągnęła wniosek z badań *Otta* i in. (1978) i *Bonda* i in. (1986) oraz powiązanych obserwacji, że ryzyko białaczki szpiczkowej było 4-krotnie większe u pracowników narażonych na benzen o średnim stężeniu około  $16 \text{ mg/m}^3$  (5 ppm).

*Decoufle* i in. (1983) stwierdzili 4-krotne zwiększenie ryzyka raka limfatycznego i krwiotwórczego wśród pracowników narażonych na działanie benzenu w rafinerii ropy naftowej i zakładów chemicznych. Historyczne badanie kohortowe

śmiertelności 259 pracowników (mężczyźni) wykazało 4 zgony z powodu raka limforetikularnego w porównaniu do oczekiwanego 1,1 (SMR = 364) i 3 zgony z powodu białaczki, oczekiwano 0,4. Obserwowane tutaj pojawienie się szpiczaków mnogich w połączeniu z wcześniejszymi doniesieniami o szpiczaku związanym z benzenem skłoniło do sugestii, że patogenezą ludzkiego szpiczaka mnogiego i przewlekłej białaczki limfatycznej może wynikać z uszkodzenia linii limfocytów B (Decouflé i in. 1983).

Okres latencji białaczki u osób zawodowo narażonych na benzen oceniono na 2 ÷ 50 lat. Aksoy i in. (1974; 1976; 1980; 1985a; 1985b) stwierdzili, że okres ten wynosił 6 ÷ 14 lat (mediana 11 lat). *Vigliani* (1976) podał, że okres latencji wynosił 3 ÷ 23 lat (mediana 9 lat), a *Rinsky* i in. (1981) wskazywali, że mediana utajenia wynosi średnio 12 lat (2 ÷ 22 lata). Badanie *McCraw* i in. (1985) wykazało opóźnienie 17 ÷ 54 lat między datą zatrudnienia a datą zgonu z powodu białaczki. *Yin* i in. (1987c) oszacowali średni czas utajenia białaczki indukowanej benzenem na 11,4 lat. W raporcie OSHA (1985) oszacowano średni czas trwania indukcji białaczki związanej z zawodowym narażeniem na benzen na 11 lat.

Tabela 16 (odtworzona z *Paxton* i in. (1994)) przedstawia szacunki SMR według kategorii skumulowanego narażenia w oparciu o 3 zestawy oszacowań narażenia (odpowiednio *Rinsky* i in. (1987); *Crump, Allen* (1984) oraz *Paustenbach* i in. (1992)). Wyniki wykazują zależność dawka-odpowiedź między skumulowanym narażeniem na benzen (ppm-lata) a odpowiednimi wartościami

SMR, które są spójne dla wszystkich 3 szacunków narażenia. Interpretacja tych wyników przez ACGIH (2001b) sugeruje, że zawodowe narażenie na benzen o stężeniu wynoszącym 1 ppm odpowiada, według tego wskaźnika, 45 ppm-lat i powoduje niedopuszczalne ryzyko powstawania białaczki. Jednak kategorie skumulowanego narażenia podane w tabeli 15 (*Paxton* i in. 1994) nie pozwalają na dokładniejsze oszacowanie zależności dawka-odpowiedź przy narażeniu <45 ppm-lat.

W tabeli 17 przedstawiono opisy kohort pracowników narażonych zawodowo na benzen. Dane te zostały opublikowane w latach 1997-2017 i dotyczą narażenia w różnego rodzaju zakładach; u pracowników oceniano częstość występowania białaczek, chłoniaków i szpiczaka. Przedstawione w tabeli 17 dane pochodzą z lat 1940-2005. W przypadku starszych danych ocena miejsca pracy i ewentualnego narażenia na benzen oparta jest na różnego rodzaju rejestrach prowadzonych przez zakłady pracy, narodowe rejestry pracowników i pracodawców, a także na rejestrach zachorowań na choroby nowotworowe. Ważnym źródłem informacji o zawodowym narażeniu są ankiety wypełniane przez pracowników. Część publikacji obejmuje dane, które były już wcześniej opisywane, np. w pracy *Linet* i in. (2015). Publikacja ta obejmuje kohorty opisane przez *Yin* i in. (1996) i *Hayes* i in. (1996). *Linet* i in. (2015) wydłużyli okres obserwacji pracowników do 28 lat i (jak podają) „zastosowali precyzyjniejsze metody oceny narażenia”. Według IARC (2018) cenne są obserwacje zależności między wielkością narażenia na benzen a częstością występowania

**Tabela 16.** SMR dla białaczki u pracowników Pliofilm według skumulowanego narażenia we wszystkich lokalizacjach (cyt. za: ACGIH 2001b)  
**Table 16.** SMR for leukemia in Pliofilm workers according to cumulative exposure at all sites (cited after: ACGIH 2001b)

Piśmiennictwo	Narażenie skumulowane (ppm-lata)	Osobo-lata	Obserwowana liczba białaczek	Oczekiwana liczba białaczek	SMR
<i>Rinsky</i> i in. 1987	0 ÷ 5	18,178	3	1,52	1,97
	>5 ÷ 50	13,456	3	1,31	2,29
	>50 ÷ 500	8,383	7	1,01	6,93*
	>500	328	1	0,05	20,00
<i>Crump, Allen</i> 1984	0 ÷ 5	12,974	1	1,14	0,88
	>5 ÷ 50	13,951	4	1,23	3,25
	>50 ÷ 500	11,448	6	1,23	4,87*
	>500	1,972	3	0,29	10,34*
<i>Paustenbach</i> i in. 1992	0 ÷ 5	9,645	1	0,75	1,33
	>5 ÷ 50	12,882	2	1,12	1,79
	>50 ÷ 500	14,095	4	1,43	2,80
	>500	3,723	7	0,59	11,86*

Objaśnienie: \* wynik istotny statystycznie.

białaczek uzyskane w tzw. kohortach Pliofilm. W kohortach tych oceniano narażenie na benzen z najmniejszymi zanieczyszczeniami. Taką kohortę opisuje np. *Rhomberg* i in. (2016). Mimo że nie zawsze określono dokładnie wielkość narażenia na benzen (np. *Kirkeleit* i in. 2008b) lub narażenie było nie tylko na benzen (np. *Ireland* i in. 1997; *Schnatter* i in. 2012), badania epidemiologiczne potwierdzają zależność między zawodowym narażeniem na benzen a występowaniem białaczek u pracowników. *Bassig* i in. (2015), analizując częstość występowania chłoniaka niezziarniczego (NHL) w grupie kobiet zamieszkujących Szanghaj, stwierdzili, że występowanie tego chłoniaka może być związane z zawodowym narażeniem na benzen.

W wielu publikacjach (*Collins* i in. 2015; *Hayes* i in. 1996; *Linet* i in. 2015) autorzy zwracają uwagę, że obok białaczek u pracowników narażonych na benzen obserwowane były zmiany rakowe w płucach. Jednak po szczegółowej ocenie dostępnych danych IARC (2018) ocenił, że nie ma związku pomiędzy narażeniem na benzen a przypadkami raka płuc.

Od szeregu lat zwracana jest uwaga na środowiskowe narażenie na benzen. W tabeli 18 podano przykłady badań oceniających wpływ benzenu na zdrowie populacji generalnej. *Clavel* i in. (1996) analizowali występowanie u osób dorosłych rzadkiego typu białaczki – białaczki włochatokomórkowej (HCL). Jest to podtyp chronicznej białaczki B-limfoidalnej. Na podstawie swoich badań stwierdzili, że występowania HCL nie można powiązać z narażeniem na niskie stężenia benzenu. W tabeli 18 umieszczono również badania *Orsi* i in. (2010), jednak zarówno w tych badaniach, jak i w badaniach *Clavel* i in. (1996) pacjenci narażeni byli w przeszłości na benzen.

*Crosigani* i in. (2004) oceniali wpływ skażenia środowiska na powstawanie białaczek u dzieci. Stwierdzili oni, że ruch samochodowy może mieć udział w etiologii białaczek dziecięcych, szczególnie wtedy, gdy stężenie benzenu będzie powyżej  $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (tab. 18). Podobne wnioski ze swojej pracy wyciągnęli *Houot* i in. (2015). Wyniki opublikowane przez *Vincetiego* i in. (2012) wskazują, że narażenie na benzen jest szczególnie niebezpieczne dla dzieci poniżej 5. roku życia. Sugerują też, że narażenie to może być przyczyną powstawania

u dzieci częściej ostrej białaczki szpikowej (ALL) niż ostrej białaczki limfoblastycznej (AML). Natomiast *Janitz* i in. (2017) nie zaobserwowali zależności pomiędzy środowiskowym narażeniem na benzen a częstością występowania białaczki u dzieci. *Heck* i in. (2014) badali występowanie białaczek ALL i AML u kobiet w ciąży i ich potomstwa w 1. roku życia. Kobiety w 3. trymestrze ciąży narażone były nie tylko na benzen, ale także na węglowodory aromatyczne, arsen, chloroform i 2 inne związki chemiczne. Dzieci w ciągu 1. roku życia narażone były na butadien, *o*-ksylen oraz toluen. *Heck* i in. (2014) uważają, że narażenie środowiskowe kobiet w ciąży na benzen i inne chemikalia może zwiększać ryzyko powstawania białaczki we wczesnym okresie życia u dzieci. *Spycher* i in. (2017) uważają również, że narażenie matek w okresie ciąży zwiększa ryzyko występowania białaczek u dzieci.

Istnieją wystarczające dowody na rakotwórczość benzenu u ludzi. Benzen powoduje ostrą białczkę szpikową u dorosłych. W przypadku chłoniaka niezziarniczego, przewlekłej białaczki limfatycznej, szpiczaka mnogiego, przewlekłej białaczki szpikowej, ostrej białaczki szpikowej u dzieci oraz raka płuc zaobserwowano również zależność występowania tych zmian od narażenia na benzen (tab. 16, 17, 18). Część Grupy Roboczej uznała, że benzen powoduje również chłoniaka niezziarniczego. Inna część Grupy uznała, że nie zaobserwowano pozytywnego związku pomiędzy narażeniem na benzen a przypadkami raka płuc (IARC 2018).

Ogólna ocena: benzen jest rakotwórczy dla ludzi (grupa 1), (IARC 2018).

**Tabela 17.** Przykłady kohort osób narazonych zawodowo na benzen (cyt. za: IARC 2018)  
**Table 17.** Examples of cohorts of people occupationally exposed to benzene (cited after: IARC 2018)

Piśmiennictwo, plan badań	Badana populacja, metoda oceny narażenia	Skutek	Poziom narażenia	Liczba narażonych/zgonów	Oszacowane ryzyko (95% CI)	Kontrolowane współzmiennne	Uwagi
<i>Schnatter</i> i in. (2012), badania przeprowadzono w Wielkiej Brytanii (1981-2006), Australii (1964-1994), Kanadzie (1950-2005)	przypadki: 370 diagnoz na podstawie danych o zachorowalności i śmiertelności (rejstry szpitalne, rejstry nowotworów, akty zgonu) kontrolne: 1587, 5 grup dopasowanych pod względem wieku (Australia) lub 4 grupy kontrolne dopasowane pod względem wieku i firmy (Kanada i Wielka Brytania)	białaczka (AML)	narażenie skumulowane (tercyle), (ppm-lata): ≤0,348 0,348 ÷ 2,93 >2,93	20 19 21	1,00 1,04 (0,5–2,19) 1,39 (0,68–2,85)	brak informacji brak informacji	narażenie na stosunkowo niskie stężenia benzenu; MDS (potencjalnie wcześniej zgłaszane jako AML) może być bardziej istotnym zagrożeniem dla zdrowia przy tak niskim narażeniu; największe ryzyko MPD po narażeniu 2 ÷ 20 lat ( <i>Glass</i> i in. 2014); na podstawie ograniczonych danych jest mało prawdopodobne, aby palenie było czynnikiem zakłócającym  mocne strony badania: duży rozmiar badania; przegląd diagnozy przez hematopatologów; ponowna ocena narażenia w 3 badaniach  ograniczenia: dane dotyczące palenia były niekompletne
<i>Collins</i> i in. (2015), badania przeprowadzono w USA (1940-2009)	2266 pracowników narażonych na benzen w zakładzie chemicznym metoda oceny narażenia: pomiary ilościowe; tytuły pracy zostały przypisane do kategorii narażenia przez higienistkę przemysłową	białaczka (AML): C92.0	narażenie skumulowane (ppm-lata): 0 ÷ 3,9 4,0 ÷ 24,9 ≥25,0	0 3 2	0 (0–2,5) 1,87 (0,39–5,47) 1,39 (0,17–5,03)	wiek, rasa, płeć	3. aktualizacja retrospektywnej kohorty zakładów Dow Chemical; 1 zgon z powodu MDS, który został zgłoszony w grupie o dużym narażeniu (SMR = 25,05; 95% CI: 0,63–139,58)  mocne strony badania: rozległe monitorowanie narażenia na benzen; pełne informacje o historii pracy; okresowe badania lekarskie w miejscu pracy; długa i pełna obserwacja  ograniczenia: badanie umieralności na podstawie aktów zgonu



cd. tab. 17 / Table 17 cont.

Piśmiennictwo, plan badań	Badana populacja, metoda oceny narażenia	Skutek	Poziom narażenia (ppm-lata)	Liczba narażonych/zgonów	Oszacowane ryzyko (95% CI)	Kontrolowane współzmiennie	Uwagi
<i>Stenehjem</i> i in. (2015), badania przeprowadzono w Norwegii (1965-1999 / 1999-2011)	24 917 mężczyzn zatrudnionych w przemyśle naftowym; pracownicy morskiego przemysłu naftowego przez co najmniej 20 dni w latach 1965-1999, wszyscy mężczyźni wyodrębnieni z kohorty, która odpowiedziała na ankietę przeprowadzoną za pomocą ankiet pocztowych	białaczka (szpikowa): ICD-10 (kod C92, D45-7) białaczka (AML): ICD-10 (kod C92.0)	narażenie skumulowane (tercyle), (ppm-lata): <0,001 ÷ 0,037 >0,037 ÷ 0,123 0,124 ÷ 0,948 <0,001 ÷ 0,037 >0,037 ÷ 0,123 0,124 ÷ 0,948	5 4 6 2 1 5 4 2 5	1,12 (0,31-4,01) 1,12 (0,30-4,23) 2,24 (0,65-7,71) 1,4 (0,18-11,0) 0,85 (0,08-9,29) 4,85 (0,88-27,0) 6,23 (0,71-54,0) 3,08 (0,28-34,0) 6,74 (0,75-60,0)	wiek, narażenie na benzen w innym miejscu pracy, codzienne palenie papierosów	badania na podstawie zaktualizowanej kohorty norweskich pracowników offshore slabe strony badania: związane z czasem trwania narażenia; ryzyko jest wyzsze w przypadku osób, które po raz pierwszy narażono na kontakt przed 1980 r. mocne strony: dane z Norweskiego Rejestru Nowotworów zapewniają wysoki stopień kompletności; niezależne oszacowania narażenia opracowane dla tej kohorty; analizy dostosowane do niektórych czynników zakłócających ograniczenia: potencjalny błąd pamięci dla odległych zawodów (nie różnicujący); nie można było uwzględnić indywidualnych różnic w narażeniu w ramach każdej grupy zawodowej
<i>Rhomberg</i> i in. (2016), badania przeprowadzono w USA (1940-1996)	1696 pracowników z 3 zakładów produkujących gumę (Pliofilm), zatrudnionych przez co najmniej 1 dzień metoda oceny narażenia: pomiary ilościowe; zaktualizowane szacunki narażenia na benzen na podstawie klasyfikacji stanowisk, zrekonstruowane przez dodatkowe wywiady z byłymi pracownikami	białaczka (AML)	narażenie skumulowane (kwintyle), (ppm-lata): <1,55 1,55 ÷ 6,33 63,4 ÷ 20,24 20,25 ÷ 80,10 >80	0 0 0 0 6	0 (0-8,88) 0 (0-8,68) 0 (0-8,57) 0 (0-7,53) 10,11 (3,71-22,1)	brak informacji	jedna z wielu powtórnych ocen kohorty Pliofilm; dowody na efekt progowy mocne strony badania: ponownie ocenione szacunki narażenia na benzen na podstawie kwintyli ograniczenia: ocena na podstawie śmiertelności; brak kontroli dla potencjalnych czynników zakłócających; mała liczba przypadków i brak nowych; ponowna ocena narażenia dla tej kohorty opierała się na kilku dodatkowych danych i była wspierana przez przemysł chemiczny; podwyższone oszacowania zwiększają prawdopodobieństwo zaobserwowania pozornego progu

cd. tab. 17 / Table 17 cont.

Piśmiennictwo, plan badań	Badana populacja, metoda oceny narażenia	Skutek	Poziom narażenia (ppm-mo):	Liczba narażonych/zgonów	Oszacowane ryzyko (95% CI)	Kontrolowane współzmiennie	Uwagi		
Ireland i in. (1997), przeprowadzono w USA (1940-1977 i do 1991)	4172 mężczyzn zatrudnionych w zakładach chemicznych, którzy rozpoczęli pracę w latach 1940-1977; w zakładach były wydzielone: produkcja nitrobenzenu, fenolu, chlorobenzenu, kwasu solnego, alkilobenzenu	białaczka: łącznie AML, ALL, CML, CLL (ICD-8, kody 204-207)	narażenie skumulowane (ppm-mo): nienarażeni <12 12 ÷ 72 >72	5 2 0 3	1,1 (0,4-2,6) 2,5 (0,3-8,9) 0 (0-5,4) 4,6 (0,9-13,4)	wiek	skumulowane narażenia były niskie w porównaniu z kohortą osób pracujących przy produkcji kauczuku		
		białaczka: ostra nielimiocytna	nienarażeni <12 12 ÷ 72 >72	2 1 0 1	1,4 (0,2-5,0) 3,7 (0,1-20,6) 0 (0-44,1) 4,5 (0,1-25,3)		ograniczenia: zbieranie danych na temat narażenia rozpoczęło się w 1980 r., kiedy działały tylko wydzielone chlorobenzenu i kwasu moczowego, więc w większości przypadków narażenie zostało oszacowane przez higienistów przemysłowych (w tym w latach 1940-1950. Kiedy dane na temat narażenia były bardzo skąpe); akty zgonu były głównym źródłem stwierdzenia białaczki; niektóre białaczki prawdopodobnie pominięte lub błędnie sklasyfikowane; możliwość narażenia na zanieczyszczenia występujące w stosowanym w obiekcie benzynie ze smoly węglowej; nie można było oszacować narażenia na benzen dla pracowników zajmujących się konserwacją sprzętu		
		NHL (CLL)	nienarażeni <12 12 ÷ 72 >72	1 1 0 1	1,0 (0-5,3) 5,9 (0,1-32,6) 0 (0-24,7) 6,7 (0,2-37,7)		0,5 (0-2,8) 0 (0-10,1) 6,8 (0,8-2,5) 3,7 (0,1-20,1)		
		szpiczak mnogi	nienarażeni <12 12 ÷ 72 >72	1 0 2 1	0,5 (0-2,8) 0 (0-10,1) 6,8 (0,8-2,5) 3,7 (0,1-20,1)		0 (0-3,3) 0 (0-16,8) 0 (0-21,4) 0 (0-27,4)		
		chłoniak ziarnicy (chłoniak Hodgkina)	nienarażeni <12 12 ÷ 72 >72	0 0 0 0	0 (0-3,3) 0 (0-16,8) 0 (0-21,4) 0 (0-27,4)				
		rak gardła / nosogardzieli: ICD-8 (kod 147)	narażeni (exposed)	29	1,9 (0,9-4,3)			pleć, wiek, rok kalendarzowy	aktualizacja kohorty NCI-CAPM; zastępuje Yin i in. (1996a), Hayes i in. (1996); opóźnienie 2 lata dla HLD, 10 lat dla wszystkich innych wyników; brak dostępnych nieujawnionych przypadków incydentów dla CLL
		rak gardła / nosogardzieli: ICD-8 (kod 147)	narażeni (exposed)	29	1,9 (0,9-4,3)			pleć, wiek, rok kalendarzowy	mocne strony badania: duża próba; okres obserwacji 28 lat
		rak żołądka	narażeni (exposed)	211	1,0 (0,8-1,3)			pleć, wiek, rok kalendarzowy	ograniczenia: osoby narażone podzielone tylko na 2 grupy (brak dalszej klasyfikacji); obejmuje szeroki zakres procesów przemysłowych

cd. tab. 17 / Table 17 cont.

Piśmiennictwo, plan badań	Badana populacja, metoda oceny narażenia	Skutek	Poziom narażenia	Liczba narażonych/zgonów	Oszacowane ryzyko (95% CI)	Kontrolowane współzmiennie	Uwagi
		NHL (białaczka B-komórkowa): ICD-8 (kod 202-202); białaczki i chłoniak Hodgkina	narażeni ( <i>exposed</i> )	31	4,0 (1,6–13,4)	pleć, wiek, rok kalendarzowy	
		NHL (białaczka B-komórkowa): ICD-9 (kod 202-202); białaczki i chłoniak Hodgkina	narażeni ( <i>exposed</i> )	31	3,2 (1,4–9,4)		
		NHL (białaczka B-komórkowa): ICD-9 (kod 202-202)	narażeni ( <i>exposed</i> )	30	3,9 (1,5–13,2)		
		szpiczak mnogi: ICD-9 (kod 20)	narażeni ( <i>exposed</i> )	1	0,12 (0,01–0,96)		
		białaczka: ICD-9 (kod 204-208)	narażeni ( <i>exposed</i> )	60	2,5 (1,4–4,9)		
		białaczka limfatyczna: ICD-9 (kod 204.0, 204.1, 204.2)	narażeni ( <i>exposed</i> )	10	5,4 (1,0–99,3)		
		białaczka (ALL): ICD-9 (kod 204.1)	narażeni ( <i>exposed</i> )	18	4,5 (0,8–83,9)		
		białaczka szpikowai: ICD-9 (kod 205, 206)	narażeni ( <i>exposed</i> )	39	2,2 (1,1–4,6)		
		białaczka (AML): ICD-9 (kod 205.0, 206.0, 207.0, 207.1, 207.2)	narażeni ( <i>exposed</i> )	26	2,1 (0,9–5,2)		
		białaczka (CML): ICD-9 (kod 205.1, 205.2)	narażeni ( <i>exposed</i> )	13	2,5 (0,8–10,7)		
		białaczka: ostra, NOS, ICD-9 (kod 208.0)	narażeni ( <i>exposed</i> )	6	3,5 (0,6–66,1)		
		białaczka: ostra, NOS, ICD-9 (kod 208.8, 208.9)	narażeni ( <i>exposed</i> )	5	2,4 (0,4–44,4)		
		NHL (CLL): ICD-9 (kod 204.1, 204.2)	narażeni ( <i>exposed</i> )	2	nie podano		

cd. tab. 17 / Table 17 cont.

Piśmiennictwo, plan badań	Badana populacja, metoda oceny narażenia	Skutek	Poziom narażenia	Liczba narażonych/zgonów	Oszacowane ryzyko (95% CI)	Kontrolowane współzmiennie	Uwagi
Kirkeler i in. (2008b), badania przeprowadzone w Norwegii (1981-2003)	27 919 pracowników sektora ropy naftowej pracujących na morzu, zarejestrowanych w norweskim rejestrze pracodawców i pracowników, oraz 366 114 osób z ogólnej populacji pracującej (grupa kontrolna)	białaczka (ALL): ICD-9 (kod 204.0) białaczka (AML)	narażenie w czasie pracy na morzu narażenie w czasie pracy na morzu narażenie w czasie pracy na morzu	1 6 1	2,20 (0,3-16,60) 2,89 (1,25-6,67) 1,44 (0,19-10,7)	pleć, wiek, rok pierwszego narażenia, wykształcenie	dane z Rejestru Nowotworów Norwegii zapewniają wysoki stopień kompletności (określenie stanowisk pracy i kategorii pracy); brak ilościowej oceny narażenia na benzen
Bassig i in. (2015), Chiny (Szanghaj), 1996-2000/do 2009 (kohorta)	73 087 kobiet w wieku 40 ÷ 70 lat; Shanghai Women's Study (badanie populacyjne)  metoda oceny narażenia: połączone pomiary ilościowe; połączone z pomiarami benzenu w fabrykach (od 1954), z danymi kwestionariuszowymi i innymi informacjami	NHL	narażenie skumulowane (mg/m <sup>3</sup> -rok): nienarażeni (literatura) narażeni	78 24	1,00 1,86 (1,17-2,96)	palenie tytoniu, spożycie alkoholu, BMI, wykształcenie, wiek	mocne strony badania: wysoka reprezentatywność ogólnej populacji kobiet w Szanghaju; dokładne dane dotyczące narażenia; dokładne dane z rejestru nowotworów na temat zachorowań na nowotwory (bardzo niskie straty w obserwacji)
Guénel i in. (2002), badania przeprowadzone we Francji (1978-1989)	przypadki: 72 zidentyfikowane wśród pracowników (mężczyźni) kontrole: 285 kontroli dopasowanych do przypadków według roku urodzenia  metoda oceny narażenia: ocena eksperta	białaczka (ALL): ICD-9 (kod 204.0)	narażenie na benzen (benzene unit-lata): nienarażeni >0 ÷ <5,5 >5,5	9 1 2	1,0 0,6 (0,1-5,3) 3,3(0,3-43,3)	wiek	ograniczenia: tylko 24 przypadki NHL wśród narażonych brak uwag

Objaśnienia:

ALL – ostra białaczka limfoblastyczna; AML – ostra białaczka szpikowa; CI – przedział ufności; CLL – przewlekła białaczka limfocytowa; CML – przewlekła białaczka szpikowa; HLD – zaburzenia krwiotwórcze, limfoproliferacyjne i pokrewne; ICD – Międzynarodowa Statystyczna Klasyfikacja Chorób i Powiązanych Problemów Zdrowotnych; IH – higiena pracy (Industrial Hygiene); MDS – zespół mielodysplastyczny; MPD – zaburzenie mieloproliferacyjne; NCI-CAPM – Narodowy Instytut Raka-Chińska Akademia Medycyny Prewencyjnej; NHL – chłoniak niezwojny; NHL – nie określono rodzaju białaczki (not otherwise specified); SMR – standaryzowany współczynnik śmiertelności.

**Tabela 18.** Przykłady wyników badań ocenających wpływ benzenu na zdrowie populacji generalnej (cyt. za: IARC 2018)  
**Table 18.** Examples of study results evaluating the health effects of benzene on the general population (cited after: IARC 2018)

Piśmiennictwo, plan badań	Badana populacja, metoda oceny narażenia	Skutek	Poziom narażenia	Liczba narażonych/zgonów	Oszacowane ryzyko (95% CI)	Kontrolowane współzmiennie	Uwagi
Clavel i in. (1996), Francja, 1980-1990, case-control	226 pacjentów z białaczką włośchatokomórkową (podtyp białaczki limfatycznej) z 18 francuskich szpitali; kontrole: 425 szpitalnych, dopasowanych do przypadków wg płci, daty urodzenia, daty przyjęcia, miejsca zamieszkania; głównie z oddziałów ortopedycznych i reumatologicznych	HCL	narażenie skumulowane (mg/m <sup>3</sup> -rok): nienarażeni <1 1 ÷ 5 >5	189 15 10 7	1,0 0,7 (0,4–1,3) 0,7 (0,3–1,4) 0,5 (0,2–1,2)	dopasowanie zmiennych wiek i płeć, palenie tytoniu, miejsce zamieszkania, data przyjęcia	mocne strony badania: duża seria rzadkich guzów; dobra ocena narażenia  ograniczenia: niski odsetek odpowiedzi wśród kontroli
Ossi i in. (2010), Francja, 2000-2004 case-control	metoda oceny narażenia: ocena ekspercka  liczba przypadków: 244 NHL, 87 HD, 56 MM; tylko mężczyźni (w wieku 20 ÷ 75 lat); grupa kontrolna: 456 osób, głównie z oddziałów ortopedycznych i reumatologicznych; zamieszkałych w rejonie szpitala; dopasowane wg wieku, płci; wykluczone nowotwory, choroby związane z pracą zawodową, alkoholem, paleniem; eksperci uzyskali szacunki ppm z wcześniej opublikowanych danych	NHL	wszyscy narażeni na benzen vs nienarażeni benzen >1 ppm-lata czysty benzen czysty benzen, wyraźne narażenie latencja 30 lat narażenie o wysokiej intensywności MM – rozlany chłoniak wielkomórkowy	94 70 6 5 5 4 4	1,0 (0,7–1,5) 1,4 (0,9–2,1) 3,0 (0,8–11,2) 3,4 (0,8–15,0) 5,5 (1,0–30,7) 2,6 (0,6–11,2) 7,2 (1,6–33,2)	wiek, status społeczno-ekonomiczny	mocne strony badania: dobra ocena narażenia przez eksperta; bardzo wysoki odsetek odpowiedzi  ograniczenia: badanie szpitalne
Grasignani i in. (2004), Varese, Włochy, 1978-1997, case-control	120 przypadków z rejestru nowotworów; kontrola: 480 osób wybranych z archiwów służby zdrowia  oceny narażenia: modelowane stężenie benzenu poza miejscem zamieszkania w czasie diagnozy	białaczka: ICD-9 (kody 204.0–208.9), białaczka limfoidalna, białaczka szpikowa, białaczka monocytowa, inne białaczki określone i nieokreślone	stężenie benzenu (µg/m <sup>3</sup> ): <0,1 0,1 ÷ 10 >10	88 25 7	1,0 1,5 (0,9–2,5) 3,9 (1,4–11,3)	pleć, wiek, miejsce zamieszkania	wiek badanych dzieci 0 ÷ 14 lat  mocne strony badania: model narażenia  ograniczenia: mała liczba przypadków; adres tylko w momencie diagnozy; nieróżnicowa błędna klasyfikacja narażenia

cd. tab. 18 / Table 18 cont.

Piśmiennictwo, plan badań	Badana populacja, metoda oceny narażenia	Skutek	Poziom narażenia ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Liczba narażonych/zgonów	Oszacowane ryzyko (95% CI)	Kontrolowane współzmiennne	Uwagi
Vinceti i in. (2012), region Emilia-Romagna, Włochy, 1998-2009, case-control	83 przypadki białaczki dziecięcej (50 chłopców, 33 dziewczęta) z rejestru nowotworów; kontrole: 332, populację z archiwów służby zdrowia  metoda oceny narażenia: model dyspersji CALINE4 szacujący narażenia na benzen z ruchu drogowego; na podstawie adresu przy diagnozie; kategorie narażenia to przybliżone kwartyle średnich rocznych stężeń benzenu	ostra białaczka	stężenie benzenu ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ): <0,10 0,1 ÷ <0,25 0,25 ÷ <0,50 >0,50	16 18 17 32	1,0 0,8 (0,5-2,6) 1,1 (0,5-2,6) 1,7 (0,8-3,6)	pleć, wiek, województwo zamieszkania, stężenie PM10	zapadalność na białaczkę w ciągu 0 ÷ 14 lat; walidacja zgłoszonego modelu dyspersji; trendy liniowe nie były istotne statystycznie; statystycznie istotne powiązania z AML u dzieci w wieku poniżej 5 lat (OR = 5,46; 95% CI: 1,12-26,51; 11 przypadków)
		białaczka (ALL)	OR dla wzrostu o $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ śr. stężenia benzenu i o $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ śr. stężenia PM10	64	0,97 (0,49-1,93)		mocne strony badania: populacja, model narażenia
		białaczka (AML)		19	1,92 (0,64-5,78)		ograniczenia: mała liczba przypadków; adres tylko w momencie diagnozy; ograniczone dopasowanie zakłócające; nieróżnicowa błędna klasyfikacja narażenia
Houat i in. (2015), Île-de-France, Francja, 2002-2007, case-control	2760 przypadków białaczki dziecięcej z rejestru nowotworów; kontrole: 6147 osób z baz danych podatkowych  metoda oceny narażenia: zapisy; modelowane stężenie benzenu poza miejscem zamieszkania w czasie diagnozy	białaczka (ALL)	stężenie benzenu ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ): <1,3 >1,3	215 210	1,0 0,9 (0,7-1,0)	wiek	częstość występowania białaczki u dzieci w wieku 0 ÷ 14 lat
		białaczka (AML)	<1,3 >1,3	33 39	1,0 1,6 (1,0-2,4)	wiek	mocne strony badania: populacja; model narażenia  ograniczenia: mała liczba przypadków AML; adres tylko w momencie diagnozy; ograniczone dopasowanie zakłócające; nieróżnicowa błędna klasyfikacja narażenia

cd. tab. 18 / Table 18 cont.

Piśmiennictwo, plan badań	Badana populacja, metoda oceny narażenia	Skutek	Poziom narażenia	Liczba narażonych/zgonów	Oszacowane ryzyko (95% CI)	Kontrolowane współzmiennie	Uwagi
Heck i in. (2014), Kalifornia, USA, 1990-2007, <i>case-control</i>	przypadki: 69 osób z ALL i 46 osób z AML z rejestru nowotworów; kontrole: 2627 osób dla ALL i 17 299 osób dla AML, wybranych losowo z populacji z kalifornijskimi metrykami urodzenia	białaczka (ALL)	OR dla wzrostu stężenia benzenu ( $1,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) w czasie ciąży: 1. trymestr 2. trymestr 3. trymestr cała ciąża	66 66 66 66 61	0,85 (0,58–1,26) 1,16 (0,80–1,67) 1,50 (1,08–2,09) 1,44 (0,84–2,48) 1,23 (0,62–2,48)	rok urodzenia, miejsce urodzenia matki, status socjoekonomiczny sąsiedztwa, rasa i pochodzenie matki	wiek dzieci poniżej 6 lat; badanie eksploracyjne 22 substancji toksycznych w powietrzu  mocne strony badania: populacyjne; ocena narażenia na podstawie monitoringu
		białaczka (AML)	1. rok życia 1. trymestr 2. trymestr 3. trymestr cała ciąża 1. rok życia	41 41 41 41 52	1,13 (0,64–2,01) 1,30 (0,74–2,28) 1,75 (1,04–2,93) 1,94 (0,89–4,19) 2,61 (0,97–6,99)	ograniczenia: mała liczba przypadków; brak historii miejsc zamieszkania; wielokrotne testowanie; nieróżnicowa błędna klasyfikacja narażenia	
Janitz i in. (2017), Oklahoma, USA, 1997-2012, <i>case-control</i>	przypadki: ostra białaczka, 307; ALL, 228; AML, 79; rejestr nowotworów; kontrole: 1013, populacja z aktami urodzenia z Oklahomy  metoda oceny narażenia: inna; Baza danych US EPA National Air Toxics Assessment modelowała stężenie benzenu w 2005 r. w miejscu zamieszkania w momencie urodzenia; punkty odciążenia poziomu narażenia oparto na kwartylach stężenia benzenu ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) w grupie kontrolnej	białaczka: łącznie ALL i AML	stężenie benzenu ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ): 0,11 ÷ <0,39 0,39 ÷ <0,67 0,67 ÷ <0,91 0,91 ÷ 2,03	73 71 77 86	1,00 1,06 (0,71–1,58) 1,21 (0,79–1,87) 1,28 (0,83–1,97)	data urodzenia, rasa/pochodzenie etniczne, wiek w momencie rozpoznania choroby, płeć, kolejność urodzenia, pola elektromagnetyczne, urbanizacja, edukacja matki, palenie podczas ciąży	wiek pacjentów 0 ÷ 19 lat  mocne strony badania: populacyjny model narażenia  ograniczenia: mała liczba przypadków; brak historii adresów zamieszkania; ocena narażenia tylko przez 1 rok, nieróżnicowana błędna klasyfikacja narażenia
		białaczka (ALL) – białaczka dziecięca  białaczka (AML) – białaczka dziecięca	0,11 ÷ <0,39 0,39 ÷ <0,67 0,67 ÷ <0,91 0,91 ÷ 2,03	nie podano nie podano nie podano nie podano	1,00 0,91 (0,58–1,44) 1,07 (0,66–1,76) 1,06 (0,65–1,74)	nie podano nie podano nie podano nie podano nie podano	1,00 1,60 (0,67–3,82) 1,92 (0,77–4,74) 2,42 (0,98–5,96)

cd. tab. 18 / Table 18 cont.

Piśmiennictwo, plan badań	Badana populacja, metoda oceny narażenia	Skutek	Poziom narażenia	Liczba narażonych/zgonów	Oszacowane ryzyko (95% CI)	Kontrolowane współzmiennne	Uwagi
Spycher i in. (2017), Szwajcaria, 1990 lub 2000 - do końca 2008 (kohorta)	1 664 801 dzieci w wieku <16 lat metoda oceny narażenia: dane spisowe dotyczące zawodu rodziców i JEM (na podstawie ISCO-88) w celu kategoryzacji potencjalnego narażenia na benzen	białaczka (ALL) białaczka (AML)	narażenie zawodowe matki narażenie zawodowe matki	19 3	1,92 (1,18–3,13) 1,05 (0,32–3,48)	pleć; rok urodzenia; wykształcenie; liczba osób w rodzinie; status socjoekonomiczny sąsiedztwa; tła promieniowania jonizującego i pól elektromagnetycznych; odległość do autostrady, rafinerii ropy naftowej, stacji benzynowej i obsługi pojazdów mechanicznych	nie zaobserwowano związku między częstością występowania AML lub ALL a narażeniem ojca, narażeniem matek zwiększało ryzyko powstawania białaczek u dzieci  mocne strony badania: badanie populacyjne z danymi dotyczącymi częstości występowania chorób; modele dostosowane do szeregu czynników społeczno-ekonomicznych, okofoporodowych i środowiskowych (tła promieniowania jonizującego i pól elektromagnetycznych z nadajników radiowych i telewizyjnych); dokładne i kompletne ustalenie wyniku  ograniczenia: brak uwzględnienia palenia przez matkę; mała liczba ujawnionych przypadków AML

Objaśnienia:

ALL – ostra białaczka limfoblastyczna/limfocytowa; AML – ostra białaczka szpikowa; CALINE4 – model California Line Source Dispersion, wersja 4; CI – przedział ufności; HCL – białaczka włochatokomórkowa; HD – chłoniak Hodgkinowski (Hodgkin disease); ICD – Międzynarodowa Statystyczna Klasyfikacja Chorób i Powiązanych Problemów Zdrowotnych; ISCO – Międzynarodowa Standardowa Klasyfikacja Zawodów; JEM – macierz ekspozycji pracy; MM – szpiczak mnog; NHL – chłoniak niehodgkinowski; OR – iloraz szans; PM – cząstki stałe; ppm – części na milion; US EPA – Agencja Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych.



**Działanie rakotwórcze na zwierzęta**

Na podstawie szeregu eksperymentów stwierdzono, że benzen wykazuje działanie rakotwórcze na zwierzęta laboratoryjne zarówno po podaniu dożołądkowym (tab. 19), jak i narażeniu drogą inhalacyjną (tab. 20). Zmiany nowotworowe dotyczą układu krwiotwórczego, gruczołu Zymbala, wątroby, płuc, gruczołów limfatycznych, jamy nosowej i ustnej, sutka, gruczołu napletkowego, jajników, przedzołądka, skóry. Częstość zmian nowotworowych u zwierząt w zależności od stężenia lub dawki benzenu przedstawiono w tabelach 19, 20 i 21.

Na podstawie badań NTP (1986) oraz Huffa i in. (1989) u myszy B6C3F1 (zarówno

u samców, jak i samic) po podaniu benzenu drogą pokarmową obserwowano raka kolczystokomórkowego w gruczole Zymbala i przedzołądka. U samców raka tego stwierdzono również w gruczole napletkowym. Raki i gruczolaki zanotowano także w tkankach krwiotwórczych i limfoidalnych, w płucach oraz wątrobie. U samic stwierdzono zmiany nowotworowe również w jajnikach i gruczole sutkowym (tab. 19). Maltoni i in. (1988; 1989) także obserwowali zmiany nowotworowe po podaniu benzenu drogą pokarmową u myszy szczepu Swiss i RF/J. U szczurów F344 (Huff i in. 1989; Maltoni 1988; 1989; NTP 1986) największe zmiany nowotworowych zanotowano w gruczole Zymbala i jamie ustnej (tab. 19).

