

Anilina

Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego¹

prof. dr hab. ANDRZEJ SAPOTA

e-mail: andrzej.sapota@umed.lodz.pl

dr MAŁGORZATA SKRZYPIŃSKA-GAWRYSIAK

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

90-151 Łódź

ul. J. Muszyńskiego 1

NDS: 1,9 mg/m³

NDSCh: 3,8 mg/m³

NDSP: –

DSB: 1,5 mg p-aminofenolu w moczu/h

Sk – substancja wchłania się przez skórę

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 4.10.2011 r.

Weryfikacja: marzec 2012 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 29.10.2012 r.

Słowa kluczowe: anilina, toksyczność, narażenie zawodowe, NDS, DSB.

Keywords: aniline, toxicity, occupational exposure, MAC, BEI.

Streszczenie

Anilina jest oleistą, bezbarwną cieczą o charakterystycznym zapachu. Sklasyfikowana jest jako substancja toksyczna, która działa toksycznie: przez drogi oddechowe, w kontakcie ze skórą i po połyknięciu. Może powodować uszkodzenie oczu i uczulenie w kontakcie ze skórą.

Produkcja aniliny jest wielkotonażowa. Anilina jest wyjściową substancją do otrzymywania związków przejściowych, stosowanych w różnych gałęziach przemysłu, głównie do produkcji 4,4'-metylenodianiliny – związku wyjściowego do otrzymywania mas poliuretanowych oraz do produkcji: związków dla przemysłu gumowego,

barwników, pestycydów i farmaceutyków.

Zawodowe narażenie na anilinę może występować podczas: produkcji, dalszego przerobu i dystrybucji tego związku, a także w procesie uwalniania aniliny jako produktu rozkładu przy termicznej degradacji mas plastycznych (np. w odlewniach czy w przemyśle gumowym przy wulkanizacji gumy) oraz stosowania produktów zawierających anilinę (np. barwniki).

Stężenia aniliny w powietrzu środowiska pracy w różnych gałęziach przemysłu obecnie nie przekraczają 3,6 mg/m³. W Polsce wg danych GIS w 2010 r. a nie było pracowników narażonych

¹ Przyjęte przez Międzyresortową Komisję ds. NDS i NDN Czynniki Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy wartości NDS, NDSCh i DSB aniliny zostały przedłożone w 2012 r. ministrowi pracy i polityki socjalnej (wniosek nr 86) w celu ich wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 części A wykazu wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy.

w środowisku pracy na anilinę o stężeniach w powietrzu przekraczających wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) związku, czyli 5 mg/m^3 .

W ostrych zatruciach pracowników narażonych zawodowo na anilinę obserwowano: sinicę, we krwi anemię z obecnością ciałek Heinza, ogólne osłabienie, zaburzenia umysłowe, drgawki i duszność. Obraz przewlekłego zatrucia aniliną w warunkach przemysłowych nie jest jednoznaczny, ponieważ wielu badaczy nie potwierdza możliwości powstania zatruc przewlekłych aniliną, wskazując raczej na sumowanie się skutków wielokrotnych zatruc ostrych.

Na podstawie wyników badań toksyczności ostrej aniliny na zwierzętach wykazano, że niezależnie od drogi narażenia (*per os* lub inhalacyjną) występują podobne objawy narażenia: sinica, objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego oraz wzrost stężenia MetHb we krwi, zależny od wielkości stężenia (dawki) aniliny. Obserwowano także duże różnice gatunkowe we wrażliwości zwierząt na anilinę.

Podprzewlekłe i przewlekłe narażenie szczurów i myszy na anilinę drogą inhalacyjną lub pokarmową skutkowało głównie, w zależności od wielkości dawki (stężenia), wzrostem: poziomu MetHb i ciałek Heinza oraz retikulocytów we krwi, a także objawów uszkodzenia śledziony.

Testy w warunkach *in vitro* na organizmach niższych (nie ssakach) nie wykazały zdolności aniliny do indukowania mutacji punktowych. Anilina indukowała aberracje chromosomowe w warunkach zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Skutki te obserwowano po narażeniu na anilinę o stosunkowo dużych stężeniach. Anilina powodowała też wzrost częstości tworzenia mikrojąder w komórkach somatycznych myszy i szczurów w warunkach *in vivo* tylko w zakresie dawek wywołujących methemoglobinemię i inne skutki toksyczne. Wyniki testów dotyczących uszkodzeń DNA przez anilinę, zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*, są dość rozbieżne, ale pozwalają jednak przypuszczać, że zdolność aniliny do bezpośredniego uszkodzenia DNA jest bardzo niewielka.

Działanie rakotwórcze aniliny (nowotwory śledziony) obserwowano jedynie u szczurów po przewlekłym narażeniu na duże dawki związku (72 mg/kg i większe) i były one ograniczone tylko do jednego gatunku zwierząt oraz praktycznie jednej płci (samce). W IARC zaliczono anilinę do grupy 3. – związków nieklasyfikowanych pod względem rakotwórczości dla ludzi. Eksperti Unii Europejskiej zaklasyfikowali anilinę jako substancję rakotwórczą Carc. 2., z przypisanym zwrotem określającym rodzaj za-

grożenia H351 – podejrzewa się, że powoduje raka. SCOEL zaliczył anilinę do grupy C – genotoksycznych kancerogenów, dla których można ustalić praktyczną wartość dopuszczalną na podstawie istniejących danych.

Anilina u zwierząt doświadczalnych nie wykazywała ani działania embriotoksycznego, ani teratogennego, a także nie wpływała na rozrodczość w dawkach nietoksycznych dla matek.

Anilina jest szybko wchłaniana: z przewodu pokarmowego i dróg oddechowych oraz przez skórę. Wydajność wchłaniania z przewodu pokarmowego zwierząt wynosi, w zależności od gatunku, od 56 do ponad 90%.

Szybkość wchłaniania par aniliny w drogach oddechowych ludzi (ochotników) w stanie spoczynku wynosiła odpowiednio $2 \div 11 \text{ mg/h}$, gdy stężenie wynosiło $5 \div 30 \text{ mg/m}^3$, a retencja wynosiła 91,3%. Anilina w postaci par wchłania się również przez skórę z szybkością wchłaniania tego samego rzędu co szybkość wchłaniania w drogach oddechowych. Szybkość absorpcji wzrasta wraz ze zwiększeniem temperatury otoczenia i wilgotności. Anilina także w postaci ciekłej bardzo wydajnie wchłania się przez skórę.

Na podstawie wyników badań na zwierzętach wykazano, że największe stężenia aniliny występują we krwi (zwłaszcza w erytrocytach), a także w: śledzionie, nerkach, wątrobie, pęcherzu moczowym i przewodzie pokarmowym. Śledziona była jedynym narządem, w którym nie stwierdzano spadku stężenia w miarę upływu czasu. Powtarzane podawanie aniliny prowadzi do kumulacji kowalencyjnie związanej ^{14}C -aniliny w erytrocytach i śledzionie. Anilina przechodzi przez barierę krew/łożysko.

Anilina jest metabolizowana, głównie w wątrobie, trzema szlakami metabolicznymi: N-acetylacji, C-hydroksylacji i N-hydroksylacji. Produkty N-acetylacji i C-hydroksylacji są wydalone z moczem w postaci sprzężonej z kwasem siarkowym i/lub glukuronowym. N-Hydroksylacja prowadzi do powstawania skutków toksycznych, w tym methemoglobinemii.

U wszystkich badanych gatunków zwierząt główną drogą wydalania metabolitów aniliny i/lub aniliny był mocz. Z kałem wydalano się jedynie poniżej 2% podanej dawki.

Za krytyczne skutki toksyczne po powtarzanym narażeniu na anilinę uznano tworzenie methemoglobiny oraz toksyczność związku dla erytrocytów. Ze względu na bardzo duże różnice międzygatunkowe między zwierzętami doświadczalnymi a ludźmi w ilości tworzonej MetHb, wyprowadzenie wartości NDS oparto na dostępnych danych dla człowieka.

Dla ludzi przyjęto za tolerowany poziom MetHb we krwi wynoszący 5%. Przy takim stężeniu MetHb nie obserwowano żadnych objawów klinicznych narażenia na anilinę. Na podstawie wyników badań na ochotnikach stwierdzono, że doustna dawka aniliny wynosząca 35 mg/osobę powoduje maksymalny wzrost stężenia MetHb o 3,7%. Biorąc pod uwagę fizjologiczny poziom około 1% MetHb, to maksymalny poziom MetHb wynosi 4,7%. Dawkę tę (35 mg) uznano za wewnętrzną dawkę dopuszczalną. Obliczenia modelowe wykonano, zakładając 90-procentową retencję aniliny (pobranie inhalacyjne) i wentylację płuc wynoszącą u człowieka 10 m³ w ciągu 8 h zmiany roboczej. Pobranie aniliny przez człowieka drogą inhalacyjną i dermalną może być tego samego rzędu wielkości.

