

**Zespół Ekspertów
ds. Czynników Chemicznych i Pyłowych
Międzyresortowej Komisji
ds. NDS i NDN**

Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego¹

2-TOLILOAMINA (*o*-toluidyna)

[95-53-4]

NDS	0,5 mg/m³
NDSch	nie ustalono
NDSP	nie ustalono
DSB	2% MetHb
Skóra	wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową
Carc. 1B	substancja rakotwórcza kategorii 1B

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 24-26.10.2017 r.
Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN:

¹ Opracowano na podstawie wyników IV etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2017-2019 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Narodowe Centrum Badań i Rozwoju. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

STRESZCZENIE

2-Toliloamina jest substancją wielkotonazową stosowaną w przemyśle gumowym, barwiarskim, farmaceutycznym oraz do produkcji herbicydów i jako surowiec do przemysłowej produkcji innych związków chemicznych. Szacowana liczba osób zawodowo narażonych na 2-toliloaminę w UE wynosi 5500, z czego ponad połowa jest zatrudniona w przemyśle chemicznym, przy produkcji włókien chemicznych oraz produktów gumowych.

W warunkach narażenia zawodowego 2-toliloamina wchłania się do organizmu drogą inhalacyjną i przez skórę, i niezależnie od drogi narażenia związek ten wydalany jest głównie z moczem.

Wśród skutków ostrego inhalacyjnego narażenia na duże stężenia 2-toliloaminy ($>25 \text{ mg/m}^3$) są opisywane: podrażnienie górnych dróg oddechowych, oczu i skóry objawiające się uczuciem pieczenia twarzy, oczu, gardła oraz kaszlem, skrócenie oddechu, osłabienie, nudności, wymioty, bóle i zawroty głowy, szum w uszach, methemoglobinemia, hematuria i zaburzenia czynności nerek oraz krwotoczne zapalenie pęcherza moczowego.

W badaniach epidemiologicznych analizowano najczęściej grupę substancji, jaką są aminy aromatyczne (w tym 2-toliloamina). Dostępne dane dotyczą głównie narażenia w przemyśle barwiarskim oraz gumowym. Jako skutki narażenia przewlekłego opisywano: methemoglobinemię, hematurię oraz uszkodzenie nabłonka pęcherza moczowego z czasem prowadzące do rozwoju nowotworów złośliwych tego narządu.

Działanie rakotwórcze 2-toliloaminy zostało również potwierdzone w szeregu badań przeprowadzonych na zwierzętach doświadczalnych w tym na szczurach i myszach. Narażenie drogą pokarmową na 2-toliloaminę wywoływało nowotwory pęcherza moczowego przede wszystkim u samic szczura, w mniejszym stopniu u samców. U samic szczura F344, narażanych wraz z paszą na 2-toliloaminę, obserwowano statystycznie znamienne, zależny od dawki, wzrost częstości występowania raka z komórek przejściowych pęcherza moczowego. Ponadto u myszy i szczurów występowały: włókniaki i włókniakomięsaki w tkance podskórnej, naczyniaki i naczyniakomięsaki zlokalizowane w jamie brzusznej i pęcherzu moczowym, międzybłoniaki różnych narządów, mięsakonaczyniaki w różnych narządach, raki z komórek wątrobowych i gruczolaki.

U zwierząt doświadczalnych 2-toliloamina wykazuje umiarkowaną toksyczność ostrą, wartości DL_{50} dla podania dożołądkowego mieszczą się w przedziale $670 \div 2951 \text{ mg/kg mc}$. W badaniach toksyczności ostrej u szczurów narażanych inhalacyjnie obserwowano: sinicę, skurcze i drżenia mięśni, trudności w oddychaniu, czerwono-brązowy wyciek z nosa, zmętnienie rogówki, spadek masy ciała, obniżenie temperatury ciała, ospałość, skrajne wyczerpanie. Opisane w literaturze skutki narażenia podprzewlekłego i przewlekłego zwierząt doświadczalnych na 2-toliloaminę obejmują zmiany w obrębie śledziony, układu krwiotwórczego oraz nerek i pęcherza moczowego.

Większość badań mutagenności w układach bakteryjnych nie potwierdza działania mutagennego 2-toliloaminy, jedynie nieliczne prace opisują wynik dodatni testów po aktywacji metabolicznej. Zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* potwierdzono natomiast indukcję uszkodzeń DNA przez 2-toliloaminę.

2-Toliloamina posiada klasyfikację zharmonizowaną w UE jako rakotwórcza kategorii 1B z przypisanym zwrotem H350 – może powodować raka. Eksperti SCOEL zaliczyli ją

do grupy A kancerogenów czyli substancji rakotwórczych mających właściwości genotoksyczne. W Niemczech DFG zaliczyła 2-toliloaminę do kategorii 1 kancerogenów, czyli do substancji, które powodują raka u człowieka i substancji, co do których przyjmuje się, że znacząco wpływają na ryzyko wystąpienia raka. IARC zaklasyfikowała ją do grupy 1 czyli związków o potwierdzonym działaniu rakotwórczym u ludzi.

Na podstawie ilościowej oceny ryzyka wystąpienia nowotworu w wyniku narażenia zawodowego oszacowano, że w przy 40-letnim okresie narażenia na 2-toliloaminy w stężeniu 1 mg/m^3 dodatkowe ryzyko wystąpienia raka pęcherza moczowego wynosi od $2,4 - 3,1 \cdot 10^{-4}$ (w zależności od metody szacowania).

Wartości dopuszczalnych stężeń 2-toliloaminy obowiązujące w krajach członkowskich UE oraz na świecie zawierają się w 3 przedziałach: $0,5 \div 0,9 \text{ mg/m}^3$; $4,5 \div 8,8 \text{ mg/m}^3$ oraz 22 mg/m^3 . W Polsce obowiązująca wartość NDS wynosi 3 mg/m^3 . W SCOEL nie zaproponowano wiążącej wartości BOELV uznając 2-toliloaminę za genotoksyczny kancerogen. W dyrektywie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/2398 z dnia 12 grudnia 2017 r. zmieniającej dyrektywę 2004/37/WE w sprawie ochrony pracowników przed zagrożeniem dotyczącym narażenia na działanie czynników rakotwórczych lub mutagenów podczas pracy ujęto stężenie $0,5 \text{ mg/m}^3$ ($0,1 \text{ ppm}$) jako wartość wiążącą dla 2-toliloaminy (na podstawie analizy socjoekonomicznej, oceny ryzyka środowiskowego oraz ryzyka wystąpienia raka pęcherza moczowego u pracowników zawodowo narażonych).

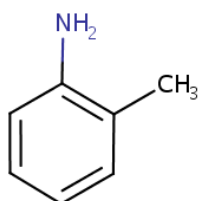
Zaproponowano zmniejszenie wartości NDS 2-toliloaminy do poziomu $0,5 \text{ mg/m}^3$, co wpłynie na blisko dziesięciokrotne zmniejszenie ryzyka zachorowania na raka pęcherza moczowego pracowników. Ponadto, zgodnie z danymi GIS w Polsce w latach 2015-2016 nie stwierdzono narażenia na 2-toliloaminę w stężeniach $> 3 \text{ mg/m}^3$ oraz $> 1,5 \text{ mg/m}^3$ ($0,5$ wartości NDS), natomiast w warunkach narażenia na stężenia z zakresu $0,3 \div 1,5 \text{ mg/m}^3$ ($0,1 \div 0,5$ wartości NDS) pracowało jedynie kilkanaście osób.

Nie ma podstaw do ustalenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh). Jako wartość dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) 2-toliloaminy zaproponowano pozostawienie jak dotychczas 2% poziomu MetHb we krwi. Normatyw oznakowano: „skóra” (wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową) oraz „Carc. 1B” (substancja rakotwórcza kategorii 1B).

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji (IARC, 2010; NTP, 2014; ECHA, 2017; HSDB 2017)

- nazwa chemiczna
- nazwa zwyczajowa 2-toliloamina
- nazwa chemiczna CAS 2-aminotoluen
- wzór sumaryczny C_7H_9N
- wzór strukturalny



- numer CAS: 95-53-4
- numer WE: 202-429-0
- numer indeksowy 612-091-00-X
- numer RTECS XU295000
- synonimy: 1-amino-2-metylobenzen; 2-amino-1-metylobenzen; 2-aminotoluen; o-aminotoluen; 1-metylo-2-aminobenzen; 2-metylo-1-aminobenzen; 2-metyloanilina; o-metyloanilina; 2-metylobenzamina; o-metylobenzamina; 2-toluidyna; 2-toliloamina; 2-metylobenzamina; metylo-2-aminobenzen; o-toluenoamina.

2-Toliloamina posiada klasyfikację zharmonizowaną, zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającym i uchylającym dyrektywy 67/648/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającym rozporządzenie WE nr 1907/2006 (tabela 3.2. załącznika VI), (Dz. Urz. UE L 353 z dnia 31.12.2008 r. z późn. zm.) i została zaklasyfikowana jako:

Tabela 1.

Klasa, kategoria zagrożenia, znaki ostrzegawcze o-toluidyny (Dz. Urz. UE L 353).

Klasa, kategoria zagrożenia	Znaki ostrzegawcze
Hasło ostrzegawcze: Niebezpieczeństwo Carc. 1B H350 Acute Tox. 3 H331 Acute Tox. 3 H301 Eye Irrit. 2 H319 Aquatic Acute 1 H400	  

Objaśnienia:

Carc. 1B – działanie rakotwórcze kategoria 1B,

Acute Tox. 3 – toksyczność ostra kategorii 3.,

Eye Irrit. 2 – działanie drażniące na oczy kategorii 2.,

H350 – może powodować raka,

H301 – działa toksycznie po połknięciu,

H331 – działa toksycznie w następstwie wdychania,
H319 – działa drażniąco na oczy,
H400 – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne

Właściwości fizykochemiczne (IARC, 2000; NTP, 2014; ECHA, 2017; HSDB 2017)

- postać i wygląd: bezbarwna lub bladożółta oleista ciecz, zabarwiająca się na kolor ciemnobrązowy pod wpływem światła i powietrza
- zapach: podobny do zapachu aniliny
- masa cząsteczkowa: 107,17
- temperatura wrzenia 200,2°C (ciśn. 760 mmHg; 1013 hPa)
- temperatura topnienia -24,4°C (forma α), (-16,3°C forma β)
[zakres -24,4°C ÷ -16,3°C]
- temperatura zapłonu 85°C (metoda tygła zamkniętego)
- temperatura samozapłonu 480°C
- gęstość 0,9984 ÷ 1,004 g/cm³
- gęstość par 3,69 (powietrze = 1)
- prężność par: 0,018 kPa (0,18 mbar) w temp. 20°C,
0,043 kPa (0,43 mbar) w temp. 30°C,
0,2 kPa (2,0 mbar) w temp. 50°C
- współczynnik podziału oktanol/woda Log Pow = 1,4 w temp. 25°C
- współczynnik załamania światła 1,5688 w temp. 20°C
- rozpuszczalność w wodzie 16,6 g/l w temp. 20°C
- rozpuszczalność w: alkoholu, eterze i tetrachloru węgla
- współczynniki przeliczeniowe: 1 ppm $\approx$ 4,38 mg/m³
(w temp. 25°C, ciśn. 101,3 kPa) 1 mg/m³ $\approx$ 0,229 ppm

Otrzymywanie, zastosowanie, narażenie zawodowe (SCOEL 2017; ECHA 2017; IARC 2012; Szymańska i in. 2009)

Produkcja 2-toliloaminy rozpoczęła się w Niemczech w połowie XIX w. na potrzeby przemysłu barwiarskiego. W warunkach przemysłowych substancja jest otrzymywana w reakcji redukcji *o*-nitrotoluenu. W 2001 r. wielkość światowej produkcji 2-toliloaminy szacowano na 59 000 t wytwarzanych przez 11 producentów, natomiast 10 lat później liczba producentów zwiększyła się do co najmniej 15 (OECD 2004, SRI 2012). Obecnie zgodnie z danymi publikowanymi przez ECHA 2-toliloamina jest produkowana lub importowana na teren EOG w ilości od 10 000 – 100 000 t rocznie, a procedurę rejestracji substancji na terenie UE wynikającą z rozporządzenia REACH przeprowadziło 5 rejestrujących w tym 4 firmy niemieckie i 1 szwedzka. Z dostępnych danych wynika, że poza UE istnieje kilkunastu producentów 2-toliloaminy w tym: 4 w USA, 11 w Chinach, 1 w Japonii (ECHA 2017).

2-Toliloamina jest stosowana do produkcji: barwników i pigmentów, farb antykorozyjnych, jako utwardzacz w żywicach epoksydowych, w przemyśle gumowym, do produkcji pestycydów, w przemyśle farmaceutycznym do produkcji środków uspokajających i miejscowo znieczulających oraz jako odczynnik chemiczny w laboratoriach m.in. do wybarwiania tkanek. W 2000 r. związek ten był wykorzystywany

przede wszystkim do produkcji barwników, obecnie największe ilości stosuje się do produkcji herbicydów i jako surowiec do przemysłowej produkcji innych związków chemicznych (OECD 2004, NTP 2014, IARC 2012, ECHA 2017). Zmiana zakresu stosowania *o*-toluidyny nastąpiła ze względu na zapisy rozporządzenia REACH ograniczające zastosowanie barwników azowych w wyrobach włókienniczych i skórzanych, które mogą wejść w bezpośredni i przedłużony kontakt z ludzką skórą lub jamą ustną (np.: ubrania, pościel, ręczniki, wyroby sanitarne, paski do zegarków, torebki, portfele, pokrycia krzeseł, zabawki, przędza i tkaniny przeznaczone do użycia przez konsumentów). Ponadto jako substancja rakotwórcza kat. 1B *o*-toluidyna nie może być stosowana w stężeniu > 0,1% we wszystkich produktach przeznaczonych do powszechnej sprzedaży (REACH, CLP). Zakaz stosowania tego związku dotyczy również kosmetyków. Ponadto od 19.12.2012 na mocy art 57 lit a) rozporządzenia REACH, *o*-toluidyna znajduje się na liście kandydackiej do wprowadzenia do załącznika XIV czyli do wykazu substancji, których produkcja i stosowanie będzie wymagało udzielenia zezwolenia przez właściwe organy KE.

Pomimo ww. zakazów stosowania, 2-toliloaminę stwierdzono w farbach do włosów dostępnych na szwedzkim rynku (0,12 ÷ 0,17 ng/g produktu) oraz we krwi konsumentów i fryzjerów stosujących badane farby (Johansson 2015).

Szacowana liczba osób zawodowo narażonych na ten związek w UE wynosi 5500, z czego ponad połowa jest zatrudniona w przemyśle chemicznym i przy produkcji włókien. W Polsce zgodnie z danymi nadesłanymi do Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje Chemiczne, ich Mieszaniny, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym w Łodzi (IMP, 2017) narażenie na 2-toliloaminę dotyczy kilkuset osób rocznie (tabela 2).

Tabela 2.

Dane dot. narażenia zawodowego na 2-toliloaminę w Polsce w latach 2005-2015 nadesłane do Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje Chemiczne, ich Mieszaniny, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym

Rok	Liczba woj.	Liczba zakładów pracy	Liczba narażonych mężczyzn	Liczba narażonych kobiet (w tym <45 r.ż.)	Liczba osób narażonych razem
2005	11	18	69	106 (bd)	175
2006	12	22	135	274 (bd)	409
2007	11	22	31	113 (bd)	144
2008	9	15	51	122 (bd)	173
2009	9	21	105	212 (bd)	317
2010	11	22	168	300 (bd)	468
2011	9	21	48	135 (bd)	183
2012	8	14	81	270 (127)	351
2013	7	12	70	189 (112)	259
2014	9	17	83	271 (145)	354
2015	8	19	96	222 (124)	318

Objaśnienia:

bd – brak danych

Zgodnie z danymi GIS w Polsce nie stwierdzono pracowników zatrudnionych w narażeniu na 2-toliloaminę w stężeniach większych niż obowiązująca wartość NDS (3 mg/m³), jak również powyżej 0,5 wartości NDS (> 1,5 mg/m³). W 2015 r. 13 osób pracowało w warunkach narażenia na stężenia z zakresu 0,1 ÷ 0,5 NDS, a w 2016 r. – 17 osób w tym przedziale.

Z danych dotyczących poziomów narażenia zawodowego na świecie wynika, że stężenia 2-toliloaminy w środowisku pracy mierzone po 2000 r. są mniejsze niż w latach poprzednich: w 2005 r. pomiary w niemieckich zakładach wyrobów gumowych wykazały $0,027 \div 0,094 \text{ mg/m}^3$ (Korinth i in. 2006) natomiast pomiary w zakładach przemysłu gumowego w USA z 1995 r. wykazały $0,516 \pm 0,513 \text{ mg/m}^3$ (Ward i in. 1996), a w latach 60-tych w zakładach chemicznych w b. Związku Radzieckim stwierdzono $5,7 \div 6,5 \text{ mg/m}^3$ (Khlebnikova i in. 1970).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne. Zatrucia ostre u ludzi

Wśród skutków ostrego inhalacyjnego narażenia na 2-toliloaminę są opisywane: podrażnienie górnych dróg oddechowych, skóry i oczu objawiające się uczuciem pieczenia twarzy, oczu, gardła oraz kaszlem, skrócenie oddechu, osłabienie, nudności, wymioty, bóle i zawroty głowy, szum w uszach, methemoglobinemia, hematuria i zaburzenia czynności nerek oraz krwotoczne zapalenie pęcherza moczowego. Opisane objawy występowały po godzinnym narażeniu na 2-toliloaminę w stężeniu 40 mg/m^3 lub po kilkugodzinnym narażeniu na stężenie 25 mg/m^3 (Łazariew 1954; Gosselin i in., 1984; Sittig 1991; Lewis 2000; Szymczyk i in., 2002; Szymańska i in. 2009). Dużo większe stężenia (176 mg/m^3) po godzinnym narażeniu powodowały: sinicę (ust, języka i podpaźnokciową), zawroty głowy, utrudnione oddychanie, utratę przytomności i śmierć (Goldbratt 1955).

W literaturze opisano przypadek utraty przytomności przez pracownika przelewającego 2-toliloaminę, który przebywał w narażeniu inhalacyjnym i dermalnym (zanieczyszczone ubranie) na rozlany związek przez kilka godzin. U pracownika stwierdzono wysoki poziom 2-toliloaminy w wydychanym powietrzu, przez 5 dni występowało u niego bolesne oddawanie moczu, natomiast po 10 dniach od wypadku stwierdzano obecność krwi w moczu (MAK 1991).

Narażenie dermalne na 2-toliloaminę wywołuje: pieczenie, zaczerwienienie skóry i ból. Wchłanianie przez skórę może również wzmacniać wymienione wcześniej objawy zatrucia inhalacyjnego (Goldbratt 1955; Gosselin i in., 1984; Sittig 1991; Lewis 2000; Szymczyk i in. 2002).