**Tabela 19.** Rakotwórcze działanie benzenu na zwierzęta laboratoryjne po narażeniu drogą pokarmową  
**Table 19.** Carcinogenicity of benzene in laboratory animals after oral exposure

Gatunek zwierząt, liczebność badanych grup	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy B6C3F1, ♂ (n = 60)	droga pokarmowa; benzen w oleju kukurydzianym: 0 (kontrola), 25, 50 i 100 mg/kg**, 5 dni/tydz., 103 tygodnie	gruczoł Zymbala – rak kolczystokomórkowy: K – 0/33, grupy badane – 1/34, 4/44*, 21/39*, tkanki krwiotwórcze i limfoidalne – chłoniak: K – 4/49, grupy badane – 9/48, 9/50*, 15/49*, – chłoniak lub leukemia (łącznie): K – 4/49, grupy badane – 10/48*, 10/50*, 15/49*, płuca – pęcherzykowy/oskrzelikowy gruczolak: K – 6/49, grupy badane – 6/48, 8/50, 12/49*, – pęcherzykowy/oskrzelikowy rak: K – 5/49, grupy badane – 11/48, 12/50*, 14/49*, – pęcherzykowy/oskrzelikowy gruczolak lub rak (łącznie): K – 10/49, grupy badane – 16/48, 19/50*, 21/49*, nadnercze – guz chromochłonny: K – 1/47, grupy badane – 1/48, 7/49*, 1/46, gruczoł napletkowy – rak kolczystokomórkowy: K – 0/21, grupy badane – 3/28, 18/29*, 28/35*, – rak (rodzaj nieokreślony): K – 0/21, grupy badane – 2/28, 1/29, 3/35*, – rak (wszystkie rodzaje, łącznie): K – 0/21, grupy badane – 5/28, 19/29*, 31/35*, gruczoł Harderiana – gruczolak: K – 0/49, grupy badane – 9/46*, 13/49*, 11/48*, – gruczolak lub rak (łącznie): K – 1/49, grupy badane – 10/46*, 13/49*, 14/48*, przedzołądek – brodawczak kolczystokomórkowy: K – 2/45, grupy badane – 1/42, 2/44, 5/38*, – brodawczak kolczystokomórkowy lub rak (łącznie): K – 2/45, grupy badane – 2/42, 3/44, 5/38*, wątroba – rak wątrobowokomórkowy: K – 9/49, grupy badane – 8/48, 17/50*, 8/47, – gruczolak wątrobowokomórkowy lub rak (łącznie): K – 5/49, grupy badane – 17/48, 22/50*, 11/47	NTP 1986; Huffi in. 1989

cd. tab. 19 / Table 19 cont.

Gatunek zwierząt, liczebność badanych grup	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy B6C3F1, ♀ (n = 60)	droga pokarmowa; benzen w oleju kukurydzianym: 0 (kontrola), 25, 50 i 100 mg/kg**, 5 dni/tydz., 103 tygodnie	gruczoł Zymbala – rak kolczystokomórkowy: K – 0/43, grupy badane – 0/32, 1/37, 3/31*, tkanki krwiotwórcze i limfoidalne – chłoniak: K – 15/49, grupy badane – 24/45*, 24/50*, 20/49*, – chłoniak lub leukemia (łącznie): K – 15/49, grupy badane – 25/45*, 26/50*, 22/49*, płuca – pęcherzykowy/oskrzelikowy gruczolak: K – 4/49, grupy badane – 2/42, 5/50, 9/49*, – pęcherzykowy/oskrzelikowy rak: K – 0/49, grupy badane – 3/42, 6/50*, 6/49*, – pęcherzykowy/oskrzelikowy gruczolak lub rak (łącznie): K – 4/49, grupy badane – 5/42, 10/50*, 13/49*, jajnik – gruczolak rurkowy: K – 0/47, grupy badane – 0/48, 3/49, 3/48*, – guzy komórkowe, łagodne: kontrola – 1/47, grupy badane – 1/44, 6/49*, 7/48*, – guzy komórkowe lub rak (łącznie): K – 1/47, grupy badane – 1/44, 6/49*, 8/48*, – łagodne guzy mieszane: K – 0/47, grupy badane – 1/44, 12/49*, 7/48*, gruczoł sutkowy – rak: K – 0/49, grupy badane – 2/45, 5/50*, 10/49*, – rakomięsak: K – 0/49, grupy badane – 0/45, 1/50, 4/49*, gruczoł Harderiana – rak: K – 0/48, grupy badane – 0/44, 0/50, 4/47*, – gruczolak lub rak (łącznie): K – 5/48, grupy badane – 6/44, 10/50, 10/47*, przedłożądek – brodawczak kolczystokomórkowy: K – 1/42, grupy badane – 3/40, 6/45*, 5/42*, wątroba – gruczolak wątrobowokomórkowy: K – 1/49, grupy badane – 8/44*, 5/50, 4/49, – gruczolak wątrobowokomórkowy lub rak (łącznie): K – 4/49, grupy badane – 12/44*, 13/50*, 7/49	NTP 1986; Huffi in. 1989; EPA 2002
Myszy Swiss, ♂, ♀ (n = 40)	droga pokarmowa, benzen w oliwie z oliwek: 0 (kontrola), 500 mg/kg mc., 4 ÷ 5 dni/tydz., 78 tygodni	samce: płuca – wszystkie guzy (głównie gruczolaki): 3/40, 17/40*, wszystkie lokalizacje – guzy łagodne i złośliwe (łącznie): 15/40, 24/40*, – guzy złośliwe: 9/40, 14/40, samice: gruczoł sutkowy – rak: 2/40, 19/40*, płuca – wszystkie guzy (głównie gruczolaki): 4/40, 15/40*, wszystkie lokalizacje – guzy łagodne i złośliwe (łącznie): 16/40, 32/40*, – guzy złośliwe: 11/40, 28/40*,	Maltoni i in. 1988
Myszy RF/J, ♂ (n = 45), ♀ (n = 40)	droga pokarmowa, benzen w oliwie z oliwek: 0 (kontrola), 500 mg/kg mc., 4 ÷ 5 dni/tydz., 52 tygodnie	samce: płuca – wszystkie guzy (głównie gruczolaki): 5/45, 23/45*, tkanki krwiotwórcze i limfoidalne – białaczka: 17/45, 26/45*, wszystkie lokalizacje – guzy łagodne i złośliwe (łącznie): 18/45, 33/45*, – guzy złośliwe: 19/45, 26/45, samice: gruczoł sutkowy – rak: 2/40, 19/40*, tkanki krwiotwórcze i limfoidalne – białaczka: 14/40, 24/40*, płuca – wszystkie guzy (głównie gruczolaki): 3/40, 18/40*, wszystkie lokalizacje – guzy łagodne i złośliwe (łącznie): 20/40, 34/40*, – guzy złośliwe: 3/40, 18/40*,	Maltoni i in. 1989

cd. tab. 19 / Table 19 cont.

Gatunek zwierząt, liczebność badanych grup	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury F344, ♂ (n = 60)	droga pokarmowa; benzen w oleju słonecznikowym: 0 (kontrola), 50, 100 i 200 mg/kg**, 5 dni/tydz., 103 tygodnie	gruczoł Zymbala – rak: K – 2/32, grupy badane – 6/46, 10/42*, 17/42*, jama ustna – rak kolczystokomórkowy: K – 0/50, grupy badane – 3/50, 5/50*, 7/50*, – brodawczak kolczystokomórkowy: K – 1/50, grupy badane – 6/50, 11/50, 13/50, język – rak kolczystokomórkowy: K – 0/50, grupy badane – 3/50, 4/50, 4/50*, warga – rak kolczystokomórkowy: K – 0/50, grupy badane – 0/50, 0/50, 3/50, podniebienie – brodawczak kolczystokomórkowy: K – 0/50, grupy badane – 4/50, 4/50, 9/50* skóra – rak kolczystokomórkowy: K – 0/50, grupy badane – 5/50*, 3/50, 8/50*, – brodawczak kolczystokomórkowy: K – 0/50, grupy badane – 2/50, 1/50, 5/50*,	NTP 1986; Huffi in. 1989
Szczury F344, ♀ (n = 60)	droga pokarmowa; benzen w oleju słonecznikowym: 0 (kontrola), 25, 50 i 100 mg/kg**, 5 dni/tydz., 103 tygodnie	gruczoł Zymbala – rak: K – 0/45, grupy badane – 5/40*, 5/44*, 14/46*, jama ustna – rak kolczystokomórkowy: K – 0/50, grupy badane – 1/50, 4/50, 5/50*, – brodawczak kolczystokomórkowy: K – 0/50, grupy badane – 1/50, 4/50, 5/50*, język – rak kolczystokomórkowy: K – 0/50, grupy badane – 0/50, 4/50*, 4/50*, macica – polip zrębu endometrium: K – 7/50, grupy badane – 7/50, 7/49, 14/50*	NTP 1986; Huffi in. 1989
Szczury Wistar, ♂, ♀ (n = 40)	droga pokarmowa; benzen w oliwie z oliwek: 0, 500 mg/kg mc., 1 raz dziennie, 4 ÷ 5 dni/tydz., 104 tygodnie	samce: gruczoł Zymbala – rak: 0/40, 7/40*, jama ustna – rak: 1/40, 2/40, jama nosowa – rak: 0/40, 2/40, tkanki krwiotwórcze i limfoidalne – neoplazja hemolimforetyczna ( <i>haemolymphoreticular neoplasia</i> ): 1/40, 2/40, wszystkie lokalizacje – guzy złośliwe: 8/40, 19/40* samice: gruczoł Zymbala – rak: 0/40, 6/40*, jama ustna – rak: 0/40, 4/40, jama nosowa – rak: 0/40, 1/40, tkanki krwiotwórcze i limfoidalne – neoplazja hemolimforetyczna ( <i>haemolymphoreticular neoplasia</i> ): 3/40, 4/40, wszystkie lokalizacje – guzy złośliwe: 10/40, 21/40*	Maltonii in. 1988; 1989

Objaśnienia:

♂ – samce.

♀ – samice.

K – kontrola.

\* wynik statystycznie znamieny.

\*\* dawki: 25; 50; 100; 200 mg/kg w oleju kukurydzianym zostały ponownie oszacowane przez EPA (2002) na: 18; 36; 71; 143 mg/kg mc./dzień.

Po narażeniu inhalacyjnym Cronkite i in. (1985; 1989) obserwowali zwiększenie częstości występowania chłoniaków u myszy narażanych na benzen o stężeniu 960 mg/m<sup>3</sup>, a białaczek przy stężeniach równych i wyższych niż 320 mg/m<sup>3</sup> (tab. 20). U samic zanotowano również zwiększenie liczby przypadków raka jajników i gruczołu Zymbala. Cronkite i in. (1989) przeprowadzili badania rakotwórczego działania benzenu, stosując szeroki zakres stężeń benzenu: 32 ÷ 9600 mg/m<sup>3</sup>. Przy stężeniach niższych niż 320 mg/m<sup>3</sup> nie zanotowano zmian nowotworowych, natomiast w grupach zwierząt narażonych na wyższe stężenia niż 960 mg/m<sup>3</sup> śmiertelność myszy była bardzo wysoka. Zwierzęta narażane na benzen o stężeniu 9600 mg/m<sup>3</sup> przeżyły tylko 8 dni, po tym czasie nie zanotowano u nich zmian nowotworowych. Stężenie benzenu 960 mg/m<sup>3</sup> uważane jest za wartość LOAEL dla występowania u myszy wszystkich rodzajów

białaczek (Edokpolo i in. 2019). Farris in. (1993) po narażeniu samców myszy CBA/Ca na benzen o stężeniu 960 mg/m<sup>3</sup> obserwowali statystycznie znamienne zwiększenie liczby przypadków chłoniaka, gruczolaka w płucach i raka kolczystokomórkowego w gruczole napletkowym (tab. 20). Częstość zmian stwierdzana w innych narządach nie była istotna statystycznie.

Kawasaki i in. (2009) narażali myszy C57BL/6 i C3H/He (szczoney dzikie) na różne stężenia benzenu (tab. 20). W przypadku myszy C57BL/6 po narażeniu na benzen o stężeniu 960 mg/m<sup>3</sup> zanotowano istotne statystycznie zwiększenie częstości występowania chłoniaka grasiczego oraz nowotworów tkanek krwiotwórczych i limfoidalnych (łącznie). Natomiast inne zmiany nowotworowe stwierdzone u tego szczepu myszy i zmiany u myszy C3H/He nie były istotne statystycznie.

**Tabela 20.** Rakotwórcze działanie benzenu po narażeniu inhalacyjnym

**Table 20.** Carcinogenicity of benzene after inhalation exposure

Gatunek zwierząt, liczebność badanych grup	Stężenia i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy C57B1/6 BNL, ♀ K (n = 88), gr. badana (n = 89)	0 (kontrola), 960 mg/m <sup>3</sup> 6 h/dzień, 5 dni/tydzień, 16 tygodni	chłoniaki/białaczki (wszystkie rodzaje łącznie): 8/88, 20/89: chłoniak grasicy: 1/88, 10/89, chłoniak niegrasicy: 2/88, 6/89, białaczka szpikowa: 3/88, 0/89, białaczka (rodzaj nieokreślony): 2/88, 4/89, gruczał Zymbala: rak – 1/88, 16/89, jajnik: rak – 0/88, 8/89	Cronkite i in. 1985
Myszy CBA/Ca, ♂, ♀	0 (kontrola), 32, 80, 320, 960, 1280 i 9600 mg/m <sup>3</sup>  6 h/dzień, 5 dni/tydzień, 16 tygodni	stężenie 320 mg/m <sup>3</sup> , samce: nowotwory chłoniakowe – 8,2% (K – 17,1%), nowotwory szpikowe – 2,4% (K – 0%), wątrobiak – 41,2% (K – 38,6%), inne nowotwory z wyjątkiem wątrobiaków i nowotworów hematopoetycznych – 44,7% (K – 20,0%); stężenie 960 mg/m <sup>3</sup> , samce: nowotwory chłoniakowe – 1,8% (K – 11,7%), nowotwory szpikowe – 19,3% (K – 0%), wątrobiak – 10,5% (K – 26,7%), inne nowotwory z wyjątkiem wątrobiaków i nowotworów hematopoetycznych – 52,6% (K – 21,7%); stężenie 960 mg/m <sup>3</sup> , samice: nowotwory chłoniakowe – 7,4% (K – 8,3%), nowotwory szpikowe – 11,1% (K – 1,7%), wątrobiak – 0% (K – 13,3%), inne nowotwory z wyjątkiem wątrobiaków i nowotworów hematopoetycznych – 79,6% (K – 35,0%)	Cronkite i in. 1989

cd. tab. 20 / Table 20 cont.

Gatunek zwierząt, liczebność badanych grup	Stężenie i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy CBA/Ca, ♀ ( $n = 125$ )	0 (kontrola), 960 mg/m <sup>3</sup> 6 h/dzień, 5 dni/tydzień, 16 tygodni	chłoniak złośliwy: 2/119, 14/118*, gruczoł Zymbala – rak: 1/125, 14/125, gruczoł Hadariana – gruczolak: 6/125, 7/125, płuca – gruczolak: 17/119, 42/118*, gruczoł napletkowy – rak kolczystokomórkowy: 0/118, 71/118*, przedzłożadek – rak kolczystokomórkowy: 6/125, 9/125, szpik kostny – rozrost granulocytowy: 9/117, 42/116, śledziona – rozrost granulocytowy: 0/116, 7/114	Farris i in. 1993
Myszy C57BL/6, ♂ ( $n = 8 \div 20$ )	0 (kontrola), 106, 320 i 960 mg/m <sup>3</sup> 6 h/dzień, 5 dni/tydzień, 26 tygodni	tkanki krwiotwórcze i limfoidalne: chłoniak grasiczy – K – 0/20, grupy badane – 0/19, 2/19, 5/18*, chłoniak niegrasiczy – K – 2/20, grupy badane – 4/19, 1/19, 5/18, białaczka szpikowa – K – 0/20, grupy badane – 0/19, 0/19, 0/18, nowotwory tkanek krwiotwórczych i limfoidalnych (łącznie) – K – 2/20, grupy badane – 4/19, 3/19, 10/18*, inne nowotwory: guzy lite (nieokreślone) bez chłoniaków – K – 3/20, grupy badane – 3/19, 8/19, 2/18	Kawasakii in. 2009
Myszy C3H/He, ♀ ( $n = 23 \div 24$ )	0 (kontrola), 320 i 960 mg/m <sup>3</sup> 6 h/dzień, 5 dni/tydzień, 26 tygodni	tkanki krwiotwórcze i limfoidalne: chłoniak grasiczy – K – 0/23, grupy badane – 4/24, 0/23, chłoniak niegrasiczy – K – 2/23, grupy badane – 2/24, 5/23, białaczka szpikowa – K – 0/23, grupy badane – 0/24, 2/23, nowotwory tkanek krwiotwórczych i limfoidalnych (łącznie) – K – 2/23, grupy badane – 6/24, 7/23, inne nowotwory: guzy lite (nieokreślone) bez chłoniaków – K – 11/23, grupy badane – 5/24, 8/23	Kawasakii in. 2009

Objaśnienia:

K – kontrola.

♂ – samce.

♀ – samice.

\* wynik statystycznie znamieny.

Badania rakotwórczego działania benzenu przeprowadzono także na modelu myszy haploinsufficient (NTP 2007). Prowadzono je w ramach prac NTP mających na celu poszukiwanie ulepszonych systemów modelowych do badań toksykologicznych i kancerogenezy, zwłaszcza tych, które mogą dostarczyć mechanistycznych informacji dotyczących zrozumienia sposobu działania środka (w tym przypadku benzenu). Wyniki przeprowadzonego eksperymentu (tab. 21) pozwoliły na stwierdzenie, że benzen podawany drogą pokarmową przez 27 tygodni działanie rakotwórcze wykazywał tylko u samców myszy B6.129-Cdkn2 (p16<sup>Ink4a</sup>/p19<sup>Arf</sup>), u których stwierdzono chłoniaka złośliwego (NTP 2007).

Kawasaki i in. (2009) narażali drogą inhalacyjną samce wsobnych myszy kongenicznych B6.CBA-Trp53tm1Sia na benzen o stężeniach: 106, 320 lub 960 mg/m<sup>3</sup> przez 26 tygodni (tab. 21). U zwierząt stwierdzono chłoniaki grasicze i niegrasicze oraz ostrą białaczkę mielocytową. Jednak tylko

liczba przypadków chłoniaków grasiczych zanozowanych po największym stężeniu benzenu była statystycznie znamienne wyższa w porównaniu z grupą kontrolną. Podobne wyniki uzyskano po narażeniu myszy C57BL/6 typu dzikiego (tab. 21), (Kawasaki i in. 2009).

Samce myszy C3H/He-Trp53tm1Sia były narażane drogą inhalacyjną na benzen o stężeniach 320 lub 960 mg/m<sup>3</sup> (tab. 21). U zwierząt stwierdzono chłoniaki grasicze i niegrasicze oraz ostrą białaczkę mielocytową. Częstość występowania zmian nowotworowych była statystycznie znamienne większa w porównaniu z grupą kontrolną po narażeniu na najwyższe stężenie benzenu. W przypadku narażenia na benzen myszy C3H/He typu dzikiego częstość występowania zmian nowotworowych nie była statystycznie znamienna (tab. 21), (Kawasaki i in. 2009).

Według IARC (2018) istnieją wystarczające dowody na rakotwórczość benzenu u zwierząt doświadczalnych.

**Tabela 21.** Rakotwórcze działanie benzenu po narażeniu zwierząt genetycznie modyfikowanych  
**Table 21.** Carcinogenic effects of benzene after exposure to genetically modified animals

Gatunek i płeć zwierząt, liczebność badanych grup	Droga narażenia, wielkość i czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy B6.129-Cdkn2 kongeniczne, heterozygotyczne ze zmniejszoną ekspresją białka supresorowego nowotworu p16Ink4a oraz wariantu transkrypcyjnego p19Arf ( <i>haploinsufficient</i> p16 <sup>Ink4a</sup> /p19 <sup>Arf</sup> ), ♂, ♀ (n = 15)	droga pokarmowa; benzen w oleju kukurydzianym w dawkach: 0 (kontrola), 25, 50, 100 i 200 mg/kg mc. 5 razy/tydz., 27 tygodni	samice: brak zmian nowotworowych; samce: chłoniak – 0/15, 0/15, 0/15, 5/15	NTP 2007
Myszy C57BL/6-Trp53tm1Sia, ♂ (n = 24 ÷ 27)	narażenie inhalacyjne; stężenie benzenu: 0 (kontrola), 106, 320 i 960 mg/m <sup>3</sup> 6 h/dzień, 5 dni/tydz., 26 tygodni	tkanki krwiotwórcze i limfoidalne: chłoniak grasiczy – K – 0/24, grupy badane – 1/27, 4/25, 19/26*, chłoniak niegrasiczy – K – 9/24, grupy badane – 10/27, 5/25, 2/26, ostra białaczka mielocytowa – K – 0/24, grupy badane – 0/27, 0/25, 2/26,	Kawasaki i in. 2009
Myszy C3H/He-Trp53tm1Sia, ♂ (n = 24)	narażenie inhalacyjne; stężenie benzenu: 0 (kontrola), 320 i 960 mg/m <sup>3</sup> 6 h/dzień, 5 dni/tydz., 26 tygodni	tkanki krwiotwórcze i limfoidalne: chłoniak grasiczy – K – 1/24, grupy badane – 12/24*, 6/24*, chłoniak niegrasiczy – K – 3/24, grupy badane – 6/24, 10/24*, ostra białaczka mielocytowa – K – 2/24, grupy badane – 2/24, 9/24*,	Kawasaki i in. 2009

Objaśnienia:

♂ – samce.

♀ – samice.

K – kontrola.

\* wynik statystycznie znamieny.

### Jakościowa ocena działania rakotwórczego

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) w 2018 r. podtrzymała swoją wcześniejszą decyzję o zaliczeniu benzenu do czynników rakotwórczych dla ludzi (grupa 1) na podstawie danych mechanistycznych wskazujących na fakt, że benzen wykazuje wiele kluczowych cech czynników rakotwórczych. W szczególności istnieją mocne dowody, że u narażonych ludzi benzen:

- jest metabolicznie aktywowany do metabolitów elektrofilowych,
- indukuje stres oksydacyjny i związane z nim uszkodzenia oksydacyjne DNA,
- jest genotoksyczny, powoduje zmiany chromosomalne i uszkodzenia DNA,
- jest immunosupresyjny,
- powoduje hematotoksyczność.

W państwach Unii Europejskiej benzen ma ustaloną klasyfikację zharmonizowaną jako substancja rakotwórcza kategorii zagrożenia 1A (substancje o udowodnionym działaniu rakotwórczym dla człowieka) z przypisanym zwrotem

wskazującym rodzaj zagrożenia H350: „Może powodować raka” i jako związek mutageny kategorii zagrożenia 1B z przypisanym zwrotem H340: „Może powodować wady genetyczne” (DECOS 2014; Rozporządzenie... 2008). W związku z tym benzen jest uznany za substancję o działaniu rakotwórczym w środowisku pracy (Dyrektywa... 2022; Rozporządzenie... 2012).

Eksperci ACGIH zaliczyli benzen do grupy A1 (czynnik o potwierdzonym działaniu rakotwórczym na ludzi), ponieważ przy narażeniu zawodowym benzen jest uznanym leukemogenem u ludzi (substancją mogącą wywoływać rozwój białaczki), (ACGIH 2001b).

W Niemczech benzen jest zaliczony do kancerogenów grupy 1, czyli do substancji, które powodują raka u ludzi i można przypuszczać, że znacząco przyczyniają się do ryzyka zachorowania na raka. Badania epidemiologiczne dostarczają wystarczających dowodów na dodatnią korelację między narażeniem ludzi a występowaniem raka (DFG 2020).

**Ilościowa ocena działania rakotwórczego**

Ryzyko jednostkowe białaczki (ryzyko dla okresu całego życia) przy narażeniu drogą oddechową na benzen o stężeniu  $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$  szacowane było przez wielu autorów na podstawie badań epidemiologicznych pracowników różnych zakładów. Zakres tych oszacowań wynosi  $2,2 \cdot 10^{-6} \div 7,8 \cdot 10^{-6}$ . Przy stężeniu benzenu  $3,2 \text{ mg}/\text{m}^3$  (1 ppm) ryzyko jednostkowe białaczki określono na  $8,6 \cdot 10^{-5} \div 2,5 \cdot 10^{-2}$  (Crump 1992; 1994; US EPA 1998). Crump (1992; 1994) ocenił wielkość ryzyka jednostkowego białaczki dla osób narażonych zawodowo na niskie stężenia benzenu (tab. 22).

Szacunki ryzyka zgonów związanych z białaczką powstającą w wyniku narażenia na benzen przeprowadzono na podstawie kohorty Pliofilm ( $3 \div 15$  przypadków/1000 pracowników, przy narażeniu wynoszącym  $320 \text{ mg}/\text{m}^3$  (10 ppm) rocznie). Obserwacje tej kohorty dostarczyły dowodów na indukcję białaczki mielocytowej w warunkach narażenia na benzen (Bertazzi, Zocchetti 1991).

SCOEL (1991) na podstawie dostępnych badań (w tym badań Bertazziego i Zocchetti 1991) podsumował liniowo ekstrapolowane zakresy dodatkowego ryzyka białaczki w okresie życia przy różnych poziomach narażenia (SCOEL 1991), (tab. 23).

ACGIH (1999) oceniła, że ryzyko wystąpienia białaczki po narażeniu na benzen o stężeniu  $1,6 \text{ mg}/\text{m}^3$  zawiera się w zakresie  $6,6 \cdot 10^{-4} \div 2,4 \cdot 10^{-3}$ .

Szacowanie wartości ryzyka powstawania białaczki u pracowników zawodowo narażonych na benzen przeprowadzili również Lebrecht i in. (2001; 2003). Wartość ryzyka wystąpienia białaczki po narażeniu na benzen o stężeniu  $10 \text{ mg}/\text{m}^3$  zawarta była w zakresie  $4,13 \cdot 10^{-3} \div 1,47 \cdot 10^{-2}$ . Średnie wartości stężenia benzenu w powietrzu w okresie zmiany roboczej, powodujące określoną wielkość ryzyka zachorowania na białaczkę po 40 latach zatrudnienia, podano w tabeli 24 (Lebrecht i in. 2001; 2003).

**Tabela 22.** Wielkość ryzyka jednostkowego białaczki w zależności od stężenia benzenu w powietrzu zakładów pracy (Crump 1992; 1994)  
**Table 22.** The magnitude of the unit risk of leukemia depending on the concentration of benzene in the air of workplaces (Crump 1992; 1994)

Wielkość ryzyka	Stężenie benzenu
$1/10\ 000$ ( $1 \cdot 10^{-4}$ )	$0,013 \div 0,045 \text{ mg}/\text{m}^3$ ( $13,0 \div 45,0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ )
$1/100\ 000$ ( $1 \cdot 10^{-5}$ )	$0,0013 \div 0,0045 \text{ mg}/\text{m}^3$ ( $1,3 \div 4,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ )
$1/1\ 000\ 000$ ( $1 \cdot 10^{-6}$ )	$0,00013 \div 0,00045 \text{ mg}/\text{m}^3$ ( $0,13 \div 0,45 \mu\text{g}/\text{m}^3$ )

**Tabela 23.** Dodatkowe ryzyko białaczki (SCOEL 1991)  
**Table 23.** Additional risk of leukemia (SCOEL 1991)

Stężenie benzenu, $\text{mg}/\text{m}^3$ (ppm)	Narażenie, ppm · lata	Dodatkowe przypadki białaczki na 1000 pracowników
0,32 (0,1)	4	$0,05 \div 0,7$
1,60 (0,5)	20	$0,25 \div 3,3$
3,20 (1,0)	40	$0,50 \div 6,6$
9,90 (3,0)	120	$2,00 \div 19,8$

**Tabela 24.** Ryzyko wystąpienia białaczki po zawodowym narażeniu na benzen (Lebrecht 2001; 2003)  
**Table 24.** Risk of leukemia after occupational exposure to benzene (Lebrecht 2001; 2003)

Wielkość ryzyka	Stężenie benzenu dla ryzyka jednostkowego, $\text{mg}/\text{m}^3$ (górną granicą $1,47 \cdot 10^{-6}$ )	Stężenie benzenu dla ryzyka jednostkowego, $\text{mg}/\text{m}^3$ (dolną granicą $4,13 \cdot 10^{-7}$ )
$1/100$ ( $1 \cdot 10^{-2}$ )	24,2	6,82
$1/1\ 000$ ( $1 \cdot 10^{-3}$ )	2,42	0,68
$1/10\ 000$ ( $1 \cdot 10^{-4}$ )	0,24	0,07
$1/100\ 000$ ( $1 \cdot 10^{-5}$ )	0,02	0,01

## Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

### Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość u ludzi

Obserwacje ludzi, którzy byli narażeni zawodowo na benzen, nie dostarczyły istotnych danych potwierdzających wpływ tego związku na rozrodczość. Większość badań wykonana była dość dawno, dostępne informacje nie pozwalały ocenić poziomu narażenia na benzen. Narażenie często dotyczyło mieszaniny różnych związków (w tym benzenu). Na podstawie dostępnych informacji przyjmuje się, że łożysko nie stanowi bariery dla benzenu. We krwi pępowinowej stwierdzano benzen w stężeniach zbliżonych do lub większych od stężeń we krwi obwodowej kobiet (Dowty i in. 1976). W tabeli 25 podano przykłady prac oceniających wpływ zawodowego narażenia na benzen na zdrowie kobiet.

Mukhametova i Vozovaya (1972) zaobserwowały, że w przypadku przedłużającego się narażenia na rozpuszczalniki organiczne u kobiet ciężarnych stwierdzano przypadki przedwczesnych porodów, spontanicznych poronień oraz zamartwicy płodów (tab. 26). Jednak należy pamiętać, że kobiety były narażone nie tylko na benzen, ale również na węglowodory chlorowane. Stężenie węglowodorów było 1,2 ÷ 2,4 raza wyższe niż dopuszczalne normy.

Badania przeprowadzone przez Yin i in. (1987a) oraz Huang (1991) również dotyczyły kobiet narażonych na mieszaninę związków, najczęściej benzenu i toluenu. Yin i in. (1987a) zanotowali u kobiet narażonych na benzen również statystycznie istotne obniżenie liczby limfocytów we krwi obwodowej. Liczba przypadków kobiet (narażonych na benzen) z nadmiernym

miesiączkowaniem była istotnie wyższa niż w grupie kontrolnej (tab. 25).

Heck i in. (2019) badali wpływ zawodowego narażenia ojców i matek na zachorowalność dzieci na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL). Badania opierały się na analizie rejestrów zachorowań na raka w Danii w latach 1968-1974. Ocenę narażenia przeprowadzono na podstawie ankiet. Stwierdzono, że liczba zachorowań na ALL wśród dzieci była wyraźnie powiązana z narażeniem matek. Takiej zależności nie obserwowano w przypadku ojców.

Katukam i in. (2012) badali pracowników przemysłowo narażonych na benzen w celu zbadania związku pomiędzy różnymi nieprawidłowościami w funkcjonowaniu układu rozrodczego a narażeniem na substancję. Do analizy pobrano próbki krwi i nasienia od 160 pracowników narażonych na benzen. Stężenie benzenu we krwi wynosiło  $26,92 \pm 21,33 \mu\text{mol/dl}$ . Pracowników podzielono na 3 grupy w zależności od czasu trwania (w latach) narażenia (8 h/dzień): grupa I – narażenie 0 ÷ 5 lat ( $n = 52$ ); grupa II – narażenie 5 ÷ 10 lat ( $n = 73$ ) oraz grupa III – narażenie 10 ÷ 15 lat ( $n = 35$ ). Kontrolę stanowiło 200 osób nienarażonych zawodowo. Integralność DNA plemników określono metodą testu kometowego i skorelowano ze stężeniami benzenu we krwi i w nasieniu. Stwierdzono istotne obniżenie całkowitej liczby plemników i ich ruchliwości oraz istotne zwiększenie nieprawidłowej morfologii plemników w grupach narażonych w porównaniu z grupą kontrolną.

W II grupie narażonych osób obserwowano również znaczące zwiększenie długości ogona plemników. Autorzy pracy uważają, że parametr wskazujący na uszkodzenia DNA może poprzedzać takie zaburzenia, jak niepłodność.

**Tabela 25.** Wpływ inhalacyjnego narażenia na benzen na zdrowie kobiet

**Table 25.** Effects of inhalation benzene exposure on women's health

Badana grupa	Wielkość narażenia na benzen	Obserwowane skutki	Piśmiennictwo
Kobiety, operatorki klejące różne przedmioty, ( $n = 360$ )	narażenie na benzynę i chlorowane węglowodory przez skórę i inhalacyjnie; stężenie benzenu – poniżej $5 \text{ mg/m}^3$	zaburzenia cyklu miesiączkowego	Mukhametova, Vozovaya 1972
Kobiety pracujące z rozpuszczalnikami, gr. badana ( $n = 87$ ), gr. kontrolna ( $n = 87$ )	1) $<131 \text{ mg/m}^3$ 2) $>131 \text{ mg/m}^3$ 3) kontrola	1) <i>hypermenorrhea</i> (nadmierne miesiączkowanie) – 4/40 2) <i>hypermenorrhea</i> – 4/47 3) <i>hypermenorrhea</i> – 1/87	Yin i in. 1987a
Kobiety pracujące w zakładach obuwniczych, gr. badana ( $n = 223$ ), gr. kontrolna ( $n = 327$ )	narażenie na benzen i toluen	zaburzenia miesiączkowania: gr. badana – 48,9% gr. kontrolna – 16,2% spontaniczne poronienia: gr. badana – 5,7% gr. kontrolna – 2,4% gestoza (toxemia): gr. badana – 22,6% gr. kontrolna – 10,5%	Huang 1991



**Tabela 26.** Toksyczność rozwojowa obserwowana u ludzi po narażeniu inhalacyjnym na benzen**Table 26.** Developmental toxicity observed in humans after inhalation exposure to benzene

Badana grupa	Wielkość narażenia na benzen	Obserwowane skutki	Piśmiennictwo
Pracownice uniwersyteckich laboratoriów; ok. 745 osób, 1160 ciąży	respondentki podały w kwestionariuszach, że narażone były na co najmniej 14 różnych rozpuszczalników; 41 kobiet wskazało narażenie na benzen w 1. trymestrze ciąży	u wszystkich kobiet narażonych na rozpuszczalniki zanotowano niewielką, nieistotną statystycznie różnicę w odsetku poronień w porównaniu z tymi, które nie były narażone na działanie rozpuszczalników; narażenie na rozpuszczalniki nie wpływało na śmiertelność okołoporodową ani na występowanie wad rozwojowych	<i>Axelsson</i> i in. 1984
Kobiety, operatorki klejące różne przedmioty ( $n = 360$ osób)	narażenie na benzynę i chlorowane węglowodory przez skórę i inhalacyjnie; stężenie benzenu – poniżej $5 \text{ mg/m}^3$	przedwczesne porody i spontaniczne poronienia – u 17,2% kobiet narażonych, a w grupie kontrolnej u 4,9%; zamartwica płodu	<i>Mukhametova, Vozovaya</i> 1972
Dorośle kobiety i ich 14 dzieci, gr. kontrolna – 42 kobiety i 7 dzieci	kobiety narażone w czasie ciąży na benzen i inne rozpuszczalniki	limfocyty od dorosłych wykazywały około 2-krotne zwiększenie częstości występowania aberracji i pęknięć chromosomów w porównaniu z grupą kontrolną; ich dzieci wykazywały zwiększoną częstość pęknięć chromatyd, pęknięć izochromatyd ( $p < 0,01$ ; 14 dzieci) i wymiany chromatyd siostrzanych ( $p < 0,001$ ; 4 dzieci) w limfocytach	<i>Funes-Cravioto</i> i in. 1977
32-letnia kobieta	pracownica laboratorium narażona na benzen i inne rozpuszczalniki w 1. trymestrze ciąży	martwe dziecko z małymózgowiem	<i>Holmberg</i> 1979
23-letnia kobieta	21 domięśniowych iniekcji w 1. trymestrze ciąży – próba aborcji	po prawidłowym porodzie niemowlę wykazywało niewielką dysmorfie (hipoteloryzm i głęboki grzbiet nosa), umiarkowaną hipotonie osiową i nieprawidłowe ruchy gałek ocznych; w wieku 1,5 miesiąca u dziecka stwierdzono małopłowie, ciężką hipotonie osiową, ciężką hipertonię obwodową i obustronny zanik nerwu wzrokowego, a badanie TK wykazało obustronne jamy pencefaliczne, które tworzyły komunikację między komorami bocznymi a przestrzenią podpajęczynówkową; brak przegrody międzykomorowej; dziecko zmarło na zachyłstowe zapalenie płuc w wieku 2 miesięcy	<i>Bordarier</i> i in. 1991
Mężczyźni ( $n = 217$ ), kobiety ( $n = 169$ )	pracownicy narażeni na rozpuszczalniki w zakładach przemysłu obuwniczego, zatrudnieni głównie jako mechanicy; 22 mężczyzn i 11 kobiet narażonych było na benzen	badano zachorowanie na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL) w grupie dzieci (poniżej 20 lat) rodziców narażonych na benzen; w grupie dzieci matek zawodowo narażonych na benzen w czasie ciąży zanotowano zwiększoną liczbę przypadków ALL w porównaniu z kontrolą	<i>Heck</i> i in. 2019

### **Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość u zwierząt**

#### *Płodność*

Aspekty związane z płodnością samców i samic były badane na zwierzętach laboratoryjnych narażanych na benzen drogą inhalacyjną. W badaniu płodności z udziałem samic szczurów narażonych na działanie benzenu o stężeniu do  $960 \text{ mg/m}^3$  (300 ppm) przez 10 tygodni w okresie przedpokwitaniowym, krycia, ciąży i laktacji nie wykazano wpływu substancji na wskaźniki płodności, reprodukcji i laktacji (*Kuna, Kapp* 1981).

*Ward* i in. (1985) narażali myszy CD-1 (obu płci) drogą inhalacyjną na benzen o stężeniach: 0;

3,2; 32; 96 lub  $958 \text{ mg/m}^3$  przez 6 h/dzień, 5 dni w tygodniu, przez 13 tygodni (91 dni). Tylko po najwyższym stężeniu i 91 dniach narażenia zanotowano: torbiele jajników (4/10), atrofię jąder (7/10), zmniejszenie liczby plemników (6/10) i zwiększenie liczby nieprawidłowych plemników (9/10). Stężenie benzenu  $958 \text{ mg/m}^3$  przyjęto za wartość LOAEL, a stężenie  $96 \text{ mg/m}^3$  za wartość NOAEL.

Samice szczurów Sprague-Dawley były narażane na benzen przez 10 tygodni, a następnie do 20. dnia ciąży oraz 5. ÷ 21. dnia laktacji. Zwierzęta narażano na benzen o stężeniach: 0; 3,2; 32; 96 lub  $958 \text{ mg/m}^3$  przez 6 h/dzień, 5 dni w tygodniu. Zmniejszenie masy ciała i wątroby u samic obserwowano tylko po narażeniu na stężenie

958 mg/m<sup>3</sup> ( $p < 0,05$ ). Nie zanotowano wpływu narażenia na benzen na śmiertelność matek, masę ciała, parametry fizyczne, wskaźnik ciąży, długość ciąży, liczbę żywych i martwych młodych przy urodzeniu oraz dane dotyczące dystrybucji płci. Stwierdzono również brak wpływu na przeżycie i wzrost młodych oraz poważne objawy pośmiertne (Kuna i in. 1992). Podobnie jak w przypadku pracy Warda i in. (1985), stężenie benzenu 958 mg/m<sup>3</sup> przyjęto za wartość LOAEL, a stężenie 96 mg/m<sup>3</sup> za wartość NOAEL.