Dopuszczalnej dziennej dawce aniliny wynoszącej 35 mg (pochodzącej z pobrania drogą inhalacyjną i dermalną) odpowiada narażenie na stężenie aniliny w powietrzu wynoszące 1,9 mg/m³ przez 8 h. Wartość tę zaproponowano jako wartość NDS

aniliny. Normatyw oznakowano literami „Sk” oznaczającymi substancję wchłaniającą się przez skórę.

Ze względu na działanie toksyczne aniliny na: eryocyty, tworzenie methemoglobiny i uszkodzenie śledziony prowadzące do zmian nowotworowych obserwowanych tylko u szczurów, ustalono wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) związku, aby zapobiec powstawaniu MetHb przy krótkim czasie narażenia. Zgodnie z przyjętą w Polsce metodą obliczania wartości NDSCh powinna ona zawierać się w zakresie 3,53 ÷ 5,49 mg/m³. Zaproponowano przyjęcie stężenia 3,8 mg/m³ za wartość NDSCh aniliny.

Wewnętrzna dawka aniliny (35 mg) odpowiada szybkości wydalania *p*-aminofenolu z moczem nie przekraczającej 1,5 mg/h w 2-godzinnej zbiórce moczu pobieranego pod koniec (6 ÷ 8 h) zmiany roboczej. Wartość 1,5 mg *p*-aminofenolu/h zaproponowano przyjąć jako wartość dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) aniliny.

Summary

Aniline is an oily colorless liquid with a characteristic odor. It is classified as a substance that exerts toxic effects through inhalation, ingestion and skin. It can cause damage to the eyes and induce allergy by dermal contact.

Aniline is produced in large quantities. It is a precursor to obtain transient compounds used in various industrial branches. It is used to produce 4,4'-methylenedianiline, a precursor for obtaining polyurethane foams, and to produce compounds of the industrial rubbers, dyes, pesticides and pharmaceuticals. Occupational exposure to aniline may occur during its production, further processing and distribution, during the aniline release in the form of a breakdown product of thermal degradation of plastics (e.g., foundry or industrial rubber vulcanization) and application of aniline-containing products (e.g., dyes).

Ambient air concentrations of aniline in work environments in different branches of industry do not exceed 3.6 mg/m³. According to the data of the Chief Sanitary Inspectorate (2010), workers in Poland are not exposed to aniline air concentrations exceeding the maximum allowable value of 5 mg/m³.

Acute toxic effects of the exposure to aniline are cyanosis, anemia with Heinz bodies in the blood, asthenia, mental disorder, seizure and dyspnea. Because much research has not con-

firm the possibility of acute poisoning with aniline, opinions on chronic poisoning in industrial conditions are controversial; they rather mention the effects of multiple acute poisonings.

On the basis of the results of the animal studies on the aniline acute toxicity, similar symptoms (cyanosis, disorders of the central nervous system, aniline dose-dependent increase in MetHb and Heinz bodies in the blood) have been reported, regardless of the exposure route (*per os* or inhalation). Great interspecies differences in the sensitivity to aniline have also been observed.

The results of the subchronic and chronic inhalation or oral exposure of rats and mice to aniline were dose-dependent increase in the level of reticulocytes, MetHb and Heinz bodies in the blood, and in the symptoms of spleen damage.

In vitro tests in lower organisms (not mammals) proved that aniline has no ability to induce point mutations. Aniline induced chromosome aberrations in both in vitro and in vivo conditions. These effects were observed after exposure to aniline in relatively high concentrations. Aniline also increased the frequency of in vitro micronuclei production in somatic cells of mice and rats but only in doses inducing methemoglobinemia and other toxic effects. The results of in vitro and in vivo tests for DNA damage following aniline exposure are rather divergent, but the

researchers can assume that the aniline ability to cause directly DNA damage is very limited.

Aniline carcinogenic action (spleen cancer) was observed in rats only after chronic exposure to high doses of this compound (≥ 72 mg/kg). This was limited to a single animal species and practically to one gender (males). The International Agency for Research on Cancer (IARC) categorized aniline according to its potential carcinogenic risk to group 3 as not classifiable as to its carcinogenicity in humans. The European Union experts classified aniline as a carcinogenic substance (Carc. 2) and labeled with H351 (suspected of being carcinogenic), whilst SCOEL classified it into group C: genotoxic carcinogens with the possibility to define on the basis of the available data a practical value of allowable concentration.

Aniline showed neither embryotoxic nor teratogenic effects in experimental animals. Neither effects on reproduction in doses not toxic to dams have been reported.

Aniline is absorbed very quickly from the gastrointestinal tract and the lungs, and through the skin. The absorption from the animal gastrointestinal tract ranges from 56–90% or more, depending on the species.

Aniline vapor absorption from airways by humans at rest (volunteers) was $2 \div 11$ mg/h at concentration of $5 \div 30$ mg/m³ and retention of 91.3%. Aniline in the form of vapor is also absorbed through the skin with velocity similar to the airway absorption. The absorption velocity increases with the increasing environmental temperature and humidity. Aniline in the liquid form is also efficiently absorbed through the skin.

On the basis of the results of animal studies, the highest aniline concentration was in the blood (in erythrocytes) and in the spleen, kidneys, liver, urinary bladder and alimentary tract. The spleen was the only organ in which no decrease in aniline concentration over time was observed. A repeated administration of the substance leads to the accumulation and covalent binding of ¹⁴C-aniline in erythrocytes and the spleen. Aniline readily crosses the blood-placental barrier.

Aniline is metabolized in the liver via three metabolic routes: *N*-acetylation, *C*-hydroxylation and *N*-hydroxylation. *N*-hydroxylation and *C*-hydroxylation products coupled with sulfuric and/or

glucuronic acid are excreted with urine. *N*-hydroxylation has toxic effects, including methemoglobinemia. In all tested animal species urine was the main elimination route of aniline metabolites and/or aniline. Only 2% of the dose was excreted with feces.

The production of methemoglobin and aniline-induced erythrocyte toxicity have been recognized as critical toxic effects of aniline after its repeated administration. Interspecies differences in the amount of produced MetHb between experimental animals and humans and the determination of MAC values were based on the available human data.

Tolerable level for people of blood MetHb is 5%. At this MetHb concentration, no clinical symptoms of exposure to aniline were observed. The studies in a group of volunteers showed that an oral aniline dose of 35 mg/person caused a maximum 3.7% increase in MetHb concentration. The physiological level is about 1% of MetHb and the maximum level is 4.7%. The 35-mg dose was adopted as an allowable internal dose. The model calculations were done, including a 90% retention of aniline (inhalation intake) and the human lung ventilation of 10 m³ during the 8-h work shift. Aniline intake by a person via inhalation and dermal routes may be the same.

An allowable 35-mg daily aniline dose (both inhalation and dermal intake) corresponds with the exposure to aniline air concentration of 1.9 mg/m³ for 8 h. This value has been suggested as the aniline MAC value. The standard was labeled with "Sk" indicating dermal absorption of the substance. Because of the effects of aniline on erythrocytes, methemoglobinemia and damage to spleen leading to carcinogenic lesions observed only in rats, the maximum allowable short-term level of the aniline was defined to prevent the production of MetHb in short-time exposure. According to the calculation method of maximum allowable values in Poland, short-term level should range from $3.53 \div 5.49$ mg/m³. Therefore, the concentration of 3.8 mg/m³ was proposed as the short-term level value for aniline.

An internal 35-mg dose of aniline corresponds with the velocity of *p*-aminophenol urinal excretion under 1.5 mg/h in a 2-h collection at the end of work shift (6÷8 h). The maximum allowable concentration in the biological material for aniline is 1.5 mg of *p*-aminophenol/h.

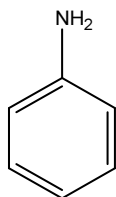
CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

– synonimy: aminobenzene, aminophen, benzenamine, phenylamine.

Ogólna charakterystyka aniliny:

- wzór sumaryczny C_6H_7N
- wzór strukturalny



- nazwa CAS benzeneamine
- numer CAS 62-53-3
- numer RTECS BW6650000
- numer WE 200-539-3
- numer indeksowy 612-008-00-7

Zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12. 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (tzw. rozporządzenie CLP) anilina ma zharmonizowaną na poziomie unijnym klasyfikację zgodnie z tabelą 3.1. załącznika VI do ww. rozporządzenia. Klasyfikacje i oznakowanie aniliny zamieszczono w tabeli 1. i przedstawiono na rysunku 1.