Zatrucia przewlekłe u ludzi

W dostępnym piśmiennictwie dane dotyczące skutków narażenia przewlekłego na 2-toliloaminę są nieliczne. Wśród skutków zatruc przewlekłych opisywano: methemoglobinemię, hematurię oraz uszkodzenie nabłonka pęcherza moczowego. W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych charakteryzujących narażenie (czas i wielkości stężeń) (Łazariew 1954; Goldblatt 1955; IARC 1982; Szymczyk i in. 2002; Szymańska i in. 2009).

Badania epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych epidemiologicznych dotyczących zawodowego narażenia wyłącznie na 2-toliloaminę.

Wyniki badań epidemiologicznych dotyczących narażenia na grupę substancji, jaką są aminy aromatyczne (w tym 2-toliloamina), głównie w przemyśle barwiarskim oraz gumowym, jasno wskazują, że głównym skutkiem narażenia zarówno inhalacyjnego, jak i dermalnego są zmiany w pęcherzu moczowym z czasem prowadzące do rozwoju nowotworów złośliwych tego narządu (*Case i Pearson 1954; Rubino i in., 1982; Ott i Langner 1983; Stasik 1988; Piolatto i in. 1991; Ward i in. 1991, 1996; Prince i in. 2000, Pira i in. 2010; Carreón i in. 2010, 2014, Hanley i in. 2012*). Wśród objawów narażenia opisywanych przez autorów były: krwimocz, występowanie krwi utajonej w moczu, trudności w oddawaniu moczu oraz dolegliwości bólowe (IARC 2010). Badania te są opisane w rozdziale dotyczącym działania rakotwórczego związku.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra i krótkoterminowa

Mediany dawek śmiertelnych u zwierząt narażanych na 2-toliloaminę podano w tabeli 3. Związek ten wykazuje umiarkowaną toksyczność ostrą, wartości DL_{50} dla podania dożołądkowego mieszczą się w przedziale $670 \div 2951$ mg/kg mc.

Tabela 3.

Mediany dawek i stężeń śmiertelnych u zwierząt doświadczalnych narażanych na 2-toliloaminę

gatunek	DL_{50}/CL_{50}	Piśmiennictwo
<i>narażenie inhalacyjne</i>		
szczur	3827 mg/m ³ / 4 h	DuPont Chem. 1981
<i>narażenie dożołądkowe</i>		
szczur	940 mg/kg mc. 670 mg/kg mc. 750 mg/kg mc. 900 mg/kg mc. 2951 mg/kg mc. ^a	<i>Smyth i in. 1962</i> HSDB 2017 Bayer AG, 1978 <i>Jacobson 1972</i> <i>Lindstrom i in. 1969</i>
mysz	520 mg/kg mc. 515 mg/kg mc.	HSDB 2017 HSDB 2017
kot	300 mg/kg mc.	HSDB 2017
królik	844 mg/kg mc.	HSDB 2017
<i>narażenie dermalne</i>		
królik	3250 mg/kg mc.	<i>Smyth i in. 1962</i>
<i>narażenie dootrzewnowe</i>		
szczur ♂	164 mg/kg mc. ^a	<i>Weisburger i in. 1978</i>
szczur ♀	246 mg/kg mc. ^a	<i>Weisburger i in. 1978</i>
mysz	150 mg/kg mc.	HSDB 2017
mysz ♂	179 mg/kg mc. ^a	<i>Weisburger i in. 1978</i>
mysz ♀	113 mg/kg mc. ^a	<i>Weisburger i in. 1978</i>
<i>narażenie podskórne</i>		
szczur ♀	1115 mg/kg mc.	HSDB 2017

Objaśnienia:

^a wartość określona dla chlorowodorku 2-toliloaminy

Przy wyznaczaniu wartości CL_{50} (3827 mg/m³) grupy po 10 szczurów samców narażano inhalacyjnie na pary 2-toliloaminy w stężeniach od 2184 ÷ 4440 mg/m³ przez 4 h. Wśród obserwowanych skutków zatrucia u zwierząt opisano: sinicę, skurcze i drżenia mięśni, trudności w oddychaniu, czerwono-brązowy wyciek z nosa, zmętnienie rogówki, spadek masy ciała, obniżenie temperatury ciała, ospałość, skrajne wyczerpanie (DuPont Chem 1981).

Podobne skutki obserwowano u samców szczurów ($n = 10$), którym podawano dożyłkowo 2-toliloaminę w dawce 600, 650, 700, 800 lub 900 mg/kg mc.. Zwierzęta padały w 2-5 dni od podania dawki ≥ 650 mg/kg mc. Obserwowano u nich: wzmożoną diurezę, sinicę, przekrwienie oczu. Wartość DL_{50} ustalono na poziomie 750 mg/kg mc. (Bayer AG, 1978).

W grupie 30 samców szczurów Fischer 344 otrzymujących 2-toliloaminę dożyłkowo w dawce 225 mg/kg mc. przez 2, 5 i 10 dni, 10 padło po podaniu pojedynczej dawki, natomiast u pozostałych obserwowano zmniejszenie masy ciała, zwiększenie masy śledziony, a w badaniach histopatologicznych – objawy pobudzenia czynności krwiotwórczej, hemosyderozę i rozrost szpiku kostnego (Short i in. 1983).

U 4 kotów, którym dożyłkowo podano 2-toliloaminę w dawce 50 mg/kg mc. wystąpiła 59,6 i 71,7% methemoglobinemia w ciągu 4 h po podaniu, ponadto obserwowano: ułożenie boczne, zwiększenie częstości oddechu, nadmierne rozszerzenie źrenic, apatię, nadmierne ślinienie. 1 z kotów padł, 2 wyzdrowiały po 14 dniach, u 1 objawy narażenia utrzymywały się po okresie obserwacji (BASF AG 1979).

Analogiczne objawy (70,1% methemoglobinemia, niedokrwistość) wystąpiły u kotów po dożylnym podaniu związku w dawce 27 mg/kg mc. (McLean i in. 1969). Podobnie u królików, którym podawano dożylnie 2-toliloaminę w dawce 280 mg/kg mc. (minimalną dawkę śmiertelną) stwierdzono methemoglobinemię oraz obecność ciałek Heinz'a we krwi, w szpiku i śledzionie – objawy pobudzenia czynności krwiotwórczej, zmiany mięszone w obrębie wątroby i nerek, białkomocz. U zwierząt obserwowano: sinicę, zadyszkę, apatię, zmniejszenie masy ciała, drgawki (Łazariew 1954).

Podanie 2-toliloaminy królikom na nieuszkodzoną skórę w dawce 3000 mg/kg mc. powodowało śmierć zwierząt w ciągu godziny od aplikacji związku (Łazariew 1954).

Nierozcieńczona 2-toliloamina podana na skórę brzucha królika powodowała umiarkowane podrażnienie, a zaaplikowana do worka spojówkowego działała silnie drażniąco (Smyth 1962). W innym badaniu podanie na wewnętrzną nieuszkodzoną skórę ucha nierozcieńczonego związku na 24 h nie wywołało objawów podrażnienia w ciągu 8-dniowego okresu obserwacji (Bayer AG 1978). Podanie związku na nieuszkodzoną i skaryfikowaną skórę pachwin królików wywołało lekkie do umiarkowanego podrażnienia (BASF AG 1979). Podanie 15% roztworu do worka spojówkowego królików wywołało uszkodzenie rogówki oceniane przez autorów na 8 w skali 10-stopniowej (Grant 1986).

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Opisane w literaturze skutki narażenia podprzewlekłego i przewlekłego zwierząt doświadczalnych na 2-toliloaminę obejmują zmiany w obrębie: śledziony, układu krwiotwórczego oraz nerek i pęcherza moczowego (Short i in. 1983; NCI 1979; Lunkin 1967; Ehman i Strombeck 1947).

Short i in. (1983) przez 20 dni podawali szczurom dożyłkowo zgłębnikiem 2-toliloaminę w dawce 225 mg/kg mc.. Obserwowano: zwiększenie śmiertelności zwierząt, sinicę, zmiany w śledzionie (przekrwienie z hemosyderozą), nasilenie hematopoezy pozaszpikowej oraz zmiany w szpiku kostnym.

U szczurów Fischer 344, którym podawano 2-toliloaminę w postaci chlorowodoru w dawkach od 1 000 do 50 000 ppm ($50 \div 2500$ mg/kg mc./dzień) przez 7 tyg. wystąpiło

zależne od dawki zahamowanie przyrostu masy ciała, a u samców i samic narażonych na co najmniej 12 500 ppm obserwowano hemosyderezę w obrębie nerek, wątroby i śledziony (NCI, 1979). Analogiczne badanie przeprowadzono w ramach tego samego eksperymentu na myszach B6C3F obu płci. Zwierzęta otrzymywały z paszą chlorowoderek 2-toliloaminy w stężeniu $3\,100 \div 50\,000$ ppm ($155 \div 7500$ mg/kg mc./dzień) przez 7 tyg. U wszystkich zwierząt obserwowano zależne od dawki zahamowanie przyrostu masy ciała, a w grupie zwierząt narażonych na największe stężenie pigmentację śledziony (NCI 1979).

Dzienna dawka 2-toliloaminy 35 mg/kg mc. podawana szczurom przez 2 i pół miesiąca (10 tyg.) wywołała: methemoglobinemię, erytropenię i retikulocytozę (Lunkin 1967).

Ehman i Strombeck (1947) opisali zmiany w pęcherzu moczowym (rogowacenie, metaplasja nabłonka, sporadyczne przypadki brodawczaków) u szczurów, które otrzymywały 7,5% roztwór 2-toliloaminy w oleju arachidowym z dietą przez 91 dni (dawka: 2 g/szczura, zmniejszona o 50% po 64 dniach).

2-Toliloamina podawana szczurom z dietą, w dawkach $15 \div 24$ mg/zwierzę przez 91 dni, zmniejszonych ze względu na toksyczność do $7,5 \div 12$ mg/zwierzę wywołała zmiany w błonie śluzowej pęcherza moczowego z metaplasją i proliferacją nabłonka (MAK 1991).

U szczurów Fischer 344 (obu płci) otrzymujących chlorowoderek 2-toliloaminy w dawkach 3 000 lub 6 000 mg/kg paszy (150 lub 300 mg/kg mc.) przez 104 tygodnie, wśród zmian nienowotworowych opisywano: zmniejszenie przyrostu masy ciała, rozrost tkanki mezenchymalnej i miększe zwłóknienie śledziony, proliferację komórek nabłonka przejściowego pęcherza moczowego i miedniczek nerkowych, zmiany martwicze w wątrobie (NCI 1979). W ramach tego samego eksperymentu myszy obu płci otrzymywały 1 000 lub 3 000 mg/kg paszy chlorowodoru 2-toliloaminy (150 lub 450 mg/kg mc.) przez 103 tygodnie. U zwierząt wystąpiły: nasilenie hematopoezy w śledzionie, mineralizacja tkanki mózgowej, u samic – torbiele w macicy (NCI 1979).

Wyniki badań toksyczności podprzewlekłej i przewlekłej 2-toliloaminy u zwierząt przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4.

Wyniki badań toksyczności podprzewlekłej i przewlekłej 2-toliloaminy na zwierzętach doświadczalnych (narażenie dożołądkowe)

Gatunek zwierząt	Dawka	Czas narażenia	Skutki	Piśmiennictwo
szczur	225 mg/kg mc./dzień	20 dni	– zwiększenie śmiertelności; – zmniejszenie przyrostu masy ciała; – sinica; – przekrwienie śledziony (z hemosyderezą); – nasilenie hematopoezy pozaszpikowej; – rozrost szpiku kostnego	Short i in. 1983
szczur*	$50 \div 2500$ mg/kg mc./dzień	7 tyg.	– zależne od dawki zahamowanie przyrostu masy ciała; – hemosydereza w obrębie nerek, wątroby i śledziony	NCI 1979
mysz*	$155 \div 7500$ mg/kg mc./dzień	7 tyg.	– zależne od dawki zahamowanie przyrostu masy ciała; – pigmentacja śledziony	NCI 1979

szczur	35 mg/kg mc./dzień	10 tyg.	– methemoglobinemia; – erytopenia; – retikulocytoza	<i>Lunkin 1967</i>
szczur	2g/1g/zwierzę (w oleju arachidowym)	13 tyg.	– rogowacenie i metaplasja nabłonka pęcherza moczowego – brodawczaki pęcherza moczowego	<i>Ehman i Strombeck 1947</i>
szczur	15 ÷ 24 mg/zwierzę, 7,5 ÷ 12 mg/zwierzę	13 tyg.	– metaplasja i proliferacja nabłonka pęcherza moczowego	MAK 1991
szczur*	150 lub 300 mg/kg mc./dzień	104 tyg.	– zmniejszenie przyrostu masy ciała; – rozrost tkanki mezenchymalnej i miąższowe zwłóknienie śledziony; – proliferacja komórek nabłonka prześciowego pęcherza moczowego i miedniczek nerkowych; – zmiany martwicze w wątrobie	NCI 1979
mysz*	150 lub 450 mg/kg mc./dzień	103 tyg.	– nasilenie pozaszpikowej hematopoezy w śledzionie; – ogniska mineralizacji tkanki mózgowej; – u samic – torbiele w macicy	NCI 1979

Objaśnienia:

* 2-toliloamina w postaci chlorowodorku

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Działanie na ludzi

Böhm i in. (2011) badali obecność adduktów 2-toliloaminy z DNA w próbkach raka urotelialnego pobranych od 12 pacjentów onkologicznych oraz w tkankach pęcherza moczowego pobranych podczas sekcji od 46 zmarłych pacjentów. Addukty DNA i toluidyny wykryto w 11 próbkach raka urotelialnego, w 13 próbkach nabłonka z pęcherza moczowego oraz 10 próbkach z tkanki podśluzówkowej. Wykazano, że poziom adduktów DNA był większy w guzie niż w zdrowej tkance pęcherza moczowego. Wykrycie adduktów DNA indukowanych 2-toliloaminą wskazuje na udział tego mechanizmu w działaniu rakotwórczym związku na pęcherz moczowy.

Działanie na zwierzęta

Wyniki testów *in vitro* i *in vivo* mutagenności i genotoksyczności 2-toliloaminy zamieszczono w tabeli 5. Większość badań mutagenności w układach bakteryjnych nie potwierdza działania mutagennego 2-toliloaminy, jedynie nieliczne prace opisują wynik dodatni testów po aktywacji metabolicznej. 2-Toliloamina nie wywoływała mutacji pierwotnych, powrotnych ani konwersji genów u drożdży *S. cerevisiae*. Opisano jednak wyniki dodatnie testu badającego delecje oraz aneuploidalność u tych organizmów, a także mutacje somatyczne u muszki owocowej.

2-Toliloamina nie wykazywała działania mutagennego w większości opisanych badań na komórkach ssaków *in vitro* (komórki jajnika i płuc chomika, komórki chłoniaka myszy), ale w ludzkich komórkach (TK6 i AHH-1) substancja wywoływała mutacje genowe. Wyniki testu mikrojądrowego nie są jednoznaczne, zarówno na komórkach *in vitro* jak i *in vivo*, tylko niektóre badania potwierdzają działanie genotoksyczne 2-toliloaminy. Zwiększoną częstość wymiany chromatyd siostrzanych i obecność aberracji

chromosomowych opisano w większości przeprowadzonych badań in vitro. W badaniach in vivo natomiast otrzymano wynik dodatni testu wymiany chromatyd siostrzanych, a ujemny testów aberracji chromosomowych. Zarówno w badaniach in vitro, jak i in vivo potwierdzono natomiast indukcję uszkodzeń DNA przez 2-toliloaminę.

Tabela 5.

Wyniki testów in vitro i in vivo mutagenności i genotoksyczności 2-toliloaminy

Test	Układ badawczy	Wyniki		Piśmiennictwo	
		bez aktywacji metabolicznej	z aktywacją metaboliczną		
TESTY BAKTERYJNE					
mutacje powrotne	<i>Salmonella typhimurium</i> TA92, <i>Salmonella</i> Typhimurium TA97, <i>Salmonella typhimurium</i> TA98, <i>Salmonella typhimurium</i> TA100, <i>Salmonella typhimurium</i> TA102, <i>Salmonella typhimurium</i> TA1535, <i>Salmonella typhimurium</i> TA1537, <i>Salmonella typhimurium</i> TA1538, <i>Salmonella typhimurium</i> G46, <i>Salmonella</i> T <i>typhimurium</i> C3076	-	-	McCann i in. (1975) Simmon (1979) Baker, Bonin (1981) Brooks, Dean (1981) MacDonald (1981) Nagao, Takahashi (1981) Richold, Jones (1981) Rowland, Severs (1981) Falck i in. (1985) Baker, Bonin (1985) Matsushima i in. (1985) Rexroat, Probst (1985) Rosenkranz, Poirier (1979) Gatehouse (1981) Zeiger, Haworth (1985) Ferretti i in. (1977) Garner, Nutman (1977) Nagao i in. (1977) Nagao i in. (1978) Thompson i in. (1983)	
	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98	n.b.	+	Kawalek i in. (1983)	
	<i>Salmonella typhimurium</i> TA100	-	+	Zeiger, Haworth (1985)	
	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1538	-	+	Gatehouse (1981)	
	<i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	-	-	Gatehouse (1981) Thompson i in. (1983) Falck i in. (1985)	
	mutacje pierwotne	<i>Salmonella typhimurium</i> BA13	n.b.	+	Dorado, Pueyo (1988)
		<i>Salmonella typhimurium</i> TM677	n.b.	-	Skopek i in. (1981)
<i>Bacillus subtilis</i> rec		+	+	Kada 1981	
uszkodzenia DNA, naprawa SOS	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535/pSK 1002	-	-	Nakamura i in. 1987	
TESTY Z ZASTOSOWANIEM GRZYBÓW					
mutacje pierwotne	<i>Aspergillus nidulans</i>	-	n.b.	Carere i in. (1985)	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	Inge-Vechtomov i in. (1985)	