Dostępne dane z badań toksyczności podprzewlekłej wskazują, że myszy są bardziej wrażliwe na narażenie na benzen niż szczury. W odniesieniu do możliwego wpływu na narządy układu rozrodczego u szczurów nie obserwowano żadnych skutków przy poziomach stężeń do 960 mg/m<sup>3</sup> (300 ppm) benzenu łącznie. Jednakże u myszy ten poziom stężenia benzenu doprowadził do pewnych zmian w narządach rozrodczych. Wydawały się one bardziej wyraźne w przypadku samców (masa jąder i zmieniona histopatologia) niż u samic (sporadyczne torbiele jajników), ale towarzyszyły im u obu płci wyraźna hematotoksyczność (niedokrwistość, leukopenia i małopłytkowość), (EU RAR 2008).

#### Skutki rozwojowe

W dostępnej literaturze jest wiele danych dotyczących eksperymentów, w których szczury lub myszy były narażane inhalacyjnie na benzen w czasie trwania ciąży. Żadne z tych badań nie wykazało szczególnego potencjału embriotoksycznego lub teratogennego, nawet przy poziomach, które wywoływały objawy toksyczności u matki. Jednak upóźnienie rozwoju płodu (tj. zmniejszona masa ciała potomstwa, opóźnione kostnienie) obserwowano przy stężeniach benzenu  $\geq 162,5$  mg/m<sup>3</sup> ( $\geq 50$  ppm), często związanych z toksycznością matczyną (Green i in. 1978; Kuna, Kapp 1981; Murray i in. 1979; Tátrai i in. 1980a; 1980b; Ungváry, Tátrai 1985). Przykłady badań nad wpływem benzenu na rozwój płodów różnych gatunków zwierząt przedstawiono w tabeli 27.

W badaniach przeprowadzonych przez Kunę i Kappę (1981) oceniono stan 142 płodów z 13 miotów, których matki narażone były na benzen o stężeniu 1597 mg/m<sup>3</sup>. U 30 płodów z 6 miotów stwierdzono opóźnienie kostnienia, u 4 płodów zmiany w obrębie szkieletu, a u 1 płodu egzocefalię. W grupie zwierząt narażanych na benzen

o stężeniu 160 mg/m<sup>3</sup> zbadano 125 płodów z 15 miotów. U 23 płodów z 6 miotów obserwowano zmiany w obrębie szkieletu (tab. 27).

Szczury Sprague-Dawley narażano na benzen w 3 różnych stężeniach przez 6 h/dzień w 6. ÷ 15. dniu ciąży. Średnia masa ciała i długość ciemieniowo-zadowa (*crown-rump*) były niższe niż w grupach kontrolnych tylko przy najwyższym poziomie narażenia. Badanie szkieletu wykazało zwiększenie liczby płodów z opóźnionym kostnieniem mostka w grupach narażanych na benzen o stężeniach 958 lub 7028 mg/m<sup>3</sup> (Green i in. 1978), (tab. 27).

Grupy 5 ÷ 10 ciężarnych myszy Swiss-Webster narażano na benzen o stężeniach: 0, 16, 32 lub 64 mg/m<sup>3</sup> 6. ÷ 15. dnia ciąży, a potomstwo narażonych matek badano pod kątem niepożądanych skutków. Wielkości miotów, waga płodów, liczba martwych, wchłoniętych lub zniekształconych płodów mieściły się w granicach kontrolnych. U płodów (16. dzień ciąży) liczba dojrzałych erytroidalnych komórek prekursorowych (CFU-E) zmniejszyła się przy stężeniu benzenu wynoszącym 64 mg/m<sup>3</sup>. U noworodków liczba komórek CFU-E zwiększyła się przy 64 mg/m<sup>3</sup>. Na komórki tworzące kolonie granulocytów (GM-CFU-C) miały wpływ 2 wyższe stężenia narażenia. Dorosłe myszy narażone *in utero* po ponownym narażeniu na benzen wykazywały znacznie większe niż kontrole zmniejszenie liczby GM-CFU-C w śledzionie (tab. 26), (Keller, Snyder 1988).

Murray i in. (1979) oraz Ungváry i Tátrai (1985) badali wpływ benzenu na płody królików (tab. 27). W obu przypadkach nie stwierdzono wad rozwojowych płodów.

Z wyników badań przedstawionych w tabeli 27 wynika, że benzen o stężeniu ok. 1600 mg/m<sup>3</sup> wywiera działanie fetotoksyczne oraz powoduje mniejszą masę płodów u potomstwa myszy, szczurów i królików. U potomstwa myszy narażonych (w okresie organogenezy) na benzen o stężeniach 500 ÷ 1000 mg/m<sup>3</sup> stwierdzono działanie fetotoksyczne i embriotoksyczne, nie stwierdzono działania teratogennego (Ungváry, Tátrai 1985). Z wielu badań teratogenności przeprowadzonych na zwierzętach narażonych na benzen o stężeniach do 7000 mg/m<sup>3</sup> można wnioskować, że związek nie jest teratogeny. Natomiast działanie embrio- i fetotoksyczne benzenu stwierdzano jedynie, gdy zastosowane stężenia były również toksyczne dla matek.

**Tabela 27.** Wpływ benzenu na samice i ich potomstwo po inhalacyjnym narażeniu zwierząt (skutki rozwojowe)  
**Table 27.** Effects of benzene on females and their offspring after inhalation exposure of animals (developmental effects)

Gatunek zwierząt, liczebność grup (n)	Narażenie samic	Skutki obserwowane u matek	Skutki obserwowane u potomstwa	Piśmiennictwo
Szczury Sprague-Dawley, gr. badana (n = 14 ÷ 15), gr. kontrolna (n = 11)	stężenie benzenu: 0 (kontrola), 32, 160 lub 1597 mg/m <sup>3</sup> , 7 h/dzień, w 6. ÷ 15. dniu ciąży, zabicie zwierząt w 20. dniu	zmniejszenie masy ciała i szybkości przyrostu masy ciała po 2 wyższych stężeniach benzenu; LOAEL – 160 mg/m <sup>3</sup> NOAEL – 32 mg/m <sup>3</sup>	zmniejszona wielkość płodu po stężeniu 160 mg/m <sup>3</sup> ; 20. dzień ciąży – zmniejszona długość płodu po stężeniu 1597 mg/m <sup>3</sup> ; zmiany w obrębie szkieletu i mózgu (egzencefalia) po 160 i 1597 mg/m <sup>3</sup> ; zwiększona częstość występowania wad rozwojowych po 1597 mg/m <sup>3</sup> ; LOAEL – 160 mg/m <sup>3</sup> NOAEL – 32 mg/m <sup>3</sup>	Kuna, Kapp 1981
Szczury Sprague-Dawley (n = 14 ÷ 18)	stężenie benzenu: 0 (kontrola), 319, 958 lub 7028 mg/m <sup>3</sup> , 6 h/dzień, w 6. ÷ 15. dniu ciąży, zabicie zwierząt w 21. dniu	zmniejszenie masy ciała po narażeniu na benzen w najwyższym stężeniu; LOAEL – 7028 mg/m <sup>3</sup> NOAEL – 958 mg/m <sup>3</sup>	zmniejszone masa i długość ciała przy 7028 mg/m <sup>3</sup> (p < 0,05); zwiększona liczba zmian szkieletu we wszystkich grupach narażenia (p < 0,05 przy 319 i 7028 mg/m <sup>3</sup> ; samice bardziej wrażliwe niż samce); brak zwiększenia częstości występowania wad rozwojowych; LOAEL – 319 mg/m <sup>3</sup>	Green i in. 1978
Szczury CFY, gr. badana (n = 20 ÷ 22), gr. kontrolna (n = 48)	stężenie benzenu: 0 (kontrola), 150, 450, 1500 lub 3000 mg/m <sup>3</sup> , 24 h/dzień, w 7. ÷ 14. dniu ciąży, zabicie zwierząt w 21. dniu	zmniejszony przyrost masy ciała po 150 mg/m <sup>3</sup> (p < 0,001); zwiększenie względnej masy wątroby (p < 0,05 lub 0,01); LOAEL – 150 mg/m <sup>3</sup>	zmniejszenie masy ciała po stężeniu 150 mg/m <sup>3</sup> (p < 0,001), zwiększona liczba resorpcji płodów, opóźniony rozwój szkieletu (p < 0,01 ÷ 0,05), skutki niezależne od dawki; brak zwiększenia częstości występowania wad rozwojowych; LOAEL – 150 mg/m <sup>3</sup>	Tátrai i in. 1980a
Szczury CFY (n = 17)	stężenie benzenu: 0 (kontrola), 400 mg/m <sup>3</sup> , 24 h/dzień, w 7. ÷ 15. dniu ciąży,	zmniejszenie przyrostu masy ciała; zwiększenie względnej masy wątroby	opóźniony przyrost masy ciała; opóźnienie wzrostu szkieletu	Ungváry, Tátrai 1985
Myszy Swiss-Webster (n = 5)	stężenie benzenu: 0 (kontrola), 16, 32 lub 64 mg/m <sup>3</sup> , 6 h/dzień, w 6. ÷ 15. dniu ciąży,	nie obserwowano zmian; NOAEL – 64 mg/m <sup>3</sup>	płód 16-dniowy: brak wpływu na parametry hematologiczne; 2-dniowe noworodki: zmniejszona liczba krążących komórek prekursorowych erytroidów (wszystkie stężenia), (p < 0,05 przy 64 mg/m <sup>3</sup> ); zwiększona liczba hematopoetycznych komórek blastycznych, limfocytów i granulopoetycznych komórek prekursorowych oraz zmniejszona liczba komórek prekursorowych erytropoezy wątrobowej (wszystkie p < 0,05 przy 64 mg/m <sup>3</sup> ) 6-tygodniowa mysz: podobny wzór nasilonej granulopoezy (64 mg/m <sup>3</sup> ); LOAEL – 64 mg/m <sup>3</sup> NOAEL – 32 mg/m <sup>3</sup>	Keller, Snyder 1988
Myszy Swiss-Webster (n = 8)	gr. A – 32 mg/m <sup>3</sup> w 6. ÷ 15. dniu ciąży; gr. B – 5-procentowy etanol w wodzie <i>ad libitum</i> , gr. C – 32 mg/m <sup>3</sup> benzenu + 5-procentowy etanol, gr. D – powietrze + woda destylowana	brak danych	próbki szpiku kostnego od 6-tygodniowego potomstwa: w gr. (A) i (B) zanotowano zmiany w liczbie CFU-E tylko u samców; w gr. (C) zmiany w liczbie CFU-E tylko u samic (brak bardziej szczegółowych danych)	Corti, Snyder 1996

cd. tab. 27 / Table 27 cont.

Gatunek zwierząt, liczebność grup (n)	Narażenie samic	Skutki obserwowane u matek	Skutki obserwowane u potomstwa	Piśmiennictwo
Myszy CF-1 (n = 35 ÷ 37)	stężenie benzenu: 0 (kontrola) lub 1597 mg/m <sup>3</sup> , 7 h/dzień, w 6. ÷ 15. dniu ciąży, zabicie zwierząt w 18. dniu	nie obserwowano zmian	zmniejszona masa ciała (p < 0,05), „znacząco” zwiększona zmienność szkieletowa płodów; brak zwiększenia częstości występowania wad rozwojowych	Murray i in. 1979
Myszy CFLP, gr. badana (n = 15), gr. kontrolna (n = 115)	stężenie benzenu: 0 (kontrola), 500 lub 1000 mg/m <sup>3</sup> , 24 h/dzień, w 6. ÷ 15. dniu ciąży	nie podano	po obu stężeniach benzenu: zahamowanie wzrostu masy ciała i rozwoju szkieletu, w pewnym stopniu zależne od dawki; LOAEL – 500 mg/m <sup>3</sup>	Ungváry, Tátrai 1985
Króliki New Zealand (n = 20)	stężenie benzenu: 0 (kontrola) lub 1597 mg/m <sup>3</sup> , 7 h/dzień, w 6. ÷ 18. dniu ciąży, zabicie zwierząt w 29. dniu	nie obserwowano zmian	drobne zmiany w obrębie szkieletu, w ostrogach łędźwiowych i w proporcji zwierząt z 13 żebrami (normalna liczba żeber to 12 lub 13)	Murray i in. 1979
Króliki New Zealand, gr. badana (n = 11 lub 15), gr. kontrolna (n = 60)	stężenie benzenu: 0 (kontrola), 500 lub 1000 mg/m <sup>3</sup> , 24 h/dzień, w 7. ÷ 20. dniu ciąży	zmniejszenie przyrostu masy ciała; zwiększenie względnej masy wątroby; LOAEL – 1000 mg/m <sup>3</sup> NOAEL – 500 mg/m <sup>3</sup>	po narażeniu na stężenie 1000 mg/m <sup>3</sup> : zmniejszona masa ciała i zwiększona liczba poronień oraz zmian szkieletowych (p < 0,05 dla wszystkich skutków); LOAEL – 1000 mg/m <sup>3</sup> NOAEL – 500 mg/m <sup>3</sup>	Ungváry, Tátrai 1985

Mechanizmy toksycznego wpływu benzenu na rozwój i reprodukcję nie są dobrze poznane. Poniżej podsumowano kilka sugerowanych mechanizmów, które odnoszą się konkretnie do toksyczności rozwojowej i reprodukcyjnej benzenu.

Po podaniu benzenu ciężarnym szczurom *Pushkina* i in. (1968) obserwowali zmniejszenie zawartości kwasu askorbinowego w całym płodzie i narządach matki wraz ze wzrostem stężenia benzenu, najpierw w wątrobie matki, a później w łożysku i wątrobie płodu. Benzen zwiększał również zawartość DNA i zmniejszał zawartość RNA w łożysku, wątrobie płodu i mózgu płodu oraz zmniejszał zawartość DNA w wątrobie matki. Autorzy zasugerowali, że te zmiany w zawartości kwasu askorbinowego, RNA i DNA są możliwymi mechanizmami toksyczności benzenu dla płodu.

*Ungváry* i *Donath* (1984) zasugerowali, że uszkodzenie obwodowych włókien noradrenergicznych obserwowane w ich badaniach u ciężarnych szczurów może skutkować zaburzoną kontrolą przepływu krwi w jajnikach i macicy oraz produkcji steroidów, a zatem może odgrywać zasadniczą rolę w embriotoksycznym działaniu rozpuszczalników organicznych.

*Tátrai* i in. (1980a; 1980b) zasugerowali, że za embriotoksyczność benzenu może odpowiadać kilka czynników. Po pierwsze, ze względu na swoją lipofilność benzen może przenikać przez barierę łożyskową i bezpośrednio wpływać na komórki embrionalne. Po drugie, fenol, główny metabolit benzenu, który hamuje syntezę DNA w szpiku kostnym *in vivo*, może również przenikać przez barierę łożyskową. Po trzecie, benzen może uszkadzać krążenie matczyne i powodować depresję szpiku kostnego, co prowadzi do niekorzystnych warunków żywieniowych dla płodu. Sugerowano, że epoksyd benzenu jest toksycznym metabolitem benzenu i może być przenoszony z wątroby do krwi i szpiku kostnego. Enzymy odpowiedzialne za jego produkcję pojawiają się u płodu szczura w późnej ciąży. Jednak w ludzkim płodzie enzymy te są obecne w 9. ÷ 13. tygodniu ciąży. Autorzy zasugerowali, że skutek przezłożyskowy jest bardziej prawdopodobny niż jakikolwiek inny mechanizm.

## TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie, dystrybucja, metabolizm i wydalanie benzenu były intensywnie badane u ludzi oraz na kilku gatunkach zwierząt doświadczalnych. Benzen łatwo wchłania się przy narażeniu zarówno drogą pokarmową, jak i inhalacyjną. Wchłania się również przez skórę, jednakże ta droga odgrywa mniejszą rolę w narażeniu z powodu szybkiego parowania. Benzen jest szybko rozprowadzany w organizmie po narażeniu wszystkimi drogami i ulega kumulacji w tkance tłuszczowej. Metabolizm benzenu jest niezbędny do ujawnienia się charakterystycznego dla tego związku działania hematotoksycznego i rakotwórczego. Pomimo szerego zakrojonych badań nie zidentyfikowano żadnego pojedynczego metabolitu odpowiedzialnego za wszystkie toksyczne skutki benzenu, a waga dowodów wskazuje na interakcję kilku metabolitów. Niezależnie od drogi wchłaniania benzen jest szybko metabolizowany i wydalany (głównie w postaci sprzężonych metabolitów), jednakże przy wyższych poziomach narażenia (dawkach podanych dożołądkowo lub stężeniach w powietrzu) szlaki metaboliczne ulegają wysyceniu. Po narażeniu na wysokie stężenia wydychanie niezmetabolizowanego benzenu jest obserwowane jako główna droga wydalania. Fakt ten wpływa na ekstrapolację wyników obserwowanych przy dużych stężeniach, ale nie odzwierciedla potencjalnych skutków toksycznych po niskich stężeniach. Wydaje się, że ścieżki metabolizmu benzenu są jakościowo podobne u różnych gatunków. Obserwuje się jednak ilościowe różnice w biotransformacji między gatunkami zwierząt. Nie ustalono żadnego dobrego modelu

metabolizmu u człowieka. Tak więc pomimo opracowania kilku modeli farmakokinetycznych opartych na fizjologii (PBPK, *physiologically based pharmacokinetic model*) ekstrapolacja wyników uzyskanych na zwierzętach laboratoryjnych na ludzi okazała się trudna.

### Wchłanianie

Benzen łatwo wchłania się do organizmu wszystkimi drogami zarówno u ludzi, jak i u zwierząt (EPA 2002).

### Wchłanianie w drogach oddechowych

Istnieje znacząca baza danych doświadczalnych na temat wchłaniania par benzenu w drogach oddechowych u ludzi w sytuacjach zawodowych, środowiskowych lub eksperymentalnych.

Narażenie zawodowe i środowiskowe jest na ogół dość zmienne, co sprawia, że oszacowanie rzeczywistego narażenia jest w wielu sytuacjach dość skomplikowane. Dlatego w opracowaniu skupiono się na badaniach kontrolowanego narażenia ludzi na znane stężenia benzenu przez znany czas. Wyniki zostały podsumowane w tabeli 28.

Srbova i in. (1950) badali wchłanianie przez osoby ( $n = 23$ ) narażone jednorazowo przez 2 ÷ 3 h na działanie benzenu w zakresie stężeń 150 ÷ 320 mg/m<sup>3</sup> (47 ÷ 100 ppm). Najwyższą wydajność wchłaniania odnotowano przez pierwszych 5 min narażenia (70 ÷ 80%), w ciągu następnych 15 min uległo ono obniżeniu i wahało się 20 ÷ 60% po 1 h i 20 ÷ 50% po 2 h narażenia. Ponadto odnotowano znaczną zmienność między osobnikami.

**Tabela 28.** Wchłanianie benzenu u ludzi po narażeniu inhalacyjnym  
**Table 28.** Absorption of benzene in humans after inhalation exposure

Wchłanianie, %	Stężenie		Czas narażenia	Piśmiennictwo
	ppm	mg/m <sup>3</sup>		
48 ( $n = 14$ )	bd.	bd.	5 h	Teisinger i in. 1952
47 ( $n = 1$ )	25 ÷ 30	81,5 ÷ 97,8	24 min	Hunter 1966
55 ÷ 60 ( $n = 1$ , dwukrotne narażenie)	ok. 30	ok. 97,8	2 h; 4 h	Hunter 1968
53 ÷ 63 ( $n = 1$ , dziesięciokrotne narażenie)	21 ÷ 32	68,5 ÷ 104,3	3 ÷ 4 h	Hunter, Blair 1972
30 ( $n = 6$ )	52 ÷ 62	169,5 ÷ 202,1	4 h	Nomiyama, Nomiyama 1974
52 ( $n = 3$ )	1,7	5,5	4 h	Pekari i in. 1992
48 ( $n = 3$ )	10	32,6	4 h	
50 ÷ 62 ( $n = 1$ )	100	326	90 min	Srbova i in. 1950
20 ÷ 50 ( $n = 23$ )	47 ÷ 110	153,2 ÷ 358,6	2 ÷ 3 h	
64 ( $n = 3$ )	32 ÷ 69	68,5 ÷ 224,9	30 ÷ 120 min	Yu, Weisel 1996

Objaśnienie:

bd. – brak danych.

Nomiyama i Nomiyama (1974) określili zarówno retencję, jak i wchłanianie benzenu przez kobiety i mężczyzn ( $n = 3$ ) w wieku 18 ÷ 25 lat, narażonych na benzen o stężeniach 166 ÷ 198 mg/m<sup>3</sup> (52 ÷ 62 ppm) przez 4 h. Wydychane powietrze pobierano co godzinę w celu określenia wydania benzenu przez drogi oddechowe. Retencja w 1. godzinie wynosiła około 50% i szybko się zmniejszała, aby ustabilizować się na poziomie 30% po 3 h (średnia 47%). Nie odnotowano istotnych różnic tego parametru między mężczyznami i kobietami. Wyniki te są mało miarodajne, głównie ze względu na mało liczebne grupy badane (po 3 osoby z każdej płci).

Pekari i in. (1992) badali wchłanianie benzenu w drogach oddechowych u mężczyzn ( $n = 3$ ) narażonych na jego pary o stężeniach 5 lub 39 mg/m<sup>3</sup> (1,7 lub 10 ppm) przez 4 h. Wchłanianie benzenu określano, mierząc różnice stężeń pomiędzy wdychanym i wydychanym powietrzem. Średnia wydajność wchłaniania wynosiła 52% przy niskim stężeniu i 48% przy wysokim stężeniu. Yu i Weisel (1996) zmierzili wchłanianie benzenu w powietrzu wdychanym i wydychanym u 3 kobiet, od których pobrano próbki w 4 punktach czasowych podczas 1 ÷ 3 epizodów narażenia. Narażenie dotyczyło jednak raczej dymu tytoniowego niż czystego benzenu. Dym był generowany z palących się papierosów w powietrzu w pomieszczeniu, co powodowało zmienne stężenie benzenu podczas narażenia – stężenia benzenu wahały się 102 ÷ 220 mg/m<sup>3</sup> (32 ÷ 69 ppm). Wydajność wchłaniania w 8 eksperymentach wynosiła średnio 64% (48 ÷ 73%). Okresy narażenia wynosiły 30 lub 120 min, ale nie obserwowano znaczącego zmniejszenia wchłaniania przy dłuższym okresie narażenia.

Wyniki tych badań wskazują, że wchłanianie benzenu w drogach oddechowych u ludzi wynosi około 50%. Obserwowane zmniejszenie wchłaniania wraz z wydłużeniem czasu narażenia jest najwyraźniej spowodowane wydalaniem niezmetabolizowanego benzenu przez drogi oddechowe. Badania na zwierzętach wskazują, że metabolizm benzenu ulega wysyceniu przy stężeniach przekraczających 32 mg/m<sup>3</sup> (10 ppm). Zatem, z wyjątkiem sytuacji w badaniu Pekari i in. (1992), metabolizm benzenu po narażeniu inhalacyjnym człowieka mógł być już wysycony. Ponieważ wchłanianie przy niskich poziomach stężeń jest najbardziej istotne dla wyprowadzenia dawki referencyjnej

(RfD), szacunki retencji na poziomie 48 ÷ 52% (Pekari i in. 1992) wydają się wartościami najbardziej odpowiednimi do oceny wchłaniania u ludzi.

Przeprowadzono również szereg badań na zwierzętach dotyczących wchłaniania benzenu drogą inhalacyjną. Schrenk i in. (1941) odnotowali liniową zależność między stężeniami benzenu 639 ÷ 4153 mg/m<sup>3</sup> (200 ÷ 1300 ppm) a równowagowym stężeniem benzenu we krwi psów. Przy tych stężeniach narażenia stan stacjonarny we krwi został osiągnięty w ciągu 30 min. Sabourin i in. (1987) wykazali, że retencja benzenu w organizmach szczurów i myszy zmniejszała się wraz ze wzrostem stężenia benzenu w powietrzu. Podczas 6-godzinnej narażenia inhalacyjnego stężenie benzenu zwiększyło się z 26 do 2600 mg/m<sup>3</sup> (z 10 do 1000 ppm), natomiast retencja zmniejszyła się: z 33 do 15% dla szczurów i z 50 do 10% dla myszy. Badanie to wykazało również zmienność gatunkową pod względem wchłaniania i retencji wdychanego benzenu. Przy wszystkich stężeniach retencja była wyższa u myszy – wdychały one większe ilości benzenu na kilogram masy ciała ze względu na ich wyższą względną objętość minutową w porównaniu z innymi gatunkami.

Henderson (1996) dokonał przeglądu różnic gatunkowych we wchłanianiu i zatrzymywaniu benzenu podawanego drogą dożołądkową lub inhalacyjną. Myszy mają zarówno wyższą częstość oddechów, jak i szybszą przemianę benzenu niż szczury czy małpy. Po 6-godzinnej narażeniu na benzen o stężeniach 22,8 ÷ 32,6 mg/m<sup>3</sup> (7 ÷ 10 ppm) myszy zachowały 20% dawki, w porównaniu z 3 ÷ 4% u szczurów i małp. Przy wyższych poziomach narażenia szlaki metabolizmu ulegają wysyceniu; 7-krotny wzrost stężenia narażenia między 423,8 ÷ 3015,5 mg/m<sup>3</sup> (czyli 130 ÷ 925 ppm) powoduje tylko 3-krotny wzrost metabolizmu. Kiedy dawki dożołądkowe przekraczają możliwości metabolizmu, wydychane są większe ilości benzenu.

#### **Wchłanianie z przewodu pokarmowego**

Chociaż dostępne są tylko ograniczone dane dotyczące wchłaniania benzenu przez ludzi drogą pokarmową, analiza przypadków omyłkowego lub celowego zatrucia wskazuje, że benzen jest łatwo absorbowany tą drogą (Thienes, Halej 1972).

W badaniach na zwierzętach laboratoryjnych wykazano prawie całkowite wchłanianie benzenu podanego dożołądkowo. Parke i Williams (1953)

przeprowadzili badanie na królikach, którym znakowany  $^{14}\text{C}$ -benzen podawano zgłębnikiem w dawkach  $340 \div 500 \text{ mg/kg mc}$ . Obliczenie bilansu 2 ÷ 3 dni po podaniu wykazało, że  $84 \div 89\%$  podanego węgla  $^{14}\text{C}$  wydzieliło się w postaci metabolitów,  $\text{CO}_2$  i wydychanego niezmiennego benzenu. W ten sposób wykazano, że wchłonięciu uległo około 90% dawki.

Podobne wyniki uzyskali *Sabourin* i in. (1987), którzy badali wchłanianie z przewodu pokarmowego benzenu znakowanego  $^{14}\text{C}$  podawanego szczurom i myszom w zakresie dawek  $0,5 \div 150 \text{ mg/kg mc}$ . – wchłanianie było większe niż 97%. Chociaż w tym badaniu jako nośnik wykorzystano olej kukurydziany, przyjęto założenie, że wchłanianie tą drogą roztworów wodnych również byłoby bliskie 100%. Można się spodziewać, że obecność pokarmu w żołądku może opóźniać wchłanianie benzenu, a pusty żołądek może je zwiększać.

#### **Wchłanianie przez skórę**

Badania przeprowadzone zarówno na ludziach, jak i na zwierzętach doświadczalnych wskazują, że benzen jest szybko wchłaniany przez skórę zarówno w postaci ciekłej, jak i pary. Procent wchłaniania zastosowanych dawek jest generalnie wyższy u zwierząt doświadczalnych niż u ludzi. Przeskórne wchłanianie benzenu badano u ludzi (*Franz* 1984) i zwierząt laboratoryjnych (*Franz* 1983; *Maibach, Anjo* 1981; *Susten* i in. 1985). Wyniki uzyskane w badaniach u ludzi są niejednoznaczne, w niektórych badaniach wartości wchłaniania benzenu nie przekraczają 1%, a w innych sięgają prawie 70% (*Franz* 1984; *Laitinen* i in. 1994; *Maibach, Anjo* 1981; *Susten* i in. 1985). Wchłanianie benzenu przez skórę jest mniejsze w porównaniu z wchłanianiem inhalacyjnym lub dożołądkowym; jest to w dużej mierze spowodowane szybkim ulatnianiem się benzenu ze skóry. Jeśli wchłanianie opiera się na ilości nałożonej na skórę bez uwzględnienia strat ulatniania, wówczas wartości procentowe wchłaniania są niskie i zwykle są mniejsze niż 1%. Chociaż przedstawia to realistyczne warunki narażenia w większości sytuacji, absorpcja może być niedoszacowana w sytuacjach, w których kontakt ze źródłem benzenu utrzymuje się przez dłuższy czas. Znaczna część wchłoniętego benzenu jest wydalana przez płuca, zatem eksperymenty, które mierzą wydalanie tylko z moczem i kałem, znacznie zaniżają rzeczywiste wchłanianie.

*Franz* (1984) badał wchłanianie benzenu przez skórę zarówno w warunkach in vivo, jak i in vitro. Czterem ochotnikom podano na skórę [ $^{14}\text{C}$ ]-benzen w dawce  $0,0026 \text{ mg/cm}^2$ . O szybkim parowaniu świadczy to, że po 30 s nie obserwowano wolnego benzenu na skórze. Wchłanianie zastosowanej dawki oceniano na podstawie wydalania  $^{14}\text{C}$  z moczem w ciągu 36 h. Oceniono, że całkowite wchłanianie wynosi 0,05% zastosowanej dawki. Wchłanianie przy zastosowaniu technik in vitro ze skórą ludzką oszacowano na 0,1% przy podobnej dawce. Wchłanianie in vitro wzrastało liniowo wraz z poziomem dawki, a także jako funkcja czasu narażenia.

*Laitinen* i in. (1994) badali narażenie zawodowe na benzen u 8 mechaników samochodowych w Finlandii. Próbkę krwi pobierano 3 ÷ 9 h po narażeniu. Przybliżone stężenie benzenu we krwi mierzone po 16 h po narażeniu wykazało znacznie wyższe poziomy niż oczekiwano na podstawie odpowiednich stężeń w powietrzu w miejscu pracy. Porównanie zmierzonych stężeń we krwi z przewidywaniami opartymi na pomiarach powietrza sugerowało, że narażenie skórne mogło stanowić 68% całkowitego narażenia na benzen. Mechanicy ci mieli bezpośredni kontakt z benzyną podczas częstej wymiany filtrów i pomp paliwowych. Sugeruje to znacznie większe narażenie skóry na benzen niż narażenie drogą wziewną.

Przeprowadzono również kilka badań wchłaniania przez skórę na zwierzętach doświadczalnych. U małej rezus, miniaturowych świnek i bezwłosych myszy wchłanianie przez skórę wynosiło <1% po pojedynczym bezpośrednim podaniu benzenu (*Franz* 1984; *Maibach, Anjo* 1981; *Susten* i in. 1985). Wchłanianie było szybkie, z najwyższym wydalaniem z moczem obserwowanym w ciągu pierwszych 8 h po narażeniu (*Franz* 1984; *Susten* i in. 1985). Wielokrotne aplikacje skutkowały większą penetracją skóry (*Maibach, Anjo* 1981). Zwrócono uwagę, że procent wchłaniania zastosowanej dawki benzenu u każdego z tych badanych zwierząt był w przybliżeniu 2- ÷ 3-krotnie wyższy niż u ludzi.

*Morgan* i in. (1991) porównali wchłanianie nierozcieńczonego benzenu przez skórę z wodnymi roztworami benzenu. Absorpcja przez skórę z roztworów wodnych była szybka, a maksymalne stężenie benzenu we krwi osiągnięte było po 1 h. Benzen z roztworów wodnych został szybko i całkowicie wchłonięty.

*Tsuruta* (1989) podał, że wchłanianie benzenu przez skórę wzrastało liniowo wraz z dawką u bezwłosych myszy narażonych na pary benzenu. Szybkości wchłaniania przez skórę wynosiły 0,31 (narażenie 200 ppm), 1,89 (narażenie 1000 ppm) i 5,90  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$  (narażenie 3000 ppm), natomiast współczynnik wchłaniania przez skórę wynosił 0,619  $\text{cm}/\text{h}$ . Na podstawie danych dotyczących wchłaniania przez skórę myszy i danych dotyczących narażenia zawodowego ludzi *Tsuruta* (1989) oszacował, że wchłanianie benzenu przez skórę przez człowieka wynosi 3,7% w przypadku narażenia inhalacyjnego przy tym samym stężeniu.

Stałe przepuszczalności dla skórnej absorpcji par benzenu zostały również oszacowane przez *McDougala* i in. (1990). W tym badaniu szczurom dostarczano powietrze przez maski lateksowe i wystawiano na działanie pary benzenu o stężeniu 127 787  $\text{mg}/\text{m}^3$  (40 000 ppm) przez 4 h. Stężenie we krwi monitorowano po 0,5; 1; 2 i 4 h. Model PBPK został wykorzystany do oszacowania przepuszczalności par w skórze szczura i ludzkiej; stałe przepuszczalności dla szczura i człowieka oszacowano odpowiednio na 0,15 i 0,08  $\text{cm}/\text{h}$ . Na podstawie tych ustaleń badania narażenia skórno na szczurach prawdopodobnie zapewniają ostrożne oszacowanie wchłaniania benzenu przez skórę. W eksperymencie w warunkach *in vitro* z użyciem skóry szczura F344 *Mattie* i in. (1994) określili współczynnik podziału skóra:powietrze na 35 dla benzenu o stężeniu 649  $\text{mg}/\text{m}^3$  (203 ppm).

## Rozmieszczenie

W dostępnym piśmiennictwie brak jest badań u ludzi dotyczących rozmieszczenia benzenu po narażeniu drogą pokarmową i skórą, ale są takie dane na temat zwierząt. Po narażeniu inhalacyjnym dostępne były zarówno dane dotyczące ludzi, jak i zwierząt.

### Narażenie inhalacyjne

Wyniki badań na zwierzętach wskazują, że wchłonięty benzen jest magazynowany w tkance tłuszczowej, chociaż wydaje się, że względny wychwyty w tkankach zależy od szybkości perfuzji tkanek przez krew. Stężenia benzenu w stanie stacjonarnym u szczurów narażonych na benzen o stężeniu 1600  $\text{mg}/\text{m}^3$  (500 ppm) przez 6 h wynosiły we krwi, szpiku kostnym i tkance tłuszczowej odpowiednio: 1,2; 3,8 i 16,4  $\text{mg}\%$  (*Rickert* i in. 1979).

Benzen zidentyfikowano również w nerkach, płucach, wątrobie, mózgu i śledzionie. Poziomy metabolitów benzenu: fenolu, katecholu i hydrochinonu były wyższe w szpiku kostnym niż we krwi, przy czym fenol był usuwany szybciej niż katechol lub hydrochinon. *Ghantous* i *Danielsson* (1986) narażali ciężarne myszy na stężenie benzenu 6400  $\text{mg}/\text{m}^3$  (2000 ppm) przez 10 min i oznaczyli benzen i jego metabolity w tkankach bogatych w lipidy (mózg i tk. tłuszczowa), a także w tkankach silnie ukrwionych (wątroba i nerki). Benzen został również znaleziony w łożysku i płodach bezpośrednio po narażeniu.

Badania na ciężarnych myszach wykazały, że po narażeniu inhalacyjnym [ $^{14}\text{C}$ ]-benzen przenikał przez łożysko. Niezmetabolizowany benzen obserwowano w łożysku i płodach bezpośrednio po narażeniu i do 1 h po nim (*Ghantous*, *Danielsson* 1986). Metabolity benzenu wykryto również u płodu, ale na niższych poziomach niż w tkankach matki. Najwyższe poziomy  $^{14}\text{C}$  zanotowano w tkankach płodu w czasie 0,5 ÷ 1 h po inhalacji, podobnie jak w tkankach matki. W tkankach płodu w późnym okresie ciąży nie wykryto związanych z tkankami metabolitów benzenu, co wskazuje, że płód myszy nie miał zdolności tworzenia reaktywnych metabolitów.

*Sato* i in. (1975) porównali kinetykę eliminacji benzenu u mężczyzn i kobiet w podobnym wieku. Narażenie trwało 2 h, a stężenie wynosiło 81,5  $\text{mg}/\text{m}^3$  (25 ppm). Kształt krzywej zaniku był znacznie bardziej stromy u mężczyzn. Autorzy przypisali te wyniki wyższej zawartości tkanki tłuszczowej u kobiet.

### Narażenie drogą pokarmową

*Low* i in. (1989; 1995) obserwowali dystrybucję [ $^{14}\text{C}$ ]-benzenu podawanego dożołądkowo przez zgłębnik samicom szczurów Sprague-Dawley. Celem tego badania było ustalenie, czy rozmieszczenie benzenu lub jego metabolitów może wyjaśnić obserwacje specyficznej tkankowo indukcji guzów litych w gruczole Zymbala, jamie ustnej i nosowej oraz gruczolach sutkowych, związanych z przewlekłym narażeniem dożołądkowym (NTP 1986). Po podaniu benzenu w dawkach 0,15 lub 1,5  $\text{mg}/\text{kg}$  mc. stężenia  $^{14}\text{C}$  w różnych narządach przedstawiały się następująco: najwyższe w wątrobie i nerkach, pośrednie we krwi, a najniższe w gruczole Zymbala, tkankach jamy nosowej i ustnej, gruczolach sutkowych i szpiku kostnym.



Przy dawce 15 mg/kg mc. lub wyższej nieproporcjonalne zwiększenie znacznika izotopowego obserwowano w gruczołach sutkowych i szpiku kostnym. Przy dawce 0,15 mg/kg mc. cała aktywność  $^{14}\text{C}$  stwierdzona w tkankach lub krwi po 1 h pojawiła się w postaci metabolitów benzenu, co wskazuje, że metabolizm pierwszego przejścia w wątrobie był bardzo wydajny. Eliminacja  $^{14}\text{C}$  pochodzącego z benzenu we wszystkich narządach była dwufazowa. Benzen nie gromadził się w gruczole Zymbala – w ciągu 24 h po podaniu radioaktywność pochodząca od [ $^{14}\text{C}$ ]-benzenu w gruczole Zymbala stanowiła mniej niż 0,0001% podanej dawki. W związku z tym preferencyjne gromadzenie benzenu lub metabolitów w gruczole Zymbala nie jest odpowiedzialne za specyficzną dla tkanki indukcję guza w tym narządzie.

### Narażenie skórne

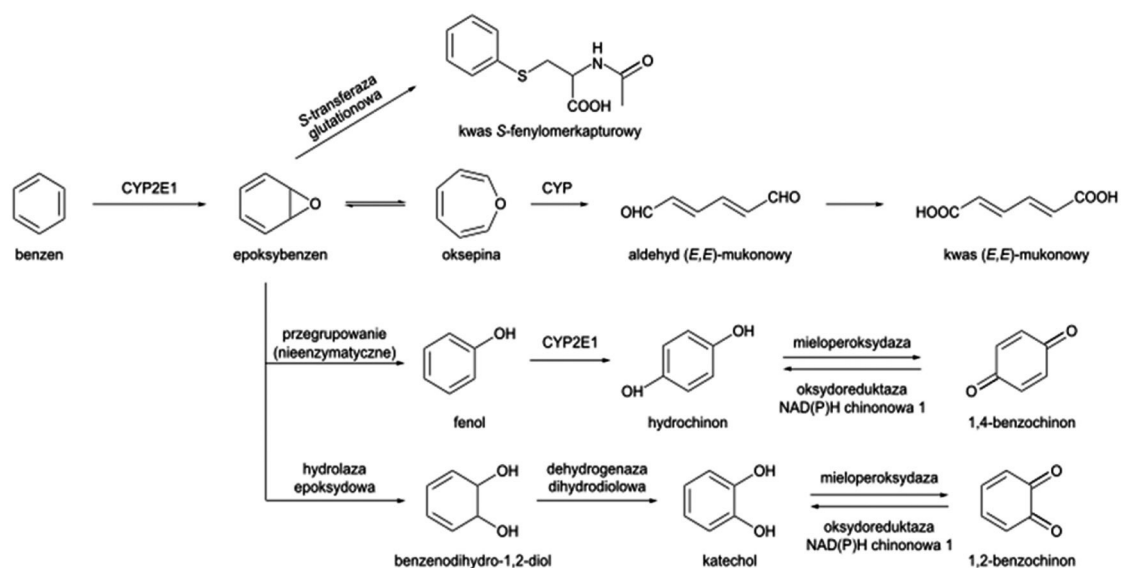
Nie znaleziono odpowiednich badań dotyczących rozmieszczenia benzenu u ludzi w następstwie narażenia dermalnego, natomiast tylko jedno badanie na zwierzętach dostarczyło informacji na ten temat. Badanie samców szczurów, którym podano [ $^{14}\text{C}$ ]-benzen w ilości 0,004 mg/cm<sup>2</sup>, wykazało, że najwyższą radioaktywność odnotowano w nerce (0,026%), następnie w wątrobie (0,013%) i skórze (0,011%), (Skowronski i in. 1988). Mniej niż 0,01% radioaktywności stwierdzono w następujących tkankach: dwunastnicy, tkance tłuszczowej, szpiku kostnym, przełyku, trzustce, płucach, sercu, śledzionie, krwi, mózgu, grasicy, tarczycy, nadnerczach, jądrach i skórze.