Tabela 1.

Zharmonizowana klasyfikacja aniliny zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady WE nr 1272/2008

Międzynarodowa terminologia chemiczna	Klasyfikacja		Oznakowanie	
	klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody haseł ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
Aniline	Carc. 2 Muta. 2 Acute tox. 3* Acute tox. 3* Acute tox. 3* STOT RE 1 Eye dam. 1 Skin sens 1 Aquatic acute 1	H351 H341 H331 H311 H301 H372** H318 H317 H400	GHS06 GHS08 GHS05 GHS09 Dgr	H351 H341 H331 H311 H301 H372** H318 H317 H400

Objaśnienia:

Carc. 2 – kategoria 2. (substancje, co do których podejrzewa się, że są rakotwórcze dla człowieka),
H351 – podejrzewa się, że powoduje raka,
Muta. 2 – kategoria 2. działania mutagennego,
H341 – podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne,
Acute tox. 3 – toksyczność ostra (po narażeniu inhalacyjnym), kategoria zagrożenia 3.,
H331 – działa toksycznie w następstwie wdychania,
Acute tox. 3 – toksyczność ostra (po narażeniu dermalnym), kategoria zagrożenia 3.,
H311 – działa toksycznie w kontakcie ze skórą,
Acute tox. 3 – toksyczność ostra (droga doustna), kategoria zagrożenia 3.,
H301 – działa toksycznie po połknięciu,
STOT RE 1 – działa toksycznie na narządy docelowe (powtarzane narażenie), kategoria zagrożenia 1.,
H372 – powoduje uszkodzenie narządów w następstwie długotrwałego lub powtarzanego narażenia,
Eye dam. 1 – uszkodzenie oczu/działa drażniąco na oczy, kategoria zagrożenia 1.,
H318 – powoduje poważne uszkodzenie oczu,
Skin sens. 1 – działa uczulająco na skórę, kategoria zagrożenia 1.,
H317 – może powodować reakcję alergiczną skóry,
Aquatic acute 1 – stwarza zagrożenia dla środowiska wodnego, kategoria 1.,
H400 – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne,
Dgr – niebezpieczeństwo.



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

Ponieważ do dnia 1.06. 2015 r. istnieje prawny obowiązek jednoczesnego podawania klasyfikacji substancji wg dotychczasowych zasad i kryteriów, dlatego poniżej podano klasyfikację aniliny zamieszczoną w tabeli 3.2. załącznika VI do ww. rozporządzenia CLP:

- Rakotw. Kat. 3, R40 – substancja rakotwórcza kategorii 3.; ograniczone dowody działania rakotwórczego
- Muta. Kat. 3, R68 – substancja mutagenna kategorii 3.; możliwe ryzyko powstania nieodwracalnych zmian w stanie zdrowia
- T; R23/24/25, R48/23/24/25 – substancja toksyczna, działa toksycznie przez drogi oddechowe, w kontakcie ze skórą i po połknięciu; stwarza poważne zagrożenie zdrowia w następstwie długotrwałego narażenia
- Xi; R41 – substancja drażniąca, ryzyko poważnego uszkodzenia oczu
- R43 – może powodować uczulenie w kontakcie ze skórą
- N; R50 – substancja niebezpieczna dla środowiska, działa bardzo toksycznie na organizmy wodne.

Właściwości fizykochemiczne substancji

Właściwości fizykochemiczne aniliny (ACGIH 2001; HSDB 2005; SCOEL 2010):

- wygląd i zapach oleista, bezbarwna ciecz o charakterystycznym zapachu
- masa cząsteczkowa 93,13
- próg zapachu 1 ppm (3,80 mg/m³)
- temperatura wrzenia 184,1 °C

- temperatura topnienia -6,0 °C
- temperatura zapłonu 76 °C (metoda tygła zamkniętego)
- gęstość względna 1,0217 w temp. 20 °C (woda = 1)
- prężność par 0,49 mmHg w temp. 25 °C (0,065 kPa)
- gęstość par 3,3 (powietrze = 1)
- Log Pow 0,90
- rozpuszczalność:
 - w wodzie 35 g/l w temp. 20 °C
 - w rozpuszczalnikach: alkoholu, benzenie, chloroformie i innych rozpuszczalnikach organicznych
- współczynniki przeliczeniowe:
 - 1 ppm $\approx$ 3,87 mg/m³ i 1 mg/m³ $\approx$ 0,258 ppm (w temp. 20 °C i ciśn. 101,3 kPa, SCOEL 2010);
 - 1 ppm $\approx$ 3,80 mg/m³ i 1 mg/m³ $\approx$ 0,263 ppm (w temp. 25 °C i ciśn. 101,3 kPa, ACGIH 2001).

Otrzymywanie, zastosowanie, narażenie zawodowe

Anilina jest otrzymywana metodą katalitycznego uwodornienia nitrobenzenu pod zwiększonym ciśnieniem lub przez redukcję nitrobenzenu żelazem (RAR 2004; HSDB 2005).

W Unii Europejskiej anilina jest produkowana lub importowana przez 25 kompanii chemicznych

(ESIS online). W 1998 r. zużycie aniliny w Europie szacowano na 652 000 t (Summary... 2004).

Anilina jest substancją wyjściową do otrzymywania związków przejściowych stosowanych w różnych gałęziach przemysłu. W UE pod koniec lat 90. XX w. anilina była stosowana głównie do produkcji (Summary... 2004; RAR 2004):

- 4,4'-metylenodianiliny – związku wyjściowego do otrzymywania mas poliuretanowych (71 ÷ 76%)
- związków dla przemysłu gumowego, np. stabilizatorów czy aktywatorów (14 ÷ 15%)
- barwników (5 ÷ 6,4%)
- pestycydów (3%)
- farmaceutyków (1,2%).

Zawodowe narażenie na anilinę może występować podczas: produkcji, dalszego jej przerobu i dystrybucji, ale także podczas uwalniania związku jako produktu rozkładu przy termicznej degradacji mas plastycznych (np. w przemyśle metalowym w odlewniach czy w przemyśle gumowym w procesie wulkanizacji gumy) oraz stosowania produktów zawierających anilinę (np. barwniki), (RAR 2004; SCOEL 2010).

Według danych zebranych w RAR (2004) stężenia aniliny w powietrzu środowiska pracy w latach 1990-1996 kształtowały się następująco:

- produkcja aniliny metodą H_2 : $\leq 2,8 \text{ mg/m}^3$
- produkcja aniliny metodą Fe: $\leq 1,5 \text{ mg/m}^3$
- otrzymywanie innych związków z aniliną: $\leq 3,6 \text{ mg/m}^3$
- wulkanizacja gumy: $< 0,85 \text{ mg/m}^3$

- odlewnie: $< 0,1 \div 6,4 \text{ mg/m}^3$
- stosowanie barwników anilinowych (2% aniliny): $\leq 0,1 \text{ mg/m}^3$.

Według nowszych danych stężenia aniliny w powietrzu środowiska pracy w przemyśle gumowym (mierzone dozymetrami indywidualnymi) wynosiły $0,0003 \div 0,0483 \text{ mg/m}^3$ (średnio około $0,0066 \text{ mg/m}^3$), (Korinth i in. 2007). W innym zakładzie przemysłu gumowego stężenia aniliny mierzone również dozymetrami indywidualnymi u 28 pracowników wynosiły średnio $0,187 \pm 0,181 \text{ mg/m}^3$ (Ward i in. 1996).

W Polsce według danych GIS w 2010 r. nie było pracowników narażonych na anilinę o stężeniu w powietrzu przekraczającym wartość NDS (5 mg/m^3).

Rzeczywiste poziomy stężenie aniliny na stanowiskach pracy przy produkcji chemikaliów i wyrobów chemicznych oraz w dziale redukcji w 2010 r. wynosiły: $> 0,1 \div 0,5$ NDS, a liczba narażonych pracowników na związek o tych stężeniach wynosiła łącznie 38. Oznaczone poziomy stężenie aniliny w tych działach nie przekraczały wartości $0,5$ NDS oraz wartości NDS. Według danych GIS w 2011 r. liczba pracowników w wymienionych wcześniej sektorach zatrudnionych w warunkach $> 0,1$ NDS oraz $0,5$ NDS wynosiła 41. Oznaczone poziomy stężenie aniliny w tych działach nie przekraczały wartości $0,5$ NDS oraz wartości NDS (GIS 2011).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne. Zatrucia ostre u ludzi

Opisano skutki doustnego przyjęcia 60 ml aniliny w celach samobójczych. Ilość ta odpowiadała dawce około 876 mg/kg dla człowieka ważącego 70 kg. Śmierć nastąpiła czwartego dnia po zatruciu. Początkowo stężenie MetHb we krwi wynosiło 85%, a czwartego dnia spadło do 27%. Na podstawie wyników badania histopatologicznego wykazano zmiany zwyrodnieniowe w: mięśniu sercowym, wątrobie i nerkach, obrzęk płuc i mózgu oraz krwawe wylewy w rdzeniu przedłużonym (Janik-Kurylcio i in. 1973).