Test	Układ badawczy	Wyniki		Piśmiennictwo
		bez aktywacji metabolicznej	z aktywacją metaboliczną	
mutacje powrotne	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	<i>Inge-Vechtomov</i> i in. (1985) <i>Arni</i> i in. 1985 <i>Parry, Eckardt</i> (1985a) <i>Mehta, von Borstel</i> (1981) <i>Harrington, Nestmann</i> (1985)
konwersja genów	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	<i>Jagannath</i> i in. (1981) <i>Zimmermann, Scheel</i> (1981) <i>Arni</i> i in. (1985) <i>Brooks</i> i in. (1985) <i>Inge-Vechtomov</i> i in. (1985) <i>Parry, Eckardt</i> (1985a)
		-	+	<i>Mehta, von Borstel</i> (1981, 1985)
		+	n.b.	<i>Sharp i Parry</i> , 1981
aneuploidalność	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	+	+	<i>Parry, Sharp</i> (1981) <i>Parry, Eckardt</i> (1985b)
		-	n.b.	<i>Zimmermann</i> i in. (1985)
delecje	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	+	+	<i>Carls, Schiestl</i> (1994)
rekombinacje międzychromosomalne	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	<i>Carls, Schiestl</i> (1994)
TESTY Z ZASTOSOWANIEM MUSZKI OWOCOWEJ				
mutacje somatyczne	<i>Drosophila melanogaster</i>	+		<i>Würgler</i> i in. (1985) <i>Fujikawa</i> i in., 1985 <i>Vogel</i> (1985) <i>Batiste-Alentorn</i> i in. (1991, 1994)
TESTY NA KOMÓRKACH SSAKÓW <i>in vitro</i>				
mutacje genowe	komórki jajnika chomika chińskiego	-	-	<i>Zdzienicka, Simons</i> (1985)
	komórki płuc chomika chińskiego V79H3, locus HPRT	-	-	<i>Fox, Delow</i> (1985) <i>Lee, Webber</i> (1985)
		(+)	-	<i>Kuroda</i> i in. (1985)
	komórki chłoniaka myszy L5178Y, locus HPRT	-	-	<i>Knaap, Langebroek</i> (1985)
	komórki chłoniaka myszy L5178Y, locus TK	-	-	<i>Knaap, Langebroek</i> (1985) <i>Lee, Webber</i> (1985) <i>Oberly</i> i in. (1985)
		+	n.b.	<i>Myhr</i> i in. (1985)
	komórki myszy Balb/c 3T3	n.b.	(+)	<i>Matthews</i> i in. (1985)
	ludzkie komórki TK6	+	+	<i>Crespi</i> i in. (1985)
ludzkie komórki AHH-1	n.b.	+		
test mikrojądrowy	komórki jajnika chomika chińskiego	-	-	<i>Douglas</i> i in. (1985)
	komórki embrionalne chomika syryjskiego	+	n.b.	<i>Fritzenschaf</i> i in. (1993)
	ludzkie limfocyty	+	-	<i>Vian</i> i in. (1993)
wymiana chromatyd	komórki chomika chińskiego	+	+	<i>Gulati</i> i in. (1985) <i>van Went</i> (1985)

Test	Układ badawczy	Wyniki		Piśmiennictwo
		bez aktywacji metabolicznej	z aktywacją metaboliczną	
siostrzanych		-	-	<i>Douglas i in. (1985)</i> <i>Natarajan i in. 1985</i>
	komórki wątroby szczura RL ₄	+	n.b.	<i>Priston, Dean (1985)</i>
	ludzkie limfocyty	-	-	<i>Obe i in. (1985)</i>
			+	n.b.
aberracje chromosomowe	fibroblasty wątroby chomika chińskiego CH1-L	+	n.b.	<i>Danford (1985)</i>
	komórki chomika chińskiego	+	+	<i>Gulati i in. (1985)</i>
		-	+	<i>Ishidate, Sofuni (1985)</i>
		-	(+)	<i>Palitti i in. (1985)</i>
		-	-	<i>Natarajan i in. (1985)</i>
komórki wątroby szczura RL ₄	+	n.b.	<i>Priston, Dean (1985)</i>	
aneuploidalność	fibroblasty wątroby chomika chińskiego CH1-L	+	n.b.	<i>Danford (1985)</i>
uszkodzenia DNA	komórki jajnika chomika chińskiego	+	+	<i>Douglas i in. (1985)</i>
		-	(+)	<i>Lakhanisky, Hendrickx (1985)</i>
	hepatocyty szczura	+	n.b.	<i>Bradley (1985)</i>
pęknięcia DNA	komórki MCL-5	+	n.b.	<i>Martin i in. (1999)</i>
nieplanowa synteza DNA	hepatocyty szczura	-	n.b.	<i>Thompson i in. (1983)</i> <i>Kornbrust, Barfknecht (1984)</i> <i>Probst, Hill (1985)</i> <i>Williams i in. (1985)</i> <i>Barfknecht i in. (1987)</i>
		+	n.b.	<i>Glauert i in. (1985)</i>
	hepatocyty złocistego chomika syryjskiego	-	n.b.	<i>Kornbrust, Barfknecht (1984)</i> <i>Barfknecht i in. (1987)</i>
	komórki HeLa S3	-	+	<i>Barrett (1985)</i>
transformacja komórek	komórki myszy C3H/10T1/2	-	(+)	<i>Lawrence, McGregor (1985)</i>
		+	n.b.	<i>Nesnow i in. (1985)</i>
	komórki myszy BALB/c 3T ₃	-	+	<i>Matthews i in. (1985)</i>
	komórki embrionalne chomika Syryjskiego	+	n.b.	<i>Barrett, Lamb (1985)</i> <i>Sanner, Rivedal (1985)</i> <i>Kerckaert i in. (1998)</i> <i>Hatch, Anderson (1985)</i>
		+	+	<i>Daniel, Dehnel (1981)</i> <i>Styles (1981)</i>
	komórki jajnika chomika chińskiego	-	-	<i>Zdzienicka i Simons (1985)</i>
	komórki embrionalne szczura RLV	(+)	n.b.	<i>Suk, Humphreys (1985)</i>
TESTY NA KOMÓRKACH SSAKÓW <i>in vivo</i>				
test mikrojądrowy	komórki szpiku kostnego myszy B6C3F ₁ [dootrzewnowo]	-		<i>McFee i in. (1989)</i>
	myszy B6C3F ₁ [dootrzewnowo]	-		<i>Salamone i in. (1981)</i>

Test	Układ badawczy	Wyniki		Piśmiennictwo
		bez aktywacji metabolicznej	z aktywacją metaboliczną	
	mysz CD-1 [dootrzewnowo]	-		<i>Tsuchimoto, Matter (1981)</i>
	hepatocyty szczura [dootrzewnowo]	-		<i>Suzuki i in. 2005</i>
	komórki krwi obwodowej szczura [dootrzewnowo]	+		<i>Suzuki i in. 2005</i>
wymiana chromatyd siostrzanych	komórki szpiku kostnego myszy B6C3F ₁ [dootrzewnowo]	(+)		<i>Neal, Probst (1983)</i>
	komórki szpiku kostnego myszy B6C3F ₁ [dootrzewnowo]	+		<i>McFee i in. (1989)</i>
aberracje chromosomowe	komórki szpiku kostnego myszy B6C3F ₁ [dootrzewnowo]	-		<i>McFee i in. (1989)</i>
pęknięcia nici DNA (test kometowy)	komórki nerek i wątroby myszy Swiss CD-1 [dootrzewnowo]	+		<i>Cesarone i in. (1982)</i>
	komórki żołądka, wątroby, pęcherza moczowego, płuc i mózgu myszy ddY [dootrzewnowo, dożołądkowo]	+		<i>Sekihashi i in. 2002</i>
	komórki żołądka, okrężnicy, nerek, pęcherza moczowego szczura Wistar [dootrzewnowo, dożołądkowo]	+		<i>Sekihashi i in. 2002</i>
kowalencyjne wiązanie z RNA lub białkami	hepatocyty szczura Crl:CD [per os]	+		<i>Brock i in. (1990)</i>

Objaśnienia:

+ - wynik dodatni

(+) – wynik słabo dodatni

- -wynik ujemny

n.b. – nie badano

Działanie rakotwórcze

Działanie rakotwórcze na ludzi

Wyniki badań epidemiologicznych dotyczących narażenia pracowników na grupę substancji jaką są aminy aromatyczne (w tym 2-toliloamina), głównie w przemyśle barwiarskim oraz gumowym, jasno wskazują, że głównym skutkiem narażenia zarówno inhalacyjnego, jak i dermalnego są zmiany w pęcherzu moczowym z czasem prowadzące do rozwoju nowotworów złośliwych tego narządu (*Case i Pearson 1954; Rubino i in. 1982; Ott i Langner 1983; Stasik 1988; Piolatto i in. 1991; Ward i in. 1991, 1996; Prince i in. 2000; Pira i in. 2010; Carreón i in. 2010, 2014; Hanley i in. 2012*). Wśród objawów narażenia opisywano: krwimocz, występowanie krwi utajonej w moczu, trudności w oddawaniu moczu oraz dolegliwości bólowe (IARC 2010).

Zwiększoną częstość występowania nowotworów pęcherza moczowego wśród mężczyzn pracujących w angielskich zakładach produkujących barwniki (w tym fuksynę) opisali *Case i Pearson (1954)*. Nie są dostępne dane odnośnie rodzaju, czasu i wielkości narażenia. Autorzy założyli istnienie ekspozycji na 2-toliloaminę na podstawie przebiegu procesu technologicznego.

Rubino i in. (1982) porównali umieralność w grupie 906 mężczyzn zatrudnionych we włoskiej fabryce barwników w latach 1922-1970, obserwowanych od 1946 do 1976 r. z umieralnością w populacji generalnej mężczyzn we Włoszech. Wśród 868 osób ostatecznie objętych obserwacją stwierdzono 260 zgonów, w tym 36 z powodu raka pęcherza moczowego przy 1,23 oczekiwanych. Pracownicy narażeni byli na: benzydynę, 1-naftyloaminę, 2-naftyloaminę lub ich mieszaniny, a grupa produkująca fuksynę i safraninę T na: toluen, *o*-nitrotoluen, 2-toliloaminę i 4,4'-metylenobis(2-metyloanilinę) lub ich mieszaniny. Brak jest danych ilościowych dotyczących poziomu narażenia oraz danych odnośnie palenia tytoniu w obserwowanej grupie mężczyzn. Standaryzowany wskaźnik umieralności (SMR) dla raka pęcherza moczowego wynosił 62,5 (95%CI: 20,2 - 145,6). Tę samą włoską kohortę obserwowali do 1989 r. *Piolatto i in.* (1991) oraz do 2003 r. *Pira i in.* (2010), jednak badacze nie wyszczególnili ryzyka związanego z narażeniem na 2-toliloaminę. *Pira i in.* (2010) stwierdzili rosnący SMR dla raka pęcherza moczowego w obserwowanej kohorcie wraz z rosnącym okresem narażenia i większy SMR w przypadku rozpoczęcia pracy w narażeniu na aminy aromatyczne w młodszym wieku.

Ott i Langer (1983) analizowali umieralność w kohorcie 342 mężczyzn zatrudnionych w amerykańskich zakładach produkujących barwniki tio- i bromoindygo w latach 1914-1958. Narażenie na 2-toliloaminę występowało przy produkcji tioindygo. Stężenia 2-toliloaminy zarówno w strefie oddychania, jak i próbach stacjonarnych wynosiły < 2,19 mg/m³ (0,5 ppm), natomiast stężenia w moczu: od poniżej progu oznaczalności do 1,7 mg/l. Kohortę obserwowano w latach 1970-1975. Nie opisano zgonów z powodu raka pęcherza moczowego przy 1,2 oczekiwanych, natomiast SMR dla nowotworów złośliwych w grupie 275 pracowników bez współistniejącego narażenia na arsen, chlorek winylu i azbest wynosił 1,3 (95%CI: 0,8-2,0). Odnotowano 23 zgony przy 17,5 oczekiwanych w tym 10 zgonów z powodu nowotworów układu pokarmowego (SMR=1,8; 95%CI: 0,8-3,2).

W latach 1973-1988 *Ward i in.* (1991) objęli prospektywnym badaniem zachorowalności 708 mężczyzn (spośród analizowanych 1643) zatrudnionych w nowojorskich zakładach produkujących przyspieszacze i przeciwutleniacze dla przemysłu gumowego narażonych na 2-toliloaminę i anilinę, a także 2-merkaptobenzotiazol, hydrochinon, toluen, disiarczek węgla, siarkę, benzotiazole oraz aminobifenyl obecny w stężeniu poniżej 1 ppm (4,38 mg/m³). Liczbę zachorowań porównano z zachorowalnością w stanie NY (z wyłączeniem mieszkańców miasta). Autorzy opisali 13 przypadków raka pęcherza moczowego (standaryzowany wskaźnik zachorowalności - SIR=3,6; 95%CI: 1,0-6,2), z tego 7 w grupie o potwierdzonym narażeniu (SIR=6,5; 95%CI: 2,6-13,3), w której dla osób pracujących powyżej 10 lat SIR wynosił 27,2 (95%CI: 10,0-59,2). Dane dotyczące palenia tytoniu w badanej kohorcie dostępne były w odniesieniu do 143 pracowników i wskazywały na nieznacznie większą częstość aktualnych i byłych palaczy w porównaniu z populacją generalną USA. Obserwacja powyższej kohorty w późniejszym okresie (do 1994 r.) nie wykazała dalszego zwiększenia zachorowalności w żadnej z grup nowotworów, jednak dostarczyła informacji odnośnie poziomów narażenia. Stężenia 2-toliloaminy w strefie oddychania pracowników nie przekraczały normatywu przyjętego przez OSHA (5 ppm, tj. 22 mg/m³), natomiast pomiary stężeń substancji w moczu pracowników wykazały, że były one istotnie większe niż u osób nienarażonych stanowiących grupę kontrolną. W próbkach zbieranych po zakończeniu zmiany roboczej stwierdzono $2,8 \pm 1,4$ µg/L u osób nienarażonych oraz $98,7 \pm 119,4$ µg/L u pracowników narażonych (*Ward i in.*

1996; IARC 2000). Zdaniem autorów badania w grupie substancji, na które byli narażeni pracownicy podstawowym czynnikiem odpowiedzialnym za zwiększoną zachorowalność na raka pęcherza moczowego była 2-toliloamina wywołująca nowotwory u zwierząt doświadczalnych oraz stanowiący zanieczyszczenie aminobifenyl (zgodnie z CLP Carc. 1A), który jest kancerogenem wywołującym nowotwory pęcherza, ponadto nie można wykluczyć działania kancerogennego aniliny (zgodnie z CLP Carc.2). *Markowitz i Levin* (2004) prowadząc obserwację powyższej kohorty do 2004 r. opisali 19 dodatkowych przypadków raka pęcherza moczowego. Autorzy ponownych analiz danych dotyczących narażenia, warunków zatrudnienia oraz zachorowalności i umieralności z powodu raka pęcherza moczowego w powyższej kohorcie potwierdzają, że czynnikiem przyczynowym zwiększonej zachorowalności na raka pęcherza moczowego była 2-toliloamina (*Carreón i in.* 2010, 2014; *Hanley i in.* 2012).

Inną z kilkakrotnie analizowanych kohort było 2160 mężczyzn zatrudnionych w zakładach chemicznych produkujących chemikalia dla przemysłu gumowego w pn. Walii (*Sorahan i Pope* 1993; *Sorahan i in.* 2000; *Sorahan* 2008). W żadnej z analiz autorzy nie opisali ilościowych danych odnośnie stężeń 2-toliloaminy, a badana kohorta była narażona jednocześnie na: 2-merkaptobenzotiazol (MBT), anilinę, fenylo- β -naftyloaminę (PBN). Ponadto zbyt mała liczebność subkohort, mało szczegółowy opis warunków narażenia i nieuwzględnienie innych czynników ryzyka uniemożliwiają rzetelną ocenę wpływu narażenia na 2-toliloaminę na zachorowalność na raka pęcherza moczowego.

Richardson i in. (2007) analizowali ryzyko zachorowania na raka pęcherza moczowego u mężczyzn na podstawie danych z kanadyjskiego rejestru nowotworów uwzględniających informacje o narażeniu zawodowym. Badanie dotyczyło narażenia zawodowego na ponad 12 000 substancji. Autorzy potwierdzili zależność pomiędzy narażeniem zawodowym a zwiększoną zachorowalnością na raka pęcherza moczowego ($P = 0,01$) w przypadku 29 związków chemicznych, w tym 4-chloro-*o*-toluidyny, natomiast dla 2-toliloaminy nie obserwowano zwiększonego ryzyka.

Stasik (1988) opisał badanie umieralności w kohorcie 335 mężczyzn zatrudnionych przy produkcji 4-chloro-2-toliloaminy (2-toliloamina jest stosowana jako prekursor) w Niemczech w latach 1929-1982 (w tym 116 zatrudnionych przed 1970 r., w którym wprowadzono bardziej restrykcyjne procedury zmierzające do ograniczenia narażenia). Pracownicy byli narażeni na: 2-toliloaminę, *N*-acetylo-*o*-toluidynę, 6-chloro-*o*-toluidynę i w największym stopniu na 4-chloro-*o*-toluidynę. Standaryzowany wskaźnik zachorowalności (SIR) na raka pęcherza moczowego obliczono na poziomie 72,7 (95%CI: 31,4-143). Autor nie opisał danych ilościowych dotyczących stężeń amin występujących w środowisku pracy, jednak ze względu na fakt, że dominowało narażenie na 4-chloro-*o*-toluidynę, to ją uznano za czynnik sprawczy zwiększonej zachorowalności.

Szczegółowo wyniki wybranych badań epidemiologicznych dotyczących działania rakotwórczego 2-toliloaminy przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6.