### Metabolizm

Pierwszym etapem metabolizmu benzenu jest tworzenie epoksydu (tlenku benzenu), katalizowanego przez cytochrom P450 2E1 (CYP2E1), (ryc. 1). Po utworzeniu epoksybenzenu metabolizm rozgałęzia się na kilka alternatywnych szlaków metabolicznych (Jerina i in. 1968; Lovern i in. 1997). Chociaż Jerina i in. (1968) dostarczyli kinetycznie wiarygodnego argumentu na istnienie epoksybenzenu, nie wykazali jednak, że powstał on z benzenu. Epoksybenzen przegrupowuje się nieenzymatycznie, tworząc fenol, główny produkt początkowego metabolizmu benzenu. Alternatywnie

epoksyd ten może reagować z glutationem (GSH), tworząc kwas fenylomerkapturowy, ulegając enzymatycznej konwersji przez hydrolazę epoksydową do dihydrodiolu benzenu z utworzeniem katecholu lub przechodząc katalizowaną żelazem reakcją otwarcia pierścienia z wytworzeniem aldehydu *trans,trans*-mukonowego (*t,t*-MUC), który jest następnie metabolizowany do kwasu *trans, trans*-mukonowego (*t,t*-MA). Fenol jest dalej utleniany przez CYP2E1 do hydrochinonu. Dalsze utlenianie hydrochinonu do *p*-benzochinonu jest katalizowane przez mieloperoksydazę (MPO), (Smith i in. 1989). Wszystkie produkty fenolowe mogą być sprzężone z siarczanem lub kwasem glukuronowym, a koniugaty fenolu i hydrochinonu są głównymi metabolitami benzenu wydalonymi z moczem (Sabourin i in. 1989; Wells, Nerland 1991).

Mathews i in. (1998) metabolizm [ $^{14}\text{C}$ ]-benzenu podawanego dożołądkowo przez zgłębnik badali u samców szczurów F344 (dawki: 0,02; 0,1; 0,5 lub 100 mg benzenu/kg mc.), u samców myszy B6C3F1 (dawki: 0,1 lub 100 mg/kg mc.) i u samców chomików (dawki: 0,02; 0,1 lub 100 mg/kg mc.). U szczurów F344 przy niższych dawkach (0,02; 0,1 lub 0,5 mg/kg mc.) ponad 95% dawki było wydalone z moczem w ciągu 48 h, a około 3% zostało wydalone z wydychanym powietrzem. Przy wyższych dawkach, tj. 10 lub 100 mg/kg mc., procent wydany w wydychanym powietrzu zwiększył się odpowiednio do około 9 i 50%. We wszystkich dawkach wydalanie z kałem było drogą uboczną. Podobny wzorzec rozmieszczenia dawki obserwowano również u myszy i chomików. Mathews i in. (1998) również zbadali profil powstających metabolitów w moczu. Procent kwasu prefenylomerkapturowego i kwasu fenylomerkapturowego (wskaźników produkcji epoksybenzenu) był względnie stały we wszystkich dawkach u szczurów (~13%), myszy (~5%) i chomików (~7%). Jednak odsetek hydrochinonu i pokrewnych koniugatów wahał się od około 3% (przy najwyższej dawce) do aż 7% (przy najniższych dawkach). Większy odsetek metabolitów hydrochinonu zaobserwowano u myszy (~30%) i u chomików (~30%), ale nie był on zależny od dawki.



**Rycina 1.** Ogólny schemat metabolizmu benzenu (na podstawie: *Rappaport* i in. 2009)  
**Figure 1.** General scheme of benzene metabolism (based on: *Rappaport* et al. 2009)

### Indukcja CYP2E1

Stwierdzono, że benzen indukuje aktywność CYP2E1 (zarówno u ludzi, jak i zwierząt), zwiększając w ten sposób szybkość tworzenia toksycznych metabolitów. Tempo metabolizmu benzenu można zmienić poprzez wstępne traktowanie różnymi związkami. CYP2E1 metabolizuje również alkohol i anilinę i może być indukowany przez te związki (*Chepiga* i in. 1990; *Parke* 1989; *Snyder* i in. 1993). Wykazano również, że metabolity benzenu: fenol, hydrochinon, benzochinon i katechol indukują CYP2E1 w ludzkich hematopoetycznych komórkach macierzystych (*Henschler, Glatt* 1995). Dlatego narażenie na związki, które stymulują aktywność tego układu enzymatycznego przed narażeniem na benzen, może zwiększyć tempo metabolizmu benzenu.

Badania metabolizmu benzenu wykazały również, że utlenianie z udziałem izoenzymu CYP2E1 jest wymagane do jego hematotoksycznego i genotoksycznego działania. Podanie toluenu, konkurencyjnego inhibitora metabolizmu benzenu, powoduje zmniejszenie tworzenia się metabolitów benzenu i zmniejszenie toksyczności (*Andrews* i in. 1977). Pierwotne utlenianie benzenu przez CYP2E1 zachodzi w wątrobie, a dalszy metabolizm do końcowego związku toksycznego zachodzi w tkankach docelowych. *Sammatt* i in. (1979) wykazali, że częściowa hepatektomia szczurów zmniejszyła zarówno tempo metabolizmu benzenu, jak i jego toksyczność, co sugeruje, że metabolit

i/lub metabolity powstałe w wątrobie są niezbędne do wywołania efektów toksyczności. Badania na mikrosomach wątrobowych szczurów i królików również wskazują na udział CYP2E1 jako głównego izoenzymu oksydacyjnego zaangażowanego w metabolizm benzenu (*Johansson, Ingelman-Sundberg* 1988; *Koop, Laethem* 1992). Przekonujące dowody, że aktywność CYP2E1 jest wymagana do ekspresji toksyczności benzenu, uzyskano przy użyciu myszy transgeniczných, które nie wykazują aktywności wątrobowego CYP2E1 (*Valentine* i in. 1996). Narażenie na benzen o stężeniu 640 mg/m<sup>3</sup> (200 ppm) 6 h/dobę przez 5 dni spowodowało ciężką genotoksyczność i cytotoksyczność u myszy typu dzikiego, ale nie zaobserwowano toksyczności u myszy pozbawionych CYP2E1.

*Bernauer* i in. (2000) badali rolę ekspresji CYP2E1 w szpiku kostnym (narząd docelowy dla wielu substancji chemicznych, w tym benzenu) i jej zmienności wewnątrz- i międzygatunkowej u szczurów, królików i ludzi. Dane wykazały obecność CYP2E1 w szpiku kostnym wszystkich badanych gatunków, potwierdzając w ten sposób hipotezę o zależnym od CYP2E1 miejscowym metabolizmie m. in. benzenu, który może przyczyniać się do mielotoksyczności i hematotoksyczności.

Produkty szlaku fenolowego (katechol, hydrochinon i *p*-benzochinon), kwas *t,t*-mukonowy (*t,t*-MA) i epoksyd benzenu zostały zaproponowane jako metabolity benzenu, odpowiedzialne za toksyczne skutki narażenia na benzen (tab. 29).

**Tabela 29.** Zależność między stężeniem benzenu w powietrzu a stężeniem metabolitu w materiale biologicznym (BEI 2020)  
**Table 29.** Relationship between airborne benzene concentration and metabolite concentration in biological material (BEI 2020)

Stężenie benzenu w powietrzu		Stężenie metabolitów w moczu		
ppm	mg/m <sup>3</sup>	kwasy 5-fenylmerkapturowy, µg/g kreatyniny	kwasy <i>trans,trans</i> -mukonowy, µg/g kreatyniny	benzen, µg/l
0,03	0,1	1,5	–	0,5
0,06	0,2	3	–	0,8
0,15	0,5	5	–	1,5
0,3	1	12	300	2,75
0,6	2	25	500	5,0
1	3,3	45	750	7,5
2	6,5	90	1200	12,5

### Produkty fenolowe

Produkcja pierwszych metabolitów benzenu zachodzi głównie w wątrobie, jednakże skutki toksyczności benzenu wyrażane są głównie jako hematotoksyczność i mielotoksyczność w szpiku kostnym (Snyder, Hedli 1996). Dowody sugerują, że wtórny metabolizm w szpiku kostnym jest niezbędny do ekspresji toksyczności benzenu (Schlosser, Kalf 1989; Subrahmanyam i in. 1990; 1991). Alternatywna hipoteza głosi, że metabolizm benzenu do toksycznych metabolitów może zachodzić w samym szpiku kostnym. Wykazano metabolizm benzenu do hydrochinonu w szpiku kostnym szczurów, ale ilość wytwarzanych metabolitów była niewielka (Irons i in. 1980). Obecność CYP2E1 wykryto w szpiku kostnym królika (Schnier i in. 1989), jednakże nie można było wykryć CYP2E1 w szpiku kostnym myszy – gatunek okazał się najbardziej wrażliwy na hematotoksyczność benzenu (Genter, Reico 1994). Rickert i in. (1979) zaobserwowali, że po narażeniu inhalacyjnym stężenia katecholu i hydrochinonu w szpiku kostnym utrzymywały się długo po tym, jak zmaleły we krwi. Dlatego większość badań skupia się na fakcie, że fenol, katechol i hydrochinon, powstające w wyniku reakcji w wątrobie, są transportowane do szpiku kostnego i innych tkanek docelowych, a następnie aktywowane przez działanie peroksydazy (Low i in. 1995; Rushmore i in. 1984; Smith i in. 1989).

Głównym problemem związanym z hipotezą, że metabolity fenolowe są odpowiedzialne za toksyczność szpiku kostnego jest to, że podawanie fenolu nie powiela skutków działania benzenu (Tunek i in. 1982). Kenyon i in. (1995) zasugerowali, że za ten wynik może odpowiadać dystrybucja enzymów koniugujących fenol i enzymów

utleniających benzen w wątrobie. Po narażeniu na fenol podawany drogą pokarmową autorzy zaobserwowali, że enzymy koniugujące fenol były bardziej skoncentrowane w okołowrotnym obszarze wątroby, pierwszym regionie wchłaniającym fenol, podczas gdy enzymy utleniające były bardziej skoncentrowane w okołosrodkowym obszarze wątroby. Mogło to doprowadzić do szybkiego wydalania fenolu podanego drogą pokarmową, zanim był on dalej metabolizowany do hydrochinonu przez CYP2E1 w okolicy okołosrodkowej wątroby. Do wywołania toksyczności dla szpiku kostnego potrzebny jest zarówno fenol, jak i hydrochinon (Eastmond i in. 1987). Dootrzewnowe wstrzyknięcie samego fenolu lub hydrochinonu myszom B6C3F1 nie spowodowało znaczącej toksyczności dla szpiku kostnego, jednak jednoczesne podawanie tych metabolitów wywołało zmniejszenie komórkowości szpiku kostnego. Obecność fenolu najwyraźniej stymulowała zależny od peroksydazy metabolizm hydrochinonu do *p*-benzochinonu. Subrahmanyam i in. (1990; 1991) odnotowali w szpiku kostnym myszy narażanych na kombinację fenolu i hydrochinonu zwiększone wiązanie kowalencyjne <sup>14</sup>C-hydrochinonu.

Ganousis i in. (1992) w przeciwieństwie do obserwacji Eastmonda i in. (1987) uważali, że katechol znacząco stymuluje aktywację peroksydazy hydrochinonu w mysim zrębie. Oprócz wpływu fenolu na aktywność MPO wykazano, że jednoczesne podawanie fenolu zwiększa stężenie fenolu i hydrochinonu we krwi myszy B6C3F1. Legathe i in. (1994) zmierzili pole powierzchni pod krzywą zależności stężenia we krwi od czasu (AUC) dla fenolu i hydrochinonu podawanych osobno lub w połączeniu z tymi samymi poziomami dawek, jakie stosowali Eastmond i in. (1987). Jednoczesne

podawanie zwiększyło AUC fenolu 1,4-krotnie, a AUC hydrochinonu 2,6-krotnie w porównaniu z każdym związkiem podawanym samodzielnie. Legathe i in. (1994) zasugerowali, że jest to wynikiem nasycenia w wątrobie enzymów, które tworzą ze związkami fenolowymi koniugaty siarczkowe i glukuronidowe. Wyniki te sugerują, że interakcje 2 lub więcej fenolowych metabolitów benzenu mogą być konieczne, aby spowodować obserwowaną toksyczność w stosunku do szpiku kostnego.

### **Aldehyd *trans,trans*-mukonowy**

Metabolitem benzenu odpowiedzialnym za toksyczność szpiku kostnego jest również aldehyd *t,t*-mukonowy (*t,t*-MUC) – wysoce reaktywny dialdehyd dienowy. Dowody potwierdzające tę hipotezę podsumowali Witz i in. (1996) – wykazali oni, że *t,t*-MUC powoduje hematotoksyczność po krótkotrwałym narażeniu. Podawanie 2 mg/kg mc./dobę *t,t*-MUC myszom CD-1 przez 16 dni spowodowało znaczące zmniejszenie komórkowości szpiku kostnego, limfocytów, liczby krwinek czerwonych, hematokrytu oraz hemoglobiny, a także znaczące zwiększenie liczby białych krwinek i masy śledziony (Witz i in. 1985). Snyder i in. (1989) również stwierdzili, że podawanie *t,t*-MUC powodowało toksyczność szpiku kostnego u myszy i że jednoczesne podawanie *t,t*-MUC i hydrochinonu spowodowało znaczne zmniejszenie włączania <sup>59</sup>Fe do hemoglobiny.

Uważa się, że produkcja *t,t*-MUC jest krokiem na drodze do otwarcia pierścienia prowadzącej do powstania kwasu *t,t*-mukonowego (*t,t*-MA). Wydalanie *t,t*-MA z moczem wykazano u królików we wczesnych pracach Parke'a i Williamsa (1953) oraz u myszy, szczurów, makaków jawańskich, szympanów i ludzi (Gad-El Karim i in. 1985; Sabourin i in. 1988; 1989; 1992). Wydalanie *t,t*-MA z moczem jest wykorzystywane jako wrażliwy biomarker narażenia ludzi na benzen. Stwierdzono, że przy niskich dawkach stężenie *t,t*-MA w moczu jest liniowo skorelowane ze stężeniem benzenu (Bechtold i in. 1991; Bechtold, Henderson 1993).

### **Epoksyd benzenu**

Rola epoksydu benzenu w wywoływaniu toksyczności szpiku kostnego jest ciągle mało poznana. Uważa się, że epoksybenzen jest zbyt reaktywny, aby po opuszczeniu wątroby spowodować toksyczność w szpiku kostnym. Jednak Lovern i in. (1997) wykazali, że epoksyd benzenu stanowił 7%

metabolitów benzenu po 18 min inkubacji z mikrosomami wątroby. Lindstrom i in. (1997) wykazali obecność tego epoksydu we krwi i oszacowali jego okres półtrwania na około 8 min. Korzystając z modelu PBPK, Lindstrom i in. (1997) sugerują, że krążący epoksybenzen może przyczyniać się do obserwowanego tworzenia się adduktów DNA i białek.

Różnice w szybkości metabolizmu benzenu i powstających metabolitów korelują z obserwowanymi różnicami wrażliwości na toksyczność benzenu. Myszy są bardziej niż szczury wrażliwe na toksyczne działanie benzenu (Huff i in. 1989; Snyder i in. 1987; Ward i in. 1985). Sabourin i in. (1987) odkryli, że metabolizm benzenu, określony przez wydalanie rozpuszczalnych w wodzie metabolitów z moczem, u myszy B6C3F1 wysycił się przy niższych dawkach niż u szczurów F344/N. Ilość metabolitów na kilogram masy ciała była podobna u obu gatunków przy dawkach do 50 mg/kg mc., ale powyżej tego poziomu ilość metabolitów nadal wzrastała tylko u szczurów. Po narażeniu inhalacyjnym całkowita ilość wydalanych metabolitów była wyższa u myszy niż u szczurów przy wszystkich stężeniach benzenu. Całkowite wydalanie metabolitów było wykładniczo związane ze stężeniem benzenu, ale stężenie potrzebne do osiągnięcia połowy maksymalnego tworzenia metabolitów było niższe u myszy (220 mg/m<sup>3</sup>, czyli 69 ppm) niż u szczurów (260 mg/m<sup>3</sup>, czyli 81,5 ppm). Narażenie zarówno drogą pokarmową, jak i inhalacyjną wykazało, że metabolizm benzenu był wysycony w niższych stężeniach u myszy niż u szczurów. Zatem różnice w całkowitym tworzeniu metabolitów między szczurami i myszami nie wyjaśniały większej wrażliwości myszy na benzen.

Sabourin i in. (1988) porównali metabolity benzenu we krwi, wątrobie, płucach i szpiku kostnym samców myszy B6C3F1 i szczurów F344/N po 6 h narażenia inhalacyjnego na benzen o stężeniu 160 mg/m<sup>3</sup> (50 ppm). Glukuronid hydrochinonu, hydrochinon i *t,t*-MA były obecne w znacznie wyższych stężeniach u myszy niż w tkankach szczurów. Zatem metabolizm myszy prowadzi do znacznie większego narażenia na potencjalnie toksyczne metabolity benzenu, co może wyjaśniać większą wrażliwość myszy na toksyczność benzenu.

Na rozmieszczenie metabolitów powstałych u myszy i szczurów wpływają również stężenie

i drogi narażenia (*Sabourin* i in. 1989). Samcom myszy B6C3F1 i szczurów F344/N podawano przez zgłębnik benzen w dawkach: 1, 10 lub 200 mg/kg mc. lub narażano je na stężenia: 16, 160 lub 1916 mg/m<sup>3</sup> (5, 50 lub 600 ppm) przez 6 h. We krwi, moczu, wątrobie, płucach i szpiku kostnym oznaczano rozpuszczalne w wodzie metabolity. U myszy zaobserwowano zmianę w rozmieszczeniu potencjalnie toksycznych metabolitów (glukuronidu hydrochinonu i *t,t*-MA) do metabolitów detoksykacji (fenyloglukuronidu i kwasu pefenylomerkapturowego) zarówno po narażeniu dożołądkowym, jak i inhalacyjnym. Podobną zmianę obserwowano u szczurów, z tym wyjątkiem, że glukuronid hydrochinonu był metabolitem drugorzędym (we wszystkich stężeniach). Zatem ekstrapolacja z badań toksykologicznych przeprowadzonych przy wysokich stężeniach narażenia może znacznie zaniżyć ryzyko przy niższych stężeniach.

Wydalenie metabolitów benzenu z moczem badano również u małp cynomolgus (makaków) i szympanów (*Sabourin* i in. 1992). Na podstawie profili metabolitów w moczu wykazano, że największą frakcję benzenu szlakami prowadzącymi do koniugatów hydrochinonu i *t,t*-MA metabolizują myszy (67% przy małych dawkach), następnie makaki (31%), szczury (17%) i szympany (14%). Zatem między gatunkami istnieją różnice ilościowe w przemianie benzenu do potencjalnie toksycznych metabolitów. Ponieważ dostępnych jest niewiele danych na temat proporcji benzenu metabolizowanego do potencjalnie toksycznych metabolitów u ludzi, istnieje znaczna niepewność co do określenia, który model zwierzęcy najlepiej odzwierciedla metabolizm człowieka.

*Henderson* (1996) oceniał różnice gatunkowe w metabolizmie benzenu. Na podstawie danych literaturowych stwierdził, że ścieżki metabolizmu benzenu są podobne u wszystkich badanych gatunków, jednak istnieją różnice w ilości benzenu metabolizowanego różnymi drogami. U małp i myszy dominuje metabolizm benzenu do hydrochinonu, zwłaszcza przy małych dawkach. Wydaje się, że myszy mają większą ogólną zdolność metabolizowania benzenu niż szczury i naczelnice, co może wyjaśniać, dlaczego myszy są bardziej wrażliwe na benzen niż szczury. U wszystkich gatunków przy narażeniu na małe dawki większa część benzenu jest przekształcana w hydrochinon i metabolity z otwartym pierścieniem.

## Wydalenie

### Podanie dożołądkowe

Baza informacji na temat usuwania benzenu z organizmu po doustnym narażeniu na związek ogranicza się do raportów z badań na zwierzętach doświadczalnych.

W badaniu z udziałem samców myszy C57BL/6N, którym jednorazowo podano dożołądkowo <sup>14</sup>C-benzen (dawki 10 lub 200 mg/kg mc.), *McMahon* i *Birnbaum* (1991) opisali wpływ wieku na metabolizm benzenu. Znacznik izotopowy [<sup>14</sup>C] monitorowano w moczu, kale i wydychanym powietrzu. Zgodnie z wcześniejszymi doniesieniami wykryto w moczu następujące metabolity: glukuronid hydrochinonu, kwas *t,t*-mukonowy, glukuronid fenylu, siarczan fenylu, glukuronid katecholu, siarczan hydrochinonu i kwas pefenylomerkapturowy – jednak ilościowe zmiany w wydalaniu metabolitów benzenu z moczem zależały od dawki. Przy małej dawce (10 mg/kg mc.) głównymi metabolitami były: glukuronid hydrochinonu (40%), siarczan fenylu (28%) i kwas *t,t*-mukonowy (15%). Przy dawce 200 mg/kg mc. wydalanie z moczem zmniejszyło się do 42 ÷ 47% podanej dawki, podczas gdy wydalanie przez drogi oddechowe składników lotnych zwiększyło się do 46 ÷ 56% podanej dawki. Eliminacja z kałem była niewielka i względnie stała po obu dawkach i stanowiła 0,5 ÷ 3% dawki (różnice przypisano zmianom funkcji fizjologicznych zachodzącym wraz z wiekiem).

Wahania w proporcji znakowanego radioaktywnie benzenu wydalanego z moczem zaobserwowali *Sabourin* i in. (1987), którzy narażali myszy B6C3F1 oraz szczury F344 i Sprague-Dawley na [<sup>14</sup>C]-benzen podawany dożołądkowo (zgłębnik) w dawkach 0,5 ÷ 300 mg/kg mc. Przy niższych dawkach (<15 mg/kg mc.) prawie cała ilość znacznika była odzyskiwana w różnych metabolitach moczu, podczas gdy przy wyższych dawkach niezmienny [<sup>14</sup>C]-benzen zaczął pojawiać się w wydychanym powietrzu w coraz większych ilościach. Dane te wskazują na wysycenie procesów metabolicznych wraz ze zwiększającą się dawką.

### Narażenie inhalacyjne

W kluczowym badaniu dotyczącym losów benzenu u ludzi narażanych drogą inhalacyjną *Nomiyama* i *Nomiyama* (1974) wykazali, że przynajmniej część wchłoniętego związku może być wydalana

z moczem w postaci sprzężonych z siarczanem lub glukuronidem fenoli lub *t,t*-MA. Przy zastosowanych stężeniach benzenu  $166 \div 198 \text{ mg/m}^3$  ( $52 \div 62 \text{ ppm}$ ) uznano, że absorpcja przez drogi oddechowe wynosi około 47%, a wydalanie przez drogi oddechowe w 4-godzinny okres narażenia około 17%. Wartości te były zgodne z wartościami uzyskanymi we wcześniejszym badaniu przeprowadzonym przez *Srbovą* i in. (1950), którzy wykazali, że wydalanie przez drogi oddechowe po 7-godzinnym narażeniu może wahać się  $16,4 \div 41,6\%$ .

Nie ma wystarczających danych, aby jednoznacznie uznać pierwszorzędowe znaczenie jednej drogi eliminacji przy narażeniu ludzi drogą inhalacyjną. *Sherwood* (1988) monitorował kinetykę eliminacji benzenu różnymi drogami po narażeniu jednego człowieka, który był naprzemiennie narażony na benzen o stężeniu  $20 \text{ mg/m}^3$  (6,4 ppm) przez 8 h lub o stężeniu  $316 \text{ mg/m}^3$  (99 ppm) przez 1 h. Wyniki doświadczenia wskazują, że znacznie większa część całkowitej dawki była wydalana z moczem, a wydalanie koniugatu fenolu było dwufazowe, z początkową szybką fazą wydalania. Znaczenie wydalania z moczem zostało również podkreślone w pracy *Inoue* i in. (1986), którzy wykazali korelację między stężeniem fenolu w moczu a narażeniem na benzen w stosunkowo szerokim zakresie stężeń  $3,2 \div 640 \text{ mg/m}^3$  ( $1 \div 200 \text{ ppm}$ ).

Narażenie zawodowe i badania przekrojowe wskazały również na pojawienie się metabolitów benzenu w moczu jako konsekwencję narażenia na takie czynniki, jak dym tytoniowy (*Bartczak* i in. 1994) i pary benzyny (*Lagorio* i in. 1994), lub gdy porównywano zawartość benzenu w moczu osób palących i niepalących (*Kok, Ong* 1994; *Melikian* i in. 1994). Jeden papieros dostarcza średnio 55  $\mu\text{g}$  benzenu, a przeciętny palacz przyjmuje około  $1,2 \div 1,8 \text{ mg}$  benzenu dziennie. *Popp* i in. (1994) wykryli w moczu mechaników samochodowych stężenie kwasu mukonowego i S-fenilo-*N*-acetylocysteiny na poziomach, które korelowały z poziomami związku w krwiobiegu i strefie oddychania. Obserwacje te potwierdzają wcześniejszą sugestję *Ghittoriego* i in. (1993), że benzen i jego metabolity w moczu mogą być ważnym biomarkerem zawodowego narażenia na ten związek.

Gromadzenie danych doświadczalnych z badań na zwierzętach laboratoryjnych wykazało zasadniczo podobny wzorzec wydalania benzenu do

tęgo, jaki obserwowano u ludzi. Charakteryzuje się on wydalaniem niezmienionego związku wraz z powietrzem wydychanym i pojawieniem się metabolitów w moczu. Na przykład przy 6-godzinnym narażeniu na benzen o wysokich stężeniach, tj.  $1597 \text{ mg/m}^3$  (500 ppm), po początkowej szybkiej fazie eliminacji następowała wolniejsza faza o znacznie dłuższym okresie półtrwania (do 13 h lub dłużej), (*Rickert* i in. 1979).

W IPCS (1999) podano, że po narażeniu inhalacyjnym wydalanie benzenu u ludzi wydaje się przebiegać według modelu dwukompartmowego, z okresami półtrwania wynoszącymi około 1 lub 24 h. Okres półtrwania wydychanego benzenu u ludzi różni się w zależności od stężenia benzenu i czasu narażenia. Po narażeniu na benzen o stężeniu  $322,7 \text{ mg/m}^3$  (99 ppm) przez 1 h biologiczny okres półtrwania benzenu w początkowej fazie oceniono na 42 min, a po narażeniu na stężenie  $20,9 \text{ mg/m}^3$  (6,4 ppm) przez 8 h biologiczny okres półtrwania w początkowej fazie oceniono na 72 min. Okres półtrwania w fazie końcowej (10 ÷ 100 h po narażeniu) wynosił  $23 \div 31 \text{ h}$ .

Prawdopodobnie najbardziej rygorystycznymi doświadczeniami, w których badano zależność dawka-skutek po narażeniu na benzen drogą inhalacyjną, były badania przeprowadzone przez *Sabourin* i in. (1987). Narażenie na [ $^{14}\text{C}$ ]-benzen o stężeniu  $32 \div 3195 \text{ mg/m}^3$  ( $10 \div 1000 \text{ ppm}$ ) przez 6 h wykazało, że przy niższych stężeniach w powietrzu wydychanym stwierdzono mniej niż 6% radioaktywności. Jednak przy wyższych stężeniach benzenu ( $>2718 \text{ mg/m}^3$ , 850 ppm) zarówno szczury, jak i myszy wydychały znaczne ilości niezmienionego związku, wynoszące odpowiednio 48 i 14%.

### Narażenie przez skórę

W dostępnym piśmiennictwie stwierdzono jedynie ograniczone dane dotyczące wydalania benzenu u ludzi po narażeniu przez skórę. *Franz* (1984) podał, że 4 ochotników, którym podano na skórę [ $^{14}\text{C}$ ]-benzen w ilości  $0,0024 \text{ mg/cm}^2$ , wydalalo śladowe ilości znacznika z moczem w ciągu 36 h, co sugeruje zdolność związku do przenikania przez skórę. Podobne wyniki uzyskano u małp i kawaii domowych (świnek morskich), odpowiednio 0,065 oraz 0,042% zastosowanej dawki (*Franz* 1984).

## Podsumowanie

Benzen jest prawie całkowicie wchłaniany z przewodu pokarmowego w szerokim zakresie stężeń/dawek u szczurów i myszy. W kilku badaniach na ludziach wykazano, że wchłanianie benzenu przez drogi oddechowe wynosi około 50%. Przy stężeniu benzenu wynoszącym 31,9 mg/m<sup>3</sup> (10 ppm) retencja benzenu podczas 6-godzinnego narażenia wynosiła 33% u szczurów i 50% u myszy i zmniejszała się przy wyższych stężeniach (*Sabourin* i in. 1987). Przy wysokich stężeniach szlaki metaboliczne ulegają wysyceniu i zwiększa się wydalanie niezmetabolizowanego benzenu przez drogi oddechowe.

W normalnych warunkach udział wchłaniania benzenu przez skórę w całkowitym wchłanianiu jest niski (absorpcja przez skórę wynosi mniej niż 1% zastosowanej dawki), ponieważ parowanie benzenu z powierzchni skóry zmniejsza wchłoniętą ilość. Jednak w niektórych sytuacjach (np. zanieczyszczenie w roztworze) droga ta może być ważnym czynnikiem przyczyniającym się do całkowitego narażenia na benzen. *Kalnas* i *Teitelbaum* (2000) stwierdzili, że w przypadku stosowanych do czyszczenia rozpuszczalników, które zawierały benzen o stężeniu poniżej 0,1%, ilość benzenu wchłaniana przez skórę w długim okresie była znaczna i zależała od czasu narażenia i powierzchni narażonej na działanie substancji (ECHA 2018a).

*Williams* i in. (2011) przeanalizowali eksperymentalne dane dotyczące wchłaniania benzenu przez skórę (zarówno u ludzi, jak i zwierząt; w warunkach *in vitro* i *in vivo*) i doszli do wniosku, że szybkość wchłaniania benzenu waha się 200 ÷ 400 µg/cm<sup>2</sup> · h (DECOS 2014). *Jakasa* i in. (2015) obliczyli wchłanianie przez skórę na 5,85% przy wartości OEL 3,2 mg/m<sup>3</sup> (1 ppm).

Benzen jest stosunkowo szybko rozmieszczany w całym organizmie niezależnie od drogi narażenia. Po narażeniu drogą pokarmową *Low* i in. (1989) stwierdzili najwyższe stężenia w wątrobie i nerkach, pośrednie we krwi, a najniższe w gruczole Zymbala, jamie nosowej, jamie ustnej, gruczole sutkowym i szpiku kostnym. Benzen jest magazynowany w tkance tłuszczowej (*Rickert* i in. 1979). Metabolity benzenu występują również w całym organizmie, przy czym fenol jest usuwany ze szpiku kostnego szybciej niż katechol czy hydrochinon (*Rickert* i in. 1979).

Pomimo szeroko zakrojonych badań metabolizmu benzenu nadal nie jest on w pełni poznany.

Do ujawnienia się hematotoksyczności niezbędny jest metabolizm benzenu przez CYP2E1 (*Sammatt* i in. 1979; *Valentine* i in. 1996). Jednak po początkowym utlenieniu przez CYP2E1 do epoksydu benzenu szlak metaboliczny benzenu rozgałęzia się, tworząc kilka przypuszczalnych toksycznych metabolitów. Większość badań skupiała się na hipotezie, że fenol, katechol i hydrochinon są wytwarzane w wątrobie i transportowane do szpiku kostnego, gdzie hydrochinon jest aktywowany do *p*-benzochinonu przez działanie MPO (*Low* i in. 1995; *Rushmore* i in. 1984; *Smith* i in. 1989). W hipotezie fenolowego metabolitu problem stanowi jednak to, że narażenie na fenol nie daje takich samych efektów, jak na benzen. Do odtworzenia hematotoksycznego działania benzenu wymagana jest kombinacja fenolu i hydrochinonu (*Eastmond* i in. 1987).

Szlak metabolizmu benzenu z otwarciem pierścienia prowadzi do wydalania *t,t*-MA z moczem. Wytwarzanie wysoce reaktywnego MUC z otwartym pierścieniem, jako związku pośredniego w szlaku prowadzącym do *t,t*-MA, wykazano w izolowanych mikrosomach wątrobowych, jednakże nie wykazano krążenia MUC we krwi (*Witz* i in. 1996).

Uważa się, że epoksyd benzenu jest zbyt reaktywny, aby „opuścić” wątrobę, jednak istnieją informacje, że został on zmierzony we krwi myszy (*Lindstrom* i in. 1997; *Lovern* i in. 1997). Zatem kilka metabolitów benzenu może odgrywać rolę w wywoływaniu toksycznego działania benzenu, a połączenie kilku metabolitów może być wymagane do wywołania pełnego zakresu reakcji toksycznych powodowanych przez benzen. Między różnymi gatunkami zwierząt obserwowano duże ilościowe różnice w wytwarzaniu przypuszczalnych toksycznych metabolitów benzenu (*Sabourin* i in. 1989; 1992).

W metabolizmie epoksydu benzenu zaangażowanych jest kilka szlaków:

- może on ulec sprzężeniu ze zredukowanym glutationem (GSH), co skutkuje ostatecznym utworzeniem i wydalaniem z moczem kwasu S-fenylmerkapturowego (S-PMA), (*Monks* i in. 2010). Odpowiedzialnym enzymem jest transferaza S-glutationu (GST), w szczególności GSTT1 i GSTM1. Epoksyd może być dalej metabolizowany przez hydrolazę epoksydową

(EH) do dihydrodiolu benzeny i katecholu (Meek, Klauning 2010);

- samorzutnie przekształca się do fenolu, który następnie ulega sprzężeniu z kwasem glukuronowym lub aktywnym siarczanem) lub utlenieniu. Reakcja utleniania jest katalizowana przez CYP2E1 i daje początek 1,4-hydrochinonowi, 1,2-hydrochinonowi (katecholowi), a następnie 1,2,4-benzenetriolowi (DECOS 2014; Monks i in. 2010). Enzym mieloperoksydaza (MPO), który w najwyższych stężeniach występuje w granulocytach obojętnochłonnych, metabolizuje hydrochinony do odpowiednich benzochinonów. W tej reakcji powstają wysoce reaktywne formy tlenu. Ponadto benzochinony są bardzo reaktywne. Konwersja benzochinonów z powrotem do hydrochinonów jest katalizowana przez NAD(P)H:dehydrogenazę chinonu 1 (NQO1), co może prowadzić do dalszego cyklu redoks (Hartwig 2010);
- równoważą się spontanicznie z odpowiednim tautomerem walencyjnym oksepiny, co może prowadzić do otwarcia pierścienia i wytworzenia serii 6 dienów węgla, z których najbardziej reaktywny jest aldehyd *trans,trans*-mukonowy (Monks i in. 2010), co do którego wykazano w warunkach *in vitro*, że prowadzi do mutacji (Nakayama i in. 2004), wiązań krzyżowych DNA-białko i pęknięć nici DNA (Amin, Witz 2001).

Przy niskich poziomach narażenia benzen jest wydalany głównie z moczem w postaci koniugatów siarczanowych lub glukuronidowych metabolitów fenolowych, lub jako *t,t*-MA (McMahon, Birnbaum 1991; Sabourin i in. 1987). U szczurów i myszy narażanych na [<sup>14</sup>C]-benzen drogą pokarmową w dawkach mniejszych niż 15 mg/kg mc. <sup>14</sup>C był prawie ilościowo odzyskiwany w moczu w postaci metabolitów, natomiast przy dawce 150 mg/kg mc. ponad 50% zostało usunięte w postaci niezmetabolizowanej w wydychanym powietrzu (Sabourin i in. 1987). Podobne efekty stwierdzono u szczurów lub myszy przy narażeniu inhalacyjnym – przy narażeniu do 32 mg/m<sup>3</sup> (10 ppm) mniej niż 6% <sup>14</sup>C zostało wykryte w powietrzu wydychanym, natomiast przy stężeniach powyżej 2718 mg/m<sup>3</sup> (850 ppm) szczury wydychały 48%, a myszy – 14%. Stężenia fenolu i *t,t*-MA w moczu są skorelowane z poziomem narażenia na benzen i mogą być wykorzystywane do monitorowania narażenia zawodowego na benzen (Ghittori i in. 1993).

Pomimo że opracowano kilka różnych modeli PBPK opisujących matematycznie wchłanianie, dystrybucję, metabolizm i wydalanie benzeny (Bois, Paxman 1992; Medinsky i in. 1989a; 1989b; 1989c; Sato 1988; Travis i in. 1990), ich użyteczność do przewidywania dawki toksycznych metabolitów w narządach docelowych u ludzi jest ograniczona przez niepełną wiedzę na temat toksycznych metabolitów i trudności w zidentyfikowaniu odpowiedniego doświadczalnego modelu zwierzęcego dla ludzi.

## MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Na podstawie wyników wielu badań uważa się, że hematotoksyczność i genotoksyczność (powszechnie uznawane za najbardziej krytyczne skutki narażenia na benzen) są wynikiem złożonej kaskady zdarzeń. Tak jak kilka metabolitów benzeny wiąże się z toksycznością tego związku, tak kilka różnych mechanizmów może również przyczyniać się do ogólnego toksycznego działania benzeny (np. zmiany cytogenetyczne, nieprawidłowa rekombinacja mitotyczna, mutacje genów i/lub zmiany epigenetyczne).

Metabolizm benzeny jest stosunkowo szybki i determinuje skutki hematopoetyczne i biał-

czkowe. Dane dotyczące ludzi i zwierząt wskazują na znaczenie CYP2E1 w metabolizmie benzeny. Zakłada się, że metabolizm zachodzi głównie w wątrobie, a wtórny metabolizm w szpiku kostnym, miejscu charakterystycznej toksyczności benzeny.

Pracownicy zawodowo narażeni na benzen z fenotypem odpowiadającym szybkiemu metabolizmowi CYP2E1 byli bardziej podatni na toksyczność benzeny niż osoby wykazujące powolny metabolizm CYP2E1 (Rothman i in. 1997). Enzym dehydrogenaza NAD(P)H:chinon (NQO1), który utrzymuje chinony w postaci zredukowanej, a więc łatwiej sprzęgane i wydalane (EPA 2002; Nebert



i in. 2002), jest kolejnym przykładem znaczenia metabolizmu w hematotoksyczności benzenu. Rothman i in. (1997) stwierdzili, że pracownicy homozygotyczni (22% rasy kaukaskiej – 45% Azjaci) pod względem allelu NQO1, wykazywali 2,4-krotnie większe ryzyko hematotoksyczności benzenu niż pracownicy z normalnym genotypem. Ponad 7-krotnie zwiększone ryzyko hematotoksyczności benzenu odnotowano u pracowników, którzy wykazywali zarówno szybki metabolizm CYP2E1, jak i NQO1 typu dzikiego (Rothman i in. 1997).