Ostre zatrucia pracowników narażonych zawodowo na anilinę kilkadziesiąt lat temu były dość częste. W zatruciach tych u poszkodowanych obserwowano sinicę, a we krwi: anemię z obecnością ciałek Heinza, ogólne osłabienie, zaburzenia umysłowe, drgawki i duszność (RAR 2004).

Zatrucia aniliną objawiały się intensywną sinicą, dlatego ofiary były opisywane jako *blue boys*. Oprócz sinicy u zatrutych występowały: bóle i zawroty głowy, zaburzenia łaknienia, nudności, wymioty, ból brzucha i klatki piersiowej, konwulsje, osłabienie, niepokój, palpacje i nieregularny, zwolniony oddech z szybką, słabą akcją serca. Żrenice były zwężone, lecz

reagujące na światło. Mocz był ciemny z obecnością hemoglobiny. W cięższych przypadkach występowała utrata kontroli zwieraczy (mimowolne oddawanie moczu i kału) oraz obrzęk płuc. Oceniono, że stężenie aniliny w powietrzu rzędu $400 \div 600 \text{ mg/m}^3$ przez $0,5 \div 1 \text{ h}$ nie powodowało poważnych zatruć, lecz narażenie na związek o stężeniach $100 \div 250 \text{ mg/m}^3$ przez kilka godzin mogło już powodować lekkie objawy zatrucia. Średnie stężenie śmiertelne dla ludzi oszacowano na $25\,000 \text{ mg/m}^3$, co odpowiada dawce $350 \div 2430 \text{ mg/kg}$ (Smyth 1931).

Ogólnie przyjmuje się, że objawy zatrucia zależą od wielkości stężenia MetHb we krwi (SCOEL 2010):

- do 15% – brak objawów
- $15 \div 20\%$ – sinica bez objawów niedotlenienia, możliwa lekka euforia

- $30 \div 45\%$ – zmęczenie, osłabienie, ból i zawroty głowy, tachykardia, duszność, omdlenia
- $> 45\%$ – utrata przytomności, śpiączka, zaburzenia rytmu serca
- $> 60 \div 70\%$ – zgon.

Zależność między doustną dawką aniliny a tworzeniem MetHb badano u 20 ochotników, którzy otrzymywali przez trzy kolejne dni jednorazową dawkę aniliny wynoszącą: 5; 15 lub 25 mg/dzień. Część ochotników w następnych dniach otrzymywała większe dawki (35; 45; 55 lub 65 mg). Maksymalny wzrost stężenia MetHb we krwi występował w czasie do 4 h po podaniu aniliny. Obserwowany wzrost wartości MetHb przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2.

Maksymalny wzrost stężenia methemoglobiny (w procentach) po doustnym podaniu aniliny ochotnikom (Jenkins i in. 1972)

Liczba badanych ochotników	Dawka aniliny, mg/dzień	Obserwowany wzrost stężenia MetHb, %
20	5	1,2
20	15	1,8
20	25	2,5
5	35	3,7
5	45	7,1
2	55	5,2
1	65	16,1

Obecnie ostre zatrucia aniliną zdarzają się sporadycznie, głównie jako przypadkowe zatrucia lub próby samobójcze. U osób tych rozwija się toksyczna methemoglobinemia z objawami klinicznymi opisanymi wcześniej. W Klinice Toksykologii w Krakowie w latach 1967-1997 hospitalizowano 39 osób z powodu toksycznej methemoglobinemii, w ośmiu przypadkach czynnikiem wywołującym była anilina i jej pochodne (Wiernikowski, Pach 1998).

Obserwacje kliniczne. Zatrucia przewlekłe u ludzi

Obraz przewlekłego zatrucia aniliną w warunkach przemysłowych nie jest jasny. Kliniczne badania pracowników, wykonane w latach 40. i 50. XX w. na oddziale produkcji aniliny, wykazały objawy zatrucia u większości pracowników. Stwierdzono

u nich: sinicę, powiększenie wymiarów serca, powiększenie wątroby, stan żółtaczkowy, we krwi methemoglobinemię (powyżej 3%), objawy ze strony układu krążenia, bóle i zawroty głowy, brak apetytu i obfite poty. Większość z tych pracowników (13/20) uległa kiedyś ostremu zatruciu (Chwatowa 1950). Badanie stężeń aniliny w powietrzu wykazało, że łączne narażenie na anilinę i nitrobenzen kilkukrotnie przekraczało dopuszczalne normy, tj. 5 mg/m^3 (Jamrog i in. 1954). Również oznaczenia stężeń *p*-aminofenolu w moczu przewyższały teoretyczne stężenia mogące występować w moczu przy narażeniu na pary aniliny (lub nitrobenzenu) o stężeniach obserwowanych w tym zakładzie (Piotrowski 1954). Autorzy tych badań objaśniają to zjawisko znacznym wchłanianiem aniliny przez skórę.

W badaniach pracowników zatrudnionych przy produkcji difenyloaminy, gdzie stężenia aniliny

wahały się w granicach $1,3 \div 2,75 \text{ mg/m}^3$, w pierwszym roku zatrudnienia w badaniach krwi obserwowano: znaczny wzrost stężenia MetHb, zmniejszenie liczby erytrocytów oraz zaburzenia krzepnięcia (Vasilenko 1972). Przedstawione dane uzyskane po narażeniu mieszanym również nie dały jasnego obrazu skutków przewlekłego narażenia na anilinę.

Badania epidemiologiczne

Brak jest w dostępnym piśmiennictwie wyników badań epidemiologicznych koncentrujących się na klinicznych skutkach przewlekłego narażenia na anilinę.

W kohortowych badaniach pracowników przemysłu barwników w Wielkiej Brytanii, zatrudnionych przez co najmniej 6 miesięcy w narażeniu na anilinę i inne substancje chemiczne (ale nie na 2-naftyloaminę i benzydynę) stwierdzono wzrost (nieistotny) przypadków raka pęcherza moczowego. Autorzy wykluczyli jednak,

że anilina może być czynnikiem wywołującym ten nowotwór (Case i in. 1954).

W kolejnym badaniu przeprowadzonym w zakładach przemysłu gumowego, w którym pracownicy byli narażeni na: anilinę, *o*-toluidynę i hydrochinon, stwierdzono wzrost przypadków raka pęcherza moczowego (7 obserwowanych, 1,08 spodziewanych), w grupie 708 pracowników, którzy byli na pewno narażeni na wymienione związki (Ward i in. 1991).

Podobnie w badaniach przeprowadzonych przez Sorahana i in. (2000) wśród pracowników przemysłu gumowego stwierdzono wzrost przypadków (9 obserwowanych, 3,25 spodziewanych) nowotworów pęcherza moczowego wśród 605 pracowników narażonych na jeden lub więcej następujących związków chemicznych: 2-merkaptobenzotiazol, fenylo- β -naftyloaminę, *o*-toluidynę i anilinę. Nie udało się jednak wykazać, że narażenie na anilinę jest bezpośrednio związane z powstawaniem tego nowotworu.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra

Wartości DL_{50} i CL_{50} aniliny dla zwierząt laboratoryjnych przedstawiono w tabeli 3.

Z danych zawartych w tabeli 3. wynika, że istnieją duże różnice gatunkowe we wrażliwości zwierząt na anilinę (gryzonie są bardziej odporne niż pies i kot). Ponadto porównanie medialnego stężenia letalnego dla szczurów wykazuje około 2-krotne różnice w zależności od sposobu narażenia

zwierząt. Mniejsza wartość stężenia letalnego przy narażeniu całego ciała, a nie tylko głowy, wskazuje na znaczny udział dermalnego wchłaniania aniliny w ostrej toksyczności tego związku.

Skutki wywołane jednorazowym, dożołądkowym podaniem aniliny przedstawiono w tabeli 4., natomiast w tabeli 5. zebrano dane na temat skutków obserwowanych w trakcie, jak i po zakończeniu narażenia inhalacyjnego na ten związek.

Tabela 3.