Wyniki wybranych badań epidemiologicznych dotyczących działania rakotwórczego 2-toliloaminy (Szymczyk i in. 2002; IARC 2012)

Opis kohorty	Kraj	Rodzaj przemysłu	Wyniki	Uwagi	Piśmiennictwo
123 mężczyzn zatrudnienie: 1910-1952 staż pracy > 6 m-cy	UK	produkcja aniliny	<i>umieralność:</i> nowotwory złośliwe pęcherza moczowego: RR = 1,2 (0,01 - 6,7) (n = 1)	pracownicy narażeni jednocześnie na: magentę, auraminę, 1-naftyloaminę, 2-naftyloaminę, benzydynę wykluczeni z badania	<i>Case i Pearson</i> (1954)
868 mężczyzn zatrudnienie: 1922-1970 obserwacja: 1946-1976	Włochy	produkcja barwników (safranina T, fuksyna)	<i>umieralność:</i> przyczyny ogółem: SMR = 1,5 (1,4 - 1,7) (n = 260) nowotwory ogółem: SMR = 2,6 (p < 0,001) (n = 96) nowotwory złośliwe pęcherza moczowego: SMR = 29,3 (p < 0,001) (n = 36)	współistniejące narażenie na: benzydynę, 1-naftyloaminę, 2-naftyloaminę	<i>Rubino i in.</i> (1982) <i>Piolatto i in.</i> (1991) <i>Pira i in.</i> (2010)
53 mężczyzn (wybranych w ramach kohorty) narażonych głównie na 2-toliloaminę i 4,4'-metylenobis(2-metyloanilinę)			<i>umieralność:</i> nowotwory złośliwe pęcherza moczowego: SMR = 62,5 (20,3 - 145,6) (n = 5)	współistniejące narażenie na: o-nitrotoluen, anilinę, o-aminoazotoluen, 4,4'-metylenobis(2-metyloanilinę), magentę, safraninę T	
275 mężczyzn zatrudnienie: 1940-1958 obserwacja: 1940-1975	USA	produkcja barwników (bromo-indygo, tioindygo)	<i>umieralność:</i> przyczyny ogółem: SMR = 1,0 (0,8 - 1,2) (n = 98) nowotwory ogółem: SMR = 1,3 (0,8 - 2,0) (n = 23) nowotwory układu pokarmowego: SMR = 1,8 (0,8 - 3,2) (n = 10) rak pęcherza moczowego: (n = 0)	współistniejące narażenie na: 4-chloro-o-toluidynę, 4-chloroacety-o-toluidynę pracowników narażonych na: arsen, chlorek winylu, azbest wyłączono z kohorty	<i>Ott i Langer</i> (1983)

Opis kohorty	Kraj	Rodzaj przemysłu	Wyniki	Uwagi	Piśmiennictwo
1643 mężczyzn (1749 osób) w tym 708 mężczyzn narażonych na 2-toliloaminę zatrudnienie: 1946-1988 obserwacja: 1973-1988	USA	produkcja związków chemicznych dla przemysłu gumowego	<i>umieralność:</i> przyczyny ogółem: SMR = 0,9 (0,8 - 1,0) (n = 190) nowotwory ogółem: SMR = 1,0 (0,7 - 1,3) (n = 49) rak pęcherza moczowego: SMR = 2,1 (0,3 - 7,6) (n = 2) <i>zachorowalność:</i> rak pęcherza moczowego (narażeni na 2-toliloaminę): SIR = 6,5 (2,6 - 13,3) (n = 7) rak pęcherza moczowego (cały zakład): SIR = 3,6 (1,92 - 6,2) (n = 13)	stężenie 2-toliloaminy w strefie oddychania <normatywu OSHA (5ppm, tj. 22 mg/m ³), stężenia w moczu pracowników istotnie większe niż w kontroli (98,7 +/- 119,4 µg/L), współistniejące narażenie na: anilinę, hydrochinon, toluen, disiarczek węgla, siarkę, benzotiazol, 4-aminobifenyl (stężenie <4,38 mg/m ³), 2-merkaptobenzotiazol	Ward i in. (1991) Markowitz i Levin (2004) Carreón i in. (2010, 2014) Hanley i in. (2012)
staż pracy: ≥ 10 lat (73 osoby) 5-9 lat (51 osób) < 5 lat (584 osoby)			SIR = 27,2 (10,0 - 59,3) SIR = 8,8 (0,2 - 49,1) (n = 0)		
2160 mężczyzn zatrudnienie: 1955-1984 obserwacja: 1955-1996 (umieralność) obserwacja: 1971-1992 (zachorowalność) staż pracy > 6 m-cy z czego 53 narażonych na 2-toliloaminę	UK, Walia	produkcja związków chemicznych dla przemysłu gumowego	<i>umieralność:</i> przyczyny ogółem: SMR = 1,01 (0,96 - 1,1) (n = 1131) nowotwory ogółem: SMR = 1,02 (0,91 - 1,1) (n = 305) rak pęcherza moczowego (cały zakład): SMR = 1,4 (0,6 - 1,7) (n = 17) rak pęcherza moczowego (narażeni na 2-toliloaminę): SMR = 15,8 (3,3 - 46,4) (n = 3) <i>zachorowalność:</i> rak pęcherza moczowego (narażeni na 2-toliloaminę): SIR = 7,0 (1,4 - 20,4) (n = 3) rak pęcherza moczowego (cały zakład): SIR = 1,1 (0,6 - 1,7) (n = 19)	współistniejące narażenie na: 2-merkaptobenzotiazol, anilinę, fenylo-β-naftyloaminę	Sorahan i Pope (1993) Sorahan i in. (2000) Sorahan (2008)

Opis kohorty	Kraj	Rodzaj przemysłu	Wyniki	Uwagi	Piśmiennictwo
staż pracy w narażeniu na 2-toliloaminę: ≥ 5 lat 1-4 lata			RR = 3,38 (0,67 - 17,0) (n = 2) RR = 3,72 (1,21 - 11,4) (n = 4)		
116 mężczyzn zatrudnienie: przed 1970 obserwacja: <1967-1986	Niemcy	produkcja 4-chloro-o-toluidyny	umieralność: przyczyny ogółem: SMR = 1,12 (0,68 - 1,7) (n = 19) nowotwory ogółem: SMR = 1,3 (0,5 - 3,4) (n = 5) (2 nowotwory złośliwe układu moczowego, nie stwierdzono raka pęcherza moczowego) zachorowalność: rak pęcherza moczowego SIR = 72,7 (1,92 - 6,2) (n = 8)	współistniejące narażenie na: N-acetylo-o-toluidynę, 6-chloro-o-toluidynę, 4-chloro-o-toluidynę	Stasik (1988)

Objaśnienia:

SMR Standardized Mortality Ratio - standaryzowany wskaźnik umieralności

RR Relative Risk – ryzyko względne (95%CI)

SIR Standardized Incidence Ratio - standaryzowany wskaźnik zachorowalności

Działanie rakotwórcze na zwierzęta doświadczalne

Działanie rakotwórcze 2-toliloaminy zostało potwierdzone w szeregu badań przeprowadzonych na zwierzętach doświadczalnych w tym na szczurach (*Weisburger i in.* 1978; *Hecht i in.* 1982; NTP 1996; NCI 1979; *Goodman i in.* 1984; *Pliss* 2004) i myszach (NCI 1979; *Weisburger i in.* 1978). Wyniki przedstawiono w tabeli 7.

Weisburger i in. (1978) podawali z paszą 2-toliloaminę w postaci chlorowodorku szczurom samcom Charles River CD w schematach: 8000 mg/kg paszy (400 mg/kg mc.) przez 3 miesiące, a następnie 4000 mg/kg paszy (200 mg/kg mc.) przez kolejne 15 miesięcy lub 16000 mg/kg paszy (800 mg/kg mc.) przez 3 miesiące i 8000 mg/kg paszy (400 mg/kg mc.) przez kolejne 15 miesięcy. Autorzy opisali istotne statystycznie zwiększenie częstości występowania włókniaków i włókniakomięsaków w tkance podskórnej oraz nieistotny statystycznie wzrost liczby przypadków raków z komórek przejściowych pęcherza moczowego.

W tym samym badaniu samice i samce myszy przez 18 miesięcy otrzymywały z paszą chlorowodorek 2-toliloaminy w schematach: 16000 mg/kg paszy (2400 mg/kg mc.) przez 5 miesięcy, a następnie 8000 mg/kg paszy (1200 mg/kg mc.) przez kolejne 13 miesięcy lub 32000 mg/kg paszy (4800 mg/kg mc.) przez 3 miesiące i 16000 mg/kg paszy (2400 mg/kg mc.) przez kolejne 15 miesięcy. U zwierząt wystąpiły nowotwory naczyń krwionośnych, głównie naczyniaki i naczyniakomięsaki zlokalizowane w jamie brzusznej i pęcherzu moczowym (*Weisburger i in.* 1978).

W dwuletnich badaniach działania rakotwórczego chlorowodorku 2-toliloaminy prowadzonych przez NCI (1979) szczurom Fischer 344 (obu płci) podawano związek w dawkach 3000 lub 6000 mg/kg paszy (150 lub 300 mg/kg mc.) przez 104 tygodnie. U zwierząt obu płci wystąpiły: mięsaki, włókniakomięsaki, mięsakonaczyniaki i kosniakomięsaki o różnym umiejscowieniu, u samic opisano gruczolaki i gruczolakowłókniaki sutka oraz nowotwory z komórek przejściowych pęcherza moczowego, natomiast u samców: włókniaki podskórne i międzybłoniaki różnych narządów.

W ramach tego samego eksperymentu myszy B6C3F1 obu płci otrzymywały 1000 lub 3000 mg/kg paszy chlorowodorku 2-toliloaminy (150 lub 450 mg/kg mc.) przez 103 tygodnie. U samców opisano mięsakonaczyniaki w różnych narządach, u samic natomiast raki z komórek wątrobowych i gruczolaki (NCI 1979).

U szczurów Fischer 344 samców, karmionych paszą zawierającą 4000 mg/kg paszy chlorowodorku 2-toliloaminy (200 mg/kg mc.) przez 72 tygodnie, opisano nowotwory gruczolów sutkowych, śledziony, wątroby, pęcherza moczowego, otrzewnej i skóry (*Hecht i in.* 1983). Natomiast ekspozycja na chlorowodorek 2-toliloaminy z paszą w dawce 5000 mg/kg paszy (250 mg/kg mc.) przez 13 tygodni spowodowała u szczurów Fischer 344/N wystąpienie międzybłoniaków osłonki najądrzy (NTP 1996).

Hecht i in. (1982) szczurom F344 (30 zwierząt w grupie) podawali chlorowodorek 2-toliloaminy oraz jego metabolit (*o*-nitrozotoluen) w dawce 0,028 mol/kg wraz z pożywieniem przez 72 tygodnie. Obydwie substancje wywoływały nowotwory: pęcherza moczowego i wątroby, jednakże nitrozotoluen indukował stosunkowo więcej guzów pęcherza (u 16/30 szczurów) i wątroby (u 20/30), podczas gdy chlorowodorek 2-toliloaminy (guzy pęcherza 4/30, guzy wątroby 3/30). Obydwie substancje wywoływały również guzy otrzewnej, jak również włókniaki skóry i śledziony z

podobną częstością. Chlorowodorek 2-toliloaminy indukował z kolei więcej guzów sutka (13/30) w porównaniu ze swoim metabolitem (3/30).

Eksperti NTP (1996) opisali wyniki badań porównawczych toksyczności i rakotwórczości chlorowodoru 2-toliloaminy i *o*-nitrozotoluenu prowadzone na szczurach F344/N narażanych drogą pokarmową na chlorowodorek 2-toliloaminy w dawce 5000 ppm przez 13 lub 26 tygodni. Chlorowodorek 2-toliloaminy wywoływał rozrost komórek mezotelialnych, międzybłoniaki, a także skupiska hemosyderyny w nabłonku kanalików nerkowych oraz zwiększona hematopoezę, kumulację hemosyderyny i torebkowe zwłóknienia w śledzionie.

Goodman i in. (1984) badali rakotwórczość 6 substancji, w tym chlorowodoru 2-toliloaminy. Związek ten indukował zwłóknienia i mięsaki śledziony u szczurów F344 narażanych drogą pokarmową (z paszą). Zwierzęta narażano począwszy od 6 miesiąca życia do 2 lat w dawkach: 150 lub 300 mg/kg mc./dzień. Zmiany występowały u zwierząt w zależności dawka-odpowiedź, z największą częstością u samców.

Pliss (2004) opisał 2-letnie badanie rakotwórczości 2-toliloaminy, po podaniu podskórnym myszom i szczurom. U 40% narażanych zwierząt rozwinęły się nowotwory, w tym guzy podskórnej tkanki tłuszczowej, gruczolakowłókniaki sutka, białaczki, guzy nerek oraz mięsaki wątroby.

Hecht i in. (1983) opisali badanie na złocistych chomikach syryjskich, które narażano na aminy aromatyczne, m.in. 2-toliloaminę, wstrzykując podskórną dawkę 99 mmol/kg tej substancji przez 52 tygodnie. Nie obserwowano, aby 2-toliloamina indukowała nowotwory u tych zwierząt w czasie obserwacji do 87 tygodni.

W badaniach opisanych przez *Pliss* (2004) narażano 5 psów drogą pokarmową, początkowo w karmie, później przez zgłębnik przez okres do 9 lat. Nie zaplanowano grupy kontrolnej. Opisano zgony 2psów z przyczyn niezwiązanych z nowotworami, a u dwóch psów rozwinęły się nowotwory pęcherza.

Eksperti NTP (NTP 2014) ocenili wyżej opisane badania działania rakotwórczego na zwierzętach: sześć badań drogą pokarmową, cztery na szczurach i dwa na myszach (*Weisburger* i in. 1978; NCI 1979; *Hecht* i in. 1982; NTP 1996), a także dwa drogą podskórną: na szczurach i na chomikach (*Hecht* i in. 1983; *Pliss* 2004) jako potwierdzające działanie rakotwórcze 2-toliloaminy.

Na podstawie powyższych badań eksperymentalnych można wnioskować, że narażenie drogą pokarmową na 2-toliloaminę wywołuje nowotwory pęcherza moczowego przede wszystkim u samic szczura, w mniejszym stopniu u samców. U samic szczura F344, narażanych wraz z paszą na 2-toliloaminę, obserwowano statystycznie znamienne, zależny od dawki, wzrost częstości występowania raka pęcherza. Zależność dawka - odpowiedź w postaci progresji nowotworowej od rozrostu do raka komórek nabłonka przejściowego była szczególnie widoczna u samic szczura w badaniach NCI (1979).

Tabela 7.

Wyniki badań działania rakotwórczego 2-toliloaminy podawanej drogą pokarmową w postaci chlorowodoru

Gatunek zwierząt Długość trwania eksperymentu	Warunki narażenia	Wyniki badania			Istotność statystyczna	Piśmiennictwo
Droga pokarmowa/podanie dożołądkowe (chlorowodorek 2-toliloaminy)						
Myszy białe CD-1 2 grupy po 25♂ i 25♀ każda 21 miesięcy	dożołądkowo z paszą I grupa: 16000 mg/kg paszy (2400 mg/kg mc.) przez 5 miesięcy, następnie 8000 mg/kg paszy (1200 mg/kg mc.) przez 13 miesięcy, obserwacja przez kolejne 3 miesiące II grupa: 32000 mg/kg paszy (4800 mg/kg mc.) przez 3 miesiące, następnie 16000 mg/kg paszy (2400 mg/kg mc.) przez 15 miesięcy, obserwacja przez kolejne 3 miesiące K1 - kontrola równoległa K2 - połączone grupy kontrolne	nowotwory naczyniowe (naczyniaki i mięsakonaczyniaki narządów brzusznych i pęcherza moczowego łącznie):			* P < 0,025 (w porównaniu do wszystkich grup kontrolnych) ** P < 0,05 (w porównaniu do wszystkich grup kontrolnych)	Weisburger i in. 1978
		płeć ♂	Grupa K1 K2 I II	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 0/14 (0%) 5/99 (5%) 5/14 (36%)* 9/11 (82%)*		
		płeć ♀	Grupa K1 K2 I II	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 0/15 (0%) 9/102 (9%) 5/18 (28%)** 9/21 (43%)*		
Myszy B6C3F ₁ 2 grupy po 50♂ i 50♀ każda Kontrola 20♂ i 20♀ 103 tygodnie	dożołądkowo z paszą I grupa: 1000 mg/kg paszy (150 mg/kg mc.) II grupa: 3000 mg/kg paszy (450 mg/kg mc.) K - kontrola	nowotwory naczyniowe (naczyniaki i mięsakonaczyniaki narządów brzusznych i pęcherza moczowego łącznie):			* P < 0,005 (test trendu) ** P < 0,007 (test Fishera) P < 0,001 (test trendu) *** P = 0,015 (test trendu)	NCI 1979
		płeć ♂	Grupa K I II	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 1/19 (5%) 2/50 (4%) 12/50 (24%)*		
		mięsakonaczyniaki narządów brzusznych i pęcherza moczowego:				
		płeć ♂	Grupa K I II	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 1/19 (5%) 1/50 (2%) 10/50 (20%)*		

Gatunek zwierząt Długość trwania eksperymentu	Warunki narażenia	Wyniki badania			Istotność statystyczna	Piśmiennictwo
		raki i gruczolaki wątrobowokomórkowe (łącznie):				
		płeć ♀	Grupa K I II	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 0/20 (0%) 4/49 (8%) 13/50 (26%)**		
		raki wątrobowokomórkowe:				
		płeć ♀	Grupa K I II	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 0/20 (0%) 2/49 (4%)* 7/50 (14%***		
Szczury Charles River CD 2 grupy po 25♂ 24 miesiące	dożołądkowo z paszą I grupa: 8.000 mg/kg paszy (400 mg/kg mc.) - 3 miesiące, następnie 4.000 mg/kg paszy (200 mg/kg mc.)- 15 miesięcy, obserwacja kolejnych 6 miesięcy II grupa: 16.000 mg/kg paszy (800 mg/kg mc.) przez 3 miesiące, następnie 8.000 mg/kg paszy (400 mg/kg mc.) przez 15 miesięcy obserwacja przez kolejnych 6 miesięcy K1 - kontrola równoległa K2 - połączone grupy kontrolne	podskórne włókniaki i włókniakomięsaki (łącznie):			* P < 0,025 (w porównaniu do wszystkich grup kontrolnych)	Weisburger i in. 1978
		płeć ♂	Grupa K1 K2 I II	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 0/16 (0%) 18/111 (16%) 18/23 (78%)* 21/24 (87%)*		
		pęcherz moczowy (raki z komórek przejściowych pęcherza):				
		płeć ♂	Grupa K1 K2 I II	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 0/16 (0%) 5/111 (4%) 3/23 (13%) 4/24 (17%)		
szczury Fischer 344 grupa I 30♂ grupa kontrolna 30♂ 93 tygodnie	dożołądkowo z paszą I grupa: 4.000 mg/kg paszy (200 mg/kg mc.) przez 72 tygodnie Całkowita dawka wchłonięta: 31,3 g/szczura	włókniaki skóry			* P < 0,001 (test Fishera) ** P < 0,01 (test Fishera)	Hecht i in. 1982
		płeć ♂	Grupa K I	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 1/27 (4%) 25/30 (83%)*		
		włókniaki śledziony				
		płeć ♂	Grupa K I	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 0/27 (0%) 10/30 (33%)*		

Gatunek zwierząt Długość trwania eksperymentu	Warunki narażenia	Wyniki badania			Istotność statystyczna	Piśmiennictwo
		<i>gruczołakowłókniaki sutka</i>				
		<i>płeć</i> ♂	<i>Grupa</i> K I	<i>Liczba zwierząt z nowotworami (%):</i> 0/27 (0%) 11/30 (37%)*		
		<i>mięsaki otrzewnej</i>				
		<i>płeć</i> ♂	<i>Grupa</i> K I	<i>Liczba zwierząt z nowotworami (%):</i> 0/27 (0%) 9/30 (30%)**		
szczury Fischer 344 2 grupy po 50♂ i 50♀ każda 104 tygodnie	dożołądkowo z paszą I grupa: 3.000 mg/kg paszy (150 mg/kg mc.) II grupa: 6.000 mg/kg paszy (300 mg/kg mc.)	<i>mięsaki, mięsakowłókniaki, mięsakonaczyniaki, kostniakomięsaki o różnym umiejscowieniu, głównie w tkance podskórnej, śledzionie i kościach (łącznie)</i>			P < 0,001 **P = 0,003 ***P < 0,5 ****P = 0,001 *****P = 0,002	NCI 1979
		<i>płeć</i> ♂	<i>Grupa</i> K I II	<i>Liczba zwierząt z nowotworami (%):</i> 0/20 (0%) 15/50 (30%)** 37/49 (75%)*		
		<i>płeć</i> ♀	<i>Grupa</i> K I II	<i>Liczba zwierząt z nowotworami (%):</i> 0/20 (0%) 3/50 (6%) 21/49 (43%)*		
		<i>mięsaki o różnym umiejscowieniu</i>				
		<i>płeć</i> ♂	<i>Grupa</i> K I II	<i>Liczba zwierząt z nowotworami (%):</i> 0/20 (0%) 3/50 (6%) 11/49 (22%)*		
		<i>włókniakomięsaki o różnym umiejscowieniu</i>				
		<i>płeć</i> ♂	<i>Grupa</i> K I II	<i>Liczba zwierząt z nowotworami (%):</i> 0/20 (0%) 8/50 (16%) 20/49 (41%)*		
		<i>podskórne powłokowe włókniaki</i>				
		<i>płeć</i> ♂	<i>Grupa</i> K I II	<i>Liczba zwierząt z nowotworami (%):</i> 0/20 (0%) 28/50 (56%)* 27/49 (55%)*		

Gatunek zwierząt Długość trwania eksperymentu	Warunki narażenia	Wyniki badania			Istotność statystyczna	Piśmiennictwo
		międzybłoniaki o różnym umiejscowieniu				
		płeć ♂	Grupa K I II	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 0/20 (0%) 17/50 (34%)* 9/49 (18%)*		
		kostniakomięsaki o różnym umiejscowieniu				
		płeć ♀	Grupa K I II	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 0/20 (0%) 0/50 (0%) 18/49 (37%)*		
		mięsakonaczyniaki śledziony				
		płeć ♀	Grupa K I II	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 0/20 (0%) 7/49 (14%) 9/49 (18%)*		
		raki z komórek przejściowych pęcherza moczowego:				
		płeć ♀	Grupa K I II	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 0/20 (0%) 9/45 (2%)* 22/47 (47%)*		
		gruczolakowłókniaki sutka				
		płeć ♀	Grupa K I II	Liczba zwierząt z nowotworami (%): 6/20 (30%) 20/50 (40%) 35/49 (71%)*		

Objaśnienia:

♂ – samiec

♀ – samica

Jakościowa ocena działania rakotwórczego

W UE 2-toliloamina została urzędowo zaklasyfikowana i zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12. 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającym i uchylającym dyrektywy 67/648/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającym rozporządzenie WE nr 1907/2006, (Dz. Urz. UE L 353 z dnia 31.12.2008 r. z późn. zm.) [tzw. rozporządzenie CLP] posiada klasyfikację zharmonizowaną jako Carc. 1B (działający rakotwórczo kategoria 1B) z przypisanym zwrotem H350 – może powodować raka.