### Reaktywne metabolity

W toksyczność benzenu jest zaangażowanych kilka metabolitów: epoksyd benzenu, metabolity hydroksylowe (fenol, katechol, hydrochinon, 1,2,4-benzenetriol, 1,2- i 1,4-benzochinon) oraz aldehyd *trans,trans*-mukonowy. Udział każdego związku pośredniego w toksyczności wywoływanej przez benzen nie jest obecnie znany. Uważa się, że toksyczność jest wynikiem wielu reaktywnych półproduktów, które oddziałują ze szpikiem kostnym. Jest on szczególnie wrażliwy na benzen m.in. ze względu na obecność enzymów metabolizujących benzen, co prowadzi do produkcji reaktywnych form tlenu. Z kolei reaktywne formy tlenu mogą prowadzić do szeregu skutków komórkowych, w tym uszkodzenia tubuliny, białek histonowych, topoizomerazy II, innych białek związanych z DNA oraz samego DNA (w tym aberracji strukturalnej i liczbowej), (Toxicological profile... 2007).

Dowody na to, że epoksyd benzenu może odgrywać rolę w toksyczności benzenu, wywiedziono z kilku przesłanek:

- jest on produktem metabolizmu benzenu w mikrosomach wątroby myszy, szczura i człowieka (Lovern i in. 1997),
- może być uwalniany z wątroby do krwi (Lindstrom i in. 1997),
- związki addycyjne epoksydu benzenu i białka wykryto we krwi i szpiku kostnym myszy narażonych na działanie benzenu (McDonald i in. 1994),
- związki addycyjne z epoksydem benzenu i albuminą wykryto we krwi pracowników narażonych na benzen (Rappaport i in. 2002a; 2002b; Yeowell-O'Connell i in. 1998).

Wysocze reaktywny aldehyd *t,t*-mukonowy, który znaleziono w mysich mikrosomach wątrobowych (Latriano i in. 1986), może podlegać metabolizmowi redukcyjnemu i oksydacyjnemu (Goon i in. 1992) i wykazano, że jest hematotoksyczny (Witz i in. 1985). Niewielką ilość (<0,05%) aldehydu *t,t*-mukonowego podawanego myszom pozajelitowo stwierdzono w szpiku kostnym (Zhang i in. 1997). Rivedal i Witz (2005) stwierdzili, że aldehyd ten jest silnym inhibitorem komunikacji międzykomórkowej (połączenia typu gap) w komórkach nabłonka wątroby szczura.

Smith (1996) zauważył, że metabolity hydroksylowe mogą być metabolizowane przez peroksydazy szpiku kostnego takie jak mieloperoksydaza (MPO) do wysocze reaktywnych rodników semichinonowych i chinonów, które stymulują produkcję reaktywnych form tlenu. Prowadzi to do uszkodzenia tubuliny, białek histonów, topoizomerazy II, innych białek związanych z DNA i samego DNA (skutki klastogenne, takie jak pęknięcie nici, rekombinacja mitotyczna, translokacje chromosomów i aneuploidia).

Hematotoksyczność wywołana benzenem objawia się pancytopenią (zmniejszenie ilości różnych elementów komórkowych we krwi krążącej powodujące anemię, leukopenię lub trombocytopenię) i niedokrwistością aplastyczną (wraz ze zwłóknieniem szpiku) – ilość wszystkich elementów komórkowych krwi obwodowej i szpiku kostnego jest zmniejszona.

Uważa się, że hematotoksyczność jest wczesnym wskaźnikiem rozwoju ostrej białaczki szpikowej (AML) / zespołu mielodysplastycznego (MDS) po narażeniu na benzen (Natelson 2007). Utrzymujące się cytopenie i inne choroby krwi często poprzedzają wystąpienie białaczki u pacjentów z AML wtórną po narażeniu na benzen (DECOS 2014). Ponadto pracownicy cierpiący na zatrucie benzenem są narażeni na zwiększone ryzyko zachorowania na białaczkę (Rothman i in. 1997). Do chwili obecnej nie udowodniono jednak, że hematotoksyczność wywołana benzenem stanowi początkowy (wymagany) etap choroby nowotworowej lub po prostu stanowi uszkodzenie szpiku kostnego (Kirkeleit i in. 2008b).

### Tworzenie adduktów kowalencyjnych

Metabolity benzenu tworzą kowalencyjne addukty zarówno z białkami komórkowymi, jak i DNA,

jednak rola tworzenia adduktów w toksyczności jest niejasna. W przypadkach zmniejszonej toksyczności benzenu obserwuje się również zmniejszenie tworzenia się adduktów. Częściowa hepatektomia u szczurów spowodowała zmniejszoną hematotoksyczność, a także zmniejszone wiązanie kowalencyjne w szpiku kostnym (Sammett i in. 1979). Wykazano, że poziomy tworzenia adduktów w tkankach krwiotwórczych u myszy korelują ze względną wrażliwością szczepów (Longacre i in. 1981).

Kowalencyjne wiązanie metabolitów benzenu z DNA zostało po raz pierwszy opisane przez Lutz i Schlattera (1977). Mazzullo i in. (1989) stwierdzili, że przy niskich stężeniach benzenu tworzenie adduktów z DNA przez metabolity benzenu jest liniowe, ale wysycenie tworzenia adduktu następowało przy wysokich stężeniach benzenu. Hedli i in. (1996) badali tworzenie adduktów DNA z metabolitami benzenu – hydrochinonem i 1,2,4-benzenetriolem w połączeniu z badaniami wpływu tych 2 metabolitów na różnicowanie komórek w układzie modelowym hematopojezy. W przeciwieństwie do 1,2,4-benzenetriolu hydrochinon tworzy addukty DNA w ludzkich komórkach białaczki promielocytowej.

Creek i in. (1997) wykazali, że po narażeniu myszy B6C3F1 na [<sup>14</sup>C]-benzen podawany do otrzewnowo w dawkach większych niż 16 mg/kg mc. tworzenie adduktów było nieliniowe.

Odpowiada to bardzo ściśle poziomowi wysycenia metabolicznego dla benzenu w dawce 15 mg/kg mc. obserwowanemu przez Sabourin i in. (1987). Benzen podawano samcom myszy B6C3F1 w zakresie dawek do 500 mg/kg mc. Poziomy adduktów DNA wątroby osiągały szczyt po upływie 0,5 h po zakończeniu narażenia, a poziomy adduktów DNA w szpiku kostnym osiągały szczyt między 12 a 24 h.

Chociaż mechanizm, przez który tworzenie adduktów powoduje toksyczność szpiku kostnego, nie jest dobrze poznany, wyniki kilku eksperymentów sugerują, że wiązanie hydrochinonu lub *p*-benzochinonu z grupami sulfhydryłowymi w miejscach aktywnych białek może odpowiadać za genotoksyczne działanie benzenu.

Hydrochinon i *p*-benzochinon zakłócają wiązanie trifosforanu guanozyny (GTP) do tubuliny przez alkilowanie nukleofilowych grup sulfhydrylowych (Irons, Neptun 1980; Pfeifer, Irons 1983). Wiązanie GTP jest wymagane do stabilizacji polimeryzacji

tubuliny podczas tworzenia mikrotubul, a zatem przeszkadza w tworzeniu się wrzeciona podczas mitozy. Wykazano również, że kilka metabolitów benzenu (*p*-benzochinon, hydrochinon, fenol, katechol, 1,2,4-benzenetriol) hamuje aktywność ludzkiej topoizomerazy II (Frantz i in. 1996). Inhibitory topoizomerazy są zazwyczaj silnymi klastogenami w komórkach ssaków, zatem hamowanie topoizomerazy II może prowadzić do skutków klastogennych obserwowanych po narażeniu na benzen.

## Genotoksyczność

Zahamowanie topoizomerazy II jest najlepiej znanym wyjaśnieniem genotoksycznego działania benzenu i najbardziej prawdopodobnym mechanizmem, poprzez który benzen indukuje translokacje chromosomów (McHale i in. 2012). Przeprowadzenie kilku badań wykazało, że benzen i jego metabolity (hydrochinon i 1,4-benzochinon) działają jako inhibitory topoizomerazy II („trucizny topoizomerazy II”), przez co potencjalnie prowadzą do pęknięć nici DNA, nieprawidłowej rekombinacji mitotycznej, a następnie chromosomalnych aberracji (Chen i in. 2007; Frantz i in. 1996; Lindsey i in. 2005a; 2005b; Smith 1996; Whysner i in. 2004).

Inhibitory topoizomerazy II są rzeczywiście znane z tego, że powodują białaczkę u ludzi (Eastmond i in. 2001; Frantz i in. 1996). Whysner i in. (2004) porównali profile genotoksyczne benzenu i jego metabolitów z profilami innych czynników genotoksycznych i doszli do wniosku, że jest on najbardziej podobny do genotoksyczności wywołanej przez inhibitory topoizomerazy II.

## Stres oksydacyjny

Benzen może również powodować stres oksydacyjny w tkankach docelowych. Metabolit benzenu, *p*-benzochinon, jest wysoce reaktywny i może obniżyć komórkowe poziomy GSH (Brunmark, Cadenas 1988). Metabolity benzenu mogą także brać udział w cyklach redoks, powodując wytwarzanie reaktywnych form tlenu, które mogą również reagować ze składnikami wielkocząsteczkowymi (Rao, Snyder 1995).

## Hamowanie tworzenia cytokin

Potencjalnym celem hematotoksycznego działania benzenu jest mikrośrodowisko zrębowe szpiku

kostnego, które normalnie moduluje proliferację i różnicowanie komórek macierzystych (Cox 1991; Kalf 1987; Snyder i in. 1989). Interakcja zrębu z komórkami macierzystymi jest niezbędna do hematopoezy. Ponadto makrofagi zrębu wytwarzają interleukinę 1 (IL-1), cytokinę również niezbędną do hematopoezy. Pacjenci z niedokrwistością aplastyczną zwykle wykazują dysfunkcję monocytów i zmniejszoną produkcję IL-1 (Renz, Kalf 1991).

Renz i Kalf (1991) zasugerowali, że wywołana benzenem depresja szpiku kostnego może wynikać z niewydolności makrofagów zrębu w przetwarzaniu pre-IL-1 $\alpha$  do dojrzałej IL-1, która aktywuje produkcję fibroblastów zrębu przez czynnik stymulujący tworzenie kolonii, niezbędny do różnicowania komórek macierzystych.

### Zmiany epigenetyczne

Narażenie zawodowe lub środowiskowe na benzen może powodować zmiany epigenetyczne, które wiążą się ze zwiększoną podatnością na rozwój chorób. Wykazano, że benzen zmienia ekspresję wielu genów we krwi obwodowej narażonych pracowników. Zmiany epigenetyczne są głównymi mechanizmami, które regulują ekspresję genów, a znaczniki epigenetyczne, w tym modyfikacja histonów, metylacja DNA i ekspresja mRNA, aktywują lub hamują ekspresję poszczególnych genów (np. onkogenów i genów supresorowych), (DECOS 2014; Fenga i in. 2016).

W konsekwencji zdarzenia te skutkują niestabilnością genomu, a następnie aktywacją kluczowych protoonkogenów, utratą heterozygotyczności i inaktywacją genów supresorowych guza. Deregulacja szlaku białka p53, skutkująca zmianami w cyklu komórkowym (apoptozą lub systemem naprawy DNA), może być zdarzeniem prowadzącym do nowotworów układu krwiotwórczego (Kirkeleit i in. 2008a).

### Ekstrapolacje wyników badań ze zwierząt na człowieka

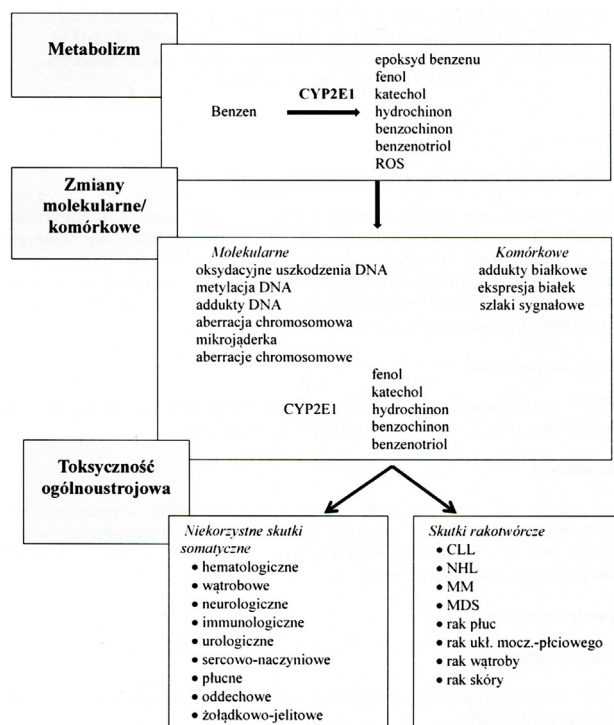
Szlaki metabolizmu benzenu są ogólnie podobne u różnych gatunków gryzoni i naczelnych innych niż ludzie. Istnieją jednak różnice gatunkowe w zakresie zdolności metabolizowania benzenu i względnych proporcji różnych powstających metabolitów benzenu oraz w zakresie wchłaniania i retencji benzenu. Na przykład po

6-godzinnym narażeniu na niskie stężenia par benzenu (22,8÷ 32,6 mg/m<sup>3</sup>; 7 ÷ 10 ppm), myszy zatrzymały 20% wdychanego benzenu, podczas gdy szczury i małpy tylko 3 ÷ 4% (Sabourin i in. 1987; 1992). Myszy wykazują większą ogólną zdolność metabolizowania benzenu w porównaniu ze szczurami. Narażenie inhalacyjne na benzen o stężeniu 3015,5 mg/m<sup>3</sup> (925 ppm) odpowiadało dawce 152 mg/kg mc. u myszy, z której około 15% było wydalane jako związek macierzysty, i dawce 116 mg/kg mc. u szczurów, z czego około 50% było wydalane w postaci niezmienionej (Henderson i in. 1992; Sabourin i in. 1987).

Proporcje wytwarzanych metabolitów benzenu zależą zarówno od gatunku, jak i od wielkości narażenia. Sabourin i in. (1988) wykazali, że po 6-godzinnym narażeniu inhalacyjnym na benzen o stężeniu 163 mg/m<sup>3</sup> (50 ppm) hydrochinony i kwas mukonowy występują we krwi, wątrobie, płucach i szpiku kostnym w znacznie wyższym stężeniu u myszy niż u szczurów. Powszechnie wiadomo, że profile metaboliczne benzenu u myszy i ludzi są bardziej podobne niż u ludzi i szczurów.

Sabourin i in. (1989) odnotowali zwiększoną produkcję metabolitów detoksykacyjnych (fenyloglukuronidu i kwasu pefenylomerkapturowego) oraz zmniejszoną produkcję potencjalnie toksycznych metabolitów (hydrochinonów i kwasu *t,t*-mukonowego) zarówno u myszy, jak i szczurów narażonych na działanie benzenu w znacznie wyższych stężeniach (1956 mg/m<sup>3</sup>, czyli 600 ppm, w powietrzu lub w dawce 200 mg/kg mc. drogą pokarmową), co wskazuje, że ekstrapolacja wyników uzyskanych w badaniach z zastosowaniem wysokich stężeń benzenu może skutkować niedoszacowaniem ryzyka w przypadku narażenia na niskie stężenia.

Wielu badaczy próbowało zająć się metabolizmem benzenu, starając się wyprowadzić ekstrapolacje ze zwierzęcia na człowieka. Każdy model opisywał model wielokompartментowy, w którym próbowano powiązać wytwarzanie metabolitów z końcowymi punktami toksyczności benzenu. Na ile pozwalają na to dostępne dane, zajęto się wytwarzaniem hydrochinonu i aldehydu *t,t*-mukonowego w wątrobie z dalszym metabolizmem w szpiku kostnym. Jednak modele te nie są dostatecznie dopracowane, aby umożliwić dokładne przewidywanie metabolizmu człowieka.



Objaśnienia: AML – ostra białaczka szpikowa; CLL – przewlekła białaczka limfocytowa; CYP2E1 – cytochrom P450 2E1; MDS – zespół mielodysplastyczny; MM – szpiczak mnogi; NHL – chłoniak nie Hodgkinowski; ROS – reaktywne formy tlenu.

**Rycina 2.** Schemat metabolizmu benzenu, jego mechanizmów toksyczności i toksycznego działania u ludzi (na podstawie: *D'Andrea, Reddy 2018*)

**Figure 2.** Schematic of benzene metabolism, its toxicity mechanisms and toxic effects in humans (based on: *D'Andrea, Reddy 2018*)

## DZIAŁANIE ŁĄCZNE

Działanie benzenu łącznie z innymi ksenobiotykami ma praktyczne znaczenie, ponieważ benzen często występuje w mieszaninach wieloskładnikowych (np. różne rodzaje benzyn). Należy więc oczekiwać interakcji metabolicznych i toksykodynamicznych, np. z toluenem, etylobenzenem lub ksylenami. Interakcje benzenu z innymi związkami chemicznymi są często wynikiem różnicowanego powinowactwa do cytochromu CYP2E1 (kluczowy enzym metabolizujący benzen). Stopień zahamowania metabolizmu benzenu zależy od dawki inhibitora cytochromu, np. toluenu. Odrębny problem stanowią interakcje wynikające z indukcyjnego działania ksenobiotyków na CYP2E1, np. etanolu (ATSDR 2007).

### Benzen a alkohol etylowy

Etanol i benzen indukują tworzenie izoenzymu wątrobowego cytochromu P450 (CYP2E1) u królików i szczurów (*Gut* i in. 1993; *Johansson,*

*Ingelman-Sundberg* 1988). Etanol zwiększa zarówno metabolizm (in vitro), jak i toksyczność (in vivo) benzenu u zwierząt (*Baarson* i in. 1982; *Nakajima* i in. 1985).

Podawanie etanolu (5 lub 15% w wodzie pitnej, 4 dni/tydzień przez 13 tygodni) myszom narażonym na pary benzenu o stężeniu 960 mg/m<sup>3</sup> (300 ppm) przez 6 h/dzień, 5 dni/tydzień przez 13 tygodni powodowało większe nasilenie hematologicznych skutków indukowanych benzenem (niedokrwistość, limfocytopenia, aplazja szpiku kostnego, przejściowy wzrost normoblastów i atypia krwi obwodowej) w stosunku do myszy narażanych na działanie benzenu, którym nie podawano etanolu (*Baarson* i in. 1982). Modulujące skutki działania benzenu były zależne od dawki. Zwiększenie hematotoksycznego działania benzenu przez etanol może być szczególnie niepokojące dla pracowników narażonych na benzen, którzy spożywają alkohol (*Nakajima* i in. 1985), chociaż interakcje wykazane u myszy wystąpiły przy znacznie

wyższych stężeniach narażenia na benzen, niż można by tego doświadczyć w powietrzu w miejscu pracy. Benzen może zakłócać zanik etanolu z organizmu. W związku z tym po równoczesnym narażeniu na wysokie poziomy benzen i etanolu mogą wystąpić zwiększone zaburzenia ośrodkowego układu nerwowego (np. depresja).

Inne substancje chemiczne, które indukują określone izoenzymy cytochromu P450, mogą zwiększać tempo metabolizmu benzen i zmieniać szlaki metabolizmu, faworyzując jeden z nich.

## Benzen a toluen

Jednoczesne podawanie toluenu hamowało u szczurów biotransformację benzen do fenolu (Ikeda i in. 1972; Inoue i in. 1988). Wynikało to z konkurencyjnego hamowania mechanizmów utleniania zaangażowanych w metabolizm benzen. Wcześniej podanie szczurom fenobarbitalu złagodziło hamujący wpływ toluenu na hydroksylację benzen poprzez indukcję aktywności oksydacyjnej w wątrobie. Skutek ten zaobserwowano w innych badaniach na szczurach (Purcell i in. 1990). Modele matematyczne metabolizmu benzen i fenolu sugerują, że hamowanie przez benzen metabolizmu fenolu, a przez fenol metabolizmu benzen następuje przez rywalizację o wspólne miejsce reakcji, które może również wiązać katechol i hydrochinon (Schlosser i in. 1993).

Toluen i benzen podawane jednocześnie wpływają na indukcję aberracji chromosomowych. Toluen zmniejszał liczbę wymian chromatyd siostrzanych indukowanych przez benzen, gdy oba związki były podawane dootrzewnowo myszom DBA/2, i zmniejszał klastogenną aktywność benzen, gdy oba związki były jednocześnie podawane doustnie myszom CD-1, dootrzewnowo szczurom Sprague-Dawley lub podskórnym myszom (IARC 1989).

Toluen o stężeniu 3200 mg/m<sup>3</sup> wykazywał antagonistyczne działanie u ludzi w stosunku do benzen na poziomie układu białokrwinkowego, hamując leukopenię wywołaną benzenem o stężeniu 160 mg/m<sup>3</sup> (Golstein 1977).

Interakcja benzen-toluen wyraża się kompetycyjnym działaniem w zakresie metabolizmu, antagonistycznym na układ białokrwinkowy i addycyjnym na aparat chromosomowy (Lebrecht i in. 2003).

## Interakcje benzen z innymi czynnikami

Wykazano, że flawonoidy hamują hydroksylazę fenolową lub zwiększają jej aktywność w sposób zależny od dawki, zależny od potencjału oksydacyjnego flawonoidu (Hendrickson i in. 1994).

Benzen jest często stosowanym rozpuszczalnikiem przemysłowym. Jego toksyczne objawy mogą być modyfikowane przez hormony płciowe, ale mechanizmy ich działania są słabo poznane. Zbadano wpływ progesteronu na peroksydację lipidów (dialdehyd malonowy), poziom zredukowanego glutationu (GSH) oraz cytochromu P450 2E1 (CYP2E1) w wątrobie i nerkach samic szczurów. Progesteron podawano szczurom narażonym na benzen. W porównaniu z grupą zwierząt, które narażono tylko na benzen, progesteron hamował tworzenie reaktywnych form tlenu (ROS). Natomiast u szczurów poddanych wycięciu jajników, którym podawano benzen, progesteron znacznie zwiększał poziom GSH w wątrobie. Nie obserwowano zmian aktywności CYP2E1 u szczurów po podaniu progesteronu. Wyniki wskazują na możliwość zmiany przez progesteron toksyczności benzen (generowanie ROS, stres oksydacyjny). Prawdopodobne działanie antyoksydacyjne progesteronu wymaga jednak potwierdzenia w dalszych badaniach (Verma, Rana 2008).

Badano także wpływ cynku (Zn) i selenu (Se) na toksyczność indukowaną benzenem u szczurów. Samcom szczurów Sprague-Dawley wstrzyknięto benzen (0,5 ml/kg mc. *ip.*), a następnie otrzymywały one suplement diety zawierający Zn i Se. Oszacowano kilka parametrów hematologicznych i biochemicznych (odzwierciedlających stan antyoksydacyjny). Wykonano badania histopatologiczne. Wyniki wykazały, że przyjmowanie pokarmu i przyrost masy ciała u szczurów, którym podano benzen, były znacznie niższe niż u szczurów kontrolnych. U szczurów, którym podano benzen, zanotowano podwyższony poziom dialdehydu malonowego (MDA) w osoczu i obniżoną aktywność: peroksydazy glutationowej (GSH-Px), katalazy, enzymów dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), a także obniżony poziom glutationu (GSH) w porównaniu z grupą kontrolną. W badaniach histopatologicznych obserwowano zmiany w wątrobie szczurów, którym podano benzen. Suplementacja Zn i Se spowodowała znaczne zmniejszenie poziomu MDA, podwyższenie poziomu GSH, GSH-Px,

SOD i katalazy (w stosunku do grupy narażonej jedynie na benzen). Uzyskane wyniki wskazują, że suplementacja Zn i Se może zmniejszyć efekty toksycznego działania benzenu (Ibrahim i in. 2011).

Sun i in. (2017) oceniali działanie ochronne acetylo-L-karnityny (ALCAR) w stosunku do hematotoksycznego działania benzenu. Samcom myszy C3H/He podawano podskórnie benzen (150 mg/kg mc.), a drogą pokarmową ALCAR (100 lub 200 mg/kg mc.). Eksperyment trwał 4 tygodnie. Do badań pobrano krew i szpik kostny zwierząt narażanych i kontrolnych. Oznaczony został poziom reaktywnych form tlenu (ROS), nadtlenu wodoru

(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) i poziom dialdehydu malonowego (MDA). Zmiany w DNA oceniono testem kometowym. W grupie myszy otrzymujących tylko benzen zanotowano statystycznie znaczne zwiększenie poziomu ROS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i MDA. Podanie ALCAR wyraźnie zmniejszyło te poziomy. Również w przypadku zmian w DNA wywołanych podaniem benzenu zaobserwowano ochronne działanie ALCAR (Sun i in. 2017).

## ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Zależność skutku toksycznego od poziomu narażenia na benzen (wielkości dawki lub stężenia) podano w tabelach 4, 5, 6, 7, 10, 11, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 29 i 32.

Szpik kostny uważany jest za narząd krytyczny w przypadku narażenia na benzen. Zmiany zachodzące we krwi i układzie krwiotwórczym mogą prowadzić do zmniejszenia liczby m.in. erytrocytów, leukocytów, limfocytów, neutrofilii i płytek krwi. Zmiany te ulegają nasileniu wraz ze zwiększeniem narażenia na benzen. Charakterystyczną zmianą we krwi obwodowej osób narażanych na benzen jest zwiększenie średniej objętości krwinki czerwonej (MCV). Dane wskazujące na hematotoksyczne działanie benzenu u ludzi zebrano w tabelach 4, 6 i 7. Podobne zmiany obserwowano także u zwierząt (Farris i in. 1997a; 1997b; Sun i in. 2014; Ward i in. 1985; ).

Na podstawie badań przeprowadzonych przez Lan i in. (2004) wyznaczono wartość LOAEL dla skutków hematotoksycznych (DECOS 2014). W grupie o najniższym narażeniu średnie stężenie benzenu wynosiło 1,8 mg/m<sup>3</sup> (0,6 ppm) i tę wartość przyjęto za LOAEL (tab. 8). Natomiast na podstawie badań Collinsa i in. (1997) wartość 1,8 mg benzenu/m<sup>3</sup> przyjęto za NOAEL. Wyniki badań Swaena i in. (2010) pozwoliły na przyjęcie stężenia benzenu 3 mg/m<sup>3</sup> (0,9 ppm) za NOAEL, a z wyników Tsai i in. (2004) wyznaczono wartość NOAEL równą 2 mg/m<sup>3</sup> (0,6 ppm).

Schnatter i in. (2020) przeprowadzili analizę 36 badań hematotoksycznego działania benzenu w warunkach narażenia zawodowego. Na tej

podstawie określili wartości LOAEC i NOAEC, odpowiednio 6,4 mg benzenu/m<sup>3</sup> (2 ppm) i 1,6 mg benzenu/m<sup>3</sup> (0,5 ppm).

Ryzyko wystąpienia białaczek u ludzi w następstwie narażenia inhalacyjnego zwiększa się wraz z wydłużeniem czasu narażenia i zwiększeniem stężenia benzenu. Po narażeniu na benzen o stężeniach 128 ÷ 620 mg/m<sup>3</sup>/rok ryzyko wystąpienia białaczki zwiększa się 3-krotnie, a po narażeniu na benzen o stężeniach 640 ÷ 1280 mg/m<sup>3</sup>/rok – około 12-krotnie (Lebrecht i in. 2003). Na podstawie oceny statystycznej 77 badań genotoksyczności benzenu Schnatter i in. (2020) określili najniższe wartości LOAEC dla tych skutków na około 6,4 mg/m<sup>3</sup> (2 ppm). Natomiast przy stężeniach około 2,20 mg/m<sup>3</sup> (0,69 ppm) działania genotoksycznego benzenu nie zanotowano (tab. 15).

U osób zawodowo narażonych obserwowano zależne od stężenia benzenu w powietrzu zwiększenie wydalania metabolitów benzenu: fenolu, katecholu, kwasu mukonowego i hydrochinonu (tab. 5), (Rothman i in. 1996). W innych badaniach zanotowano zależne od stężenia benzenu w powietrzu wydalanie kwasów *t,t*-mukonowego i *S*-fenylomerkapturowego (tab. 28 i 30), (BEI 2020; DFG 1999).

Benzen powoduje ostrą białaczkę szpikową u dorosłych. W przypadku chłoniaka niezłazniczego, przewlekłej białaczki limfatycznej, szpiczaka mnogiego, przewlekłej białaczki szpikowej, ostrej białaczki szpikowej u dzieci oraz raka płuc również obserwowano zależność występowania tych zmian od narażenia na benzen (tab. 16, 17, 18).

U zwierząt doświadczalnych efekty działania hematotoksycznego benzenu zależą od rodzaju i wielkości narażenia oraz gatunku zwierzęcia. Różnice gatunkowe wynikają prawdopodobnie z różnic w szybkości metabolizmu benzenu w organizmie myszy i szczura. Przedłużone narażenie na benzen o niskim stężeniu wywołuje znacznie poważniejsze skutki hematotoksyczne niż krótkotrwałe narażenie na związek o dużym stężeniu (Lebrecht i in. 2003).

Niezależnie od drogi podania obserwowano u myszy i szczurów dominującymi zmianami zależnymi od wielkości narażenia na benzen są leukemia i limfocytopenia. Wartość NOAEL dla tych zmian w przypadku myszy oceniono na 32 i 96 mg/m<sup>3</sup>, a LOAEL – 319 i 958 mg/m<sup>3</sup>,

w przypadku szczurów odpowiednio na 96 i 639 mg/m<sup>3</sup> oraz 958 i 1278 mg/m<sup>3</sup> (tab. 10, 11, 12).

Działanie rakotwórcze u zwierząt zanotowano zarówno po narażeniu inhalacyjnym (tab. 20), jak i po podaniu dożołądkowym benzenu (tab. 19). U myszy po dawkach benzenu 18 ÷ 71 mg/kg mc./dzień przez 103 tygodnie stwierdzono zależne od dawki zmiany nowotworowe w gruczole Zymbala, płucach i gruczole napletkowym, natomiast u szczurów po dawkach 36 ÷ 143 mg/kg mc./dzień takie zmiany obserwowano w gruczole Zymbala i jamie ustnej. Po narażeniu inhalacyjnym (po 26 tygodniach) u myszy stwierdzono zależne od dawki zmiany nowotworowe w tkankach krwiotwórczych i limfoidalnych.

## NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIE (NDS) W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY ORAZ DOPUSZCZALNE STĘŻENIE W MATERIALE BIOLOGICZNYM (DSB)

### Istniejące wartości NDS i ich podstawy

W tabeli 30 podano wartości dopuszczalnych stężeń benzenu w warunkach narażenia zawodowego w różnych państwach. W większości krajów obowiązują wartości dopuszczalne dla 8-godzinnej zmiany pracy, wynoszące 1,6 lub 3,2 mg/m<sup>3</sup> (0,5 lub 1 ppm). Dopuszczalne stężenia chwilowe ustalono tylko w kilku krajach i mieszczą się one w zakresie 3,2 ÷ 15,5 mg/m<sup>3</sup>.

W Polsce od 2002 r. obowiązuje wartość NDS dla benzenu na poziomie 1,6 mg/m<sup>3</sup>, a wartości dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) to: stężenie kwasu S-fenylmerkapturowego – 25 µg/g kreatyniny oraz stężenie kwasu *trans,trans*-mukonowego – 500 µg/g kreatyniny. Skutek krytyczny, podstawa ustalenia tej wartości, to powstawanie białaczki u ludzi zawodowo narażonych na benzen. Ryzyko wystąpienia białaczki na poziomie obowiązującego NDS mieści się w zakresie  $6,6 \cdot 10^{-4} \div 1,4 \cdot 10^{-3}$  (ryzyko akceptowane dla narażenia zawodowego), (Lebrecht i in. 2003). W Polsce nie ustalono wartości chwilowej NDSch.

W USA 8-godzinne dopuszczalne narażenie i krótkoterminowe limity określone przez Administrację Bezpieczeństwa i Higieny Pracy wynoszą odpowiednio 3,19 mg/m<sup>3</sup> (1 ppm) oraz 15,95 mg/m<sup>3</sup> (5 ppm), (CFR 1910.1028), (OSHA

2017). Zalecenia dotyczące dopuszczalnych wartości narażenia zawodowego (OEL) dla benzenu zostały opracowane przez Amerykańską Konferencję Rządowych Higienistów Przemysłowych (ACGIH). ACGIH zaleca, aby podczas 8-godzinnej zmiany roboczej wartość progowa (TLV) wynosiła 1,6 mg/m<sup>3</sup> (0,5 ppm), a krótkotrwałe narażenie dopuszczalne (STEL) około 8 mg/m<sup>3</sup> (2,5 ppm). ACGIH zaleca również biologiczny wskaźnik narażenia (BEI) dla *t,t*-MA w moczu wynoszący 500 µg/g kreatyniny, a dla S-PMA w moczu 25 µg/g kreatyniny (ACGIH 2012). Amerykański Narodowy Instytut Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (NIOSH) zaleca, aby poziom narażenia (REL) dla średniej ważonej w czasie wynosił 0,32 mg/m<sup>3</sup> (0,1 ppm), (NIOSH 2010), a krótkoterminowa wartość graniczna – 3,2 mg/m<sup>3</sup> (1 ppm).

Zalecane TLV-TWA dla benzenu 1,6 mg/m<sup>3</sup> (0,5 ppm) przy wartości TLV-STEL 8 mg/m<sup>3</sup> (2,5 ppm) opiera się na interpretacji ACGIH (2001b) 3 artykułów (tj. Crump 1994; Paxton i in. 1994 i Schnatter i in. 1996). Wszystkie z tych badań były analizami amerykańskiego Narodowego Instytutu Bezpieczeństwa i Higieny Pracy Pliofilm Cohort. Analizy te uwzględniały 3 macierze narażenia (Crump, Allen 1984; Paustenbach i in. 1992; Rinsky i in. 1987) oraz 3 modele statystyczne

(analiza życiowa, regresja proporcjonalnych zagrożeń i metoda maksymalnego prawdopodobieństwa), (tab. 15). Oprócz zgonów z powodu wszystkich białaczek, 2 z tych analiz (Crumpp 1994 oraz Schnatter i in. 1996) uwzględniały także podzbiór ostrej białaczki szpikowej (AML).

Unia Europejska i większość państw europejskich ma wartość dopuszczalną OEL na poziomie  $3,2 \text{ mg/m}^3$  (1 ppm), podobnie jak proponował SCOEL (1991), ale kilka krajów zdecydowało się na niższe wartości. Biologiczne limity narażenia ustalone przez SCOEL (2014) to  $28 \text{ }\mu\text{g}$  benzenu na litr krwi i  $46 \text{ }\mu\text{g}$  S-PMA na gram kreatyniny. Wartość OEL ustalona przez Europejską Agencję Chemikaliów (ECHA) w 2004 r. wynosiła  $3,25 \text{ mg/m}^3$  (1 ppm), (załącznik III do dyrektywy 2004/37/WE).

W Niemczech Komitet ds. Substancji Niebezpiecznych zaproponował 2 poziomy dopuszczalnego ryzyka: 4: 1000 i akceptowalne ryzyko 4: 10 000 (zmieniające się na 4: 100 000), stosowane przez cały okres pracy (40 lat) przy ciągłym narażeniu każdego dnia roboczego. W przypadku benzenu dopuszczalne i akceptowalne ryzyko odpowiada 8-godzinnym stężeniom wynoszącym odpowiednio  $1,9$  i  $0,2 \text{ mg/m}^3$  ( $0,02 \text{ mg/m}^3$  od 2018 r.), (BAuA 2013).

W Dzienniku Urzędowym UE z 16.03.2022 L/88 ukazała się dyrektywa PE i Rady (UE) 2022/431 z 9.03.2022, zmieniająca dyrektywę 2004/37/WE, zawierająca wartość wiążącą dla benzenu na poziomie  $0,66 \text{ mg/m}^3$  (0,2 ppm). W dyrektywie wskazano notacje i środki przejściowe (tab. 31).

### Podstawy ustalania wartości DSB w świetle

Ocena narażenia na benzen w warunkach narażenia zawodowego opiera się głównie na pomiarze stężenia metabolitów benzenu w moczu. Propozycje pomiarów metabolitów benzenu w moczu oparte są na wieloletniej ocenie zależności ich poziomu od stężeń benzenu w powietrzu (tab. 29 i 32). Pomiar stężeń metabolitów w moczu, a także benzenu we krwi powinny być wykonane po zakończeniu zmiany roboczej lub narażenia na benzen. Oznaczanie kwasu *trans,trans*-mukonowego (*t,t*-MA) w moczu nie jest już zalecane do biomonitoringu benzenu, ponieważ nie jest on wystarczająco czuły przy niskich poziomach narażenia (ECHA 2018a; 2018b).

Van Sittert i in. (1993) po analizie danych z 12 oddzielnych badań jako biomarker zaproponowali kwas S-fenylmerkapturowy (S-PMA). Stwierdzili, że 8-godzinne narażenie na benzen o stężeniu  $3,2 \text{ mg/m}^3$  (1 ppm) odpowiadało średnio  $46 \text{ }\mu\text{g}$  S-PMA/g kreatyniny ( $41 \div 50 \text{ }\mu\text{g}$  S-PMA/g kreatyniny). Podobne obserwacje opublikowali również Ghittori i in. (1995). Na podstawie tych badań stwierdzono, że po narażeniu na benzen o stężeniu równym TLV-TWA  $1,6 \text{ mg/m}^3$  (0,5 ppm) z moczem wydalana się około  $25 \text{ }\mu\text{g}$  S-PMA /g kreatyniny.

ACGIH (2001a) zalecała stosowanie pomiaru stężeń kwasów S-fenylmerkapturowego i *trans,trans*-mukonowego w moczu jako markerów narażenia na benzen (tab. 33). Oba związki powinny być oznaczane po zakończeniu zmiany roboczej. Testy są specyficzne, jednak dym tytoniowy może podwyższać poziom obu kwasów.

Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG 2019) skorelował poziomy benzenu i jego metabolitów w moczu ze stężeniem w powietrzu w miejscu pracy (korelacje EKA). Poziom  $3 \text{ }\mu\text{g/g}$  kreatyniny S-PMA w moczu stwierdzano u osób narażonych (niepalących) na stężenie benzenu w powietrzu wynoszące ok.  $0,2 \text{ mg/m}^3$  (0,06 ppm). W związku z tym poziom  $5 \text{ }\mu\text{g/g}$  kreatyniny S-PMA w moczu odpowiada stężeniu w powietrzu ok.  $0,5 \text{ mg/m}^3$  (0,15 ppm), (DFG 2019). DFG zalecił również Biological Reference Value (BAR)  $0,3 \text{ }\mu\text{g/g}$  kreatyniny S-PMA w moczu w przeliczeniu na benzen. BAR reprezentuje górne stężenie referencyjne biomarkera w ogólnej dorosłej populacji bez narażenia zawodowego na czynnik. BAR opiera się na 95. percentylu bez uwzględniania wpływu na zdrowie. Należy wziąć pod uwagę, że na poziom odniesienia narażenia tła mogą mieć wpływ takie czynniki, jak wiek, płeć, status społeczny, środowisko zamieszkania, styl życia i region geograficzny. W przypadku czynników rakotwórczych i substancji, dla których nie można wyznaczyć wartości maksymalnego stężenia w miejscu pracy (MAK), nie podaje się wartości tolerancji biologicznej (BAT), ponieważ obecnie nie jest możliwe określenie bezpiecznych poziomów. Na podstawie badań Manini i in. (2008), Carrieri i in. (2010), Angelini i in. (2011) oraz Mansi i in. (2012) zaproponowano następującą zależność:

$$\text{S-PMA} [\mu\text{g/g kreatyniny}] = 13,215 \cdot \text{stężenie benzenu w powietrzu} [\text{mg/m}^3] + 0,3225$$



**Tabela 30.** Wartości dopuszczalnych stężeń benzenu obowiązujące w różnych państwach (ECHA 2018a; IARC 2018)**Table 30.** Benzene concentration limits in different countries (ECHA 2018a; IARC 2018)

Państwo/instytucja/ organizacja	Wartość NDS		Wartość NDSCh, ppm	Uwagi
	ppm	mg/m <sup>3</sup>		
Unia Europejska (dyrektywa 2004/37/ WE)	1	3,25	–	
Projekt dyrektywy zmieniającej dyrektywę 2004/37/WE	0,2	0,66	–	skóra; wartość dopuszczalna ma zastosowanie po 4 latach od wejścia w życie niniejszej dyrektywy; w okresie po upływie 2 lat i przed upływem 4 lat od wejścia w życie niniejszej dyrektywy zastosowanie ma wartość dopuszczalna 0,5 ppm (1,65 mg/m <sup>3</sup> )
Propozycja Komitetu ds. Oceny Ryzyka (RAC) ECHA (2018)	0,05	0,16	–	Skin BLV: 0,7 µg benzenu/l moczu 2 µg kwasu 5-fenylomerkaptoowego (5-PMA) /g kreatyniny (próbka moczu pobrana pod koniec narażenia lub pod koniec zmiany roboczej) BGV: 0,3 µg benzenu/l moczu 0,5 µg kwasu 5-fenylomerkaptoowego (5-PMA) /g kreatyniny
Austria	1	3,2	4	
Belgia	1	3,25	–	
Czechy		3	–	
Dania	0,5	1,6	1,0	
Estonia	0,5	1,5	3	
Finlandia	1	3,25	–	
Francja	1	3,25	–	
Hiszpania	1	3,25	–	
Holandia	0,2	0,7	–	skin
Irlandia	1	3	–	skin
Izrael	0,5	1,6	2,5	
Litwa	1	3,25	–	
Łotwa	1	3,25	–	
Niemcy (TRGS 910)	0,6 <sup>1</sup> 0,06 <sup>2</sup>	1,9 <sup>1</sup> 0,2 <sup>2</sup>	4,8 –	H (skóra)
Polska (od 2002 r.)		1,6	–	skóra; Carc. 1A; Muta. 1B
Rumunia	1	3,25	–	
Słowacja	1	3,25	–	
Słowenia	1	3,25	4	
Szwajcaria	0,5	1,6	–	
Szwecja	0,5	1,5	3	skin
Węgry	0,5	1,6	–	
Włochy	1	3,25	–	
Wielka Brytania	1	3,25	–	skin
Turcja	1	3,25	–	
Nowa Zelandia			2,5	skin
Kanada: Ontario	0,5		2,5	
Quebec	1	3	5	
USA - ACGIH	0,5	1,6	2,5	
- OSHA	1	3,2	5	
- NIOSH	0,1	0,3	1	

Objaśnienia:

<sup>1</sup> narażenie w miejscu pracy odpowiadające proponowanemu tolerowanemu ryzyku raka 4: 1000.<sup>2</sup> narażenia w miejscu pracy odpowiadające proponowanemu wstępnemu akceptowalnemu ryzyku raka 4: 10 000.

**Tabela 31.** Dyrektywy UE zawierające wartości wiążące dla benzenu

**Table 31.** EU directives with binding values for benzene

Dokument UE	Wartości dopuszczalne		Notacje, środki przejściowe
	8-godzinne	krótkotrwałe	
Dyrektywa PE i Rady 2004/37/WE (5.04.2022)	1 ppm	3,25 mg/m <sup>3</sup>	skóra
Dyrektywa PE i Rady (UE) 2022/431 z 9.03.2022 zmieniająca dyrektywę 2004/37/WE	0,2 ppm	0,66 mg/m <sup>3</sup>	skóra wartość dopuszczalna 1 ppm (3,25 mg/m <sup>3</sup> ) do dnia 5 kwietnia 2024 r. wartość dopuszczalna 0,5 ppm (1,65 mg/m <sup>3</sup> ) od dnia 5 kwietnia 2024 r. do dnia 5 kwietnia 2026 r. wartość dopuszczalna 0,2 ppm (0,66 mg/m <sup>3</sup> ) po 5 kwietnia 2026 r.

**Tabela 32.** Zależność stężenia benzenu w powietrzu od stężeń kwasów *S*-fenylomerkapturowego (*S*-PMA) i *trans,trans*-mukonowego (*t,t*-MA) w moczu oraz benzenu we krwi (DFG 1999)

**Table 32.** Relationship of benzene concentration in air to concentrations of *S*-phenylmercapturic acid (*S*-PMA) and *trans,trans*-muconic acid (*t,t*-MA) in urine and benzene in blood (DFG 1999)

Stężenie benzenu w powietrzu, mg/m <sup>3</sup> (ppm)	Stężenie benzenu we krwi pełnej, µg/l	Kwas <i>S</i> -fenylomerkapturowy ( <i>S</i> -PMA) w moczu, mg/g kreatyniny	Kwas <i>trans,trans</i> -mukonowy ( <i>t,t</i> -MA) w moczu, mg/l
0,96 (0,3)	0,9	0,01	-
1,92 (0,6)	2,4	0,03	1,6
2,88 (0,9)	4,4	0,04	-
3,20 (1,0)	5	0,05	2
6,40 (2,0)	14	0,09	3
12,8 (4,0)	38	0,18	5
19,2 (6,0)	-	0,27	7

**Tabela 33.** Przykłady przyjętych wartości dopuszczalnych stężeń w materiale biologicznym dla benzenu (BEI 2020; *Lebrecht* i in. 2003; SCOEL 2014)

**Table 33.** Examples of accepted concentration limits in biological material for benzene (BEI 2020; *Lebrecht* et al. 2003; SCOEL 2014)

Kraj/organ doradczy	Wartość w materiale biologicznym
WorkSafe Nowa Zelandia	25 µg <i>S</i> -PMA/g kreatyniny w moczu
ACGIH (2001a)	25 µg <i>S</i> -PMA/g kreatyniny w moczu 500 µg <i>t,t</i> -MA/g kreatyniny w moczu
DFG (2019)	EKA: 3 µg <i>S</i> -PMA/g kreatyniny (odpowiada stężeniu w powietrzu 0,06 ppm, czyli 0,2 mg/m <sup>3</sup> ) BAR (górne stężenie referencyjne biomarkera w ogólnej dorosłej populacji bez narażenia zawodowego na czynnik): 0,3 µg <i>S</i> -PMA/g kreatyniny w moczu 150 µg <i>t,t</i> -MA/g kreatyniny w moczu 0,3 µg benzenu/l w moczu
ECHA (2018a; 2018b)	2 µg <i>S</i> -PMA/g kreatyniny w moczu 0,7 µg benzenu/l w moczu
SCOEL (2014)	28 µg benzenu/l krwi (natychmiast po zakończeniu zmiany roboczej) 46 µg <i>S</i> -PMA/g kreatyniny (po zakończeniu narażenia/zmiany roboczej)
Polska ( <i>Lebrecht</i> i in. 2003)	25 µg kwasu <i>S</i> -PMA/g kreatyniny 500 µg kwasu <i>t,t</i> -MA/g kreatyniny

Objaśnienia:

*S*-PMA – kwas *S*-fenylomerkapturowy.

*t,t*-MA – kwas *trans,trans*-mukonowy.

Na podstawie analizy dostępnych danych ACGIH, DFG, ECHA oraz WorkSafe (BEI 2020) uważają, że obecny wskaźnik BEI wynoszący 25  $\mu\text{g/g}$  kreatyniny S-PMA w moczu jest niewystarczający (zbyt wysoki) dla zabezpieczenia pracowników przed zagrożeniami wynikającymi z narażenia na benzen w miejscu pracy.

Jako biomarker S-PMA jest lepszy niż benzen w moczu, ponieważ przy niskich stężeniach nie ma problemów z zanieczyszczeniem lub utratą materiału ze względu na lotność i jest bardziej czułym parametrem niż benzen w moczu (ECHA 2018b). W przypadku niskiego narażenia na benzen ( $<3,2 \text{ mg/m}^3$ ;  $<1 \text{ ppm}$ ) benzen i kwas S-fenylomerkaptoowy w moczu wydają się najbardziej wiarygodnymi biomarkerami (ECHA 2018b).

### Podstawy proponowanych wartości NDS i NDSch

W państwach Unii Europejskiej benzen ma ustaloną klasyfikację zharmonizowaną jako substancja rakotwórcza kategorii zagrożenia 1A (substancje o udowodnionym działaniu rakotwórczym dla człowieka) z przypisanym zwrotem wskazującym rodzaj zagrożenia H350: „Może powodować raka” i jako związek mutageny kategorii zagrożenia 1B z przypisanym zwrotem H340: „Może powodować wady genetyczne”. Benzen nie może być wprowadzany do obrotu z wyjątkiem paliwa ani stosowany jako substancja lub składnik mieszanin w stężeniu większym niż 0,1% masy (Rozporządzenie REACH 2008). Stany Zjednoczone wycofały benzen z produktów konsumenckich w 1978 r. (IARC 1982).

W warunkach zawodowego, przewlekłego narażenia na benzen dochodzi do uszkodzenia układu krwiotwórczego, co może prowadzić do obniżenia liczby jednego lub wielu typów komórek we krwi obwodowej. Prowadzi to najczęściej do niedokrwistości aplastycznej, leukopenii oraz trombocytopenii. Zmianom tym towarzyszy na ogół immunosupresja. Znaczne obniżenie liczby upostaciowanych elementów krwi (pancytopenia) często poprzedza wystąpienie białaczki, zwłaszcza ostrej białaczki szpikowej (zarówno u ludzi, jak i zwierząt).

DECOS (2014) uważa, że zmiany notowane we krwi obwodowej po zawodowym narażeniu na benzen stanowią wczesny sygnał rozwoju ostrej białaczki szpikowej i zespołu mielodysplastycznego.

Obecnie autorzy szeregu badań zwracają uwagę na możliwość wystąpienia zmian hematologicznych we krwi obwodowej po narażeniu na benzen o stężeniach równych lub niższych od  $3,2 \text{ mg/m}^3$  (1 ppm). Takie obserwacje opisali m.in. Qu i in. (2002), Lan i in. (2004), Schnatter i in. (2010), Ye i in. (2015), Koh i in. (2015).

Na podstawie badań przeprowadzonych przez Lan i in. (2004) wyznaczono dla skutków hematotoksycznych działania benzenu wartość LOAEL (DECOS 2014). W grupie o najniższym narażeniu średnie stężenie benzenu wynosiło  $2 \text{ mg/m}^3$  (0,6 ppm) i tę wartość przyjęto za LOAEL. Komitet zastosował domyślny współczynnik niepewności równy 3 ze względu na zastosowanie LOAEL zamiast NOAEL. Ze względu na wykorzystanie danych zbiorczych opartych na wielu badaniach czynników niepewności (np. w przypadku różnic międzyosobniczych lub wielkości badanej populacji) i ustalił wartość OEL dla benzenu ze względu na skutek zdrowotny na poziomie  $0,7 \text{ mg/m}^3$  (0,2 ppm), (DECOS 2014).

Qu i in. (2002) ocenili narażenie na benzen 130 pracowników 3 chińskich fabryk (fabryki: kleju, gumy i obuwia). Po analizie otrzymanych wyników stężenie benzenu  $1,6 \text{ mg/m}^3$  (0,5 ppm) przyjęto jako wartość LOAEL zarówno dla skutków hematotoksycznych, jak i występowania aberracji chromosomalnych (DECOS 2014).

Biorąc pod uwagę informacje dotyczące ujawniania się działania hemato- i genotoksycznego benzenu po narażeniu na stężenia równe i niższe niż  $3,2 \text{ mg/m}^3$  (1 ppm), Komisja Europejska przygotowała projekt dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady zmieniającej dyrektywę 2004/37/WE w sprawie ochrony pracowników przed zagrożeniem dotyczącym narażenia na działanie czynników rakotwórczych lub mutagenów podczas pracy (Wniosek COM (2020) 571 final 2020/0262 z dnia 22.09.2020 r.). Projekt ma na celu ochronę pracowników przed zagrożeniem ich zdrowia i bezpieczeństwa wynikającym z narażenia na działanie czynników rakotwórczych (w tym benzenu) lub mutagenów w miejscu pracy. Wartości normatywów (OEL/NDS) w każdym przypadku wystąpienia takiej możliwości powinny być zmieniane zgodnie z najnowszymi danymi naukowymi. Zmiana dyrektywy przez zmianę normatywu (OEL/NDS) dla benzenu powinna prowadzić

do lepszego zarządzania ryzykiem chemicznym w przyszłości oraz do poprawy ochrony zdrowia i bezpieczeństwa pracowników. Obniżenie istniejących wartości NDS dla benzenu doprowadzi również do zmniejszenia emisji tego związku.

Państwa członkowskie mogą ustanawiać bardziej rygorystyczne przepisy. Przykładem może być informacja zamieszczona poniżej.

Próg uszkodzenia chromosomów (aneugeność i klastogenność) u pracowników oparty na sposobie działania benzenu może być, zdaniem Komitetu RAC (Committee for Risk Assessment), (ECHA 2018b), wykorzystany do ustalenia wartości OEL dla rakotwórczego działania benzenu. Biorąc pod uwagę opartą na wadze dowodu szacunkową wartość LOAEC u ludzi wynoszącą 1 ppm dla uszkodzenia chromosomów w limfocytach pracowników oraz uznając, że wartość LOAEC dla zwierząt wynosi 1 ppm dla zwiększonej częstości występowania mikrojąder w retikulocytach szpiku kostnego myszy i w polichromatycznych erytrocytach szpiku kostnego szczura (Erexson i in. 1985; French i in. 2015), a także stosując współczynniki niepewności (AF) zgodnie z wytycznymi ECHA, Komitet RAC zaproponował wartość OEL dla benzenu na poziomie  $0,16 \text{ mg/m}^3$  (0,05 ppm). Przyjęcie takiego stężenia pozwoli uniknąć narażenia, które indukuje uszkodzenie chromosomów u pracowników. Uważa się, że stężenie to nie wiąże się ze znaczącym resztkowym ryzykiem raka, a jego przestrzeganie pozwoli uniknąć także innych niekorzystnych skutków (ECHA 2018b).

W dyrektywie 2022/431 na podstawie dostępnych informacji, nowych danych naukowych oraz opinii Komitetu ds. Oceny Ryzyka (RAC) Europejskiej Agencji Chemikaliów (ECHA 2018b) oraz Komitetu Doradczego ds. Bezpieczeństwa i Ochrony Zdrowia w Miejscu Pracy (ACSH) zaproponowano przyjęcie dla 8-godzinnego okresu pracy (jako średnią ważoną w funkcji czasu, TWA) dopuszczalną wartość wiążącą na poziomie  $0,66 \text{ mg/m}^3$  (0,2 ppm), z adnotacją „skóra”. Wartość dopuszczalna będzie miała zastosowanie po 4 latach od wejścia w życie tej dyrektywy. W okresie po upływie 2 lat od wejścia w życie dyrektywy zastosowanie ma wartość dopuszczalna  $1,65 \text{ mg/m}^3$  (0,5 ppm), (Dyrektywa... 2022). Na podstawie opinii Komitetu ds. Oceny Ryzyka (ACSH) zgodzono się, że w przypadku oceny narażenia na benzen należy uwzględnić biomonitorowanie.

Benzen jest czynnikiem rakotwórczym, dlatego celowe jest oszacowanie ryzyka wystąpienia białaczki w grupie osób zawodowo narażonych na benzen o stężeniu zaproponowanym jako wartość wiążąca. Podstawą takiego szacowania jest ryzyko jednostkowe (UR). Ryzyko jednostkowe białaczki oszacowane na podstawie wielu obserwacji dotyczących okresu całego życia w narażeniu drogą oddechową na benzen o stężeniu  $1 \text{ } \mu\text{g/m}^3$  wynosi  $2,2 \cdot 10^{-6} \div 7,8 \cdot 10^{-6}$  (US EPA 1998; 2000). Ryzyko jednostkowe białaczki związane z pracą zawodową trwającą 40 lat określono w zakresie  $4,13 \cdot 10^{-7} \div 1,47 \cdot 10^{-6}$  (Lebrecht i in. 2001; 2003).

Ryzyko wystąpienia białaczki (R) po narażeniu na benzen o stężeniu zaproponowanym w projekcie dyrektywy, tj.  $0,66 \text{ mg/m}^3$ , można obliczyć korzystając ze wzoru:

$$R = UR \cdot C \text{ (stężenie benzenu w } \mu\text{g/m}^3\text{)}$$

$$R = 4,13 \cdot 10^{-7} \cdot 660 \text{ } \mu\text{g/m}^3 = \\ = 2725,8 \cdot 10^{-7} = 2,7 \cdot 10^{-4}$$

$$R = 1,47 \cdot 10^{-6} \cdot 660 \text{ } \mu\text{g/m}^3 = \\ = 970,2 \cdot 10^{-6} = 0,97 \cdot 10^{-3}$$

Ryzyko wystąpienia białaczki u pracowników zawodowo narażonych na benzen o stężeniu  $0,66 \text{ mg/m}^3$  mieści się w zakresie  $2,7 \cdot 10^{-4} \div 1 \cdot 10^{-3}$ . Ryzyko to pozostaje w zakresie dopuszczalnym dla narażenia zawodowego przyjętym przez Międzyresortową Komisję ds. NDS i NDN.

Na podstawie przedstawionej dokumentacji wydaje się uzasadnione przyjąć jako NDS dla benzenu wartość zaproponowaną w dyrektywie 2022/431 z dnia 9 marca 2022 zmieniającej dyrektywę 2004/37/WE, tj.  $0,66 \text{ mg/m}^3$  (0,2 ppm), i nie wyznaczać wartości chwilowej NDSCh. Benzen w wysokich stężeniach  $975 \div 9750 \text{ mg/m}^3$  (300 ÷ 3000 ppm) wywołuje skutki w ośrodkowym układzie nerwowym. Biorąc pod uwagę OEL na poziomie  $0,66 \text{ mg/m}^3$ , aby zapobiec skutkom hematologicznym związanym z benzenem, nie oczekuje się, że stężenie 300 ppm zostanie osiągnięte w miejscu pracy. Proponuje się także zamieścić notacje: „Carc. 1A” (substancja rakotwórcza kategorii zagrożenia 1A); „skóra” (wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową); „Muta. 1B” (działanie mutagenne na komórki rozrodcze kategorii zagrożenia 1B).

## Podstawy proponowanych wartości DSB

Do oceny zawodowego narażenia na benzen opartego na pomiarze biomarkerów najczęściej stosowano pomiar w moczu stężeń niezmienionego benzenu i/lub jego metabolitów: kwasu S-fenylmerkapturowego (S-PMA) i kwasu *t,t*-mukonowego (tab. 29, 32, 33). Istnieje wysoka korelacja pomiędzy stężeniami benzenu w powietrzu i w moczu, a także pomiędzy stężeniami benzenu w powietrzu i stężeniami S-PMA w moczu (DFG 1999).

Jako biomarkery zawodowego narażenia na benzen proponujemy przyjąć stężenie benzenu i stężenie kwasu S-fenylmerkapturowego (S-PMA) w moczu. Próby moczu do analizy powinny być pobierane natychmiast po zakończeniu zmiany roboczej/narażenia.

Zależność pomiędzy stężeniem benzenu w powietrzu i w moczu opisuje równanie:

$$\text{benzen w moczu [ng/l]} = 3619,17 \cdot \text{stężenie benzenu w powietrzu [mg/m}^3\text{]} + 122,22$$

(wartość współczynnika determinacji Pearsona  $R = 0,914$ ;  $p = 0,086$ )

$$\begin{aligned} \text{benzen w moczu [ng/l]} &= 3619,17 \cdot 0,66 \text{ [mg/m}^3\text{]} + \\ &+ 122,22 = 2389,0 + 122,22 = 2511,222 \text{ ng/l} = \\ &= 2,512 \text{ } \mu\text{g/l} \end{aligned}$$

Korelację pomiędzy stężeniem benzenu w powietrzu i S-PMA w moczu opisuje równanie:

$$\text{S-PMA [}\mu\text{g/g kreatyniny]} = 13,215 \cdot \text{stężenie benzenu w powietrzu [mg/m}^3\text{]} + 0,3225$$

(wartość współczynnika determinacji Pearsona  $R = 0,662$ ;  $p = 0,052$ )

$$\begin{aligned} \text{S-PMA [}\mu\text{g/g kreatyniny]} &= \\ &= 13,215 \cdot 0,66 \text{ [mg/m}^3\text{]} + 0,3225 = \\ &= 8,7219 + 0,3225 = 9,0444 \text{ } \mu\text{g/g kreatyniny} \end{aligned}$$

Jako wartości dopuszczalnych stężeń biologicznych benzenu i S-PMA w moczu proponujemy odpowiednio 2,5  $\mu\text{g}$  benzenu/l moczu oraz 9,0  $\mu\text{g}$  S-PMA/g kreatyniny.

## Analiza skutków socjoekonomicznych

Komisja Europejska (Wniosek COM (2020) 571 final 2020/0262 z dnia 22.09.2020 r., Bruksela) przeprowadziła w odniesieniu do benzenu analizę skutków gospodarczych, społecznych

i środowiskowych poszczególnych wariantów strategicznych. Aby uwzględnić odpowiednio okres remisji objawów choroby nowotworowej, obliczono koszty i korzyści w okresie 60 lat zgodnie z przyszłym obciążeniem związanym z chorobą nowotworową oszacowanym dla tego samego okresu. Wszelkie etapy analizy przeprowadzono zgodnie z Wytocznymi w sprawie lepszego stanowienia prawa. Jeżeli chodzi o wpływ na pracowników, ustalenie wartości wiążącej dla benzenu na poziomie 0,66  $\text{mg/m}^3$  powinno przynieść korzyści pod względem uniknięcia przypadków zachorowań na nowotwory związane z miejscem pracy oraz innych poważnych chorób, przy jednoczesnym ograniczeniu takich skutków, jak cierpienie pracowników i opiekujących się nimi rodzin, niższa jakość życia czy gorsze samopoczucie.

Przyjęcie dla benzenu wartości wiążącej na poziomie 0,66  $\text{mg/m}^3$  pozwoliłoby zapobiec 182 przypadkom białaczki oraz 189 przypadkom leukopenii, a korzyści dla zdrowia w ujęciu finansowym wyniosłyby 121 ÷ 198 mln euro. W odniesieniu do wpływu na pracodawców przyjęcie tej wartości dla benzenu mogłoby wygenerować wyższe koszty dla przedsiębiorstw, które będą musiały wprowadzić dodatkowe środki ochronne i zapobiegawcze. Inwestycje te będą jednak stanowić niewielki ułamek obrotu przedsiębiorstw. Ponadto inwestycje w środki ochronne pomogą przedsiębiorstwom uniknąć kosztów związanych z brakiem personelu i zmniejszoną produktywnością, które mogłyby w przeciwnym razie być spowodowane przypadkami zachorowań. Ponadto przewiduje się środki przejściowe, tak aby przedsiębiorstwa miały więcej czasu na dokonanie niezbędnych inwestycji przy równoczesnej stopniowej poprawie ochrony pracowników. W odniesieniu do benzenu wartość OEL będzie miała zastosowanie po 4-letnim okresie przejściowym rozpoczynającym się wraz z wejściem w życie dyrektywy. Ponadto w okresie po upływie 2 lat i przed upływem 4 lat od wejścia w życie dyrektywy zastosowanie będzie miała wartość przejściowa OEL dla benzenu wynosząca 1,65  $\text{mg/m}^3$ . Te środki przejściowe uznaje się za niezbędne i wystarczające, aby umożliwić przedsiębiorstwom dokonanie niezbędnych inwestycji. W istocie, chociaż przewiduje się, że roczny koszt na przedsiębiorstwo będzie zrównoważony, wielkość inwestycji w środki zarządzania ryzykiem zostanie przeprowadzona na początku okresu 60 lat od wejścia w życie dyrektywy, który uwzględniono w obliczeniach.

Nie wprowadza się żadnych obowiązków informacyjnych, a zatem nie doprowadzi to do zwiększenia obciążeń administracyjnych nałożonych na przedsiębiorstwa. W stosunku do oddziaływania na środowisko zmniejszenie wartości OEL dla benzenu na szczeblu UE z  $3,25 \text{ mg/m}^3$  docelowo do  $0,66 \text{ mg/m}^3$  doprowadzi do zmniejszenia emisji środowiskowej. Państwa członkowskie mogą ponieść dodatkowe koszty administracyjne w związku z koniecznością dostarczenia informacji i szkolenia personelu, a także przeglądu weryfikacji zgodności. Koszty te są jednak nieznaczne w porównaniu z ogólnymi kosztami funkcjonowania, jakie ponoszą krajowe organy egzekwowania. Ponadto zmniejszenie wartości OEL dla benzenu powinno również przyczynić się do złagodzenia strat finansowych systemów zabezpieczenia społecznego i opieki zdrowotnej w państwach członkowskich dzięki zapobieganiu pogarszania się stanu zdrowia pracowników. Oczekuje się nawet, że korzyści dla organów publicznych będą wyższe niż koszty. Niniejsza inicjatywa będzie miała pozytywny wpływ na konkurencję na rynku wewnętrznym dzięki zmniejszeniu różnic w konkurencyjności między przedsiębiorstwami działającymi w państwach członkowskich, w których obowiązują różne krajowe wartości OEL dla benzenu, oraz zapewnieniu większej pewności w odniesieniu do możliwych do wyegzekwowania dopuszczalnych wartości narażenia w całej UE. Zgodnie z dyrektywą małe lub średnie przedsiębiorstwa (MŚP) nie są zwolnione z obowiązku wyeliminowania lub zredukowania do minimum zagrożenia związanego z narażeniem zawodowym na działanie czynników rakotwórczych lub mutagenów. Ustalenie wartości dopuszczalnych przewidziane dla benzenu nie powinno mieć wpływu na MŚP zlokalizowane w tych państwach członkowskich, w których krajowe wartości dopuszczalne są równe zaproponowanym wartościom lub od nich niższe. Wystąpią jednak skutki gospodarcze w tych państwach członkowskich (oraz w odniesieniu do podmiotów gospodarczych mających siedzibę na ich terytorium), w których dopuszczalne wartości narażenia zawodowego dla czynników rakotwórczych będących przedmiotem wniosku są obecnie wyższe.

Koszty środków kontroli i inne pozycje kosztów potrzebne do osiągnięcia różnych wartości OEL dla benzenu zostały za pomocą kwestionariuszy oszacowane przez Triskelion (Triskelion

Report Summary 2019). Dodatkowe zbieranie danych do kontroli, środki i pozycje kosztów dla wartości OEL  $0,05 \text{ ppm}$  ( $0,015 \text{ mg/m}^3$ ) przeprowadzono podczas warsztatów z ekspertami bardziej szczegółowo badającymi, jaki sprzęt i środki byłyby wymagane i jaki byłby koszt operacyjny wdrożenia takiej wartości OEL dla benzenu.

Przeanalizowano następujące sektory produkujące i stosujące benzen:

1) produkcja – produkcja benzenu i produktów zawierających benzen (w rafineriach i krakingu parowym; obejmuje również instalacje aromatyczne, w których z tych produktów pozyskiwany jest benzen, instalacje te znajdują się zwykle w rafinerii lub zakładzie wyposażonym w kraking parowy);

2) zastosowanie pośrednie – zastosowanie benzenu lub produktów zawierających benzen jako półprodukt (np. do produkcji styrenu lub cykloheksanu);

3) dystrybucja – dystrybucja benzenu i/lub produktów zawierających benzen (np. nafty lub benzyny);

4) profesjonalne wykorzystanie paliwa – wykorzystanie produktów zawierających benzen jako paliwo silnikowe (profesjonalne).

Oszacowanie kosztów zostało przeprowadzone na podstawie raportowanych kosztów inwestycji oraz innych kosztów (w ujęciu rocznym) w odniesieniu do 3 różnych potencjalnych limitów narażenia dla benzenu:  $1,6 \text{ mg/m}^3$  ( $0,5 \text{ ppm}$ ),  $0,66 \text{ mg/m}^3$  ( $0,2 \text{ ppm}$ ) oraz  $0,015 \text{ mg/m}^3$  ( $0,05 \text{ ppm}$ ). Badanie objęło zakłady, które produkowały benzen (od 73%), (produkcja), oraz zakłady profesjonalnie wykorzystujące paliwa (do 15%), (tab. 33).

Większość poziomów narażenia inhalacyjnego na benzen w badanych zakładach była poniżej  $0,5 \text{ ppm}$  we wszystkich zakładach w badanych sektorach, jeśli nie uwzględniano stosowania środków ochrony dróg oddechowych. Ograniczone wyniki biomonitoringu również nie wskazywały, że we wszystkich badanych zakładach osiągnięto poziom narażenia poniżej  $0,5 \text{ ppm}$ . Niemniej w całkiem sporej liczbie zakładów narażenie było już poniżej  $0,2 \text{ ppm}$ . Utrzymanie narażenia na benzen poniżej  $0,05 \text{ ppm}$  zdaniem respondentów jest technicznie wątpliwe. Szacowane koszty przestrzegania wartości OEL dla benzenu na poziomie  $1,6 \text{ mg/m}^3$  ( $0,5 \text{ ppm}$ ) są stosunkowo niskie, wyższe dla wartości OEL  $0,66 \text{ mg/m}^3$  ( $0,2 \text{ ppm}$ ) i znacznie wyższe dla OEL –  $0,015 \text{ mg/m}^3$

(0,05 ppm). Dla OEL na poziomie 0,05 ppm szacunkowe całkowite koszty inwestycji w UE wynoszą 900 ÷ 1200 mln euro dla półproduktów, około 1900 mln euro dla dystrybucji i 3700 ÷ 4900 mln euro dla produkcji. Szacowane roczne koszty

operacyjne dla tych sektorów w UE wahają się od 185 mln euro/rok do 450 ÷ 1100 mln euro/rok. Nie było wystarczających informacji na temat profesjonalnego wykorzystania paliwa, aby oszacować wszystkie te koszty.

**Tabela 34.** Szacunkowe łączne koszty dla sektorów w UE w celu osiągnięcia zgodności z OEL 0,5; 0,2 lub 0,05 ppm (miliony euro lub miliony euro rocznie), (Triskelion Report Summary 2019)

**Table 34.** Estimated total costs for sectors in the EU to comply with OELs of 0.5, 0.2 or 0.05 ppm (millions of euros or millions per year), (Triskelion Report Summary 2019)

	CAPEX 1,6 mg/m <sup>3</sup> 0,5 ppm	CAPEX 0,66 mg/m <sup>3</sup> 0,2 ppm	CAPEX 0,015 mg/m <sup>3</sup> 0,05 ppm	OPEX 1,6 mg/m <sup>3</sup> 0,5 ppm	OPEX 0,66 mg/m <sup>3</sup> 0,2 ppm	OPEX 0,015 mg/m <sup>3</sup> 0,05 ppm
Produkcja	17	609	3738 ÷ 4900	1	227	447 ÷ 1101
Pośrednie zastosowanie	184	487	1928	0,6	31	196
Dystrybucja	149	292	943 ÷ 1247	0	143	185

Objaśnienia:

CAPEX – nakłady inwestycyjne; inwestycje (w milionach euro).

OPEX – wydatki operacyjne; roczne koszty operacyjne (w milionach euro/rok).

Pojedyncze liczby są oparte na wynikach ankiet, zakresy są oparte na wynikach ankiet oraz dodatkowych danych zebranych przez ekspertów.

### Wykaz skrótów stosowanych w dokumentacji

♀	samica	CFU-E	komórki tworzące kolonie erytroidalne ( <i>colony-forming unit-erythroid</i> )
♂	samiec	CFU-G	komórki tworzące kolonie granulocytów ( <i>colony forming unit-granulocyte</i> )
ACGIH	Amerykańska Konferencja Państwowych Higienistów Przemysłowych (American Conference of Governmental Industrial Hygienists)	CFU-GEMM	komórki tworzące kolonie granulocytów, erytroidów, makrofagów, megakariocytów ( <i>colony forming unit-granulocyte, erythroid, macrophage, megakaryocyte</i> )
AChE	acetylocholinoesteraza	CFU-GM	komórki tworzące kolonie granulocytowo-makrofagowe ( <i>colony forming unit-granulocyte-macrophage</i> )
ALC	bezwzględna liczba leukocytów, liczba komórek/μl ( <i>absolute lymphocyte count</i> )	CFU-M	komórki tworzące kolonie makrofagów ( <i>colonyforming unit-macrophage</i> )
ALL	ostra białaczka limfatyczna ( <i>acute lymphatic leukaemia</i> )	CFU-S	komórki śledziony tworzące kolonie ( <i>colony-forming unit-spleen</i> )
AML	ostra białaczka szpikowa ( <i>acute myeloid leukaemia</i> )	CLL	przewlekła białaczka limfatyczna ( <i>chronic lymphatic leukaemia</i> )
ANLL	ostra białaczka nielimfatyczna ( <i>acute non-lymphatic leukaemia</i> )	CLP	Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady nr 1272/2008 w sprawie klasyfikacji, oznakowania oraz pakowania substancji i mieszanin... ( <i>Classification, Labelling and Packaging</i> )
AUC	pole powierzchni pod krzywą zmian stężenia związku w czasie ( <i>area under the curve</i> )	CML	przewlekła białaczka szpikowa ( <i>chronic myeloid leukaemia</i> )
BAR	wartość referencyjna (odniesienia)		
BAT	wartość tolerancji biologicznej ( <i>Biological Tolerance Value</i> )		
BEI	dopuszczalne stężenie biologiczne – DSB ( <i>Biological Exposure Index</i> )		
BFU-E	komórki tworzące kolonie erytroidalne ( <i>burst forming unit-erythroid</i> )		

CYP2E1	cytochrom P450 2E1	MCHC	średnie stężenie hemoglobiny w krwinkach czerwonych, g/l ( <i>mean corpuscular hemoglobin concentration</i> )
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft	MCV	średnia objętość krwinki czerwonej ( <i>mean corpuscular volume</i> )
DNA	kwas dezoksyrybonukleinowy	MDS	syndrom mielodysplastyczny ( <i>myelodysplastic syndrome</i> )
EH	hydrolaza epoksydowa ( <i>epoxide hydrolase</i> )	MM	szpiczak mnogi ( <i>multiple myeloma</i> )
EKA	równoważnik narażenia na substancje rakotwórcze ( <i>exposure equivalents for carcinogenic substances</i> )	MN	test mikrojądrowy ( <i>micronucleus test</i> )
EPA	Agencja Ochrony Środowiska (Environmental Protection Agency)	MPO	mieloperoksydaza ( <i>myeloperoxidase</i> )
GM-CFU-C	kolonie granulocytowe/makrofagowe ( <i>granulocyte/macrophage colony forming units-culture</i> )	MPV	średnia objętość płytki ( <i>mean platelet volume</i> )
GSH	glutation zredukowany	<i>n</i>	liczebność w grupie
GSH-Px	peroksydaza glutationowa ( <i>glutathione peroxidase</i> )	NCE	erytrocyt normochromatyczny ( <i>normochromic erythrocytes</i> )
GST	transferaza S-glutationowa ( <i>S-glutathione transferase</i> )	NDS	najwyższe dopuszczalne stężenie
GTP	guanozyno-5-trifosforan (rybonukleotyd purynowy pełniący funkcję przenośnika energii w komórce)	NDSch	najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe
Hb	hemoglobina	NHL	chłoniak nieziarniczny ( <i>non-Hodgkin lymphoma</i> )
HS/PCs	hematopoetyczne komórki macierzyste lub progenitorowe ( <i>hematopoietic stem or progenitor cells</i> )	NIOSH	Narodowy Instytut Bezpieczeństwa Zawodowego i Zdrowia w Stanach Zjednoczonych (National Institute for Occupational Safety and Health)
IARC	Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (International Agency for Research on Cancer)	NOAEL	najwyższy poziom, przy którym nie obserwuje się efektów szkodliwych ( <i>no observed adverse effect level</i> )
IL-1	interleukina 1	NQO1	dehydrogenaza NAD(P)H [chinon] 1 ( <i>NAD(P)H quinone oxidoreductase 1</i> ) – enzym kodowany u ludzi przez gen NQO1, katalizuje dwuelektronową redukcję chinonów i szerokiej gamy innych związków organicznych
IUPAC	Międzynarodowa Unia Chemii Czystej i Stosowanej (International Union of Pure and Applied Chemistry)	OEL	dopuszczalna wartość narażenia zawodowego ( <i>Occupational Exposure Limits</i> )
LC <sub>50</sub>	mediana stężenia śmiertelnego (dla 50% osobników)	OR	iloraz szans ( <i>Odds Ratio</i> )
LD <sub>50</sub>	mediana dawki śmiertelnej (dla 50% osobników)	OSHA	Administracja Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (Occupational Safety and Health Administration)
LOAEL	najniższy poziom, przy którym obserwuje się efekty szkodliwe ( <i>lowest observed adverse effect level</i> )	PCE	erytrocyt polichromatyczny ( <i>polychromatic erythrocytes</i> )
mc.	masa ciała	ppm	części na milion ( <i>part per milion</i> )
M/E	stosunek mieloidalno/erytroidalny ( <i>myeloid/erythroid ratio</i> )	RBC	krwinki czerwone ( <i>red blood cells</i> )
MAK	najwyższe dopuszczalne stężenie w powietrzu strefy roboczej (niem. <i>Maximale Arbeitsplatz-Konzentrationen</i> )		
MCH	średnia masa hemoglobiny w krwince czerwonej, pg ( <i>mean corpuscular</i> )		



REACH	Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1907/2006 regulujące kwestie stosowania chemikaliów poprzez ich rejestrację i ocenę oraz udzielanie zezwoleń i wprowadzanie do obrotu, zmienione przez Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 (CLP), ( <i>Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals</i> )	SMR	standaryzowany wskaźnik umieralności ( <i>Standardised Mortality Ratio</i> )
REL	zalecana wartość narażenia zawodowego ( <i>recommended exposure level</i> )	SOD	dysmutaza ponadtlenkowa ( <i>superoxide dismutase</i> )
RfD	dawka referencyjna ( <i>reference dose</i> )	S-PMA	kwas S-fenylomerkapturowy ( <i>S-phenylmercapturic acid</i> )
ROS	reaktywne formy tlenu-RFT ( <i>reactive oxygen species</i> )	STEL	najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe ( <i>short term exposure limit</i> )
SCE	wymiana chromatyd siostrzanych ( <i>sister chromatyd exchange</i> )	$t_{1/2}$	biologiczny okres półtrwania
SCOEL	Komitet Naukowy ds. Dopuszczalnych Norm Zawodowego Narażenia (Scientific Committee for Occupational Exposure Limits)	<i>t,t</i> -MA	kwas <i>trans,trans</i> -mukonowy ( <i>trans, trans-muconic acid</i> )
SIR	standaryzowany wskaźnik zapadalności ( <i>Standardised Incidence Ratio</i> )	<i>t,t</i> -MUC	aldehyd <i>trans,trans</i> -mukonowy ( <i>trans, trans-muconaldehyde</i> )
		TLV-STEL	najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe ( <i>threshold limit value-short-term exposure limit</i> )
		TLV-TWA	najwyższe dopuszczalne stężenie wazone czasem ( <i>threshold limit value-time-weighted average</i> )
		UR	ryzyko jednostkowe ( <i>unit risk</i> )
		WBC	krwinki białe ( <i>white blood cells</i> )
		WHO	Światowa Organizacja Zdrowia (World Health Organization)