Wartości medialnych dawek i stężeń letalnych aniliny dla zwierząt doświadczalnych (RAR 2004; RTECS 2010)

Gatunek zwierząt	Droga podania		
	do żołądka DL_{50} , mg/kg	na skórę DL_{50} , mg/kg	inhalacyjna CL_{50} , mg/m ³
Szczur	442 ÷ 930	1400	3270/4 h (tylko głowa) 1000 ÷ 1860/4 h (całe ciało)
Mysz	464		680
Królik		820 ÷ 1540	
Świnka morska	400	1290 ÷ 2150	
Pies	195		
Kot	50 ÷ 100	254	

Tabela 4.

Obserwowane u zwierząt doświadczalnych skutki działania aniliny po jednorazowym podaniu dożołądkowym

Gatunek zwierząt, płeć, liczba zwierząt	Dawka, mg/kg <i>per os</i>	Obserwowane skutki		Piśmiennictwo
		padnięcia zwierząt	objawy/uwagi	
Szczury, samce, 5 w grupie	215 316 464 681 1000	0/5 0,5 4/5 4/5 5/5	anilina nierozcieńczona; objawy kliniczne: drżenia, drżenia włókienkowe, hiperwentylacja, sinica, drgawki, hipotermia, ślinotok i krańcowe wyczerpanie; badanie sekcyjne: stany zapalne przewodu pokarmowego u zwierząt, które przeżyły; przekrwienie płuc i krwotoki z przewodu pokarmowego u zwierząt, które padły	Bio-Fax... 1969
Szczury PVG, samce, 7 w grupie	300 400 500	bez padnięć	sinica, zabarwiony (brązowo) mocz, hipotermia, zmniejszona aktywność ruchowa, ślinotok, zabarwienie wokół nosa; narządy wewnętrzne bez zmian	Bomhard 2003
Szczury, samce i samice; 5 ÷ 10/płeć w grupie	500 622,9 775,9 866 966,6 1204 1500	bez padnięć 1/5♀, 0/5♂ 4/5♀, 2/5♂ 5/10♀, 2/10♂ wszystkie zwierzęta padły	anilina nierozcieńczona: padnięcia – w ciągu 24 h oraz opóźnione – powyżej 7. dnia po podaniu; objawy kliniczne: sinica, łzawienie, drżenia, przyspieszony oddech, letarg; badania sekcyjne: krwotoki z przewodu pokarmowego, roztrzeń pęcherza moczowego, objawy podrażnienia jelita krętego	Bier, Oliveira 1980
Szczury Sprague-Dawley, samce, 5 w grupie	186 (2 mmol/kg), jako chlorowodorek; sekcje 0,25 do 48 h po podaniu	bez padnięć	grupa kontrolna: MetHb 1,20% 0,25 h: MetHb 31,8% 0,5 h: MetHb 37,2% 1 h: MetHb 12,8% 3 h: MetHb 8,6% 6 h: MetHb 3,2% 12 h: MetHb 3,9%; śledzona – addukty MDA z białkami, brak zmian histopatologicznych 24 h: MetHb 3,9%; śledzona – względna masa↑, peroksydacja lipidów↑, addukty MDA z białkami, znaczny wzrost miazgi czerwonej ze znacznym przekrwieniem głównych naczyń krwionośnych 48 h: MetHb 2,75%; śledzona – względna masa↑, peroksydacja lipidów↑, addukty MDA z białkami, znaczny wzrost miazgi czerwonej ze znacznym przekrwieniem głównych naczyń krwionośnych	Khan i in. 1997a
Szczury, samce	0 (grupa kontrolna) 20 40 100 200 300 1000	brak danych	MetHb 2,4%; maks. 1 ÷ 4 h po podaniu MetHb 3,3%; maks. 1 ÷ 4 h po podaniu MetHb 16,6%; maks. 1 ÷ 4 h po podaniu MetHb 15%; maks. 1 ÷ 4 h po podaniu MetHb 12,3%; maks. 1 ÷ 4 h po podaniu MetHb 18%; maks. 1 ÷ 4 h po podaniu MetHb 48%; maks. 1 ÷ 4 h po podaniu	Jenkins i in. 1972
Koty, 2 samce	51,1	1/2	brak tchu i sinica po 2 h; maksymalny poziom MetHb (> 80%) po 4 h, powrót do normy po 2 ÷ 3 dniach	BASF 1971
Koty 2	10 50	brak danych	60% ↑MeHb i 55%↑ ciałek Heinza (maks. po 24 h i spadek po 30 h od podania); 50 mg/kg – spadek masy ciała	Bayer 1984

cd. tab. 4.

Gatunek zwierząt, płeć, liczba zwierząt	Dawka, mg/kg <i>per os</i>	Obserwowane skutki		Piśmiennictwo
		padnięcia zwierząt	objawy/uwagi	
Koty	5,8	brak danych	MetHb 25,2%	<i>McLean</i> i in. 1969
Psy Beagle, 2/płeć	15	bez padnięć	zasinienie błon śluzowych pyska, pełny powrót do normy w ciągu doby; MetHb około 25% (maks. po 3 h); addukty z albuminą surowicy około 3,5 µg aniliny/l krwi	<i>Pauluhn</i> 2002
Szczury, samce, Crj:CD, czterotygodniowe, 6 w grupie	500	bez padnięć	bez zmian	<i>Okazaki</i> i in. 2001
	750	bez padnięć	prześciowa sinica; 15. dnia po podaniu gąbczaste zmiany istoty białej rdzenia kręgowego	
	1000	bez padnięć	prześciowa sinica; paralityczny chód lub paraliż tylnych kończyn (2/6); 15. dnia po podaniu gąbczaste zmiany istoty białej rdzenia kręgowego (3/6)	
Szczury, samce, Crj:CD, siedmiotygodniowe, 6 w grupie	800	bez padnięć	prześciowa sinica; bez zmian neurobehavioralnych oraz zmian morfologicznych w układzie nerwowym	<i>Kanno</i> i in. 2010
Szczury, samce, Crj:CD, dziesięcioletni, 6 w grupie	800	bez padnięć	prześciowa sinica; bez zmian neurobehavioralnych oraz zmian morfologicznych w układzie nerwowym	
Szczury, samce, Crj:CD, trzytygodniowe, 14 łącznie	1000; sekcje 2 ÷ 12 dni po podaniu	bez padnięć	od 5. dnia po podaniu – gąbczaste zmiany w istocie białej rdzenia kręgowego	

Tabela 5.

Skutki działania aniliny po jednorazowym, inhalacyjnym narażeniu zwierząt

Gatunek zwierząt, część narażana	Stężenie, mg/m ³ ; czas narażenia	Obserwowany skutek		Piśmiennictwo
		liczba padnięć	objawy	
Szczury; tylko przez nos;	2574 4 h	0/10	w czasie narażenia: sinica, drżenia i wyczerpanie (do 48 h), zmętnienie rogówki (do 14 dni), czerwono-brązowy wyciek z nosa;	Du Pont 1982
	2985 4 h	2/10	po zakończeniu narażenia: błądź i rżenie,	
	3153 4 h	5/10	wypadanie sierści na głowie, uszkodzenie rogówki	
	3387 4 h	8/10		

cd. tab. 5.

Gatunek zwierząt, część narażana	Stężenie, mg/m ³ ; czas narażenia	Obserwowany skutek		Piśmiennictwo
		liczba padnięć	objawy	
Psy Beagle, 2/płeć w grupie; tylko głowa	155 lub 174, 4 h	bez padnięć	bez objawów klinicznych (3/8) lub lekka do umiarkowanej przejściowa sinica widocznych błon śluzowych pyska (4/8), łzawienie (2/8); ustąpienie tych zmian po zakończeniu narażenia (7/8); u 1/8 psa hiperwentylacja i objawy dłużej utrzymujące się (do około doby); MetHb 4,7% (pies z hiperwentylacją – 23,8%); addukty z albuminą surowicy około 1,5 µg/l krwi	Pauluhn 2002
Psy Beagle, 2/płeć w grupie; tylko głowa	15,8; 4h 30,3; 4h 58,6; 4h 116,1; 4h 243,4; 4 h 493,6; 4h	bez padnięć	bez skutków wzrost MetHb wzrost MetHb, sinica o nasileniu zależnym od wielkości stężenia wzrost MetHb, sinica o nasileniu zależnym od wielkości stężenia MetHb 18%; sinica o nasileniu zależnym od wielkości stężenia MetHb 26%; sinica o nasileniu zależnym od wielkości stężenia	Pauluhn 2005
Psy Beagle, 2/płeć w grupie; całe ciało	241; 4h	bez padnięć	MetHb – około 30%	

Jak wynika z tabel 4. i 5., niezależnie od drogi narażenia (*per os* lub inhalacyjna) jednorazowa dawka aniliny lub narażenie inhalacyjne przez 4 h powodowały u zwierząt wystąpienie podobnych objawów – sinicę o nasileniu zależnym od stężenia MetHb we krwi oraz objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego.