W Polsce zgodnie z aktualnie obowiązującym rozporządzeniem 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 (Dz.U. 2012 poz. 890) za kancerogeny zawodowe uznawane są substancje chemiczne spełniające kryteria klasyfikacji jako rakotwórcze lub mutagenne kategorii 1A lub 1B opisane w rozporządzeniu CLP. Dlatego też 2-toliloaminę należy rozpatrywać jako kancerogen zawodowy. Stąd też wynika fakt zgłaszania przez pracodawców narażenia na ten związek do Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje, Preparaty, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym prowadzonego w IMP.

Eksperti Komitetu Naukowego ds. Dopuszczalnych Norm Zawodowego Narażenia na Oddziaływanie Czynników Chemicznych w Pracy powołanego przy KE (SCOEL) zaliczyli 2-toliloaminę do grupy A kancerogenów czyli substancji rakotwórczych mających właściwości genotoksyczne (SCOEL 2017).

Niemiecka Komisja do Badania Zagrożenia Zdrowia Związkami Chemicznymi w Miejscu Pracy (DFG) zaliczyła 2-toliloaminę do kategorii 1 kancerogenów, czyli do substancji, które powodują raka u człowieka i substancji, co do których przyjmuje się, że znacząco wpływają na ryzyko wystąpienia raka. Badania epidemiologiczne dostarczają wystarczających dowodów na pozytywny związek pomiędzy narażeniem ludzi a wystąpieniem raka. Ograniczone dane epidemiologiczne natomiast mogą być poparte dowodami potwierdzającymi, że substancja wywołuje raka na drodze mechanizmów charakterystycznych dla człowieka (DFG 2012)

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) uznała, że zarówno dowody działania rakotwórczego 2-toliloaminy u ludzi (rak pęcherza moczowego), jak i dowody działania rakotwórczego u zwierząt doświadczalnych są wystarczające i zaklasyfikowała *o*-toluidynę jako czynnik rakotwórczy dla ludzi (grupa 1) (IARC 2012).

W Stanach Zjednoczonych Narodowy Instytut Bezpieczeństwa Zawodowego i Zdrowia (NIOSH) uznał *o*-toluidynę za kancerogen zawodowy. Amerykańska Konferencja Państwowych Higienistów Przemysłowych (ACGIH) zaklasyfikowała *o*-toluidynę do kategorii A3 – czynnik o potwierdzonym działaniu rakotwórczym na zwierzęta i nieznanym działaniu na ludzi. Natomiast według NTP związek został zaliczony do kategorii K, czyli do substancji o udowodnionym działaniu rakotwórczym na człowieka (ACGIH Guide 2015).

Ilościowa ocena działania rakotwórczego

Szymczyk i in. (2002) przygotowali modelowanie ryzyka nowotworu u ludzi w wyniku narażenia zawodowego na *o*-toluidynę na podstawie wyników uzyskanych w badaniach NCI (1979) dotyczących powstawania raka pęcherza moczowego u samic szczurów (szczegółowe dane dotyczące doświadczenia zamieszczono w tabeli 7).

Podczas ekstrapolacji wyników uzyskanych na zwierzętach do rezultatów dla narażonych ludzi autorzy przyjęli, że w czasie zmiany roboczej człowiek zużywa 10 m^3 powietrza, pracuje 240 dni w roku przez maksymalnie 40 lat, średni okres trwania życia wynosi 70 lat, a średnia masa ciała 70 kg. Zależność między wielkością stężenia *o*-toluidyny w powietrzu środowiska pracy a dodatkowym ryzykiem powstania nowotworu pęcherza moczowego przedstawiona została na rycinie 1.



Ryc. 1. Zależność między stężeniem *o*-toluidyny w powietrzu środowiska pracy a prawdopodobieństwem powstania nowotworu pęcherza moczowego przy 40-letnim okresie narażenia (Szymczyk i in. 2002)

Autorzy oszacowali, że w przy 40 letnim okresie narażenia zawodowego na 2-toliloaminę w stężeniu 1 mg/m^3 dodatkowe ryzyko wystąpienia raka pęcherza moczowego wynosi $3,1 \cdot 10^{-4}$.

Bardzo zbliżone wyniki modelowania ryzyka nowotworu u ludzi w wyniku narażenia zawodowego na 2-toliloaminę uzyskali eksperci SCOEL wykorzystując również dane dotyczące raka pęcherza moczowego występującego u samic szczurów narażanych na 2-toliloaminę w eksperymencie NCI (1979). Oszacowali oni, że dawka wyznaczająca powodującą 10% wzrost częstości występowania raka pęcherza moczowego (BMD_{10}) wynosi $42,2 \text{ mg/kg mc./dzień}$ i odpowiada zawodowemu narażeniu inhalacyjnemu na związek w stężeniu 414 mg/m^3 dla 8-godzinnego dnia pracy przez 5 dni w tygodniu (zużycie powietrza w ciągu zmiany roboczej 10 m^3 , masa ciała 70 kg.). Oszacowane wartości ryzyka wyniosły:

dla 414 mg/m^3 - 10^{-1}

dla 4,1 mg/m ³	-	10 ⁻³
dla 0,41 mg/m ³	-	10 ⁻⁴
dla 0,041 mg/m ³	-	10 ⁻⁵
dla 0,0041 mg/m ³	-	10 ⁻⁶ (SCOEL, 2017).

Działanie embriotoksyczne, fetotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

Ludzie

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji odnośnie wpływu 2-toliloaminy na rozrodczość u ludzi.

Zwierzęta doświadczalne

Grupy 15 samic i 15 samców szczurów narażano dermalnie na 2-toliloaminę w dawkach 8 lub 80 mg/kg mc. (zanurzenie 2/3 ogona w badanym roztworze) przez 4 h/dzień przez 4 miesiące (*Malysheva i in. 1983*). Nie obserwowano różnic w liczbie padłych zwierząt oraz w liczebności płodów w porównaniu z kontrolą. U potomstwa matek narażanych na wysokie dawki 2-toliloaminy obserwowano zmniejszenie przyrostu masy ciała utrzymujące się przez pierwszy miesiąc życia. U potomstwa zarówno samic, jak i samców narażanych na dużą dawkę 2-toliloaminy stwierdzono nieznaczne zmiany względnej masy nerek, serca, płuc i jajników.

U myszy otrzymujących dootrzewnowo 2-toliloaminę w dawkach 0,05 ÷ 0,5 mg/kg mc. przez 5 dni nie obserwowano uszkodzenia plemników. Jednakże dawka 0,5 mg/kg mc. była dawką śmiertelną (*Topham 1980*).

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie

W narażeniu zawodowym 2-toliloamina wchłania się drogą inhalacyjną i dermalną. Oszacowana szybkość wchłaniania tej substancji przez skórę wynosi: 0,56 mg/cm²/h (*Fiserova-Bergerowa i in. 1990*).

W moczu narażonych inhalacyjnie pracowników wykryto 2-toliloaminę lub też addukty z hemoglobina, świadczące o wchłanianiu substancji tą drogą (*Korinth i in. 2007, 2006; Ward i in. 1996; Jones i in. 2005*). Potwierdza to również fakt, że stężenie 2-toliloaminy w powietrzu środowiska pracy znacząco koreluje ze stężeniem w moczu pracowników przemysłu gumowego (*Brown i in. 1995*). U osób zatrudnionych w zakładach przemysłu przetwórstwa gumowego stężenie 2-toliloaminy w moczu zebrany po zmianie roboczej było 25-krotnie większe w porównaniu z osobami nienarażonymi na tę substancję i 6-krotnie większe niż stężenie w moczu pobrany przed zmianą roboczą. Co więcej, fakt, że stężenie 2-toliloaminy w moczu pobrany przed zmianą roboczą u osób narażonych było większe niż u osób nienarażonych świadczy o tym, że substancja ta nie ulega eliminacji w okresie pomiędzy zmianami roboczymi (*Brown i in. 1995, Stettler i in. 1992*). Badania przeprowadzone przez *Korinth* i in. wśród pracowników przemysłu gumowego potwierdzają również wchłanianie przez skórę 2-toliloaminy (*Korinth i in. 2006, 2007*). Obserwacje wskazują, że uszkodzenia skóry nasilają skutki narażenia, bardziej niż zwiększenie stężenia substancji w powietrzu. U pracowników, u

których występowały uszkodzenia skóry (poparzenia, rumień, egzema) 2-toliloamina wchłaniała się 1,5-2-krotnie bardziej niż u osób z nieuszkodzoną skórą (Korinth i in. 2006). W kolejnej pracy Kornith i in. (2007) opisali badanie 51 osób narażonych zawodowo na 2-toliloaminę. U pracowników, u których obserwowano rumień na skórze, wykryto więcej adduktów 2-toliloaminy z hemoglobina (417,9 ng/l) w porównaniu z osobami ze zdrową skórą (118,3 ng/l). Wykazano ponadto, że stosowanie ochron osobistych w postaci rękawic ochronnych znacząco zmniejsza objawy narażenia (Korinth i in. 2007).

Rozmieszczenie

Nie opisano badań dotyczących rozmieszczenia 2-toliloaminy u człowieka.

Z badań na zwierzętach wynika, że 2-toliloamina wchłania się bardzo dobrze z przewodu pokarmowego. Badania Seńczuka i Rucińskiej (1984), którzy badali szybkość zaniku 2-toliloaminy z krwi u szczurów, samic szczepu Wistar po jednorazowym dożołądkowym podaniu tej substancji w ilości 40 mg wykazały, że największe stężenie 2-toliloaminy we krwi (około 100 µg/ml) wystąpiło po godzinie od podania. W ciągu 12 h stężenie to zmniejszyło się do około 35 µg/ml, a po 24 h wynosiło około 15 µg/ml. W badaniach tych wykazano zależność między wielkością dawki 2-toliloaminy a jej stężeniem we krwi (współczynnik korelacji wyniósł 0,95) (Seńczuk, Rucińska 1984).

Z badań przeprowadzonych na szczurach wynika, że 2-toliloamina jest bardzo dobrze wchłaniana z przewodu pokarmowego, następnie szybko metabolizowana i wydalana z organizmu (Brock i in. 1990; Cheever i in. 1980; Son i in. 1980). U szczurów, którym znakowaną radioaktywnie 2-toliloaminę wstrzykiwano podskórnie lub podawano przez zgłębnik, po upływie 48 h od narażenia wykazano obecność 2-toliloaminy i jej metabolitów w następujących narządach wewnętrznych: nerkach (0,015 - 0,06% podanej dawki), płucach (0,02 - 0,03%), śledzionie (0,002 - 0,04%), okrężnicy (0,006%) oraz pęcherzu moczowym (0,0003 - 0,002%), przy czym największą zawartość (0,12 - 0,34%) odnotowano w wątrobie (Son i in. 1980).

Brock i in. (1990) opisali rozmieszczenie 2-toliloaminy u samców szczurów Crl:CD® BR, do 72 h od podania jednorazowej dawki dożołądkowej 500 mg/kg mc. Największe stężenie odnotowano w krwi, śledzionie, nerkach i wątrobie. Stężenia były 3 -12 razy większe niż w pozostałych narządach (mózgu, płucach, sercu, pęcherzu moczowym, szpiku i mięśniach). Stężenie 2-toliloaminy w surowicy zmniejszało się w miarę upływu czasu: po 24 h od podania wynosiło około 80 µg/ml, po 36 h – 30 µg/ml, a po 48 h – 10 µg/ml. W badaniach tych zaobserwowano również, że 2-toliloamina wiąże się kowalencyjnie z wątrobowym DNA i RNA (maks. 24 ÷ 48 h od podania) (Brock i in. 1990). 2-Toliloamina może tworzyć u ludzi addukty z hemoglobina, u szczurów natomiast z hemoglobina i albumina (Ward i in. 1996; DeBord i in. 1992).

Metabolizm

Nie opisano badań dotyczących metabolizmu 2-toliloaminy u człowieka.

Kierunek metabolizmu 2-toliloaminy może zależeć od gatunku narażanych zwierząt. Najwięcej doświadczeń zostało przeprowadzonych na szczurach. Metabolizm 2-toliloaminy zachodzi przez hydroksylację i N-acetylację. Głównymi metabolitami powstałymi na tej drodze były: 4-amino-*m*-krezol i N-acetylo-4-amino-*m*-krezol. Są one

następnie sprzęgane z kwasem siarkowym oraz glukuronowym i w tej postaci są wydalone z moczem (Szymańska i in. 2009).

Badania nad metabolizmem 2-toliloaminy były prowadzone na szczurach narażanych drogą pokarmową lub poprzez podskórne iniekcje (Kulkarni i in. 1983; Son i in. 1980). Główny szlak metaboliczny to *N*-acetylowanie i hydroksylacja w pozycji *para* w stosunku do grupy aminowej (rzadziej w pozycji *orto*) oraz sprzęganie z kwasem glukuronowym lub siarkowym. Mniej metabolitów powstaje w wyniku utleniania grupy metylowej lub aminowej.

Kulkarni i in. (1983) zidentyfikowali *N*-hydrokso-*o*-toluidynę w moczu narażanych szczurów. Zdaniem autorów pracy ten właśnie metabolit może odgrywać rolę w kancerogenezie pęcherza moczowego.

Cheeveri in. (1980) opisali obecność niezmetaboliowanej 2-toliloaminy i 4-amino-*m*-krezolu u szczurów narażanych dożołądkowo, sugerując, że głównym szlakiem metabolicznym jest hydroksylacja pierścienia. Ponadto Gupta i in. (1987), na podstawie przemian innych amin aromatycznych opisali jeszcze inne możliwe metabolity 2-toliloaminy: *N*-acetokso-*o*-toluidyna, *N*-acetylo-*N*-hydrokso-*o*-toluidyna, *N*-acetokso-*N*-acetylo-*o*-toluidyna, 2-hydrokso-6-metyloacetanilid i *o*-azotoluen. Co więcej, *N*-acetokso-*o*-toluidyna może ulec nieenzymatycznemu rozpadowi tworząc reaktywne formy elektrofilowe, takie jak jon nitrenium, nitren i wolne rodniki, które mogą wiązać się z białkami i DNA. Inny opisany szlak to utlenianie niesprężonych metabolitów fenolowych do reaktywnych imin chinonowych (English i in. 2012; Skipper i in. 2010). Przemiany te mogą mieć szczególne znaczenie dla genotoksyczności i rakotwórczości 2-toliloaminy (NTP 2014). Eksperci NTP w swojej ocenie wskazują, *N*-hydrokso-*o*-toluidyna jest dalej metabolizowana we krwi u szczurów do nitrozotoluenu, który indukuje methemoglobinemię (NTP 2014).

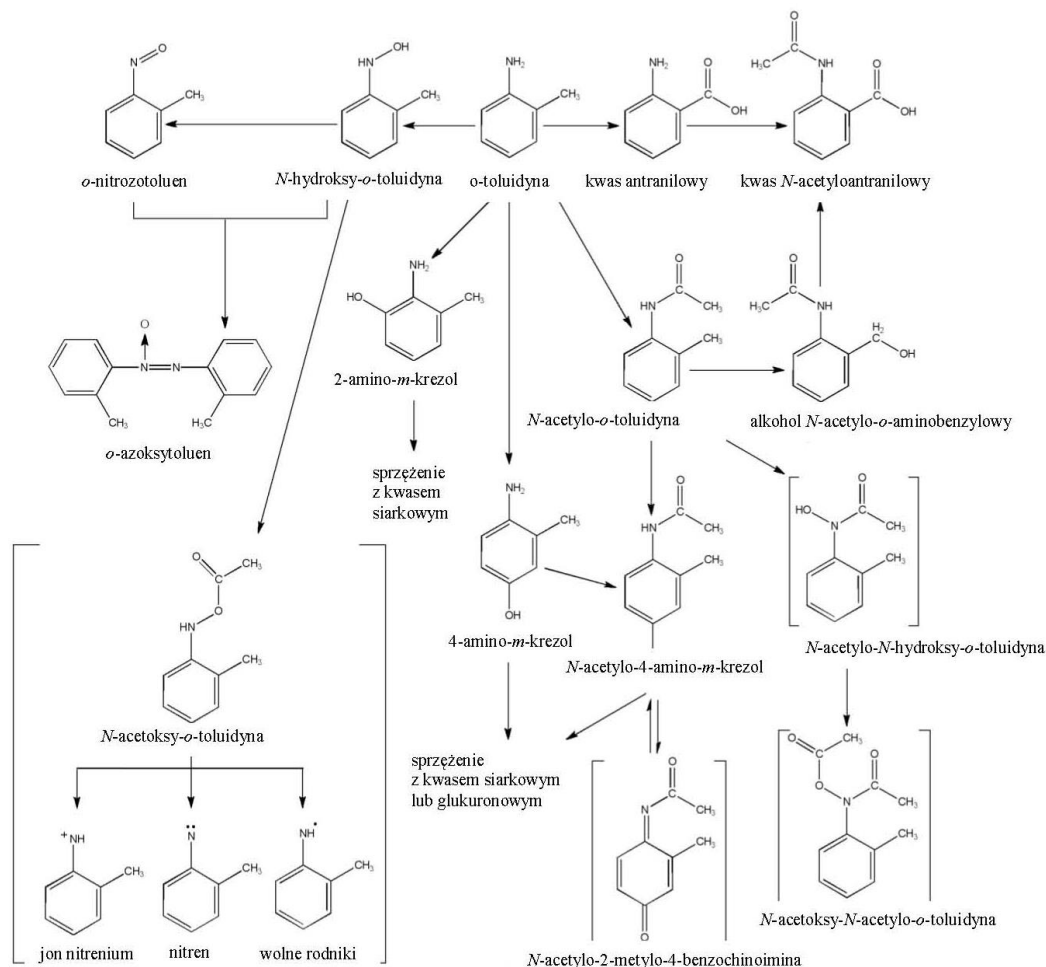
Badanie procentowego udziału zidentyfikowanych metabolitów w moczu wykazało, że 66% stanowiły metabolity w postaci siarczanów, 23% produkty acetylowania i 11,6% metabolity w postaci połączeń z kwasem glukuronowym. W moczu szczurów narażanych na 2-toliloaminę zidentyfikowano (NTP 2014; Son i in. 1980; Kulkarni i in. 1983; Szymańska i in. 2009):

- 2-toliloaminę - 5,1% podanej dawki
- metabolity skoniugowane:
 - siarczan 4-amino-*m*-krezolu - 27,8%
 - siarczan *N*-acetylo-4-amino-*m*-krezolu - 8,5%
 - siarczan 2-amino-*m*-krezolu - 2,1%
 - glukuronid 4-amino-*m*-krezolu - 2,6%
 - glukuronid *N*-acetylo-4-amino-*m*-krezolu - 2,8%
 - glukuronid *N*-acetylo-*o*-aminobenzylu - 1,3%
 - koniugaty niezidentyfikowane - 5,9%
- inne metabolity:
 - kwas antranilowy - 0,3%
 - kwas *N*-acetyloantranilowy - 0,3%
 - N*-acetylo-*o*-toluidyna - 0,2%
 - alkohol *N*-acetylo-*o*-aminobenzylowy - 0,3%
 - N*-acetylo-4-amino-*m*-krezol - 0,3%
 - 4-amino-*m*-krezol - 0,06%
 - o*-azoksytoluen - 0,2%

o-nitrozotoluen – 0,1%

N-hydrokso-*o*-toluen 0,1%

Schemat przemian metabolicznych 2-toliloaminy przedstawia Ryc. 2.