## PIŚMIENNICTWO

- ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (1999). Guide to occupational exposure values.
- ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2001a). Benzene. Recommended BEL.
- ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2001b). Guide to occupational exposure values: benzene.
- ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2012). Guide to occupational exposure values.
- Aksoy M. (1980). Different types of malignancies due to occupational exposure to benzene: a review of recent observations in Turkey. *Environ. Res.* 23, 181–190.
- Aksoy M. (1985a). Benzene as a leukemogenic and carcinogenic agent. *Am. J. Ind. Med.* 8, 9–20.
- Aksoy M. (1985b). Malignancies due to occupational exposure to benzene. *Am. J. Ind. Med.* 7, 395–402.
- Aksoy M., Erdem S., Dinçol G. (1974). Leukemia in shoe-workers exposed chronically to benzene. *Blood* 44, 837–841.
- Aksoy M., Erdem S., Dinçol G. (1976). Types of leukemia in chronic benzene poisoning: a study in thirty-four patients. *Acta Haematol.* 55, 65–72.
- Amin R.P., Witz G. (2001). DNA-protein crosslink and DNA strand break formation in HL-60 cells treated with *trans, trans*-muconaldehyde, hydroquinone and their mixtures. *Int. J. Toxicol.* 20(2), 69–80.
- Anderson D., Richardson C.R. (1981). Issues relevant to the assessment of chemically induced chromosome damage in vivo and their relationship to chemical mutagenesis. *Mutat. Res.* 90(3), 261–272.
- Andrews L.S., Lee E.W., Witmer C.M. i in. (1977). Effects of toluene on the metabolism, disposition and hematopoietic toxicity of [3H]benzene. *Biochem. Pharmacol.* 26(4), 293–300.
- Angelini S., Kumar R., Bermejo J.L. i in. (2011). Exposure to low environmental levels of benzene: evaluation of micronucleus frequencies and S-phenylmercapturic acid excretion in relation to polymorphisms in genes encoding metabolic enzymes. *Mutat. Res.* 719(1–2), 7–13 [cyt. za: BEI 2020].
- Arfellini G., Grilli S., Colacci A. i in. (1985). In vivo and in vitro binding of benzene to nucleic acids and proteins of various rat and mouse organs. *Cancer Lett.* 28(2), 159–168.
- Armstrong M.J., Galloway S.M. (1993). Micronuclei induced in peripheral blood of E  $\mu$ -PIM-1 transgenic mice by chronic oral treatment with 2-acetylaminofluorene or benzene but not

- with diethyl-nitrosamine or 1,2-dichloroethane. *Mutat. Res.* 302(1), 61–70.
- ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2007). Toxicological profile for benzene. U.S. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA 2007.
- ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2015). Addendum to the toxicological profile for benzene. ATSDR Division of Toxicology and Human Health Sciences. Atlanta, GA 2015.
- Aubrecht J., Rugo R., Schiestl R.H. (1995). Carcinogens induce intrachromosomal recombination in human cells. *Carcinogenesis* 16(11), 2841–2846.
- Axelsson G., Lütz C., Rylander R. (1984). Exposure to solvents and outcome of pregnancy in university laboratory employees. *Br. J. Ind. Med.* 41(3), 305–312 [cyt. za: EPA 2002].
- Baaron K., Snyder C.A., Green J. i in. (1982). The hematotoxic effects of inhaled benzene on peripheral blood, bone marrow, and spleen cells are increased by ingested ethanol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 64(3), 393–404 [cyt. za: ATSDR 2007].
- Barale R., Giorgelli F., Migliore L. i in. (1985). Benzene induces micronuclei in circulating erythrocytes of chronically treated mice. *Mutat. Res.* 144(3), 193–196.
- Bartczak A., Kline S.A., Yu R. i in. (1994). Evaluation of assay for the identification and quantitation of muconic acid, a benzene metabolite in human urine. *J. Toxicol. Environ. Health* 42(3), 245–258.
- Baslo A., Aksoy M. (1982). Neurological abnormalitis in chronic benzene poisoning: a study of six patients with aplastic anemia and two with preleukemia. *Environ. Res.* 27(2), 457–465 [cyt. za: Lebrecht i in. 2003].
- Bassig B.A., Zhang L., Cawthon R.M. i in. (2014). Alterations in leukocyte telomere length in workers occupationally exposed to benzene. *Environ. Mol. Mutagen.* 55(8), 673–678.
- Bassig B.A., Friesen M.C., Vermeulen R. i in. (2015). Occupational exposure to benzene and non-Hodgkin lymphoma in a population-based cohort: the Shanghai Women's Health Study. *Environ. Health Perspect.* 123(10), 971–977.
- Basso E., Cevoli C., Papacchini M. i in. (2011). Cytogenetic biomonitoring on a group of petroleum refinery workers. *Environ. Mol. Mutagen.* 52(6), 440–447.
- BAuA, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitmedizin (2013). The risk-based concept for carcinogenic substances developed by the Committee for Hazardous Substances. Dortmund [cyt. za: IARC 2018].
- Bechtold W.E., Lucier G., Birnbaum L.S. i in. (1991). Muconic acid determinations in urine as a biological exposure index for workers occupationally exposed to benzene. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 52(11), 473–478.
- Bechtold W.E., Henderson R.F. (1993). Biomarkers of human exposure to benzene. *J. Toxicol. Environ. Health* 40(2–3), 377–386.
- BEI (2020). Biological Exposure Index (BEI) review. Benzene (CAS No.: 71-43-2). WorkSafe New Zealand.
- Bernauer U., Vieth B., Ellrich R. i in. (2000). CYP2E1 expression in bone marrow and its intra- and interspecies variability: approaches for a more reliable extrapolation from one species to another in the risk assessment of chemicals. *Arch. Toxicol.* 73(12), 618–624.
- Bertazzi P.A., Zocchetti C. (1991). Quantitative estimates of leukaemia risk associated with benzene exposure. *SEG/CDO/C1, Supplement F* [cyt. za: SCOEL 1991].
- Bodell W.J., Levay G., Pongracz K. (1993). Investigation of benzene-DNA adducts and their detection in human bone marrow. *Environ. Health Perspect.* 99, 241–244.
- Bois F.Y., Paxman D.G. (1992). An analysis of exposure rate effects for benzene using a physiologically based pharmacokinetic model. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 15(2), 122–136.
- Bond G.G., McLaren E.A., Baldwin C.L. i in. (1986). An update of mortality among workers exposed to benzene. *Br. J. Ind. Med.* 43(10), 685–691.
- Bond G.G., McLaren E.A., Cartmill J.B. i in. (1987). Cause-specific mortality among male chemical workers. *Am. J. Ind. Med.* 12(4), 353–383.
- Bordarier C., Robain O., Ponsot G. (1991). Bilateral porencephalic defect in a newborn after injection of benzol during pregnancy. *Brain Dev.* 13(2), 126–129 [cyt. za: EPA 2002].
- Brunmark A., Cadenas E. (1988). Reductive addition of glutathione to p-benzoquinone, 2-hydroxy-p-benzoquinone, and p-benzoquinone epoxides: effect of hydroxy- and glutathionyl substituents on p-benzoquinone autooxidation. *Chem. Biol. Interact.* 68(3–4), 273–298.
- Capleton A.C., Levy L.S. (2005). An overview of occupational benzene exposures and occupational exposure limits in Europe and North America. *Chem. Biol. Interact.* 153–154, 43–53.
- Carbonari D., Chiarella P., A. Mansi i in. (2016). Biomarkers of susceptibility following benzene exposure: influence of genetic polymorphisms on benzene metabolism and health effects. *Biomark. Med.* 10(2), 145–163.
- Carere A., Antoccia A., Crebelli R. i in. (1995). Genetic effects of petroleum fuels: cytogenetic monitoring of gasoline station attendants. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* 332(1–2), 17–26.
- Carl Roth (2019). Karta charakterystyki: benzen.
- Carrieri M., Tranfo G., Pignini D. i in. (2010). Correlation between environmental and biological monitoring of exposure to benzene in petrochemical industry operators. *Toxicol. Lett.* 192(1), 17–21 [cyt. za: BEI 2020].

- ChemIDplus (2021). Benzene.
- Chen H., Eastmond D.A. (1995). Topoisomerase inhibition by phenolic metabolites: A potential mechanism for benzene's clastogenic effects. *Carcinogenesis* 16(10), 2301–2307.
- Chen C.S., Hseu Y.C., Liang S.H. i in. (2007). Assessment of genotoxicity of methyl-tert-butyl ether, benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene to human lymphocytes using comet assay. *J. Hazard. Mater.* 153(1–2), 351–356.
- Chepiga T.A., Yang C.S., Snyder R. (1990). Benzene metabolism by two purified, reconstituted rat hepatic mixed function oxidase systems. *Adv. Exp. Med. Biol.* 283, 261–265.
- Choy W.N., MacGregor J.T., Shelby M.D. i in. (1985). Induction of micronuclei by benzene in B6C3F1 mice: retrospective analysis of peripheral blood smears from the NTP carcinogenesis bioassay. *Mutat. Res.* 143(1–2), 55–59.
- Ciranni R., Barale R., Marrazzini A. i in. (1988). Benzene and the genotoxicity of its metabolites: I. Transplacental activity in mouse fetuses and in their dams. *Mutat. Res.* 208(1), 61–67.
- Clavel J., Conso F., Limasset J.C. i in. (1996). Hairy cell leukaemia and occupational exposure to benzene. *Occup. Environ. Med.* 53(8), 533–539.
- Collins J.J., Conner P., Friedlander B.R. i in. (1991). A study of the hematologic effects of chronic low-level exposure to benzene. *J. Occup. Med.* 33(5), 619–626.
- Collins J.J., Irealand B.K., Easterday P.A. i in. (1997). Evaluation of lymphopenia among workers with low-level benzene exposure and the utility of routine data collection. *J. Occup. Environ. Med.* 39(3), 232–237.
- Collins J.J., Anteau S.E., Swaen G.M. i in. (2015). Lymphatic and hematopoietic cancers among benzene-exposed workers. *J. Occup. Environ. Med.* 57(2), 159–163.
- Corti M., Snyder C.A. (1996). Influences of gender, development, pregnancy and ethanol consumption on the hematotoxicity of inhaled 10 ppm benzene. *Arch. Toxicol.* 70(3–4), 209–217.
- Cox L.A. (1991). Biological basis of chemical carcinogenesis: insights from benzene. *Risk Anal.* 11(3), 453–464.
- Creek M.R., Mani C., Vogel J.S. i in. (1997). Tissue distribution and macromolecular binding of extremely low doses of [<sup>14</sup>C]-benzene in B6C3F1 mice. *Carcinogenesis* 18(12), 2421–2427.
- Cronkite E.P., Drew R.T., Inoue T. i in. (1985). Benzene hematotoxicity and leukemogenesis. *Am. J. Ind. Med.* 7(5–6), 447–456.
- Cronkite E.P., Drew R.T., Inoue T. i in. (1989). Hematototoxicity and carcinogenicity of inhaled benzene. *Environ. Health Perspect.* 82, 97–108.
- Crosignani P., Tittarelli A., Borgini A. i in. (2004). Childhood leukemia and road traffic: a population-based case-control study. *Int. J. Cancer* 108(4), 596–599.
- Crump K.S. (1992). Risk assessment of benzene-induced leukemia: a review. [W:] *Oncogene and transgenics correlates of cancer risk assessment*. [Red.:] C. Zervos. New York, Plenum Press, pp. 241–262 [cyt. za: Crump 1994].
- Crump K.S. (1994). Risk of benzene-induced leukemia: a sensitivity analysis of the pliofilm cohort with additional follow-up and new exposure estimates. *J. Toxicol. Environ. Health* 42(2), 219–242 [cyt. za: ACGIH 2001].
- Crump K.S., Allen B.C. (1984). Quantitative estimates of risk of leukemia from occupational exposure to benzene. Prepared for the U.S. Occupational Safety and Health Administration by Science Research Systems, Inc., Ruston, LA [cyt. za: ACGIH 2001].
- D'Andrea M.A., Reddy G.K. (2018). Health risks associated with benzene exposure in children: a systematic review. *Glob. Pediatr. Health* 5, 1–10.
- Dean B.J. (1985). Recent findings on the genetic toxicology of benzene, toluene, xylenes and phenols. *Mutat. Res.* 154(3), 153–181.
- DECOS, Dutch Expert Committee on Occupational Safety, a Committee of the Health Council of the Netherlands (2014). Benzene. Health-based recommended occupational exposure limit. No. 2014/03. The Hague, February 21.
- Decouflé P., Blattner W.A., Blair A. (1983). Mortality among chemical workers exposed to benzene and other agents. *Environ. Res.* 30(1), 16–25.
- DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft (1999). List of MAK and BAT Values 1999: Maximum Concentrations and Biological Tolerance Values at the Workplace, Report No. 35, p. 174.
- DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft (2019). List of MAK and BAT Values 2019: Permanent Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area, Report 55. DOI:10.1002/9783527826889
- DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft (2020). List of MAK and BAT Values 2020: Permanent Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area, Report 56. DOI: 10.34865/mbwl\_2020\_eng
- Díaz M., Reiser A., Braier L. i in. (1980). Studies on benzene mutagenesis: I. The micronucleus test. *Experientia* 36(1), 297–299.
- Ding X.-J., Li Y., Ding Y. i in. (1983). Chromosome changes in patients with chronic benzene poisoning. *Chin. Med. J. (Engl.)* 96(9), 681–685.
- Douglas G.R., Blakey D.H., Liu-Lee V.W. i in. (1985). Alkaline sucrose sedimentation, sister-chromatid exchange and micronucleus assays in CHO cells. *Prog. Mutat. Res.* 5, 359–366.
- Dowty B.J., Laster J.L., Storer J. (1976). The transplacental migration and accumulation in blood of volatile organic constituents. *Pediatr. Res.* 10(7), 696–701.

- Dyrektywa 2004/37/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie ochrony pracowników przed zagrożeniem dotyczącym narażenia na działanie czynników rakotwórczych lub mutagenów podczas pracy (szósta dyrektywa szczegółowa w rozumieniu art. 16 ust. 1 dyrektywy Rady 89/391/EWG).
- Dyrektywa 2022/431 zmieniająca dyrektywę 2004/37/WE w sprawie ochrony pracowników przed zagrożeniem dotyczącym narażenia na działanie czynników rakotwórczych lub mutagenów podczas pracy. Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2022/431 z dnia 9 marca 2022 r. zmieniająca dyrektywę 2004/37/WE. Dz. Urz. UE z 16.3.2022 (L/88).
- Eastmond D.A., Smith M.T., Irons R.D. (1987). An interaction of benzene metabolites reproduces the myelotoxicity observed with benzene exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 91(1), 85–95.
- Eastmond D.A., Rupa D.S., Hasegawa L.S. (1994). Detection of hyperdiploidy and chromosome breakage in interphase human lymphocytes following exposure to the benzene metabolite hydroquinone using multicolor fluorescence in situ hybridization with DNA probes. *Mutat. Res.* 322(1), 9–20.
- Eastmond D.A., Schuler M., Frantz C. i in. (2001). Characterization and mechanisms of chromosomal alterations induced by benzene in mice and humans. Research report. Health Effects Institute. No. 103 [cyt. za: Schnatter i in. 2020].
- ECHA, European Chemicals Agency (2018a). Committee for Risk Assessment RAC: Opinion on scientific evaluation of occupational exposure limits for benzene. [https://echa.europa.eu/documents/10162/13641/benzene\\_opinion\\_en.pdf/4fe-c9aac-9ed5-2aae-7b70-5226705358c7](https://echa.europa.eu/documents/10162/13641/benzene_opinion_en.pdf/4fe-c9aac-9ed5-2aae-7b70-5226705358c7) [data dostępu: 16.05.2022].
- ECHA, European Chemicals Agency (2018b). ANNEX 1. Background document in support of the Committee for Risk Assessment (RAC) evaluation of limit values for benzene in the workplace. ECHA/RAC/A77-0-0000001412-86-187/F.
- Edokpolo B., Yu Q.J., Connell D. (2019). Use of toxicant sensitivity distributions (TSD) for development of exposure guidelines for risk to human health from benzene. *Environ. Pollut.* 250, 386–396.
- EHC (1993). Environmental Health Criteria 150. Benzene.
- EPA, Environmental Protection Agency (2002). Toxicological review of benzene (noncancer effects) (CAS No. 71-43-2).
- Erexson G.L., Wilme J.L., Kligerman A.D. (1985). Sister chromatid exchange induction in human lymphocytes exposed to benzene and its metabolites in vitro. *Cancer Res.* 45(6), 2471–2477.
- Erexson G.L., Wilmer J.L., Steinhagen W.H. i in. (1986). Induction of cytogenetic damage in rodents after short-term inhalation of benzene. *Environ. Mutagen.* 8(1), 29–40.
- EU RAR (2008). European Union Risk Assessment Report: Benzene. Ispra, Italy, European Commission Joint Research Center Institute for Health and Consumer Protection (JRC-IHCP).
- Farris G.M., Everitt J.I., Irons R.D. i in. (1993). Carcinogenicity of inhaled benzene in CBA mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* 20(4), 503–507.
- Farris G.M., Robinson S.N., Gaido K.W. i in. (1997a). Benzene-induced hematotoxicity and bone marrow compensation in B6C3F1 mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* 36(2), 119–129.
- Farris G.M., Robinson S.N., Wong B.A. i in. (1997b). Effects of benzene on splenic, thymic, and femoral lymphocytes in mice. *Toxicology* 118(2–3), 137–148.
- Fenga C., Gangemi S., Costa C. (2016). Benzene exposure is associated with epigenetic changes (Review). *Mol. Med. Rep.* 13(4), 3401–3405.
- Fracasso M.E., Doria D., Bartolucci G.B. i in. (2010). Low air levels of benzene: correlation between biomarkers of exposure and genotoxic effects. *Toxicol. Lett.* 192(1), 22–28.
- Franz T.J. (1983). Percutaneous absorption on the relevance of in vitro data. *J. Invest. Dermatol.* 64(3), 190–195.
- Franz T.J. (1984). Percutaneous absorption of benzene. [W:] Applied toxicology of petroleum hydrocarbons (Advances in modern environmental toxicology. Vol. VI). [Red.:] H.N. MacFarland, C.E. Holdsworth, J.A. MacGregor. Princeton, NJ, Princeton Scientific Publishers, pp. 61–70 [cyt. za: EPA 2002].
- Frantz C.E., Chen H., Eastmond D.A. (1996). Inhibition of human topoisomerase II in vitro by bioactive benzene metabolites. *Environ. Health Perspect.* 104(Suppl 6), 1319–1323.
- French J.E., Gatti D.M., Morgan D.L. i in. (2015). Diversity outbred mice identify population-based exposure thresholds and genetic factors that influence benzene-induced genotoxicity. *Environ. Health Perspect.* 123(3), 237–245.
- Funes-Cravioto F., Zapata-Gayon C., Kolmodin-Hedman B. i in. (1977). Chromosome aberrations and sister chromatid exchange in workers in chemical laboratories and a rototyping factory and in children of women laboratory workers. *Lancet* 2(8033), 322–325 [cyt. za: EPA 2002].
- Gad-El Karim M.M., Ramanujam V.M.S., Legator M.S. (1985). trans,trans-Muconic acid, an open-chain urinary metabolite of benzene in mice: quantification by high-pressure liquid chromatography. *Xenobiotica* 15(3), 211–220.
- Ganousis L.G., Goon D., Zyglewska T. i in. (1992). Cell-specific metabolism in mouse bone marrow stroma: studies of activation and detoxification of benzene metabolites. *Mol. Pharmacol.* 42(6), 1118–1125.
- Garte S., Popov T., Georgieva T. i in. (2005). Biomarkers of exposure and effect in Bulgarian petrochemical workers exposed to benzene. *Chem. Biol. Interact.* 153–154, 247–251.
- Genter M.B., Reico L. (1994). Absence of detectable P450 2E1 in bone marrow of B6C3F1 mice: relevance to butadiene-induced bone marrow toxicity. *Fundam. Appl. Toxicol.* 22(3), 469–473.
- Ghantous H., Danielsson B.R.G. (1986). Placental transfer and distribution of toluene, xylene, and benzene, and their meta-

- bolites during gestation in mice. *Biol. Res. Pregnancy Perinatol.* 7(3), 98–105.
- Ghittori S., Fiorentino M.L., Maestri L. i in. (1993). Urinary excretion of unmetabolized benzene as an indicator of benzene exposure. *J. Toxicol. Environ. Health* 38(3), 233–243.
- Ghittori S., Maestri L., Fiorentino M.L. i in. (1995). Evaluation of occupational exposure to benzene by urinalysis. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 67(3), 195–200 [cyt. za: BEI 2020].
- GIS, Główny Inspektorat Sanitarny (2021). Departament Higieny Środowiska, Warszawa.
- Glass D.C., Schnatter A.R., Tang G. i in. (2014). Risk of myeloproliferative disease and chronic myeloid leukaemia following exposure to low-level benzene in a nested case-control study of petroleum workers. *Occup. Environ. Med.* 71(4), 266–274.
- Glatt H., Padykula R., Berchtold G.A. i in. (1989). Multiple activation pathways of benzene leading to products with varying genotoxic characteristics. *Environ. Health Perspect.* 82, 81–89.
- Glatt H., Witz G. (1990). Studies on the induction of gene mutations in bacterial and mammalian cells by the ring-opened benzene metabolites trans,trans-muconaldehyde and trans,trans-muconic acid. *Mutagenesis* 5(3), 263–266.
- Glauert H.P., Kennan W.S., Sattler G.L. i in. (1985). Assays to measure the induction of unscheduled DNA synthesis in cultured hepatocytes. [W:] *Progress in mutation research*, Vol. 5. Evaluation of short-term tests for carcinogens: report of the International Programme on Chemical Safety's collaborative study on in vitro assays. [Red.:] J. Ashby, F.J. de Serres, M. Draper i in. Amsterdam, Elsevier, pp. 371–373.
- Goon D., Cheng X., Ruth J.A. i in. (1992). Metabolism of trans,trans-muconaldehyde by aldehyde and alcohol dehydrogenases: identification of a novel metabolite. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 114(1), 147–155.
- Gosepath J., Grebneva N., Brieger J. i in. (2003). Evaluation of inflammatory reactions and genotoxic effects after exposure of nasal respiratory epithelia to benzene. *ORL J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec.* 65(6), 348–352.
- Green J.D., Leong B.K., Laskin S. (1978). Inhaled benzene fetotoxicity in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 46(1), 9–18 [cyt. za: DECOS 2014].
- Guénel P., Imbernon E., Chevalier A. i in. (2002). Leukemia in relation to occupational exposures to benzene and other agents: a case-control study nested in a cohort of gas and electric utility workers. *Am. J. Ind. Med.* 42(2), 87–97.
- Guo H., Ahn S., Zhang L. (2020). Benzene-associated immunosuppression and chronic inflammation in humans: a systematic review. *Occup. Environ. Med.* 78(5), 1–8.
- Gut I., Terelius Y., Frantík E. i in. (1993). Exposure to various benzene derivatives differently induces cytochromes P450 2B1 and P450 2E1 in rat liver. *Arch. Toxicol.* 67(4), 237–243.
- Hartwig A. (2010). The role of DNA repair in benzene-induced carcinogenesis. *Chem. Biol. Interact.* 184(1–2), 269–72.
- Hatakeyama Y., Nakajima E., Atai H. i in. (1992). Effects of benzene in a micronucleus test on peripheral blood utilizing acridine orange-coated slides. *Mutat. Res.* 278(2–3), 193–195.
- Hayes R.B., Yin S.N., Dosemeci M. i in. (1996). Mortality among benzene-exposed workers in China. *Environ. Health Perspect.* 104(Suppl 6), 1349–1352.
- Heck J.E., Park A.S., Qiu J. (2014). Risk of leukemia in relation to exposure to ambient air toxics in pregnancy and early childhood. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 217(6), 662–668.
- Heck J.E., He D., Contreras Z.A. i in. (2019). Parental occupational exposure to benzene and the risk of childhood and adolescent acute lymphoblastic leukaemia: a population-based study. *Occup. Environ. Med.* 76(8), 527–529.
- Hedli C.C., Rao N.R., Reuhl K.R. i in. (1996). Effects of benzene metabolite treatment on granulocytic differentiation and DNA adduct formation in HL-60 cells. *Arch. Toxicol.* 70(3–4), 135–144.
- Henderson R.F. (1996). Species differences in the metabolism of benzene. *Environ. Health Perspect.* 104(Suppl 6), 1173–1175.
- Henderson R.F., Sabourin P.J., Medinsky M.A. i in. (1992). Benzene dosimetry in experimental animals: relevance for risk assessment. *Prog. Clin. Biol. Res.* 374, 93–05.
- Hendrickson H.P., Sahafayen M., Bell M.A. i in. (1994). Relationship of flavonoid oxidation potential and effect on rat hepatic microsomal metabolism of benzene and phenol. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 12(3), 335–341 [cyt. za: ATSDR 2007].
- Henschler R., Glatt H.R. (1995). Induction of cytochrome P4501a1 in haemopoietic stem cells by hydroxylated metabolites of benzene. *Toxicol. In Vitro* 9(4), 453–457.
- Hiraku Y., Kawanishi S. (1996). Oxidative DNA damage and apoptosis induced by benzene metabolites. *Cancer Res.* 56(22), 5172–5178.
- Holmberg P.C. (1979). Central nervous system defects in children born to mothers exposed to organic solvents during pregnancy. *Lancet* 2(8135), 177–179 [cyt. za: EPA 2002].
- Houot J., Marquant F., Goujon S. i in. (2015). Residential proximity to heavy-traffic roads, benzene exposure, and childhood leukemia – the GEOCAP Study, 2002–2007. *Am. J. Epidemiol.* 182(8), 685–693.
- HSDB, Hazardous Substances Data Bank (2007). Benzene. National Library of Medicine.
- Huang X.-Y. (1991). Influence on benzene and toluene to reproductive function of female workers in leather shoemaking industry. *Chin. J. Prev. Med.* 25, 89–91 [cyt. za: EPA 2002].
- Huff J.E., Haseman J.K., DeMarini D.M. i in. (1989). Multiple-site carcinogenicity of benzene in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice. *Environ. Health Perspect.* 82, 125–163.

- Hunter C.G. (1966). Aromatic solvents. *Ann. Occup. Hyg.* 9(4), 191–198.
- Hunter C.G. (1968). Solvents with reference to studies on the pharmacodynamics of benzene. *Proc. R. Soc. Med.* 61(9), 913–915.
- Hunter C.G., Blair D. (1972). Benzene: pharmacokinetic studies in man. *Ann. Occup. Hyg.* 15(2), 193–201.
- IARC, International Agency for Research on Cancer (1982). Summaries & Evaluations. Benzene. 29, 93.
- IARC, International Agency for Research on Cancer (1989). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, Geneva, V47 99.
- IARC, International Agency for Research on Cancer (2018). Benzene. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 120.
- Ibrahim K.S., Saleh Z.A., Farrag A.-R.H. i in. (2011). Protective effects of zinc and selenium against benzene toxicity in rats. *Toxicol. Ind. Health* 27(6), 537–545.
- Ikeda M., Ohtsuji H., Imamura T. (1972). In vivo suppression of benzene and styrene oxidation by co-administered toluene in rats and effects of phenobarbital. *Xenobiotica* 2(2), 101–106 [cyt. za: ATSDR 2007].
- Infante P.F., Rinsky R.A., Wagoner J.K. i in. (1977). Leukaemia in benzene workers. *Lancet* 2(8028), 76–78.
- Inoue O., Seiji K., Kasahara M. i in. (1986). Quantitative relation of urinary phenol levels to breathzone benzene concentrations: a factory survey. *Br. J. Ind. Med.* 43(10), 692–697.
- Inoue O., Seiji K., Watanabe T. i in. (1988). Mutual metabolic suppression between benzene and toluene in man. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 60(1), 15–20 [cyt. za: ATSDR 2007].
- IPCS (1999). Benzene. Geneva, WHO, International Programme on Chemical Safety. Poisons Information Monograph 63.
- IPCS/INCHEM (1993). Komputerowa baza danych [cyt. za: Lebrecht i in. 2003].
- Ireland B., Collins J.J., Buckley C.F. i in. (1997). Cancer mortality among workers with benzene exposure. *Epidemiology* 8(3), 318–320.
- Irons R.D., Dent J.G., Baker T.S. i in. (1980). Benzene is metabolized and covalently bound in bone marrow in situ. *Chem. Biol. Interact.* 30(2), 241–245.
- Irons R.D., Neptun D.A. (1980). Effects of the principle hydroxy-metabolites of benzene on microtubule polymerization. *Arch. Toxicol.* 45(4), 297–305.
- Jakasa I., Kezic S., Boogaard P.J. (2015). Dermal uptake of petroleum substances. *Toxicol. Lett.* 235(2), 123–139.
- Janitz A.E., Campbell J.E., Magzamen S. i in. (2017). Benzene and childhood acute leukemia in Oklahoma. *Environ. Res.* 158, 167–173.
- Jerina D., Daly J., Witkop B. i in. (1968). Role of arene oxide-oxepin system in the metabolism of aromatic substances: I. In vitro conversion of benzene oxide to a premercapturic acid and a dihydrodiol. *Arch. Biochem. Biophys.* 128, 176–183.
- Ji Z., Weldon R.H., Marchetti F. i in. (2012). Comparison of aneuploidies of chromosomes 21, X, and Y in the blood lymphocytes and sperm of workers exposed to benzene. *Environ. Mol. Mutagen.* 53(3), 218–226.
- Johansson I., Ingelman-Sundberg M. (1988). Benzene metabolism by ethanol-, acetone-, and benzene-inducible cytochrome P-450 (IIE1) in rat and rabbit liver microsomes. *Cancer Res.* 48(19), 5387–5390.
- Kaden D.A., Hites R.A., Thilly W.G. (1979). Mutagenicity of soot and associated polycyclic aromatic hydrocarbons to *Salmonella typhimurium*. *Cancer Res.* 39(10), 4152–4159.
- Kahn H., Muzyka V. (1973). The chronic effect of benzene on porphyrin metabolism. *Work Environ. Health* 10, 140–143.
- Kalf G.F. (1987). Recent advances in the metabolism and toxicity of benzene. *Crit. Rev. Toxicol.* 18(2), 141–159.
- Kalf G.F., Rushmore T., Snyder R. (1982). Benzene inhibits RNA synthesis in mitochondria from liver and bone marrow. *Chem. Biol. Interact.* 42(3), 353–370.
- Kalnas J., Teitelbaum D.T. (2000). Dermal absorption of benzene: implications for work practices and regulations. *Int. J. Occup. Environ. Health* 6(2), 114–121.
- Kašuba V., Rozgaj R., Sentija K. (2000). Cytogenic changes in subjects occupationally exposed to benzene. *Chemosphere* 40(3), 307–310.
- Katukam V., Kulakarni M., Syed R. i in. (2012). Effect of benzene exposure on fertility of male workers employed in bulk drug industries. *Genet. Test. Mol. Biomarkers* 16(6), 592–597.
- Kawasaki Y., Hirabayashi Y., Kaneko T. i in. (2009). Benzene-induced hematopoietic neoplasms including myeloid leukemia in Trp53-deficient C57BL/6 and C3H/He mice. *Toxicol. Sci.* 110(2), 293–306.
- Keller K.A., Snyder C.A. (1988). Mice exposed in utero to 20 ppm benzene exhibit altered numbers of recognizable hematopoietic cells up to seven weeks after exposure. *Fundam. Appl. Toxicol.* 10(2), 224–232.
- Kenyon E.M., Seeley M.E., Janzen D. i in. (1995). Dose-, route-, and sex-dependent urinary excretion of phenol metabolites in B6C3F1 mice. *J. Toxicol. Environ. Health* 44(2), 219–233.
- Kim S.Y., Choi J.K., Cho Y.H. i in. (2004). Chromosomal aberrations in workers exposed to low levels of benzene: association with genetic polymorphisms. *Pharmacogenetics* 14(7), 453–463.

- Kim Y.J., Choi J.Y., Paek D. i in. (2008). Association of the NQO1, MPO, and XRCC1 polymorphisms and chromosome damage among workers at a petroleum refinery. *J. Toxicol. Environ. Health A* 71(5), 333–341.
- Kim Y.J., Choi J.Y., Cho Y.H. i in. (2010). Micronucleus-centromere assay in workers occupationally exposed to low level of benzene. *Hum. Exp. Toxicol.* 29(5), 343–350.
- Kirkeleit J., Riise T., Gjertsen B.T., Moen B.E. i in. (2008a). Effects of benzene on human hematopoiesis (a). *Open Hematol. J.* 2, 87–102.
- Kirkeleit J., Riise T., Bråtveit M. i in. (2008b). Increased risk of acute myelogenous leukemia and multiple myeloma in a historical cohort of upstream petroleum workers exposed to crude oil. *Cancer Causes Control* 19(1), 13–23.
- Kissling M., Speck B. (1972). Further studies on experimental benzene induced aplastic anemia. *Blut* 25(2), 97–103.
- Kissling M., Speck B. (1973). Chromosome aberrations in experimental benzene intoxication. *Helv. Med. Acta* 36(1), 59–66.
- Koh D.-H., Jeon H.-K., Lee S.-G. i in. (2015). The relationship between low-level benzene exposure and blood cell counts in Korean workers. *Occup. Environ. Med.* 72(6), 421–427.
- Kok P.W., Ong C.N. (1994). Blood and urinary benzene determined by headspace gas chromatography with photoionization detection: application in biological monitoring of low-level nonoccupational exposure. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 66(3), 195–201.
- Kolachana P., Subrahmanyam V.V., Meyer K.B. i in. (1993). Benzene and its phenolic metabolites produce oxidative DNA damage in HL60 cells in vitro and in the bone marrow in vivo. *Cancer Res.* 53(5), 1023–1026.
- Koop D.R., Laethem C.L. (1992). Inhibition of rabbit microsomal cytochrome P-450 2E1-dependent *p*-nitrophenol hydroxylation by substituted benzene derivatives. *Drug Metab. Dispos.* 20(5), 775–777.
- Kraut A., Lilis R., Marcus M. i in. (1988). Neurotoxic effects of solvent exposure on sewage treatment workers. *Arch. Environ. Health* 43(4), 263–268 [cyt. za: *Lebrecht* i in. 2003].
- Kuna R.A., Kapp R.W. Jr (1981). The embryotoxic/teratogenic potential of benzene vapor in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 57(1), 1–7 [cyt. za: DECOS 2014].
- Kuna R., Nicolich M., Schroeder R. i in. (1992). A female rat fertility study with inhaled benzene. *J. Am. Coll. Toxicol.* 11(3), 275–282 [cyt. za: EPA 2002].
- Kupczewska-Dobecka M., Czerczak S., Konieczko K. (2019). Wełna mineralna. Zagrożenia dla użytkowników, stan prawny i zasady bezpiecznego postępowania. Instytut Medycyny Pracy, Łódź.
- Lagorio S., Tagesson C., Forastiere F. i in. (1994). Exposure to benzene and urinary concentrations of 8-hydroxydeoxyguanosine, a biological marker of oxidative damage to DNA. *Occup. Environ. Med.* 51(11), 739–743.
- Laitinen J., Kangas J., Pekari K. i in. (1994). Short time exposure to benzene and gasoline at garages. *Chemosphere* 28(1), 197–205.
- Lakhanisky T.H., Hendrickx B. (1985). Induction of DNA single-strand breaks in CHO cells in culture. *Prog. Mutat. Res.* 5, 367–370.
- Lan Q., Zhang L., Li G. i in. (2004). Hematotoxicity in workers exposed to low levels of benzene. *Science* 306(5702), 1774–1776.
- Latriano L., Goldstein B.D., Witz G. (1986). Formation of mucionaldehyde, an open-ring metabolite of benzene, in mouse liver microsomes: an additional pathway for toxic metabolites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83(21), 8356–8360.
- Lebrecht G., Czerczak S., Szadkowska-Stańczyk I. i in. (2001). Benzen. Wytyczne Szacowania Ryzyka Zdrowotnego 12, 5–45.
- Lebrecht G., Czerczak S., Szymczak W. (2003). Benzen. Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego. *Podst. Metod. Ocen. Srod. Pr.* 1 (35), 5–60.
- Legathe A., Hoener B.A., Tozer T.N. (1994). Pharmacokinetic interaction between benzene metabolites, phenol and hydroquinone, in B6C3F1 mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 124(1), 131–138.
- Lévay G., Bodell W.J. (1992). Potentiation of DNA adduct formation in HL-60 cells by combinations of benzene metabolites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89(15), 7105–7109.
- Lévay G., Pathak D.N., Bodell W.J. (1996). Detection of DNA adducts in the white blood cells of B6C3F1 mice treated with benzene. *Carcinogenesis* 17(1), 151–153.
- Lindsey R.H., Bender R.P., Osheroff N. (2005a). Stimulation of topoisomerase II-mediated DNA cleavage by benzene metabolites. *Chem. Biol. Interact.* 153–154, 197–205.
- Lindsey R.H., Bender R.P., Osheroff N. (2005b). Effects of benzene metabolites on DNA cleavage mediated by human topoisomerase II alpha: 1,4-hydroquinone is a topoisomerase II poison. *Chem. Res. Toxicol.* 18(4), 761–770.
- Lindstrom A.B., Yeowell-O'Connell K., Waidyanatha S. i in. (1997). Measurement of benzene oxide in the blood of rats following administration of benzene. *Carcinogenesis* 18(8), 1637–1641.
- Linet M.S., Yin S.N., Gilbert E.S. i in. (2015). A retrospective cohort study of cause-specific mortality and incidence of hematopoietic malignancies in Chinese benzene-exposed workers. *Int. J. Cancer* 137(9), 2184–2197.
- Liu L., Zhang Q., Feng J. i in. (1996). The study of DNA oxidative damage in benzene-exposed workers. *Mutat. Res.* 370(3–4), 45–50.

- Longacre S.L., Kocsis J.J., Snyder R. (1981). Influence of strain differences in mice on the metabolism and toxicity of benzene. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 60(3), 398–409.
- Lovern M.R., Turner M.J., Meyer M. i in. (1997). Identification of benzene oxide as a product of benzene metabolism by mouse, rat and human liver microsomes. *Carcinogenesis* 18(9), 1695–1700.
- Low L.K., Meeks J.R., Norris K.J. i in. (1989). Pharmacokinetics and metabolism of benzene in Zymbal gland and other key target tissues after oral administration in rats. *Environ. Health Perspect.* 82, 215–222.
- Low L.K., Lambert C.D., Meeks J.R. i in. (1995). Tissue-specific metabolism of benzene in Zymbal gland and other solid tumor target tissues in rats. *J. Am. Coll. Toxicol.* 14(1), 40–60.
- Luke C.A., Tice R.R., Drew R.T. (1988). The effect of exposure regimen and duration on benzene-induced bone-marrow damage in mice: I. Sex comparison in DBA/2 mice. *Mutat. Res.* 203(4), 251–271.
- Lutz W.K., Schlatter C.H. (1977). Mechanism of the carcinogenic action of benzene: irreversible binding to rat liver DNA. *Chem. Biol. Interact.* 18(2), 241–245.
- Maibach H.I., Anjo D.M. (1981). Percutaneous penetration of benzene and benzene contained in solvents used in the rubber industry. *Arch. Environ. Health* 36(5), 256–260.
- Maltoni C., Conti B., Perino G. i in. (1988). Further evidence of benzene carcinogenicity: results on Wistar rats and Swiss mice treated by ingestion. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 534, 412–426.
- Maltoni C., Ciliberti A., Cotti G. i in. (1989). Benzene, an experimental multipotential carcinogen: results of the long-term bioassays performed at the Bologna Institute of Oncology. *Environ. Health Perspect.* 82, 109–124.
- Mani C., Freeman S., Nelson D.O. i in. (1999). Species and strain comparisons in the macromolecular binding of extremely low doses of [14C]benzene in rodents, using accelerator mass spectrometry. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 159(2), 83–90.
- Manini P., De Palma G., Andreoli R. i in. (2008). Biological monitoring of low benzene exposure in Italian traffic policemen. *Toxicol. Lett.* 181(1), 25–30 [cyt. za: BEI 2020].
- Mansi A., Bruni R., Capone P. i in. (2012). Low occupational exposure to benzene in a petrochemical plant: modulating effect of genetic polymorphisms and smoking habit on the urinary t,t-MA/SPMA ratio. *Toxicol. Lett.* 213(1), 57–62.
- Marchetti F., Eskenazi B., Weldon R.H. i in. (2012). Occupational exposure to benzene and chromosomal structural aberrations in the sperm of Chinese men. *Environ. Health Perspect.* 120(2), 229–234.
- Marcon F., Zijno A., Crebelli R. i in. (1999). Chromosome damage and aneuploidy detected by interphase multicolour FISH in benzene-exposed shale oil workers. *Mutat. Res.* 445(2), 155–166.
- Mathews J.M., Etheridge A.S., Mathews H.B. (1998). Dose-dependent metabolism of benzene in hamsters, rats, and mice. *Toxicol. Sci.* 44(1), 14–21.
- Mattie D.R., Bates G.D. Jr, Jepson G.W. i in. (1994). Determination of skin:air partition coefficients for volatile chemical: experimental method and applications. *Fundam. Appl. Toxicol.* 22(1), 51–57.
- Mazzullo M., Bartoli S., Bonora B. i in. (1989). Benzene adducts with rat nucleic acids and proteins: dose-response relationship after treatment in vivo. *Environ. Health Perspect.* 82, 259–266.
- McCraw D.S., Joyner R.E., Cole P. (1985). Excess leukemia in a refinery population. *J. Occup. Med.* 27(3), 220–222.
- McDonald T.A., Yeowell-O'Connell K., Rappaport S.M. (1994). Comparison of protein adducts of benzene oxide and benzoquinone in the blood and bone marrow of rats and mice exposed to [14C/13C6] benzene. *Cancer Res.* 54(18), 4907–4914.
- McDougal J.N., Jepson G.W., Clewell H.J. III i in. (1990). Dermal absorption of organic chemical vapors in rats and humans. *Fundam. Appl. Toxicol.* 14(2), 299–308.
- McHale C.M., Lan Q., Corso C. i in. (2008). Chromosome translocations in workers exposed to benzene. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* 74–77.
- McHale C.M., Zhang L., Smith M.T. (2012). Current understanding of the mechanism of benzene-induced leukemia in humans: implications for risk assessment. *Carcinogenesis* 33(2), 240–252.
- McMahon T.F., Birnbaum L.S. (1991). Age-related changes in disposition and metabolism of benzene in male C57BL/6N mice. *Drug Metab. Dispos.* 19(16), 1052–1057.
- Medinsky M.A., Sabourin P.J., Henderson R.F. i in. (1989a). Differences in the pathways for metabolism of benzene in rats and mice simulated by a physiological model. *Environ. Health Perspect.* 82, 43–49.
- Medinsky M.A., Sabourin P.J., Lucier G. i in. (1989b). A physiological model for simulation of benzene metabolism by rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 99(2), 193–206.
- Medinsky M.A., Sabourin P.J., Lucier G. i in. (1989c). A toxicokinetic model for simulation of benzene metabolism. *Exp. Pathol.* 37(1–4), 150–154.
- Meek M.E., Klaunig J. (2010). Proposed mode of action of benzene-induced leukemia: interpreting available data and identifying critical data gaps for benzene risk assessment. *Chem. Biol. Interact.* 184(1–2), 279–285.
- Melikian A.A., Prahalad A.K., Secker-Waker R.H. (1994). Comparison of the levels of the urinary benzene metabolite trans,trans-muconic acid in smokers and nonsmokers, and the effects of pregnancy. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 3(3), 239–244.