Należy zwrócić uwagę, że stężenie MetHb we krwi zależało od sposobu przeprowadzania doświadczenia. W badaniu Pauluhn (2005) na psach przy prawie identycznym stężeniu aniliny w powietrzu (243,4 oraz 241 mg/m³) narażenie na całe ciało prowadziło do powstania MetHb o stężeniu około 30%, natomiast narażenie przez głowę skutkowało stężeniem MetHb wynoszącym tylko 18%, co świadczy o istotnym udziale wchłaniania aniliny przez skórę.

Działanie drażniące

Nie ma danych w dostępnym piśmiennictwie na temat działania drażniącego aniliny na: skórę, oczy i błony śluzowe ludzi.

W standardowych testach na działanie drażniące naniesienie nierozcieńczonej aniliny (0,5 ml) na skórę królików wywołało jedynie niewielki rumień (1. stopnia). Nie było innych zmian na skórze. W

innym badaniu podanie na skórę szczurów i królików dawek 100 ÷ 900 mg/kg aniliny spowodowało zapalenie skóry obserwowane w ciągu 3 ÷ 5 dni po podaniu i ustępujące po 2 ÷ 3 tygodniach. U królików, na których badano ostrą toksyczność dermalną aniliny, wystąpiły podskórne wylewy krwi oraz znaczne zaczerwienienie skóry (RAR 2004; SCOEL 2010).

Po wkropleniu nierozcieńczonej aniliny (50 mg) do oka królika obserwowano znaczny stopień zmętnienie rogówki oraz obrzęk i zaczerwienienie spojówki. Zmiany te nie ustąpiły do 8. dnia obserwacji. W innym teście (z 1949 r.) naniesienie aniliny na rogówkę oka królika spowodowało: łzawienie, zapalenie spojówki i uszkodzenie rogówki. Zmiany te całkowicie ustąpiły po 24 ÷ 48 h. Porównywalne skutki obserwowano zarówno po naniesieniu nierozcieńczonej aniliny, jak i jej nasyconego roztworu wodnego (RAR 2004; SCOEL 2010).

Podczas badania ostrej toksyczności inhalacyjnej, u szczurów narażonych tylko przez nos na anilinę o stężeniu około 3000 mg/m³ przez 4 h stwierdzono uszkodzenie rogówki oraz przyćmienie rogówki. Zmiany te utrzymywały się przez 2 tygodnie (Du Pont 1982).

Działanie uczulające

Uczulenie skóry obserwowano u 7 z 25 ochotników, u których przeprowadzono test maksymalizacji. Autorzy tego badania obserwowaną reakcję ocenili jako łagodną (RAR 2004; SCOEL 2010).

Dodatknie reakcje obserwowano także w testach płatkowych wykonywanych zarówno w celach monitoringowych, jak i u pacjentów z zawodowym wypryskiem kontaktowym (kontaktowe zapalenie skóry). Częstość dodatknych reakcji wynosiła od 4 do 13%. W wielu przypadkach stwierdzano reakcje krzyżowe na inne aminy aromatyczne należące do związków, tzw. paragraupy (RAR 2004; SCOEL 2010). Retrospektywna analiza klinicznych danych z lat 1992-2004 wykazała, że anilina jest słabym alergenem, a obserwowane reakcje są spowodowane innymi związkami z paragraupy (Uter i in. 2007).

Działanie uczulające aniliny badano na świnkach morskich, stosując trzy różne procedury badania. W zmodyfikowanym teście Draize'a nie obserwowano uczulenia skóry, a w teście maksymalizacji Magnussona i Klingmana pozytywna reakcja wystąpiła u jednej na 10 świnek. Najsilniejszą odpowiedź (u 5 na 10 zwierząt) otrzymano w teście SIAT (*single injection adjuvant* – jednorazowej iniekcji adiuwantu), (Goodwin i in. 1981).

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Wyniki z doświadczeń po podprzewlekłym i przewlekłym narażeniu zwierząt na anilinę drogą inhalacyjną zebrano w tabeli 6., natomiast w tabeli 7. przedstawiono skutki podprzewlekłego i przewlekłego narażenia zwierząt na anilinę po podaniu drogą pokarmową.

Tabela 6.**Skutki podprzewlekłego i przewlekłego narażenia inhalacyjnego zwierząt na anilinę**

Gatunek zwierząt, płeć, liczba zwierząt	Stężenie, mg/m ³	Czas i miejsce narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczury Sprague-Dawley, samce, 5 w grupie	38,7 116 193,5 580	5 dni 8 h/dzień	bez objawów MetHb 5%, spadek hematokrytu MetHb 15%, spadek hematokrytu MetHb 55%, spadek hematokrytu	Kim, Carlson 1986
Szczury Sprague-Dawley, samce 5 w grupie	38,7 116 193,5 580	4 dni, 12 h/dzień	bez objawów MetHb 5%, spadek hematokrytu MetHb 14%, spadek hematokrytu MetHb 60%, spadek hematokrytu	Kim, Carlson 1986
Szczury, samce 14 w grupie	38,7 116 348	2 tygodnie, 3, 6 lub 12 h/d, 5 d/tydz., 14 dni obserwacji	bez objawów po 3, 6 i 12 h: MetHb↑(osiąga plateau po 4 narażeniach – wraca do normy w ciągu 14 dni po narażeniu), RBC↓, MCV↑, MCH↑, przekrwienie i hemosyderoza śledziony (wraca do normy po 14 dniach narażenia) po 3, 6 i 12 h: MetHb↑(osiąga plateau po 4 narażeniach – wraca do normy w ciągu 14 dni po narażeniu), RBC↓, MCV↑ (nieodwracalny), MCH↑ (nieodwracalny), przekrwienie i hemosyderoza śledziony (wraca do normy po 14 dniach po narażeniu)	Burgess i in. 1984a; 1984b
Szczury Crl:C, samce, 16 w grupie	65,8 174	tylko głowa 2 tygodnie, 6 h dziennie, 5 dni/tydz., 13 dni obserwacji	minimalne zmiany w śledzionie: hipertrofia RES, hemosyderoza (trwała), wzrost hematopoezy MetHb↑ (maks. w 5. dniu narażenia); retikulocyty↑, RBC↓, Hb↓, hematokryt ↓, MCV↑ (nieodwracalny), MCH↑, MCHC↓ (nieodwracalny); mocz – bilirubina↑ śledziona – wzrost masy, przekrwienie	EPA 1981; Du Pont 1982

cd. tab. 6.

Gatunek zwierząt, płeć, liczba zwierząt	Stężenie, mg/m ³	Czas i miejsce narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczury Wistar, samce, 30 w grupie	337		MetHb↑ (maks. w 5. dniu narażenia), sinica; retikulocyty↑, RBC↓ (nieodwracalny), Hb↓, hematokryt ↓, MCV↑ (nieodwracalny), MCH↑, MCHC↓ (nieodwracalny), PMN↓, limfocyty↑, płytki krwi↓ (nieodwracalny); mocz – bilirubina↑, zwiększenie diurezy śledziona – wzrost masy, przekrwienie; wzrost hematopoety w wątrobie	<i>Pauluhn 2004</i>
	9,2	tylko nos	brak istotnych skutków	
	32,4	2 tygodnie, 6 h dziennie,	śledziona – proliferacja komórek hematopoetycznych	
	96,5	5 dni/tydz., 2 tygodnie obserwacji	istotny, przejściowy wzrost MetHb; Hb↓, MCHC↓, retikulocyty↑, ciała Heinza↑, RBC↓ śledziona – Fe↑, peroksydacja lipidów↑, względna i bezwzględna masa↑, proliferacja komórek hematopoetycznych,	
	274,9		istotny, przejściowy wzrost MetHb; RBC↓, MCH↑, MCHC↓, MCV↑, Hb↓, hematokryt↓, retikulocyty↑, ciała Heinza↑, śledziona – Fe↑, peroksydacja lipidów↑, względna i bezwzględna masa↑, proliferacja komórek hematopoetycznych, wątroba – hemosyderoza	
Szczury Wistar, samce, 9 + 11 w grupie	19	26 tygodni, 5 dni/tydz., 6 h dziennie	MetHb↑ (niewielki), brak zmian Hb i hematokrytu; sinica; brak makroskopowych zmian w narządach	<i>Oberst i in. 1956</i>
Myszy, samice, 20 w grupie	19	20 tygodni 6 h dziennie	brak objawów toksycznych, brak makroskopowych zmian w narządach; brak ilościowych danych hematologicznych i biochemicznych	<i>Oberst i in. 1956</i>
Świnki morskie, 10 w grupie	19	20 tygodni 6 h dziennie	brak objawów toksycznych, brak makroskopowych zmian w narządach; brak ilościowych danych hematologicznych i biochemicznych	<i>Oberst i in. 1956</i>
Psy Beagle, samce, 2 w grupie	19	26 tygodni 6 h/dzień	brak objawów toksycznych, brak makroskopowych zmian w narządach; brak ilościowych danych hematologicznych i biochemicznych	<i>Oberst i in. 1956</i>

Tabela 7.