Ryc. 2. Schemat przemian metabolicznych 2-toliloaminy (NTP 2014)

Wydalanie

Niezależnie od drogi narażenia, 2-toliloamina jest wydalana głównie z moczem (Son i in. 1980; Cheever i in. 1980). Cheever i in. podawali znakowaną izotopowo 2-toliloaminę dożyłkowo w postaci chlorowodoru w dawce 50 mg/kg mc. szczurom, samcom szczepu Sprague-Dawley. Pomiar radioaktywności węgla ^{14}C wykazał, że po 72 h od podania zostało wydalone z moczem 94,7% podanej dawki – z czego 37,41% w postaci 2-toliloaminy, a 51,66% w postaci jej metabolitów (głównie 4-amino-*m*-krezolu) (Cheever i in. 1980). U szczurów, którym znakowaną radioaktywnie 2-toliloaminę wstrzykiwano podskórnie lub podawano dożyłkowo, po upływie 48 h od narażenia wykazano obecność 2-toliloaminy i jej metabolitów w moczu (83,9% dawki), kale (3,3%) oraz wydychanym powietrzu (1,4%) (Son i in. 1980).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Dane dotyczące mechanizmu działania 2-toliloaminy są nieliczne. Uważa się, że działa podobnie do innych amin aromatycznych, również jeśli chodzi o działanie rakotwórcze, które może wynikać z kilku mechanizmów działania, w tym: aktywacji metabolicznej skutkującej powstawaniem reaktywnych metabolitów wiążących się kowalencyjnie z DNA i białkami, działania mutagennego i genotoksycznego, cytotoksyczności oraz tworzenia adduktów z hemoglobina (Szymańska i in. 2009; NTP 2014). Badania prowadzone w warunkach in vivo i in vitro wykazały, że 2-toliloamina wiąże się z hemoglobina gryzoni (Stettler i in. 1992; Birner, Neumann 1988; DeBord i in. 1992; Cheever i in. 1992) oraz DNA, RNA i białkami szczurów, którym podano ten związek (Brock i in. 1990; Duan i in. 2008). Addukty z DNA stwierdzono również w ludzkiej tkance nowotworowej pęcherza moczowego oraz w grasicy cielęcej (Marques i in. 1996; Böhm i in. 2011).

English i in. (2012) zaproponował mechanizm rakotwórczego działania 2-toliloaminy w pęcherzu moczowym ludzi i gryzoni. 2-Toliloamina przy udziale cytochromu P450 ulega w wątrobie bioaktywacji do *N*-hydroksy-*o*-toluidyny, a następnie w nabłonku przejściowym pęcherza moczowego aktywowana jest do *N*-acetoksy-*o*-toluidyny przez system acetylotransferaz NAT1. W wyniku hydrolizy powstają jony nitrenium, które mogą wiązać się z DNA. W nabłonku przejściowym mogą równolegle powstawać niesprężone metabolity fenolowe, które indukują powstawanie reaktywnych form tlenu, oksydacyjne uszkodzenia i proliferację komórek. Bezpośrednie i pośrednie uszkodzenia DNA mogą prowadzić do mutacji, a w konsekwencji rozwoju nowotworu pęcherza moczowego. Ponadto inne metabolity 2-toliloaminy powstające w wątrobie mogą zdaniem autorów wykazywać działanie geno- i cytotoksyczne (English i in. 2012; Sabbioni i Sepai 1995).

Ponadto istotnym skutkiem działania 2-toliloaminy jest tworzenie methemoglobiny. Za działanie to najprawdopodobniej odpowiedzialne są hydroksylowe metabolity 2-toliloaminy (Szymańska i in. 2009; English i in. 2012).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych umożliwiających ocenę łącznego działania 2-toliloaminy z innymi substancjami chemicznymi.

ZALEŻNOŚĆ EFEKTU TOKSYCZNEGO OD POZIOMU NARAŻENIA

Dostępne dane dotyczące toksyczności 2-toliloaminy nie są wystarczające do określenia zależności dawka-odpowiedź. Jeśli chodzi o działanie rakotwórcze 2-toliloaminy, w postaci chlorowodoru 2-toliloaminy, to zależność skutku od wielkości narażenia drogą pokarmową u myszy i szczurów podano w tabeli 7.

NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIA (NDS) W POWIETRZU ŚRODOWISKA PRACY ORAZ DOPUSZCZALNE STĘŻENIE W MATERIALE BIOLOGICZNYM (DSB)

Istniejące wartości NDS i DSB

W tabeli 8. podano wartości normatywów higienicznych 2-toliloaminy obowiązujące w różnych państwach UE i poza nią (SCOEL 2017; Szymańska i in. 2009; GESTIS 2017). W Polsce wartość NDS 2-toliloaminy w powietrzu środowiska pracy wynosi 3 mg/m³

(Dz.U.2014 poz.1348).

Tabela 8.

Wartości normatywów higienicznych 2-toliloaminy obowiązujące w różnych państwach (Dz.U.2014 poz.1348; SCOEL 2017; *Szymańska i in.* 2009; GESTIS 2017; ACGIH Guide 2015)

Państwo/Instytucja	Wartość NDS		Wartość NDSh		Uwagi/Oznakowanie
	mg/m ³	ppm	mg/m ³	ppm	
Austria (2011)	0,5	0,1	2	0,4	TRK; Sk; carc
Belgia (2014)	8,9	2	–	–	Sk; carc
Dania (2016)	9	2	–	–	Sk
Finlandia (2012)	–	2	–	4	Sk; carc
Francja (2012)	9	2	–	–	carc
Hiszpania (2011)	0,89	0,2	–	–	
Irlandia (2011)	0,9	0,2	–	–	Sk
Niemcy (2012)	–	–	–	–	Sk; carc
Polska (2006)	3	–	–	–	carc. 1B; I; Sk
Węgry (2000)	0,5	–	–	–	dla ryzyka 4·10 ⁻⁵
Wielka Brytania (2011)	0,89	0,2	–	–	carc
SCOEL (2017)	–	–	–	–	Sk; carc A
UE dyrektywa 2017/2398	0,5	0,1	–	–	skóra
Australia (2011)	8,8	2	–	–	Sk; carc
Japonia	4,4	1	–	–	
Kanada (Ontario) (2013)	–	2	–	–	
Kanada (Quebec) (2010)	8,8	2	–	–	
Łotwa	0,5	0,1	1	–	
Norwegia (2011)	4,5	1	–	–	
Nowa Zelandia (2013)	0,89	0,2	–	–	
Szwajcaria (2016)	0,5	0,1	–	–	Sk; carc
USA (OSHA) (2006)	22	5	–	–	Sk
USA (ACGIH) (2012)	8,8	2	–	–	Sk; A3
USA (NIOSH) (2016)	–	–	–	–	Sk; Ca

Objaśnienia:

TRK – wartość oparta na technicznej możliwości zrealizowania.

Sk – substancja wchłaniająca się przez skórę.

carc. – substancja rakotwórcza.

carc 1B – substancja rakotwórcza kategoria 1B zgodnie z rozporządzeniem CLP,

carc. A – klasyfikacja SCOEL – grupa A oznacza substancję rakotwórczą mającą właściwości genotoksyczne.

Ca – klasyfikacja NIOSH – kancerogen zawodowy.

A3 – klasyfikacja ACGIH – czynnik o potwierdzonym działaniu rakotwórczym na zwierzęta i nieznanym działaniu na ludzi.

I – substancja drażniąca

Jeśli chodzi o wartość dopuszczalną w materiale biologicznym (DSB 2)-toliloaminy, w Polsce autorzy dokumentacji NDS opublikowanej w 2009 r. (*Szymańska i in.* 2009) na podstawie wytycznych ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) zaproponowali, aby za wskaźnik narażenia na 2-toliloaminę przyjąć poziom methemoglobiny we krwi (2% MetHb).

Ponadto w Niemczech eksperci DFG ustalili wartość BAR (Biologischer Arbeitsstoff-Referenzwert)² na poziomie 0,2 µg 2-toliloaminy (po hydrolizie)/L moczu (DFG 2012;

² BAR (“Biologische Arbeitsstoff-Referenzwerte”) obecne na poziomie tła stężenie substancji, występujące w populacji referencyjnej osób w wieku produkcyjnym nienarażonych zawodowo na tę substancję (95 percentyl). Należy pamiętać, że na poziom referencyjny substancji wynikający z narażenia tła mogą wpływać czynniki takie jak wiek, płeć, status społeczny, środowisko mieszkalne, styl życia i region geograficzny. Poziom referencyjny substancji lub jej metabolitu w materiale biologicznym jest określany na podstawie zmierzonego poziomu substancji w losowo wybranej próbce z określonej

Kütting i in. 2009; *Schettgen* i in. 2001; *Weiß* 2005). Jest to wartość referencyjna ustalona dla populacji nienarażonej zawodowo. Wartość tę jako BGV (biological guidance value – wartość wskaźnikowa w materiale biologicznym) dla populacji niepalącej zalecają również eksperci SCOEL (SCOEL 2017). Ze względu na uznanie 2-toliloaminy za kancerogen działający genototoksycznie SCOEL nie wyznaczył wartości BLV (Biological Limit Value).

Podstawy proponowanej wartości NDS i DSB

W SCOEL nie zaproponowano wiążącej wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia 2-toliloaminy (BOELV), uznając ją za genototoksyczny kancerogen. Natomiast dyrektywie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/2398 z dnia 12 grudnia 2017 r. zmieniającej dyrektywę 2004/37/WE w sprawie ochrony pracowników przed zagrożeniem dotyczącym narażenia na działanie czynników rakotwórczych lub mutagenów podczas pracy przyjęto za wartość wiążącą stężenie 2-toliloaminy na poziomie 0,5 mg/m³.

Wartość tę zaproponowano na podstawie analizy socjoekonomicznej, oceny ryzyka środowiskowego oraz ryzyka wystąpienia raka pęcherza moczowego u pracowników zawodowo narażonych na 2-toliloaminę, opisanych w dokumentacji Institute of Occupational Medicine (IOM, Research Project: P937/19, May 2011). Na podstawie wspomnianej dokumentacji eksperci ACSH stwierdzili również, że ze względu na szacowane obecnie stężenia 2-toliloaminy w środowisku pracy, które dla 98% pracowników nie przekraczają 0,5 mg/m³, przemysł jest gotowy na proponowaną wartość dopuszczalnego stężenia.

W IOM oceniono, że w 2010 r. odnotowano 7 zgonów z powodu raka pęcherza moczowego na 22 zarejestrowane przypadki wynikające z wcześniejszego narażenia na 2-toliloaminę, co stanowiło 0,017% wszystkich zgonów spowodowanych rakiem pęcherza moczowego. Oszacowano, że w 2060 r. nie będzie zgonów spowodowanych rakiem pęcherza moczowego, a prawdopodobnie tylko jeden przypadek nowotworu będzie związany z zawodowym narażeniem na 2-toliloaminę. Koszty zdrowotne raka pęcherza moczowego w latach 2010-2070 dla wartości dopuszczalnej 2-toliloaminy na poziomie 4,4 mg/m³ (1 ppm) oceniono na ogółem od 86 mln EUR do 696 mln EUR, przy czym większe koszty będą dla mężczyzn i głównie dla przemysłu chemicznego oraz gumowego. Zmniejszenie dopuszczalnego stężenia 2-toliloaminy do poziomu 0,5 mg/m³ (0,1 ppm) w tym samym okresie czasu zmniejszy koszty zdrowotne do poziomu od 1 mln EUR do 7,6 mln EUR. Jeżeli chodzi o koszty ekonomiczne, to zmiana zakresu stosowania 2-toliloaminy ze względu na zapisy rozporządzenia REACH ograniczające zastosowanie barwników azowych w wyrobach włókienniczych i skórzanych, które mogą wejść w bezpośredni i przedłużony kontakt z ludzką skórą lub jamą ustną (np.: ubrania, pościel, ręczniki, wyroby sanitarne, paski do zegarków, torebki, portfele, pokrycia krzeseł, zabawki, przędza i tkaniny przeznaczone do użycia przez konsumentów), znacznie zmniejszyła produkcję substancji oraz jej poziom na stanowiskach pracy. Ponadto jako substancja rakotwórcza kat. 1B 2-toliloamina nie może być stosowana w stężeniu > 0,1% we wszystkich produktach przeznaczonych do powszechnej sprzedaży (REACH, CLP). W IOM oszacowano, że tylko kilka przedsiębiorstw (mniej niż 10) będzie wymagało podjęcia dodatkowych pomiarów na

populacji. Narażenie zawodowe można ocenić poprzez porównanie wartości uzyskanych w biomonitoringu wśród osób narażonych zawodowo z wartością BAR

stanowiskach pracy i oceny narażenia w odniesieniu do proponowanej wartości OEL 0,5 mg/m³ (0,1 ppm), co pociągnie za sobą koszty od 0,5 tys. EUR do 2 tys. EUR. Oszacowano również koszty związane z zastosowaniem nowego systemu wentylacji od 42 ty. EUR do 252 tys. EUR. Koszty socjalne, makro-ekonomiczne oraz środowiskowe wprowadzenia wartości OEL 0,5 mg/m³ (0,1 ppm) dla 2-toliloaminy w opinii ekspertów IOM będą minimalne (IOM, Research Project: P937/19, May 2011).

W Polsce, zgodnie z danymi GIS, nie stwierdzono pracowników zatrudnionych w narażeniu na 2-toliloaminę w stężeniach > 3 mg/m³ (obowiązująca wartość NDS) oraz > 1,5 mg/m³ (0,5 wartości NDS). W latach 2015-2016 odpowiednio 13 i 17 osób pracowało w warunkach narażenia na 2-toliloaminę w stężeniach 0,3 ÷ 1,5 mg/m³ (0,1 ÷ 0,5 NDS).

Dla wartości wiążącej 2-toliloaminy ujętej w dyrektywie 2017/2398/UE na poziomie 0,5 mg/m³, zgodnie z wyliczeniem *Szymczyk i in. (2002)* prawdopodobieństwo powstania nowotworu pęcherza moczowego po 40-letnim okresie oceniono na $1,55 \cdot 10^{-4}$, tj. 1,55 przypadków na 10 000 narażonych. Natomiast zgodnie z szacowaniem SCOEL, analogiczne warunki narażenia wiązą się z dodatkowym ryzykiem raka pęcherza moczowego wynoszącym $1,22 \cdot 10^{-4}$.

Dodatkowe ryzyko zachorowania na raka pęcherza moczowego w wyniku 40-letniego zawodowego narażenia na dotychczas obowiązującą w Polsce wartość NDS 2-toliloaminy, tj. 3 mg/m³ również pozostaje w zakresie ryzyka akceptowanego $10^{-4} \div 10^{-3}$. Zespół Ekspertów ds. Czynników Chemicznych Międzyresortowej Komisji ds. NDS i NDN przyjął wartości NDS 2-toliloaminy na poziomie wartości wiążącej ujętej w dyrektywie 2017/2398, tj. 0,5 mg/m³ bez ustalenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh). Jako wartość DSB 2-toliloaminy pozostawiono, jak dotychczas 2% poziomu MetHb we krwi. Przyjęto następujące oznakowanie 2-toliloaminy: „skóra” (wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową) oraz Carc. 1B (substancja rakotwórcza kategorii 1B).

PIŚMIENNICTWO

ACGIH (2015) Guide to Occupational Exposure Values.