- Meyne J., Legator M.S. (1980). Sex-related differences in cytogenetic effects of benzene in the bone marrow of Swiss mice. *Environ. Mutagen.* 2(1), 43–50.
- Mihułka M. (2003). Charakterystyka technologiczna produkcji wielkotonażowych związków organicznych w Unii Europejskiej. Ministerstwo Środowiska, Warszawa.
- Monks T.J., Butterworth M., Lau S.S. (2010). The fate of benzene-oxide. *Chem. Biol. Interact.* 184(1–2), 201–206.
- Morgan D.L., Cooper S.W., Carlock D.L. i in. (1991). Dermal absorption of neat and aqueous volatile organic chemicals in the Fischer 344 rat. *Environ. Res.* 55(1), 51–63.
- Morimoto K. (1983). Induction of sister chromatid exchanges and cell division delays in human lymphocytes by microsomal activation of benzene. *Cancer Res.* 43(3), 1330–1334.
- Mukhametova I.M., Vozovaya M.A. (1972). [Reproductive power and the incidence of gynecological disorders in female workers exposed to the combined effect of benzene and chlorinated hydrocarbons]. *Gig. Tr. Prof. Zabol.* 16(11), 6–9 [cyt. za: EPA 2002].
- Murray F.J., John J.A., Rampy L.W. i in. (1979). Embryotoxicity of inhaled benzene in mice and rabbits. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 40(11), 993–998 [cyt. za: DECOS 2014].
- Nakajima T., Okuyama S., Yonekura I. i in. (1985). Effects of ethanol and phenobarbital administration on the metabolism and toxicity of benzene. *Chem. Biol. Interact.* 55(1–2), 23–38.
- Nakayama A., Noguchi Y., Mori T. i in. (2004). Comparison of mutagenic potentials and mutation spectra of benzene metabolites using supF shuttle vectors in human cells. *Mutagenesis* 19(2), 91–97.
- Natelson E.A. (2007). Benzene-induced acute myeloid leukemia: a clinician's perspective. *Am. J. Hematol.* 82(9), 826–830.
- Nebert D.W., Roe A.L., Vandale S.E. i in. (2002). NAD(P)H:quinone oxidoreductase (NQO1) polymorphism, exposure to benzene, and predisposition to disease: a HuGE review. *Genet. Med.* 4(2), 62–70.
- Nilsson R.I., Nordlinder R.G., Tagesson C. i in. (1996). Genotoxic effects in workers exposed to low levels of benzene from gasoline. *Am. J. Ind. Med.* 30(3), 317–324.
- NIOSH, National Institute for Occupational Safety and Health (1974). Criteria for a recommended standard: occupational exposure to benzene. DHHS (NIOSH) Publication No. 74-137.
- NIOSH, National Institute for Occupational Safety and Health (2010). NIOSH Pocket guide to chemical hazards. DHHS (NIOSH) Publication No. 2010-168.
- Nomiyama K., Nomiyama H. (1974). Respiratory retention, uptake, and excretion of organic solvents in man: benzene, toluene, n-hexane, trichloroethylene, acetone, ethyl acetate and ethyl alcohol. *Int. Arch. Arbeitsmed* 32(1), 75–83.
- NTP, National Toxicology Program (1986). Toxicology and carcinogenesis studies of benzene (CAS No. 71-43-2) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Technical Report Series No. 289. NIH Publication No. 86-2545. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC.
- NTP, National Toxicology Program (2007). Report on toxicology and carcinogenesis study of benzene (CAS No. 71-43-2) in genetically modified haploinsufficient p16Ink4a/p19Arf mice (gavage study). Report No. 08-4425. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC.
- Orsi L., Monnereau A., Dananche B. i in. (2010). Occupational exposure to organic solvents and lymphoid neoplasms in men: results of a French case-control study. *Occup. Environ. Med.* 67(10), 664–672.
- OSHA, Occupational Safety and Health Administration (1985). Occupational exposure to benzene. Proposed rule and notice of hearing. *Fed. Reg.* 50, 50512–50586 [cyt. za: ACGIH 2001b].
- OSHA, Occupational Safety and Health Administration (1987). Title 29, Code of Federal Regulations, Part 1910.1028, Occupational Exposure to Benzene; Final Rule, Part II. *Fed. Reg.* 52(176), 34460-34578 [cyt. za: ACGIH 2001b].
- OSHA, Occupational Safety and Health Administration (2017). Title 29, Code of Federal Regulations, Part 1910.1028, Occupational exposure to benzene.
- Ott G.M., Townsend J.C., Fishbeck W.A. i in. (1978). Mortality among individuals occupationally exposed to benzene. *Arch. Environ. Health* 33(1), 3–10.
- Parke D.V. (1989). Introduction: session on metabolism. *Environ. Health Perspect.* 82, 7–8.
- Parke D.V., Williams R.T. (1953). Studies in detoxication: 49. The metabolism of benzene containing [<sup>14</sup>C]. *Biochem. J.* 54(2), 231–238.
- Paustenbach D.J., Price P.S., Ollison W. i in. (1992). Reevaluation of benzene exposure for the Pliofilm (rubber-worker) cohort (1936–1976). *J. Toxicol. Environ. Health* 36(3), 177–231 [cyt. za: ACGIH 2001].
- Paxton M.B., Chinchilli V.M., Brett S.M. i in. (1994). Leukemia risk associated with benzene exposure in the pliofilm cohort: II. Risk estimates. *Risk Anal.* 14(2), 155–161 [cyt. za: ACGIH 2001].
- Pekari K., Vainiotalo S., Heikkilä P. i in. (1992). Biological monitoring of occupational exposure to low levels of benzene. *Scand. J. Work Environ. Health* 18(5), 317–322.
- Pfeifer R.W., Irons R.D. (1983). Alteration of lymphocyte function by quinones through sulfhydryl-dependent disruption of microtubule assembly. *Int. J. Immunopharmacol.* 5(5), 463–470.

- Philip P., Jensen M.K. (1970). Benzene induced chromosome abnormalities in rat bone marrow cells. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. A* 78(4), 489–490.
- Pitarque M., Carbonell E., Lapeña N. i in. (1996). No increase in micronuclei frequency in cultured blood lymphocytes from a group of filling station attendants. *Mutat. Res. Genet. Toxicol.* 367(3), 161–167.
- Podręczny słownik chemiczny (2004). [Red.:] R. Hassa, J. Mrzigod, J. Nowakowski. Katowice, Videograf II.
- Popp W., Rauscher D., Müller G. i in. (1994). Concentrations of benzene in blood and S-phenylmercapturic and t,t-muconic acid in urine in car mechanics. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 66(1), 1–6.
- Purcell K.J., Cason G.H., Gargas M.L. i in. (1990). In vivo metabolic interactions of benzene and toluene. *Toxicol. Lett.* 52(2), 141–152.
- Pushkina N.N., Gofmekler V.A., Klevtsov G.N. (1968). Changes in content of ascorbic acid and nucleic acids produced by benzene and formaldehyde. *Bull. Exp. Biol. Med.* 66, 51–53 [cyt. za: EPA 2002].
- Qu Q., Shore R., Li G. i in. (2002). Hematological changes among Chinese workers with a broad range of benzene exposure. *Am. J. Ind. Med.* 42(4), 275–285.
- Qu Q., Shore R., Li G. i in. (2003a). Validation and evaluation of biomarkers in workers exposed to benzene in China. *Res. Rep. Health Eff. Inst.* (115), 1–72; discussion 73–87 [cyt. za: Toxicology profile... 2007].
- Qu Q., Shore R., Li G. i in. (2003b). Appendix A: Analyses of the combined data for year 1 and year 2. Validation and evaluation of biomarkers in workers exposed to benzene in China. Health Effects Institute, Boston, MA, 1–54. Research number 115 [cyt. za: Toxicology profile... 2007].
- Rao N.R., Snyder R. (1995). Oxidative modifications produced in HL-60 cells on exposure to benzene metabolites. *J. Appl. Toxicol.* 15(5), 403–409.
- Rappaport S.M., Waidyanatha S., Qu Q. i in. (2002a). Albumin adducts of benzene oxide and 1,4-benzoquinone as measures of human benzene metabolism. *Cancer Res.* 62(5), 1330–1337.
- Rappaport S.M., Yeowell-O'Connor K., Smith M.T. i in. (2002b). Non-linear production of benzene oxide-albumin adducts with human exposure to benzene. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 778(1–2), 367–374.
- Rappaport S.M., Kim S., Lan Q. i in. (2009). Evidence that humans metabolize benzene via two pathways. *Environ. Health Perspect.* 1(6), 946–952.
- Ray M.R., Roychoudhury S., Mukherjee S. i in. (2007). Occupational benzene exposure from vehicular sources in India and its effect on hematology, lymphocyte subsets and platelet P-selectin expression. *Toxicol. Ind. Health* 23(3), 167–175.
- Renz J.F., Kalf G.F. (1991). Role for interleukin-1 (IL-1) in benzene-induced hematotoxicity: inhibition of conversion of pre-IL-1alpha to mature cytokine in murine macrophages by hydroquinone and prevention of benzene-induced hematotoxicity in mice by IL-1alpha. *Blood* 78(4), 938–944.
- Rhomberg L., Goodman J., Tao G. i in. (2016). Evaluation of acute nonlymphocytic leukemia and its subtypes with updated benzene exposure and mortality estimates: a lifetable analysis of the Pliofilm cohort. *J. Occup. Environ. Med.* 58(4), 414–420.
- Rickert D.E., Baker T.S., Bus J.S. i in. (1979). Benzene disposition in the rat after exposure by inhalation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 49(3), 417–423.
- Rinsky R.A. (1989). Benzene and leukemia: an epidemiologic risk assessment. *Environ. Health Perspect.* 82, 189–191.
- Rinsky R.A., Smith A.B., Hornung R. i in. (1987). Benzene and leukemia: an epidemiologic risk assessment. *N. Engl. J. Med.* 316(17), 1044–1050.
- Rinsky R.A., Young R.J., Smith A.B. (1981). Leukemia in benzene workers. *Am. J. Ind. Med.* 2(3), 217–245 [cyt. za: ACGIH 2001].
- Rivedal E., Witz G. (2005). Benzene metabolites block gap junction intercellular communication. Role in hematotoxicity and leukemia? *Chem. Biol. Interact.* 153–154, 257–260.
- Robinson S.N., Shah R., Wong B.A. i in. (1997). Immunotoxicological effects of benzene inhalation in male Sprague-Dawley rats. *Toxicology* 119(3), 227–237.
- RoC (2016). Report on Carcinogens, Benzene, 14th editions.
- Rothman N. Li G-L., Dosemeci M. i in. (1996). Hematotoxicity among Chinese workers heavily exposed to benzene. *Am. J. Ind. Med.* 29(3), 236–246.
- Rothman N., Smith M.T., Hayes R.B. i in. (1997). Benzene poisoning, a risk factor for hematological malignancy, is associated with the NQO1 609C forward T mutation and rapid fractional excretion of chlorzoxazone. *Cancer Res.* 57(14), 2839–2842.
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 24 lipca 2012 r. w sprawie substancji chemicznych, ich mieszanin, czynników lub procesów technologicznych o działaniu rakotwórczym lub mutagennym w środowisku pracy (tekst jednolity DzU z 2016 r., poz. 1117)
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1907/2006 z dnia 18 grudnia 2006 r. w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów (REACH), utworzenia Europejskiej Agencji Chemikaliów, zmieniające dyrektywę 1999/45/WE oraz uchylające rozporządzenie Rady (EWG) nr 793/93 i rozporządzenie Komisji (WE) nr 1488/94, jak również dyrektywę Rady 76/769/EWG i dyrektywę Komisji 91/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/WE i 2000/21/WE (w wersji sprostowanej Dz. Urz. UE L 136 z 29.05.2007 r., s. 3 z późn. zm.).

- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 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 (Dz. Urz. UE L 353 z dnia 31.12.2008 r.).
- Rozporządzenie REACH (2008). Rozporządzenie REACH w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów. Załącznik XVII. Ograniczenia dotyczące produkcji, wprowadzania do obrotu i stosowania niektórych niebezpiecznych substancji, preparatów i wyrobów.
- Rushmore T., Snyder R., Kalf G. (1984). Covalent binding of benzene and its metabolites to DNA in rabbit bone marrow mitochondria in vitro. *Chem. Biol. Interact.* 49(1–2), 133–154.
- Sabourin P.J., Chen B.T., Lucier G. i in. (1987). Effect of dose on the absorption and excretion of [C14]benzene administered orally or by inhalation in rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 87(2), 325–336.
- Sabourin P.J., Bechtold W.E., Birnbaum L.S. i in. (1988). Differences in the metabolism and disposition of inhaled [3H] benzene by F344/N rats and B6C3F1 mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 94(1), 128–140.
- Sabourin P.J., Bechtold W.E., Griffith W. i in. (1989). Effect of exposure concentration, exposure rate, and route of administration on metabolism of benzene by F344 rats and B6C3F1 mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 99(3), 421–444.
- Sabourin P.J., Muggenburg B.A., Couch R.C. i in. (1992). Metabolism of 14C benzene by cynomolgus monkeys and chimpanzees. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 114(2), 277–284.
- Sammatt D., Lee E.W., Koscis J.J. i in. (1979). Partial hepatectomy reduces both the metabolism and toxicity of benzene. *J. Toxicol. Environ. Health* 5(5), 785–792.
- Sarto F., Cominato I., Pinton A.M. i in. (1984). A cytogenetic study on workers exposed to low concentrations of benzene. *Carcinogenesis* 5(6), 827–832.
- Sasiadek M., Jagielski J., Smolik R. (1989). Localization of breakpoints in the karyotype of workers professionally exposed to benzene. *Mutat. Res.* 224(2), 235–240.
- Sasiadek M., Jagielski J. (1990). Genotoxic effects observed in workers occupationally exposed to organic solvents. *Pol. J. Occup. Med.* 3(1), 103–108.
- Sato A. (1988). Toxicokinetics of benzene, toluene and xylenes. *IARC Sci. Publ.* 85, 47–64.
- Sato A., Nakajima T., Fujiwara Y., Murayama N. (1975). Kinetic studies on sex difference in susceptibility to chronic benzene intoxication - with special reference to body fat content. *Br. J. Ind. Med.* 32(4), 321–328.
- Schlosser M.J., Kalf G.F. (1989). Metabolic activation of hydroquinone by macrophage peroxidase. *Chem. Biol. Interact.* 72(1–2), 191–207.
- Schlosser P.M., Bond J.A., Medinsky M.A. (1993). Benzene and phenol metabolism by mouse and rat liver microsomes. *Carcinogenesis* 14(12), 2477–2486.
- Schmid T.E., Eskenazi B., Marchetti F. i in. (2006). Increased human DNA strand damage is associated with occupational exposure to benzene. *Environ. Mol. Mutagen.* 47(6), 418.
- Schnatter A.R., Nicholich M.J., Bird M.G. (1996). Determination of leukemogenic benzene exposure concentrations: refined analyses of the Pliofilm cohort. *Risk Anal.* 16(6), 833–840 [cyt. za: ACGIH 2001].
- Schnatter A.R., Kerzic P.J., Zhou Y. i in. (2010). Peripheral blood effects in benzene-exposed workers. *Chem. Biol. Interact.* 184(1–2), 174–181.
- Schnatter A.R., Glass D.C., Tang G. i in. (2012). Myelodysplastic syndrome and benzene exposure among petroleum workers: an international pooled analysis. *J. Natl. Cancer Inst.* 10(22)4, 1724–1737.
- Schnatter A.R., Rooseboom M., Kocabas N.A. i in. (2020). Derivation of an occupational exposure limit for benzene using epidemiological study quality assessment tools. *Toxicol. Lett.* 334, 117–144.
- Schnier G.C., Laethem C.L., Koop D.R. (1989). Identification and induction of cytochromes P450, P450IIE1 and P450IA1 in rabbit bone marrow. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 251(2), 790–796.
- Schrenk H.H., Yant W.P., Pearce S.J. i in. (1941). Absorption, distribution, and elimination of benzene by body tissues and fluids of dogs exposed to benzene vapor. *J. Ind. Hyg. Toxicol.* 23, 20–34.
- SCOEL, Scientific Committee on Occupational Exposure Limits (1991). Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for benzene. *SCOEL/SUM/140*.
- SCOEL, Scientific Committee on Occupational Exposure Limits (2014). List of recommended health-based biological limit values (BLVs) and biological guidance values (BGVs).
- Seixas G.M., Andon B.M., Hollingshead P.G. i in. (1982). The aza-arenes as mutagens for *Salmonella typhimurium*. *Mutat. Res.* 102(3), 201–212.
- Serrano M., Lee H., Chin L. i in. (1996). Role of the INK4a locus in tumor suppression and cell mortality. *Cell* 85(1), 27–37.
- Sharma R.K., Jacobsen-Kram D., Lemmon M. i in. (1985). Sister-chromatid exchange and cell replication kinetics in fetal and maternal cells after treatment with chemical teratogens. *Mutat. Res.* 158(3), 217–231.
- Sherwood R.J. (1988). Pharmacokinetics of benzene in a human after exposure at about the permissible limit. *Ann. NY Acad. Sci.* 534, 635–647.
- Sigma-Aldrich (2013). Karta charakterystyki: benzen.

- Siou G., Conan L., el Haitem M. (1981). Evaluation of the clastogenic action of benzene by oral administration with 2 cytogenetic techniques in mouse and Chinese hamster. *Mutat. Res.* 90(3), 273–278.
- Skowronski G.A., Turkall R.M., Abdell-Rahman M.S. (1988). Soil adsorption alters bioavailability of benzene in dermally exposed male rats. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 49(10), 506–511.
- Smith M.T. (1996). The mechanism of benzene-induced leukemia: a hypothesis and speculations on the causes of leukemia. *Environ. Health Perspect.* 104(Suppl. 6), 1219–1225.
- Smith M.T., Yager J.W., Steinmetz K. i in. (1989). Peroxidase-dependent metabolism of benzene's phenolic metabolites and its potential role in benzene toxicity and carcinogenicity. *Environ. Health Perspect.* 82, 23–29.
- Smith M.T., Zhang L., Wang Y. i in. (1998). Increased translocations and aneusomy in chromosomes 8 and 21 among workers exposed to benzene. *Cancer Res.* 58(10), 2176–2181.
- Smith M.T., Zhang L., Jeng M. i in. (2000). Hydroquinone, a benzene metabolite, increases the level of aneusomy of chromosomes 7 and 8 in human CD34-positive blood progenitor cells. *Carcinogenesis* 21(8), 1485–1490.
- Snyder R., Jowa L., Witz G. i in. (1987). Formation of reactive metabolites from benzene. *Arch. Toxicol.* 60(1–3), 61–64.
- Snyder R., Dimitriadis E., Guy R. i in. (1989). Studies on the mechanism of benzene toxicity. *Environ. Health Perspect.* 82, 31–35.
- Snyder R., Chepiga T., Yang C.S. i in. (1993). Benzene metabolism by reconstituted cytochromes P450, 2B1, and 2E1 and its modulation by cytochrome b5, microsomal epoxide hydrolase, and glutathione transferases: evidence for an important role of microsomal epoxide hydrolase in the formation of hydroquinone. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 122(2), 172–181.
- Snyder R., Hedli C.C. (1996). An overview of benzene metabolism. *Environ. Health Perspect.* 104(Suppl. 6), 1165–1171.
- Spycher B.D., Lupatsch J.E., Huss A. i in. (2017). Parental occupational exposure to benzene and the risk of childhood cancer: a census-based cohort study. *Environ. Int.* 108, 84–91.
- Srbova J., Teisniger J., Skramovsky S. (1950). Absorption and elimination of inhaled benzene in man. *Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.* 2(1), 1–8.
- Starek A. Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego: benzen [71-43-2] [praca nieopublikowana].
- Stenehjem J.S., Kjaerheim K., Bråtveit M. i in. (2015). Benzene exposure and risk of lymphohaematopoietic cancers in 25 000 offshore oil industry workers. *Br. J. Cancer* 112(9), 1603–1612.
- Stillman W.S., Varella-Garcia M., Gruntmeir J.J. i in. (1997). The benzene metabolite, hydroquinone, induces dose-dependent hypoploidy in a human cell line. *Leukemia* 11(9), 1540–1545.
- Subrahmanyam V.V., Doane-Setzer P., Steinmetz K. i in. (1990). Phenol-induced stimulation of hydroquinone bioactivation in mouse bone marrow in vivo: possible implications in benzene myelotoxicity. *Toxicology* 62(1), 107–116.
- Subrahmanyam V.V., Kolanchana P., Smith M.T. (1991). Hydroxylation of phenol to hydroquinone catalyzed by a human myeloperoxidase-superoxide complex: possible implications in benzene myelotoxicity. *Free Radic. Res. Comm.* 15(5), 285–296.
- Sul D., Lee E., Le M.-Y. i in. (2005). DNA damage in lymphocytes of benzene exposed workers correlates with trans,trans-muconic acids and breath benzene levels. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 582(1–2), 61–70.
- Sun W., Gong Z., Li X. (1992). Effect of low benzene exposure on neurobehavioral function, AchE in blood and brain and bone marrow picture in mice. *Biomed. Environ. Sci.* 5(4), 349–354.
- Sun R., Zhang J., Yin L. i in. (2014). Investigation into variation of endogenous metabolites in bone marrow cells and plasma in C3H/He mice exposed to benzene. *Int. J. Mol. Sci.* 15(3), 4994–5010.
- Sun R., Zhang J., Xiong M. i in. (2015). Altered expression of genes in signaling pathways regulating proliferation of hematopoietic stem and progenitor cells in mice with subchronic benzene exposure. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 12(8), 9298–9313.
- Sun R., Zhang J., Wei H. i in. (2017). Acetyl-L-carnitine partially prevents benzene-induced hematotoxicity and oxidative stress in C3H/He mice. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 51, 108–113.
- Susten A.S., Dames B.L., Burg J.R. i in. (1985). Percutaneous penetration of benzene in hairless mice: An estimate of dermal absorption during tire-building operations. *Am. J. Ind. Med.* 7(4), 323–335.
- Swaen G.M.H., van Amelsvoort L., Twisk J.J. i in. (2010). Low level occupational benzene exposure and hematological parameters. *Chem. Biol. Interact.* 184(1–2), 94–100.
- Szajewski J., Feldman R., Glińska-Serawin M. (2000). Leksykon ostrych zatruc. Warszawa, PZWL, 150–151.
- Sze C.C., Shi C.Y., Ong C.N. (1996). Cytotoxicity and DNA strand breaks induced by benzene and its metabolites in Chinese hamster ovary cells. *J. Appl. Toxicol.* 16(3), 259–264.
- Tátrai E., Ungváry G., Hudák A. i in. (1980a). Concentration dependence of the embryotoxic effects of benzene inhalation in CFY rats. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 24(3), 363–371 [cyt. za: DECOS 2014].
- Tátrai E., Rodics K., Ungváry G. (1980b). Embryotoxic effects of simultaneously applied exposure of benzene and toluene. *Folia Morphol. (Praha)* 28(3), 286–289 [cyt. za: DECOS 2014].
- Teisinger J., Fiserova-Bergerova V., Kudrna J. (1952). [The metabolism of benzene in man]. *Prac. Lek.* 4(3), 175–188 [cyt.

- za: Draft - Extrapolation of the Benzene Inhalation, Unit Risk Estimate to the Oral Route of Exposure, 1999].
- Thienes H., Haley T.J.* (1972). Clinical toxicology. 5th ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 124–127 [cyt. za: EPA 2002].
- Tice R.R., Costa D.L., Drew R.T.* (1980). Cytogenetic effects of inhaled benzene in murine bone marrow: induction of sister chromatid exchanges, chromosomal aberrations, and cellular proliferation inhibition in DBA/2 mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77(4), 2148–2152.
- Tice R.R., Vogt T.F., Costa D.L.* (1982). Cytogenetic effects of inhaled benzene in murine bone marrow. *Environ. Sci. Res.* 25, 257–275.
- Topham J.C.* (1980). Do induced sperm-head abnormalities in mice specifically identify mammalian mutagens rather than carcinogens? *Mutat. Res.* 74(5), 379–387.
- Toxicological profile of benzene (1997). U.S. Department of Health and Human Service [cyt. za: *Lebrecht* i in. 2003].
- Toxicological profile for benzene (2007). U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Travis C.C., Quillen J.L., Arms A.D.* (1990). Pharmacokinetics of benzene. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 102(3), 400–420.
- Triskelion Report Summary (2019). Socio-economic analysis of proposed occupational exposure limit for benzene, [https://www.aromaticsonline.eu/uploads/Modules/Publications/sea-benzene-final\\_20190314---summary.pdf\\_\[data dostępu: 27.05.2022\]](https://www.aromaticsonline.eu/uploads/Modules/Publications/sea-benzene-final_20190314---summary.pdf_[data dostępu: 27.05.2022]).
- Tsai S.P., Fox E.E., Ransdell J.D.* i in. (2004). A hematology surveillance study of petrochemical workers exposed to benzene. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 40(1), 67–73,
- Tsuruta H.* (1989). Skin absorption of organic solvent vapors in nude mice in vivo. *Ind. Health* 27(2), 37–47.
- Tsutsui T., Hayashi N., Maizumi H.* i in. (1997). Benzene-, catechol-, hydroquinone- and phenol-induced cell transformation, gene mutations, chromosome aberrations, aneuploidy, sister chromatid exchanges and unscheduled DNA synthesis in Syrian hamster embryo cells. *Mutat. Res.* 373(1), 113–123.
- Tunek A., Högstedt B., Olofsson T.* (1982). Mechanism of benzene toxicity: effects of benzene and benzene metabolites on bone marrow cellularity, number of granulopoietic stem cells and frequency of micronuclei in mice. *Chem. Biol. Interact.* 39(2), 129–138.
- Tunsaringkarn T., Suwansaksri J., Soogarun S.* i in. (2011). Genotoxic monitoring and benzene exposure assessment of gas-line station workers in metropolitan Bangkok: sister chromatid exchange (SCE) and urinary trans, trans-muconic acid (t,t-MA). *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 12(1), 223–227.
- Turteltaub K.W., Mani C.* (2003). Benzene metabolism in rodents at doses relevant to human exposure from urban air. Health Effects Institute, Boston, MA. Research Report 113 [cyt. za: Toxicological profile... 2007].
- Ungváry G., Donath T.* (1984). Effect of benzene and its methyl-derivatives (toluene, p-xylene) on post ganglionic noradrenergic nerves. *Z. Mikrosk-Anat. Forsch.* 98, 755–763 [cyt. za: EPA 2002].
- Ungváry G., Tátrai E.* (1985). On the embryotoxic effects of benzene and its alkyl derivatives in mice, rats and rabbits. *Arch. Toxicol. Suppl.* 8, 425–430 [cyt. za: DECOS 2014].
- US EPA (1998). Carcinogenic effects of benzene: an update. National Center for Environmental Health, Office of Research and Development. Washington DC. EPA/600/P-97/001F [cyt. za: IRIS 2000].
- US EPA (2000). Integrated Risk Information System (IRIS). Benzene; CASRN 71-43-2
- Valentine J.L., Lee S.S., Seaton M.J.* i in. (1996). Reduction of benzene metabolism and toxicity in mice that lack CYP2E1 expression. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 14(1), 205–213.
- Van Sittert N.J., Boogaard P.J., Beulink G.D.* (1993). Application of the urinary S-phenylmercapturic acid test as a biomarker for low levels of exposure to benzene in industry. *Br. J. Ind. Med.* 50(5), 460–469 [cyt. za: BEI 2020].
- Verma Y., Rana S.V.* (2008). Effects of progesterone on benzene toxicity in rats. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 59(1), 1–9.
- Vigliani E.C.* (1976). Leukemia associated with benzene exposure. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 271, 143–151.
- Vinceti M., Rothman K.J., Crespi C.M.* i in. (2012). Leukemia risk in children exposed to benzene and PM10 from vehicular traffic: a case-control study in an Italian population. *Eur. J. Epidemiol.* 27(10), 781–790.
- Wang J., Guo X., Chen Y.* i in. (2021). Association between benzene exposure, serum levels of cytokines and hematological measures in Chinese workers: a cross-sectional study. *Eco-toxicol. Environ. Saf.* 207, 111562.
- Ward C.O., Kuna R.A., Snyder N.K.* i in. (1985). Subchronic inhalation toxicity of benzene in rats and mice. *Am. J. Ind. Med.* 7(5–6), 457–473.
- Weisel C.* (2010). Benzene exposure: an overview of monitoring methods and their findings. *Chem. Biol. Interact.* 184(1–2), 58–66.
- Wells M.S., Nerland D.E.* (1991). Hematotoxicity and concentration-dependent conjugation of phenol in mice following inhalation exposure to benzene. *Toxicol. Lett.* 56(1–2), 159–166.
- Whysner J., Vijayaraj Reddy M., Ross P.M.* i in. (2004). Genotoxicity of benzene and its metabolites. *Mutat. Res., Rev. Mutat. Res.* 566(2), 99–130.
- Wiertelorz J.* (2019). Rola benzolu na rynku benzenu. XXVII Konferencja „Koksownictwo”, 3-5.10.2019, Wisła.
- Williams P.R., Sahmel J., Knutsen J.* i in. (2011). Dermal absorption of benzene in occupational settings: estimating flux and applications for risk assessment. *Crit. Rev. Toxicol.* 41(2), 111–142.

- Winn L.M. (2003). Homologous recombination initiated by benzene metabolites: a potential role of oxidative stress. *Toxicol. Sci.* 72(1), 143–149.
- Withey R.J., Hall J.W. (1975). The joint toxic action of perchloroethylene with benzene or toluene in rats. *Toxicology* 4(1), 5–15.
- Witz G., Rao G.S., Goldstein B.D. (1985). Short-term toxicity of trans,trans-muconaldehyde. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 80(3), 511–516.
- Witz G., Gad S.C., Tice R.R. i in. (1990a). Genetic toxicity of the benzene metabolite trans,trans-muconaldehyde in mammalian and bacterial cells. *Mutat. Res.* 240(4), 295–306.
- Witz G., Kirley T.A., Maniara W.M. i in. (1990b). The metabolism of benzene to muconic acid, a potential biological marker of benzene exposure. *Biol. React. Inter.* IV 283, 613–618.
- Witz G., Zhang Z., Goldstein B.D. (1996). Reactive ring-opened aldehyde metabolites in benzene hematotoxicity. *Environ. Health Perspect.* 104(Suppl 6), 1195–1199.
- Xing C., Marchetti F., Li G. i in. (2010). Benzene exposure near the U.S. permissible limit is associated with sperm aneuploidy. *Environ. Health Perspect.* 118(6), 833–839.
- Ye L., Zhang G., Huang J. i in. (2015). Are polymorphisms in metabolism protective or a risk for reduced white blood cell counts in a Chinese population with low occupational benzene exposures? *Int. J. Occup. Environ. Health* 21, 232–240.
- Yeowell-O'Connell K., Rothman N., Smith M.T. i in. (1998). Hemoglobin and albumin adducts of benzene oxide among workers exposed to high levels of benzene. *Carcinogenesis* 19(9), 1565–1571.
- Yin S. (1995). A cohort study of cancer among benzene exposed workers in China: overall results. Presented at the International Conference on the Toxicity, Carcinogenesis and Epidemiology of Benzene. Environmental and Occupational Health Sciences Institute, Piscataway, NJ [cyt. za: ACGIH 2001b].
- Yin S., Li G., Hu Y. i in. (1987a). Symptoms and signs of workers exposed to benzene, toluene or the combination. *Ind. Health*, 25(3), 113–130.
- Yin S.N., Li Q., Tian F. i in. (1987b). Occupational exposure to benzene in China. *Br. J. Ind. Med.* 44(3), 192–195.
- Yin S.N., Li G.L., Tain F.D. i in. (1987c). Leukemia in benzene workers: a retrospective cohort study. *Br. J. Ind. Med.* 44(2), 124–128.
- Yin S.N., Li G.L., Tain F.D. i in. (1989). A retrospective cohort study of leukemia and other cancers in benzene workers. *Environ. Health Perspect.* 82, 207–213.
- Yin S.N., Hayes R.B., Linet M.S. i in. (1996). A cohort study of cancer among benzene-exposed workers in China: overall results. *Am. J. Ind. Med.* 29(3), 227–235.
- Yoon J.-H., Kwak W.S., Ahn Y.-S. (2018). A brief review of relationship between occupational benzene exposure and hematopoietic cancer. *Ann. Occup. Environ. Med.* 30, 33–38.
- Yu R., Weisel C.P. (1996). Measurement of benzene in human breath associated with an environmental exposure. *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol.* 6(3), 261–77.
- Zarani F., Papazafiri P., Kappas A. (1999). Induction of micronuclei in human lymphocytes by organic solvents in vitro. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 18(1), 21–28.
- Zhang L., Robertson M.L., Kolachana P. i in. (1993). Benzene metabolite, 1,2,4-benzenetriol, induces micronuclei and oxidative DNA damage in human lymphocytes and HL60 cells. *Environ. Mol. Mutagen.* 21(4), 339–348.
- Zhang L., Rothman N., Wang Y. i in. (1996). Interphase cytogenetics of workers exposed to benzene. *Environ. Health Perspect.* 104(Suppl 6), 1325–1329.
- Zhang Z., Cooper K., Goldstein B.D. i in. (1997). Distribution studies in CD-1 mice administered [<sup>14</sup>C]muconaldehyde. *Arch. Toxicol.* 71(11), 703–708.
- Zhang L., Rothman N., Wang Y. i in. (1998a). Increased aneusomy and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in the lymphocytes of Chinese workers exposed to benzene. *Carcinogenesis* 19(11), 1955–1961.
- Zhang L., Wang Y., Shang N. i in. (1998b). Benzene metabolites induce the loss and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in human lymphocytes. *Leuk. Res.* 22(2), 105–113.
- Zhang L., Rothman N., Wang Y. i in. (1999). Benzene increases aneuploidy in the lymphocytes of exposed workers: a comparison of data obtained by fluorescence in situ hybridization in interphase and metaphase cells. *Environ. Mol. Mutagen.* 34(4), 260–268.
- Zhang L., Lan Q., Guo W. i in. (2005). Use of OctoChrome fluorescence in situ hybridization to detect specific aneuploidy among all 24 chromosomes in benzene-exposed workers. *Chem. Biol. Interact.* 153–154, 117–122.
- Zhang L., Rothman N., Li G. i in. (2007). Aberrations in chromosomes associated with lymphoma and therapy-related leukemia in benzene-exposed workers. *Environ. Mol. Mutagen.* 48(6), 467–474.
- Zhang L., Lan Q., Guo W. i in. (2011). Chromosome-wide aneuploidy study (CWAS) in workers exposed to an established leukemogen, benzene. *Carcinogenesis* 32(4), 605–612.
- Zhang L., Lan Q., Ji Z. i in. (2012). Leukemia-related chromosomal loss detected in hematopoietic progenitor cells of benzene-exposed workers. *Leukemia* 26(12), 2494–2498.

Zhang G., Ye L., Wang J. i in. (2014). Effect of polymorphic metabolizing genes on micronucleus frequencies among benzene-exposed shoe workers in China. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 217(7), 726–732.

**Adres do korespondencji/Contact details:**

prof. dr hab. JADWIGA SZYMAŃSKA  
e-mail: [jadwiga.szymanska@umed.lodz.pl](mailto:jadwiga.szymanska@umed.lodz.pl)  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
90-151 Łódź, ul. J. Muszyńskiego 1  
POLAND





## ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA W NARAŻENIU NA BENZEN

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: szpik kostny, układ nerwowy, w zależności od wskazań konsultacja neurologiczna.

Badania pomocnicze: morfologia krwi z rozmazem, płytki krwi.

### Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: szpik kostny, układ nerwowy, w zależności od wskazań konsultacja neurologiczna.

Badania pomocnicze: morfologia krwi z rozmazem, płytki krwi.

Częstotliwość badań okresowych: pierwsze badanie po 6 miesiącach, następne co 12 miesięcy.

### Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: szpik kostny, układ nerwowy, w zależności od wskazań konsultacja neurologiczna.

Badania pomocnicze: morfologia krwi z rozmazem, płytki krwi.

### Uwaga

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 osoby przyjmowanej do pracy lub pracownika.

### Narządy (układy) krytyczne

Narządami (układami) krytycznymi podczas pracy w narażeniu na benzen są:

- układ krwiotwórczy,
- układ nerwowy.

### Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami do zatrudnienia w narażeniu na benzen są:

- choroby układu krwiotwórczego przebiegające ze zmniejszeniem liczby jednego lub więcej elementów komórkowych krwi obwodowej (m.in.: niedokrwistość, trombocytopenia, leukopenia, pancytopenia),
- choroby ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego,
- istotne zaburzenia odporności.

### Uwaga

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.

Benzen jest czynnikiem o udowodnionym działaniu rakotwórczym dla ludzi – konieczne przedłużenie opieki profilaktycznej poza okres pracy zawodowej oraz informowanie pracowników o zwiększonym ryzyku zachorowania na nowotwory. W narażeniu na benzen nie wolno zatrudniać pracowników młodocianych oraz kobiet w ciąży i karmiących piersią, ponieważ jest on sklasyfikowany jako czynnik rakotwórczy kategorii zagrożenia 1A (Carc. 1A).

W badaniu okresowym wskazane oznaczenie wskaźnika narażenia: stężenia benzenu w moczu oraz kwasu S-fenylomerkapturowego w moczu.