Skutki podprzewlekłego i przewlekłego narażenia zwierząt na anilinę po podaniu drogą pokarmową

Gatunek zwierząt, płeć, liczba zwierząt	Dawka dzienna aniliny, mg/kg m.c.	Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczury Sprague-Dawley, samce, 5 w grupie	23	4 dni, dożołądkowo,	bez objawów (NOAEL)	<i>Khan i in. 1997</i>
	46	jako chlorowodorek	śledziona – Fe↑ (+72%), peroksydacja lipidów↑ (+24%), ekspansja miazgi czerwonej	
	93		Hb↓, hematokryt↓ śledziona – Fe↑ (+172%), peroksydacja lipidów↑ (+32%), tworzenie zespołów komórek miazgi czerwonej ↑, fragmentacja komórek, względna i bezwzględna masa↑, przekrwienie, utlenianie białek	

cd. tab. 7.

Gatunek zwierząt, płeć, liczba zwierząt	Dawka dzienna aniliny, mg/kg m.c.	Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
	186		MetHb↑, Hb↓, hematokryt↓, WBC↑ śledziona – Fe↑ (+325%), peroksydacja lipidów↑ (+44%), tworzenie zespołów komórek miazgi czerwonej ↑, fragmentacja komórek, względna i bezwzględna masa↑, przekrwienie, utlenianie białek	
Szczury Sprague-Dawley, samce, 5 w grupie	93	7 dni, dożołądkowo, jako chlorowodorek	śledziona – wzrost względnej i bezwzględnej masy, splenocyty↑, addukty MDA z białkami↑,	Khan i in. 2003b
Szczury Sprague-Dawley, samce, 5 w grupie	93	7 dni, dożołądkowo, jako chlorowodorek	tworzenie nitrotyrozyny w obszarze miazgi czerwonej śledziony, wzrost ekspresji syntazy indukwalnej tlenkiem azotu (iNOS)	Khan i in. 2003c
Szczury F-344, samce, 10 w grupie	110	5, 10 lub 20 dni, dożołądkowo	padnięcia zwierząt (4 przed 5. dniem; 2 w dniach 5. ÷ 10. i 2 w dniach 10. ÷ 20.); przejściowa sinica po podaniu dawki; śledziona – wzrost masy, niewielkie do umiarkowanego przekrwienie, poważnego stopnia hemosyderoza (po 20 dniach), wzrost hematopoezy; szpik kostny – umiarkowane do poważnego nadmierne tworzenie zespołów komórek; nerki – niewielka hemosyderoza	Short i in. 1983
Szczury F-344, samce, 12 w grupie	4	1 tydzień, w paszy, jako chlorowodorek	addukty z Hb↑, ciała Heinsa↑ (2/6),	BASF 2001; Mellert i in. 2004
	12		addukty z Hb↑, ciała Heinsa↑, Hb↓, MCHC↓, płytki krwi↑, śledziona – względna i bezwzględna masa↑, minimalne przekrwienie	
	41		addukty z Hb↑, ciała Heinsa↑, Hb↓, MCHC↓, płytki krwi↑, RBC↓, hematokryt↓, WBC↑, retikulocyty↑, transferyna↑, nieistotny wzrost MetHb śledziona – powiększenie, względna i bezwzględna masa↑, umiarkowane przekrwienie, pojedyncze ogniska zapalenia torebki śledziony	
Szczury F-344, samce, 12 w grupie	4	4 tygodnie, w paszy, jako chlorowodorek	addukty z Hb↑, ciała Heinsa↑ (4/6), minimalne przekrwienie śledziony	
	12		addukty z Hb↑, ciała Heinsa↑, RBC↓, Hb↓, MCV↑, MCH↑, retikulocyty↑, Fe w surowicy↑; śledziona – względna i bezwzględna masa↑, lekkie przekrwienie	
	41		addukty z Hb↑, ciała Heinsa↑, RBC↓, Hb↓, MCV↑, MCH↑, retikulocyty↑, Fe w surowicy↑; hematokryt↓, MCHC↓, WBC↑, transferyna↑, nieistotny wzrost MetHb; śledziona – powiększenie, względna i bezwzględna masa↑, umiarkowane przekrwienie, wieloogniskowe zapalenie torebki śledziony; szpik kostny – niewielkie nadmierne tworzenie zespołów komórek; wątroba – hemosyderoza i minimalna hematopoeza	
Szczury Wistar, 6/płeć w grupie	65,1	13 dni, w paszy	śledziona – masa↑, erytropoeza↑, hemosyderoza wątroba – niewielka erytropoeza	Jenkins i in. 1972

cd. tab. 7.

Gatunek zwierząt, płeć, liczba zwierząt	Dawka dzienna aniliny, mg/kg m.c.	Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczury Sprague-Dawley, samce, 15 w grupie	65	14 dni, dożołądkowo w oleju; sekcje 1., 7. lub 28. dnia po narażeniu	MetHb↑(1. dnia), RBC↓ (1. i 7. dnia), Hb↓ (1. dnia), hematokryt↓ (1. dnia), WBC↑ (1. dnia); śledziona – wzrost bezwzględnej masy (1., 7. i 28. dnia), wzrost względnej masy (1. i 7. dnia), histopatologia: 1. dnia – przekrwienie, hemosyderoza, 7. dnia – zmniejszenie przekrwienia, 28. dnia – zanik przekrwienia, hemosyderoza jak w 1. i 7. dniu, ogniskowe włóknienia; brak zmian w sercu, wątrobie, płucach, mózgu, nerkach, jądrach, trzustce i grasicy	<i>Khan i in.</i> 1995b
Szczury, samce, 10 w grupie	2,22 13,5 48,5	28 dni, w paszy	≥ 13,5 mg/kg – powiększona, ciemna śledziona	Bio Fax 1969
Szczury Sprague-Dawley, samce, 6 w grupie	46,5	30 dni, z wodą do picia	istotny wzrost oksydacyjnego uszkodzenia DNA w śledzionie; wzrost proliferacji splenocytów	<i>Ma i in.</i> 2008; <i>Wang i in.</i> 2011
Szczury F344, 10/płeć w grupie	30 100 300 1000	30 dni, w paszy, jako chlorowodorek	MetHb↑, ciała Heinza↑, retikulocyty↑ MetHb↑, ciała Heinza↑, retikulocyty↑; śledziona i wątroba – powiększone, o nieregularnej powierzchni; śledziona i nerki – nieprawidłowe zabarwienie MetHb↑, ciała Heinza↑, retikulocyty↑; sinica śledziona i wątroba – powiększone, o nieregularnej powierzchni; śledziona i nerki – nieprawidłowe zabarwienie 10 zwierząt padło; przyrost masy ciała↓, spożycie paszy↓; MetHb↑, ciała Heinza↑, retikulocyty↑; sinica śledziona i wątroba – powiększone, o nieregularnej powierzchni; śledziona i nerki – nieprawidłowe zabarwienie; trzustka – powiększenie węzłów chłonnych	CIIT 1977
Szczury F344, 5/płeć w grupie	5 15 151 504	8 tygodni, w paszy, jako chlorowodorek	brak brak skutków (NOAEL) ciemna, powiększona śledziona ciemna, powiększona śledziona; spadek przyrostu masy ciała	NCI 1978
Szczury Sprague-Dawley, samce, 15 w grupie	43 ^a	30, 60 lub 90 dni, w wodzie do picia (600 ppm), jako chlorowodorek	30 dni – MetHb↑, RBC↓, Hb↓, hematokryt↓, WBC↑; śledziona – znaczna ekspansja miazgi czerwonej spowodowana wzrostem komórek sinusoidalnych, znaczna hemosyderoza, zwłóknienie okołotrebkowe, względna masa↑ 60 dni – MetHb↑, RBC↓, MCV↑, MCH↑; śledziona – pogłębienie zmian w porównaniu z 30. dniem 90 dni – MetHb↑, RBC↓, Hb↓, hematokryt↓, MCV↑, MCH↑ śledziona – pogłębienie zmian w porównaniu z 30. i 60. dniem	<i>Khan i in.</i> 1993

cd. tab. 7.