Arni P, Dollenmeier P, Müller D (1985). Automated modification of the Ames test with COBAS Bact. *Mutat Res*, 144:137–140. doi:10.1016/0165-7992(85)90129-0. PMID:3903483

Baker RS, Bonin AM (1981) Study of 42 coded compounds with the Salmonella mammalian microsome assay. In: de Serres FJ, Ashby J (eds) Progress in mutation research, evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international collaborative program. Amsterdam: Elsevier Science, 249–260. cyt. za IARC 2010

Baker RS, Bonin AM (1985) Tests with the Salmonella plate-incorporation. In: Ashby J, de Serre FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Ashelby MD (eds) Progress in mutation research, evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: 177–180. cyt. za IARC 2010

Barfknecht TR, Naismith RW, Kornbrust DJ (1987). Variations on the standard protocol design of the hepatocyte DNA repair assay. *Cell Biol Toxicol*, 3:193–207. doi:10.1007/BF00058456. PMID:3507255

Barrett JC, Lamb PW (1985) Tests with the Syrian hamster embryo cell transformation assay. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 623–628. cyt. za IARC 2010

Barrett RH (1985) Assays for unscheduled DNA synthesis in HeLa S3 cells. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research Evaluation

- of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 347–352. cyt. za IARC 2010
- BASF (1979) Bericht über die gewerbetoxikologische Grundprüfung. Unveroeffentlichte Untersuchung der Abt. Toxikologie (BASF, 77/448, 10.09.1979). (cyt. za OECD, 2004)
- Batiste-Alentorn M, Xamena N, Creus A, Marcos R (1991). Genotoxicity studies with the unstable zeste-white (UZ) system of *Drosophila melanogaster*: results with ten carcinogenic compounds. *Environ Mol Mutagen*, 18:120–125. doi:10.1002/em.2850180207 PMID:1908775
- Batiste-Alentorn M, Xamena N, Creus A, Marcos R (1994). Further studies with the somatic white- ivory system of *Drosophila melanogaster*: genotoxicity testing of ten carcinogens. *Environ Mol Mutagen*, 24:143–147. doi:10.1002/em.2850240210. PMID:7925328
- Bayer AG (1978). Loeser E, o-Toluidin Untersuchungen zur akuten Toxizität, unpublished investigations, November 11, 1978 (cyt. za OECD, 2004)
- Birner G and Neumann HG (1988) Biomonitoring of aromatic amines II: Hemoglobin binding of some monocyclic amines. *Arch Toxicol* 62: 110-115
- Böhm F, Schmid D, Denzinger S, Wieland WF, Richter E. 2011. DNA adducts of *ortho*-toluidine in human bladder. *Biomarkers* 16(2): 120-128.
- Brock WJ, Hundley SG, Lieder PH (1990). Hepatic macromolecular binding and tissue distribution of *ortho*- and *para*-toluidine in rats. *Toxicol Lett*, 54:317–325. doi:10.1016/0378-4274(90)90199-V PMID:1701932
- Brooks TM, Dean BJ (1981) Mutagenic activity of 42 coded compounds in the Salmonella/microsome assay with preincubation. In: de Serres FJ, Ashby J (eds) Progress in mutation research, evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international collaborative program. Amsterdam: 261–270. cyt. za IARC 2010
- Brooks TM, Gonzalez LP, Calvert R i in. (1985) The induction of mitotic gene conversion in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* strain JD1. In: Ashby J, De Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin B, Matter BE Shelby MD (eds) Evaluation of Short-Term Tests for Carcinogenesis. Progress in Mutation Research. Vol. 5. Amsterdam: Elsevier, pp. 225–228. cyt. za IARC 2010
- Brown KK, Teass AW, Simon S, Ward EM. 1995. A biological monitoring method for *o*-toluidine and aniline in urine using high performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Appl Occup Environ Hyg* 10(6): 557-565.
- Carreón T, Hein MJ, Viet SM, Hanley KW, Ruder AM, Ward EM (2010) Increased bladder cancer risk among workers exposed to *o*-toluidine and aniline: a reanalysis. *Occup Environ Med* 67(5): 348-350.
- Carreón T, Hein MJ, Hanley KW, Viet SM, Ruder AM. 2014. Bladder cancer incidence among workers exposed to *o*-toluidine, aniline and nitrobenzene at a rubber chemical manufacturing plant. *Occup Environ Med* 71(3): 175-182.
- Carere A, Conti G, Conti L i in. (1985) Assays in *Aspergillus nidulans* for the induction of forward-mutation in haploid strain 35 and for mitotic nondisjunction, haploidization and crossing-over in diploid strain P1. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research, evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 307–312. cyt. za IARC 2010
- Carls N, Schiestl RH (1994). Evaluation of the yeast DEL assay with 10 compounds selected by the International Program on Chemical Safety for the evaluation of short-term tests for carcinogens. *Mutat Res*, 320:293–303. doi:10.1016/0165-1218(94)90082-5 PMID:7508555
- Case RA, Pearson JT. 1954. Tumours of the urinary bladder in workmen engaged in the manufacture and use of certain dyestuff intermediates in the British chemical industry. II. Further consideration of the role of aniline and of the manufacture of auramine and magenta (fuchsine) as possible causative agents. *Br J Ind Med* 11(3): 213-216. (cyt. za IARC 2010)
- Cesarone CF, Bolognesi C, Santi L (1982). Evaluation of damage to DNA after in vivo exposure to different classes of chemicals. *Arch Toxicol*, 5 Suppl;355–359.
- Cheever KL, DeBord DG, Swearingin TF, Booth-Jones AD (1992) *ortho*-Toluidine blood protein adducts: HPLC analysis with fluorescence detection after a single dose in the adult male rat. *Fundamental and Applied Toxicology* 18: 522-531.
- Crespi CL, Ryan CG, Seixas GM i in. (1985) Tests for mutagenic activity using mutation assays at two loci in the human lymphoblast cell lines TK6 and AHH-1. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin B, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. report of the international programme of chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 497–516. cyt. za IARC 2010

- Danford N (1985) Tests for chromosome aberrations and aneuploidy in the chinese hamster fibroblast cell line CH1-L. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 397–411.
- Danford N (1991). The genetic toxicology of ortho-toluidine. *Mutat Res*, 258:207–236. PMID:1719402
- Daniel MR, Dehnel JM (1981). Cell transformation test with baby hamster kidney cells. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 626–637. cyt. za IARC 2010
- DeBord DG, Swearengen TF, Cheever KL, Booth-Jones AD, Wissinger LA (1992) Binding characteristics of o-toluidine to rat hemoglobin and albumin. *Arch Toxicol* 66: 231-236
- DFG [Deutsche Forschungsgemeinschaft](2012). MAK-und BAT-Werte-Liste. Grenzwerte in biologischem Material zu o-Toluidin. Addendum zu o-Toluidin. BAT Value Documentation in German language, 2012. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.bb9553d0019/pdf>.
- Dorado G, Pueyo C (1988). L-arabinose resistance test with *Salmonella typhimurium* as a primary tool for carcinogen screening. *Cancer Res*, 48:907–912. PMID:3276401
- Douglas GR, Blakey DH, Liu-Lee VW i in. (1985) Alkaline sucrose sedimentation, sister-chromatid exchange and micronucleus assays in CHO cells. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vivo essays. Amsterdam: Elsevier Science, 359–366. cyt. za IARC 2010
- Duan JD, Jeffrey AM, Williams GM (2008) Assessment of the medicines lidocaine, prilocaine, and their metabolites, 2,6-dimethylaniline and 2-methylaniline, for DNA adduct formation in rat tissues. *Drug Metab Dispos* 36(8): 1470-1475.
- DuPont Chem (1981). Inhalation Median Lethal Concentration. December 22 1981: NTIS/OTS 057956. (cyt. za HSDB, 2017)
- Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/2398 z dnia 12 grudnia 2017 r. zmieniająca dyrektywę 2004/37/WE w sprawie ochrony pracowników przed zagrożeniem dotyczącym narażenia na działanie czynników rakotwórczych lub mutagenów podczas pracy. *DzUrz. UE L* 345 z 27.12.2017, 87.
- ECHA, 2017 <https://echa.europa.eu/pl/brief-profile/-/briefprofile/100.002.209> (wrzesień, 2017)
- Ehman B., Strombeck J.P.: Demonstration of tumorigenic decomposition products of 2,3-azotoluene. *Acta Physiol. Scand.*, 1947, 14, 43-50 (cyt. za Szymańska i in., 2009)
- English JC, Bhat VS, Ball GL, McLellan CJ. 2012. Establishing a total allowable concentration of o-toluidine in drinking water incorporating early lifestage exposure and susceptibility. *Regul Toxicol Pharmacol* 64(2): 269-284.
- Falck K, Partanen P, Sorsa M i in. (1985). Mutascreen, an automated bacterial mutagenicity assay. *Mutat Res*, 150:119–125. PMID:3889612
- Ferretti JJ, Lu W, Liu MB (1977). Mutagenicity of benzidine and related compounds employed in the detection of hemoglobin. *Am J Clin Pathol*, 67:526–527. PMID:326025
- Fiserova-Bergerova V. i in. (1984) Effect of toluidines on drug metabolizing enzymes in rat liver, kidney and lung. *Toxicology* 32, 335–342.
- Fox M, Delow JF (1985) Tests for mutagenic activity at the HGPRT locus in Chinese hamster V79 cells in culture. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 517–523. cyt. za IARC 2010
- Fritzenschaf H, Kohlpoth M, Rusche B, i in. (1993) Testing of known carcinogens and noncarcinogens in the Syrian hamster embryo (SHE) micronucleus test in vitro; correlations with in vivo micronucleus formation and cell transformation. *Mutation Research/Genetic Toxicology* 319: 47–53.
- Fujikawa KI, Ryo H, Kondo S (1985) The Drosophila reversion assay using the unstable zest-white somatic eye color system. In: Ashby J, De Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin B, Matter BE Shelby MD (eds) Evaluation of Short-Term Tests for Carcinogenesis. Progress in Mutation Research. Vol. 5. Amsterdam: Elsevier, 319–324. cyt. za IARC 2010
- Garner RC, Nutman CA (1977). Testing of some azo dyes and their reduction products for mutagenicity using *Salmonella typhimurium* TA 1538. *Mutat Res*, 44:9–19. PMID:331098

- Gatehouse D (1981), Vol 1, Mutagenic activity of 42 coded compounds in the 'microtiter' fluctuation test, 376–386. cyt. za IARC 2010
- GESTIS, 2017
- Glauert HP, Kennan WS, Sattler GL i in. (1985) Assays to measure the induction of unscheduled DNA synthesis in cultured hepatocytes. In: Evaluation of short-term tests for carcinogens. report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays Progress in Mutation Research Amsterdam: Elsevier Science, 371–373 cyt. za IARC 2010
- Goldbratt M.W.: Research in industrial health in the chemical industry. Brit. J. Ind. Med., 1955, 12(1), 1-20 (cyt. za Szymczyk i in. 2002)
- Goodman D, Ward J, Reichardt W (1984) Splenic fibrosis and sarcomas in F344 rats fed diets containing aniline HCL, *p*-chloroaniline, azobenzene, *o*-toluidine HCL, 4,4'-sulfonyldianiline or D+C red No. 9. *Journal of the National Cancer Institute*, 73(1):265–273.
- Gosselin R.E., Smith R.P., Hodge H.C.: Clinical Toxicology of Commercial Products. 5th ed., Baltimore: Williams and Wilkins, 1984
- Grant W.M.: Toxicology of the eye. 3 rd. ed. Springfield I.L: Charles C. Thomas Publisher, 1986, 929
- Gulati DK, Sabharwal PS, Shelby MD (1985) Tests for the induction of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in cultured chinese hamster ovary (CHO) cells. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin B, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 413–426. cyt. za IARC 2010
- Gupta RL, Gupta AK, Pathak DP, Juneja TR. 1987. Mutagenic studies of ortho-toluidine and its potential metabolites. *Indian J Exp Biol* 25(9): 618-622.
- Hanley KW, Viet SM, Hein MJ, Carreón T, Ruder AM (2012) Exposure to *o*-toluidine, aniline, and nitrobenzene in a rubber chemical manufacturing plant: A retrospective exposure assessment update. *J Occup Environ Hyg* 9(8): 478-490
- Harrington TR, Nestmann ER (1985) tests for mutagenic activity in growing cells of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* strain XV185–14C. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin B, Matter BE Shelby MD (eds) progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vivo essays. Amsterdam: Elsevier Science, 257–260. cyt. za IARC 2010
- Hatch GG, Anderson TM (1985) Assays for enhanced DNA viral transformation of primary Syrian hamster embryo (SHE) cells. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin B, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme of chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 629–638 cyt. za IARC 2010
- Hecht SS, El-Bayoumy K, Rivenson A, Fiala E. 1982. Comparative carcinogenicity of *o*-toluidine hydrochloride and *o*-nitrosotoluene in F-344 rats. *Cancer Lett* 16(1): 103-108.
- HSDB, 2017 – baza danych <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?/temp/~zzs8Eo:1> (wrzesień, 2017)
- IARC (2000) ortho-Toluidine. In Some Industrial Chemicals. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, vol. 77. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. pp. 267-322.
- IARC (2010) Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Some Aromatic Amines, Organic Dyes, and Related Exposures. ortho-TOLUIDINE Vol. 99: 407-469
- IARC (2012) ortho-Toluidine. In *A Review of Human Carcinogens: Chemical Agents and Related Occupations*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, vol. 100F. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. pp. 93-100.
- IMP (2017) Centralny Rejestr Danych o Narażeniu na Substancje Chemiczne, Ich Mieszaniny, Czynniki Lub Procesy Technologiczne O Działaniu Rakotwórczym Lub Mutagennym (*dane niepublikowane*)
- Inge-Vechtomov NN, Pavlov YI, Noskov VN i in. (1985) Tests for genetic activity in the yeast *saccharomyces cerevisiae*: study of forward and reverse mutation, mitotic recombination and illegitimate mating incubation. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vivo assays, Amsterdam. Elsevier Science, 243–255. cyt. za IARC 2010
- Institute of Occupational Medicine IOM, Research Project: P937/19, May 2011
- Ishidate M, Sofuni T (1985) The in vitro chromosomal aberration test using chinese hamster lung (CHL) fibroblast cells in culture. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin BH, Matter BE

- Shelby MD (eds) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 427–432. cyt. za IARC 2010
- Jacobson K (1972) Acute oral toxicity of mono- and di-alkyl ringsubstituted derivatives of aniline. *Toxicology and applied pharmacology*, 22:153–154. (cyt. za SCOEL 2017)
- Jagannath DR, Vultaggio DM, Brusick DJ (1981). Genetic activity of 42 coded compounds in the mitotic gene conversion assay using *Saccharomyces cerevisiae* strain D4. In: de Serres FJAJ (ed) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international collaborative program, Amsterdam. Elsevier Science, 456–467. cyt. za IARC 2010
- Johansson GM, Jönsson BA, Axmon A, Lindh CH, Lind ML, Gustavsson M, Broberg K, Boman A, Meding B, Lidén C, Albin M (2015) Exposure of hairdressers to ortho- and meta-toluidine in hair dyes. *Occup Environ Med* 72(1):57-63
- Jones CR, Liu YY, Sepai O, Yan H, Sabbioni G (2005) Hemoglobin adducts in workers exposed to nitrotoluenes. *Carcinogenesis* 26(1): 133-143
- Kada T (1981) The DNA-damaging activity in 42 coded compounds in the rec-assay. In: de Serres FJAJ (ed) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Reports of the international collaborative program, Amsterdam. Elsevier Science, 175–182. cyt. za IARC 2010
- Kawalek JC, Hallmark RK, Andrews AW (1983). Effect of lithocholic acid on the mutagenicity of some substituted aromatic amines. *J Natl Cancer Inst*, 71:293–298. PMID:6348361
- Kerckaert GA, LeBoeuf RA, Isfort RJ (1998). Assessing the predictiveness of the Syrian hamster embryo cell transformation assay for determining the rodent carcinogenic potential of single ring aromatic/nitroaromatic amine compounds. *Toxicol Sci*, 41:189–197. doi:10.1093/toxsci/41.2.189. PMID:9520355
- Khlebnikova M, Gladkova E, Kurenko L, Pshenitsyn A, Shalin B (1970) [Problems of industrial hygiene and health status of workers engaged in the production of *o*-toluidine.] *Gigiena Truda i Professional'nye Zabollevaniya*, 14:7–10 (in Russian).
- Knaap AGAC, Langebroek PB (1985) Assays for the induction of gene mutations at the thymidinekinase locus and the hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase locus in L5178Y mouse lymphoma cells in culture. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 531–536. cyt. za IARC 2010
- Korinth G, Weiss T, Penkert S, Angerer J, Drexler H (2006) Case report Dermal absorption of aromatic amines in workers with different skin lesions: a report on 4 cases. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology* 1(17) doi:10.1186/1745-6673-1-17
- Korinth G, Weiss T, Penkert S, Schaller KH, Angerer J, Drexler H. (2007). Percutaneous absorption of aromatic amines in rubber industry workers: impact of impaired skin and skin barrier creams. *Occup Environ Med* 64(6): 366-372.
- Kornbrust DJ, Barfknecht TR (1984). Comparison of rat and hamster hepatocyte primary culture/DNA repair assays. *Environ Mutagen*, 6:1–11. doi:10.1002/em.2860060102. PMID:6692797
- Kulkarni B, Fiala ES, Weisburger JH (1983) Estimation of N-hydroxy-*o*-toluidine, a urinary metabolite of *o*-toluidine and *o*-nitrosotoluene, by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Carcinogenesis* 4(10): 1275-1279.
- Kuroda Y, Yokosuka A, Kada T (1985) Assays for the induction of mutations to 6-thioguanine resistance in Chinese hamster C79 cells in culture. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 537–542. cyt. za IARC 2010
- Lakhanisky T, Hendrickx B (1985) Induction of DNA single-strand breaks in CHO cells in culture. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical cyt. za IARC 2010
- Lawrence N, McGregor DB (1985) Assays for the induction of morphological transformation in C3H/10T 1/2 cells in culture. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 651–658. cyt. za IARC 2010
- Lee CG, Webber TD (1985) The induction of gene mutation in the mouse lymphoma L5178Y/TK +/- assay and the Chinese hamster C79/HGPRT assay. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ,

- Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 547–554. cyt. za IARC 2010
- Lewis R.J.: Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials, 10th ed. Van Nostrand Reinhold, New York, 2000, 3488
- Lindahl-Kiessling K, Karlberg I, Olofsson AM (1989). Induction of sister-chromatid exchanges by direct and indirect mutagens in human lymphocytes, co-cultured with intact rat liver cells. Effect of enzyme induction and preservation of the liver cells by freezing in liquid nitrogen. *Mutat Res*, 211:77–87. PMID:2922003
- Lindstrom HV, Bowie WC, Wallace WC, Nelson AA, Fitzhigh OG (1969) The toxicity and metabolism of mesidine and pseudocumidine in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 167, 223–234. (cyt. za SCOEL 2017)
- Lunkin V.N.: Information for the hygienic establishment of the maximum allowable concentration of para- and ortho-toluidines in inland water. *Ref. Zh. Otol. Vyp. Farmakol. Khiomioter. Sredstva. Toksikol.*, 1967, 12 (54), 1096 (cyt. za OECD, 2004)
- Łazariew N.W.: Szkodliwe Substancje w Przemysle. Tom I - Związki organiczne. PWT, Warszawa, 1954, 439–440 (cyt. za Szymczyk I. i in., 2002)
- MacDonald DJ (1981) Salmonella/Microsome tests on 42 coded chemicals. In: de Serres FJ, Ashby J (eds) progress in mutation research, evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international collaborative program. Amsterdam: Elsevier Science, 285–297. cyt. za IARC 2010
- MAK documentation (1991) o-Toluidine and o-Toluidine hydrochloride
- Malysheva, M. V., E. P. Saitseva, Y. V. Ivanov: *Gig. Tr. prof. Zabol. No. 9, AI* (1983) (cyt. za MAK, 1986)
- Markowitz SB and Levin K (2004). Continued epidemic of bladder cancer in workers exposed to ortho-toluidine in a chemical factory. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 46: 154–160.
- Marques MM, Mourato LL, Santos MA, Beland FA. 1996. Synthesis, characterization, and conformational analysis of DNA adducts from methylated anilines present in tobacco smoke. *Chem Res Toxicol* 9(1): 99–108. (Supported by NATO and Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica, Portugal. Authors affiliated with Instituto Superior Técnico, Portugal; National Center for Toxicological Research, AR.) (cyt. za NTP, 2014)
- Martin FL, Cole KJ, Orme MH i in. (1999). The DNA repair inhibitors hydroxyurea and cytosine arabinoside enhance the sensitivity of the alkaline single-cell gel electrophoresis ('comet') assay in metabolically-competent MCL-5 cells. *Mutat Res*, 445:21–43. PMID:10521689
- Matsushima T, Muramatsu M, Haresaku M (1985) Mutation tests on Salmonella typhimurium by the preincubation method. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research, evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 181–186. cyt. za IARC 2010
- Matthews EJ, DelBalzo T, Rundell JO (1985) Assays for morphological transformation and mutation to oua bain resistance of Balb/c-3T3 cells in culture. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research, evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 639–650. cyt. za IARC 2010
- McCann J, Choi E, Yamasaki E, Ames BN (1975). Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: assay of 300 chemicals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 72:5135–5139. doi:10.1073/pnas.72.12.5135. PMID:1061098
- McFee AF, Jauhar PP, Lowe KW i in. (1989). Assays of three carcinogen/non-carcinogen chemical pairs for in vivo induction of chromosome aberrations, sister chromatid exchanges and micronuclei. *Environ Mol Mutagen*, 14:207–220. doi:10.1002/em.2850140402 PMID:2583129
- McLean J.E., Starmer G.A., Thomas J.: Methaemoglobin formation by aromatic amines. *J. Pharmacol. Pharm.*, 1969, 21, 441–450 (cyt. za Szymczyk i in. 2002)
- Mehta RD, von Borstel RC (1981), Vol 1, Mutagenic activity of 42 encoded compounds in the haploid yeast reversion assay, strain XV185–14C., 414–423. cyt. za IARC 2010
- Mehta RD, von Borstel RC (1985) Tests for genetic activity in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* using strains D7–144, XV185–14C and RM52. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin B, Matter BE Shelby MD (eds) Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Amsterdam: Elsevier, 271–284. cyt. za IARC 2010
- Myhr B, Bowers L, Caspary WJ (1985) Assays for the induction of gene mutations at the thymidine kinase locus in L5178Y mouse lymphoma cells in culture. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term

- tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 555–568. cyt. za IARC 2010
- NCI. 1979. *Bioassay of o-Toluidine Hydrochloride for Possible Carcinogenicity*. Technical Report Series No. 153. DHEW (NIH) Publication No. 78-1394. Bethesda, MD: National Institutes of Health. 104 pp
- Nagao M, Takahashi Y (1981), Vol 1, Mutagenic activity of 42 coded compounds in the Salmonella/microsome assay., 302–313. cyt. za IARC 2010
- Nagao M, Yahagi T, Honda M i in. (1977). Demonstration of mutagenicity of aniline and o-toluidine by norharman. Proc Jpn Acad, Ser B, Phys Biol Sci, 53:34–37. doi:10.2183/pjab.53.34.
- Nagao M, Yahagi T, Sugimura T (1978). Differences in effects of norharman with various classes of chemical mutagens and amounts of S-9. Biochem Biophys Res Commun, 83:373–378. doi:10.1016/0006-291X(78)91000-8. PMID:358980 cyt. za IARC 2010
- Nakamura SI, Oda Y, Shimada T i in. (1987). SOS-inducing activity of chemical carcinogens and mutagens in Salmonella typhimurium TA1535/pSK1002: examination with 151 chemicals. Mutat Res, 192:239–246. doi:10.1016/0165-7992(87)90063-7 PMID:3317033
- Natarajan AT, Bussmannm CJM, van Kesteren-van Leeuwen AC i in. (1985) Tests for chromosome aberrations and sister-chromatid exchanges in Chinese hamster ovary (CHO) cells in culture. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 433–437. cyt. za IARC 2010
- Neal SB, Probst GS (1983). Chemically-induced sister-chromatid exchange in vivo in bone marrow of Chinese hamsters. An evaluation of 24 compounds. Mutat Res, 113:33–43. PMID:6828042
- Nesnow S, Curtis G, Garland H (1985) Tests with the C3H/10T 1/2 clone 8 morphological transformation bioassay. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 651–658. cyt. za IARC 2010
- NTP. 1996. *NTP Technical Report on Comparative Toxicity and Carcinogenicity Studies of o-Nitrotoluene and o-Toluidine Hydrochloride (CAS Nos. 88-72-2 and 636-21-5) Administered in Feed to Male F344/N Rats*. Toxicity Report Series No. 44. NIH Publication No. 96-3936. Research Triangle Park, NC: National Toxicology Program. 99 pp.
- NTP (2014) Report on Carcinogens. Monograph on *ortho*-Toluidine. July 2014. Office of the Report on Carcinogens Division of the National Toxicology Program National Institute of Environmental Health Sciences U.S. Department of Health and Human Services
- Obe G, Hille A, Jonas R i in. (1985) Tests for the induction of sister-chromatid exchanges in human peripheral lymphocytes in culture. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin B, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme of chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 439–442. cyt. za IARC 2010
- Oberly TJ, Bewsey BJ, Probst GS (1985) Tests for induction of forward mutation at the thymidine kinase locus of L5178Y mouse lymphoma cells in culture. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 569–582. cyt. za IARC 2010
- OECD SIDS Initial Assessment Report for SIAM 19. o-Toluidine (2004)
- Ohkuma Y, Hiraku Y, Oikawa S i in. (1999). Distinct mechanisms of oxidative DNA damage by two metabolites of carcinogenic o-toluidine. Archives of Biochemistry and Biophysics, 372: 97–106. doi:10.1006/abbi.1999.1461 PMID:10562421
- Ott MG i Langner RR (1983). A mortality survey of men engaged in the manufacture of organic dyes. *Journal of Occupational Medicine*, 25: 763–768. doi:10.1097/00043764-198310000-00018
- Palitti F, Fiore M, De Salvia R i in. (1985) Tests for the induction of chromosomal aberrations in chinese hamster ovary (CHO) cells in culture. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 443–450. cyt. za IARC 2010
- Parry JM, Eckardt F (1985a) The detection of mitotic gene conversion, point mutation and mitotic segregation using the yeast *Saccharomyces cerevisiae* strain D7. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin B, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in Mutation Research Evaluation of

- short-term tests for carcinogens. report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vivo essays. Amsterdam: Elsevier Science, 261–269. cyt. za IARC 2010
- Parry JM, Eckardt F (1985b) The induction of mitotic aneuploidy, point mutation and mitotic crossing-over in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* strains D61-M and D6. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin B, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vivo essays. Amsterdam: Elsevier Science, 285–295. cyt. za IARC 2010
- Parry JM, Sharp DC (1981), Vol 1, Induction of mitotic aneuploidy in the yeast strain D6 by 42 coded compounds., 468–480. cyt. za IARC 2010
- Piolatto G, Negri E, La Vecchia C, Pira E, Decarli A, Peto J (1991) Bladder cancer mortality of workers exposed to aromatic amines: an updated analysis. *Br J Cancer* 63(3): 457-459.
- Pira E, Piolatto G, Negri E, Romano C, Boffetta P, Lipworth L, McLaughlin JK, La Vecchia C. 2010. Bladder cancer mortality of workers exposed to aromatic amines: a 58-year follow-up. *J Natl Cancer Inst* 102(14): 1096-1099.
- Pliss GB. 2004. Experimental study of *ortho*-toluidine carcinogenicity [translated from Russian]. *Vopr Onkol* 50(5): 567-571. (cyt. za NTP, 2014)
- Prince MM, Ward EM, Ruder AM, Salvan A, Roberts DR (2000) Mortality among rubber chemical manufacturing workers. *Am J Ind Med* 37(6): 590-598
- Priston RJ, Dean BJ (1985) Tests for the induction of chromosome aberrations, polyploidy and sister-chromatid exchanges in rat liver (RL 4) cells. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 387–395. cyt. za IARC 2010
- Probst GS, Hill LE (1985) Tests for the induction of DNA-repair synthesis in primary cultures of adult rat hepatocytes. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vivo essays. Amsterdam: Elsevier Science, 381–386. cyt. za IARC 2010
- Rexroat MA, Probst GS (1985) Mutation tests with salmonella using the plate-incorporation assay (chapter 14). In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 201–212. cyt. za IARC 2010
- Richardson K, Band PR, Astrakianakis G, Le ND (2007) Male bladder cancer risk and occupational exposure according to a job-exposure matrix-a case-control study in British Columbia, Canada. *Scand J Work Environ Health* 33(6): 454-464.
- Richold M, Jones E (1981), Vol 1, Mutagenic activity of 42 coded compounds in the Salmonella/microsome assay., 314–322. cyt. za IARC 2010
- Rosenkranz HS, Poirier LA (1979). Evaluation of the mutagenicity and DNA-modifying activity of carcinogens and noncarcinogens in microbial systems. *J Natl Cancer Inst*, 62:873–892. PMID:372656
- Rowland I, Severs B (1981), Vol 1, Mutagenicity of carcinogens and noncarcinogens in the Salmonella/microsome test., 323–332. cyt. za IARC 2010
- Rozporządzenie Ministra Pracy i Polityki Społecznej z dnia 6 czerwca 2014 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy (Dz.U.2014 poz.1348 ze zm.)
- 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 (Dz.U. 2012 poz. 890)
- Rubino GF, Scansetti G, Piolatto G, Pira E (1982). The carcinogenic effect of aromatic amines: an epidemiological study on the role of *o*-toluidine and 4,4'-methylenebis (2-methylaniline) in inducing bladder cancer in man. *Environmental Research*, 27: 241–254. doi:10.1016/0013-9351(82)90079-2
- Sabbioni G, Sepai O. 1995. Comparison of hemoglobin binding, mutagenicity, and carcinogenicity of arylamines and nitroarenes. *Chimia* 49(10): 374-380. (cyt. za NTP, 2014)
- Salamone MF, Heddle JA, Kate M (1981) Mutagenic activity of 41 compounds in the in vivo micronucleus assay. In: de Serres FJ, Ashby J (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international collaborative program. Amsterdam: Elsevier Science, 686–697. cyt. za IARC 2010

- Sanner T, Rivedal E (1985) Tests with the Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation assay. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 665–671. cyt. za IARC 2010
- SCOEL (2017) *o*-Toluidine, 2-methylaniline. Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits SCOEL/REC/301, European Commission, *Adopted 8 February 2017* doi: 10.2767/82887
- Sekihashi K, Yamamoto A, Matsumura Y i in. (2002). Comparative investigation of multiple organs of mice and rats in the comet assay. *Mutat Res*, 517: 53–75. PMID:12034309
- Seńczuk W., Rucińska H. (1984) Toksykodynamiczne właściwości toluidyn. *Bromat. Chem. Toksykol.* 17, 51–61. (cyt. za Szymańska i in., 2009)
- Sharp DC, Parry JM (1981), Vol 1, Use of repair-deficient strains of yeast to assay the activity of 40 coded compounds., 502–516. cyt. za IARC 2010
- Short CR, King C, Sistrunk PW, Kerr KM (1983) Subacute toxicity of several ring-substituted dialkylanilines in the rat. *Fundamental and Applied Toxicology* 3: 285–292
- Simmon VF (1979). In vitro mutagenicity assays of chemical carcinogens and related compounds with *Salmonella typhimurium*. *J Natl Cancer Inst*, 62:893–899. PMID:372657
- Sittig M.: *Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens*. 3th ed. Vol. 2, Noyes Publications, Park Ridge, New Jersey, 1991, 1576–1577
- Skipper PL, Kim MY, Sun HL, Wogan GN, Tannenbaum SR. 2010. Monocyclic aromatic amines as potential human carcinogens: old is new again. *Carcinogenesis* 31(1): 50–58.
- Skopek TP, Andon BM, Kaden DA, Thilly WG (1981), Vol 1, Mutagenic activity of 42 coded compounds using 8-azaguanine resistance as a genetic marker in *Salmonella typhimurium*., 371–375. cyt. za IARC 2010
- Smyth HF JR, Carpenter CP, Weil CS, Pozzani UC and Striegel JA (1962). Range-Finding Toxicity Data List VI. *Am. Ind. Hyg. Ass. J.* 23, 95–107. (cyt. za SCOEL 2017)
- Son O.S., Everett D.W., Fiala E.S. (1980) Metabolism of *o*-[methyl-14C]toluidyne in the F344 rat. *Xenobiotica* 10, 457–468
- Sorahan T (2008) Bladder cancer risks in workers manufacturing chemicals for the rubber industry. *Occup Med (Lond)*, 58: 496–501.
- Sorahan T, Hamilton L, Jackson JR (2000) A further cohort study of workers employed at a factory manufacturing chemicals for the rubber industry, with special reference to the chemicals 2-mercaptobenzothiazole (MBT), aniline, phenyl-beta-naphthylamine and *o*-toluidine. *Occupational and Environmental Medicine*, 57: 106–115.
- Sorahan T, Pope D. (1993) Mortality study of workers employed at a plant manufacturing chemicals for the rubber industry: 1955–86. *Br J Ind Med* 50(11): 998–1002.
- SRI. 2012. *Directory of Chemical Producers*. Menlo Park, CA: SRI Consulting. Database edition. Last accessed: 4/26/12.
- Stasik MJ (1988). Carcinomas of the urinary bladder in a 4-chloro-*o*-toluidine cohort. *Int Arch Occup Environ Health*, 60: 21–24. doi:10.1007/BF00409374
- Stettler LE, Savage RE, Brown KK, Cheever KL, Weigel WW, DeBord DG, Teass AW, Dankovic D, Ward EM (1992) Biological monitoring for occupational exposures to ortho-toluidine and aniline. *Scand J Work Environ Health* 18(Suppl 2): 78–81
- Styles JA (1981). Activity of 42 coded compounds in the BHK-21 cell transformation test. In: de Serres FJ, Ashby J (eds) Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international collaborative program. Amsterdam: Elsevier Science, 638–646. cyt. za IARC 2010
- Suk WA, Humphreys JE (1985) Assay for the carcinogenicity of chemical agents using enhancement of anchorage-independent survival of retrovirus-infected Fischer rat embryo cells. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin B, Matter BE Shelby MD eds) Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. report of the international programme of chemical safety's collaborative study on in vitro assays. Amsterdam: Elsevier Science, 673–683. cyt. za IARC 2010
- Suzuki H, Ikeda N, Kobayashi K i in. (2005). Evaluation of liver and peripheral blood micronucleus assays with 9 chemicals using young rats. A study by the Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (CSGMT)/Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS)-Mammalian Mutagenicity Study Group (MMS). *Mutat Res*, 583: 133–145. PMID:15899588

- Szymańska J., Frydrych B. (2009) 2-Toliloamina. Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy, 2(60), 149–173
- Szymczyk I, Hanke W., Szymczak W. (2002) o-Toluidyna. Wytyczne szacowania ryzyka zdrowotnego dla czynników rakotwórczych. Instytut Medycyny Pracy im. prof. dra med. J. Nofera, Łódź
- Thompson CZ, Hill LE, Epp JK, Probst GS (1983). The induction of bacterial mutation and hepatocyte unscheduled DNA synthesis by monosubstituted anilines. *Environ Mutagen*, 5:803–811. doi:10.1002/em.2860050605. PMID:6653503
- Topham J.C. (1980) Do induced sperm head abnormalities in mice specifically identify mam-malian mutagens rather than carcinogens? *Mutat. Res.* 74, 379–387 (cyt. za Szymańska i in., 2009)
- Tsuchimoto T, Matter BE (1981) Activity of coded compounds in the micronucleus test. In: de Serres FJ, Ashby J (eds) *Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international collaborative program.* Amsterdam: Elsevier Science, 705–711. cyt. za IARC 2010
- van Went GF (1985) The test for sister-chromatid exchanges in Chinese hamster V79 cells in culture. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) *Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays.* Amsterdam: Elsevier Science, 469–477. cyt. za IARC 2010
- Vian L, Bichet N, Gouy D (1993). The in vitro micronucleus test on isolated human lymphocytes. *Mutat Res*, 291:93–102. PMID:7678919
- Vogel EW (1985) The Drosophila somatic recombination and mutation assay (SRM) using the white-coral somatic eye color system. In: In: Ashby J, De Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin B, Matter BE Shelby MD (eds) *Evaluation of Short-Term Tests for Carcinogenesis. Progress in Mutation Research.* Vol. 5. 313–317. cyt. za IARC 2010
- Ward E, Carpenter A, Markowitz S i in. (1991). Excess number of bladder cancers in workers exposed to ortho-toluidine and aniline. *Journal of the National Cancer Institute*, 83: 501–506. doi:10.1093/jnci/83.7.501
- Ward EM, Sabbioni G, DeBord DG i in. (1996). Monitoring of aromatic amine exposures in workers at a chemical plant with a known bladder cancer excess. *Journal of the National Cancer Institute*, 88: 1046–1052. doi:10.1093/jnci/88.15.1046
- Weisburger EK, Russfield AB, Homburger F i in. (1978). Testing of twenty-one environmental aromatic amines or derivatives for long-term toxicity or carcinogenicity. *J Environ Pathol Toxicol*, 2: 325–356.
- Williams GM, Tong C, Ved Brat S (1985) Tests with the rat hepatocyte peimary culture/DNA-repair test. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) *Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vivo essays.* Amsterdam: Elsevier Science, 341–345. cyt. za IARC 2010
- Würgler FE, Graf U, Frei H (1985) Somatic mutation and recombination test in wings of Drosophila melanogaster. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) *progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vivo essays.* Amsterdam: Elsevier Science, 325–340. cyt. za IARC 2010
- Zdzienicka MZ, Simons JW (1985) Assays for the induction of mutations to 6-thioguanidine and ouabain resistance in chinese hamster ovary (CHO) cells in culture. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate M, Margolin B, Matter BE Shelby MD (eds) *Progress in Mutation Research Evaluation of short-term tests for carcinogens. report of the internatinal programme of chemical safety's collaborative study on in vitro assays.* Amsterdam: Elsevier Science, 583–586. cyt. za IARC 2010
- Zeiger E, Haworth S (1985) Tests with a preincubation modification of the Salmonella/microsome assay. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) *Progress in mutation research, volume 5, evaluation of short-term tests for carcinogens. Report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vitro assays.* Amsterdam: Elsevier Science, 187–199. cyt. za IARC 2010
- Zimmermann FK, Heinisch J, Scheel I (1985) Tests for the induction of mitotic aneuploidy in the yeast Saccharomyces cerevisia strain D61. In: Ashby J, de Serres FJ, Draper M, Ishidate MJ, Margolin BH, Matter BE Shelby MD (eds) *Progress in mutation research Evaluation of short-term tests for carcinogens. report of the international programme on chemical safety's collaborative study on in vivo essays.* Amsterdam: Elsevier Science, 235–242. cyt. za IARC 2010
- Zimmermann FK, Scheel I (1981), Vol 1, Induction of mitotic gene conversion in strain D7 of Saccharomyces cerevisiae by 42 coded chemicals., 481–490. cyt. za IARC 2010