Gatunek zwierząt, płeć, liczba zwierząt	Dawka dzienna aniliny, mg/kg m.c.	Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczury Sprague-Dawley, samce, 15 w grupie	47 ^a	1, 2 lub 3 miesiące, w wodzie do picia, jako chlorowodorek	1 mies. – RBC↓, Hb↓; śledziona – powiększenie, rozrost i zwłóknienie torebki, peroksydacja lipidów ↑(+39%), Fe↑(+442%), 2 mies. – RBC↓, Hb↓; śledziona – pogłębienie zmian w porównaniu z 1. miesiącem, peroksydacja lipidów ↑(+53%), Fe↑(+214%), utlenianie białek 3. miesiąc – RBC↓, Hb↓; śledziona – pogłębienie zmian w porównaniu z 1. i 2. mies., peroksydacja lipidów ↑(+61%), Fe↑(+220%), utlenianie białek	Khan i in. 1999
Szczury Sprague-Dawley, samce, 5 w grupie	47 ^a	30 dni, w wodzie do picia, jako chlorowodorek	śledziona – ciemna i powiększona; ekspansja miazgi czerwonej, przekrwienie zatokowe, tworzenie zespołów komórek miazgi czerwonej, wzrost depozytów żelaza w miazdze czerwonej; addukty MDA (produkt peroksydacji lipidów) z białkami	Khan i in. 2003a
Szczury F344, obu płci	10	≤ 1. rok, w paszy, jako chlorowodorek	niewielkie skutki działania toksycznego (brak szczegółów)	Gralla i in. 1979
	30	jako chlorowodorek	MetHb↑, ciała Heinza↑, retikulocyty↑, RBC↓; śledziona – powiększenie, włóknisty rozrost miazgi białej, rozrost miazgi czerwonej, hematopoeza;	
	100		szpik kostny – rozrost czerwony MetHb↑, ciała Heinza↑, retikulocyty↑, RBC↓; śledziona – powiększenie, włóknisty rozrost miazgi białej, rozrost miazgi czerwonej, hematopoeza;	
	300		szpik kostny – rozrost czerwony MetHb↑, ciała Heinza↑, retikulocyty↑, RBC↓; śledziona – powiększenie, włóknisty rozrost miazgi białej, rozrost miazgi czerwonej, hematopoeza;	
	1000		szpik kostny – rozrost czerwony MetHb↑, ciała Heinza↑, retikulocyty↑, RBC↓; śledziona – powiększenie, włóknisty rozrost miazgi białej, rozrost miazgi czerwonej, hematopoeza;	
Szczury Wistar, samce, 10 ÷ 18 w grupie	0,03%	80 tygodni, w wodzie do picia	szpik kostny – rozrost czerwony RBC↓, Hb↓ zależny od dawki wzrost przypadków proliferacji przewodów żółciowych; brak danych o skutkach w śledzienie	Hagiwara i in. 1980
	0,06%		RBC↓, Hb↓ zależny od dawki wzrost przypadków proliferacji przewodów żółciowych; brak danych o skutkach w śledzienie	
	0,12%		RBC↓, Hb↓ zależny od dawki wzrost przypadków proliferacji przewodów żółciowych; brak danych o skutkach w śledzienie	
Szczury F344, 130/płeć w grupie	7	104 tyg., w paszy, jako chlorowodorek;	retikulocyty↑, RBC↓, Hb↓, hematokryt↓, MCV↑ śledziona – hemosyderoza, hematopoeza (od 52 tyg)	CIIT 1982
	22	sekcje po 26, 52, 78 i 104 tyg.	MetHb↑, retikulocyty↑, RBC↓, Hb↓, hematokryt↓, MCV↑; śledziona – wzrost masy, hemosyderoza, hematopoeza (od 26. tyg.)	

cd. tab. 7.

Gatunek zwierząt, płeć, liczba zwierząt	Dawka dzienna aniliny, mg/kg m.c.	Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
	72		MetHb↑, ciała Heinza↑, retikulocyty↑, RBC↓, Hb↓, hematokryt↓, MCV↑, MCH↑; zmniejszona przeżywalność; śledziona – powiększona, nieprawidłowo zabarwiona, nieregularna powierzchnia, chroniczne zapalenie torebki (od 26. tyg.), rozrost i zwłóknienie zrębu (104. tydz.), zanik limfoidalny (104. tydz.), zmiany tłuszczeniowe, hemosyderoza, hematopoeza (od 26. tyg.); szpik kostny – wzrost aktywności; wątroba – wzrost masy, hemosyderoza	
Szczury F344, 100/płeć w grupie	174,4 350,5	103 tyg., w paszy, jako chlorowodorek	śledziona – zwłóknienie, zmiany tłuszczowe, przerost torebki nerki – hemosyderoza w kanalikach śledziona – zwłóknienie, zmiany tłuszczowe, przerost torebki nerki – hemosyderoza w kanalikach; wątroba – hemosyderoza komórek Kupfera	NCI 1978
Myszy B6C3F1, 5/płeć w grupie	10,8 32,4 324 1080	8 tygodni, w paszy, jako chlorowodorek	brak brak ciemna, powiększona śledziona ciemna, powiększona śledziona	NCI 1978
Myszy B6C3F1, 50/płeć w grupie	737♂ 733♀ 1510♂ 1560♀	103 tyg., w paszy, jako chlorowodorek	zapalenie przewodów żółciowych u samców zapalenie przewodów żółciowych u samców; spadek przyrostu masy ciała	NCI 1978

Objaśnienia:

^a Obliczona na podstawie spożycia wody i przeliczenia na anilinę (chlorowodorek aniliny zawiera 72% aniliny).

Jak wynika z tabeli 6. i 7., podprzewlekłe i przewlekłe narażenie szczurów i myszy na anilinę drogą inhalacyjną lub pokarmową skutkowało głównie, w zależności od wielkości dawki (stęże-

nia): wzrostem poziomu MetHb, ciałek Heinza i retikulocytów oraz objawami uszkodzenia śledziony.

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Dane dotyczące działania mutagennego i genotoksycznego aniliny zostały zebrane w przeglądowej

pracy Bomharda i Herbolda (2005). Przedstawione poniżej zestawienia tabelaryczne (tabele 8. ÷ 12.) skutków wywoływanych przez anilinę zaczerpnięte zostały głównie z tego opracowania.

Tabela 8.**Wyniki badań działania mutagennego aniliny (mutacje punktowe), (RAR 2004; Bomhard, Herbold 2005)**

Organizm	Gatunek/szczep/typ	Stężenia chlorku benzoilu	Wynik		Uwagi
			– S9	+ S9	
Bakterie	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA: 92, 94, 97, 98, 100, 102, 1535, 1537, 1538	do 10 000 µg/płytkę	–	–	frakcje S9 – szczura, myszy, chomika, świni; z różnych na- rzędów
	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, 100, 1538 <i>Escherichia coli</i> WP-2 uvrA	ekstrakty moczu szczurów i myszy, narażonych <i>per os</i> nie podano	–	–	S9 szczura, myszy, chomika
	<i>Aspergillus nidulans</i> meth3 locus	brak danych	–	–	
Grzyby					
<i>Drosophila melanogaster</i>	recesywna mutacja letalna związana z płcią	brak danych	–	–	karmienie i/lub iniekcja
Komórki ssaków in vitro	chomik chiński V79, HPRT	4650 i 5580 µg/ml (+S9); do 1860 µg/ml (– S9)	–	(+)	
	chłoniak myszy TK ^{+/-}	do 1395 µg/ml	+	+	

Objaśnienia:

(+) wynik słabo pozytywny.

Testy wykonywane w warunkach in vitro (tab. 9.) na organizmach niższych (nie ssakach) nie wykazały zdolności aniliny do indukowania mutacji punktowych. Skutek działania aniliny obserwowany w badaniach na komórkach ssaków był relatywnie słaby i występował jedynie wówczas, gdy stężenia aniliny były duże.

Klastogen jest czynnikiem fizycznym lub chemicznym powodującym uszkodzenie chromosomu wyrażone jego złamaniem, co może

prowadzić do zmiany organizacji struktury chromosomu wskutek nieprawidłowego połączenia się jego fragmentów w nową konfigurację (Leksykon... 2008).

Większość testów w warunkach in vitro (tab. 9.) wskazuje na zdolność aniliny do indukowania aberracji chromosomowych, zarówno bez aktywacji metabolicznej, jak i z aktywacją metaboliczną. Skutki te są jednak obserwowane tylko wówczas, gdy stężenia związku są duże.

Tabela 9.**Działanie klastogenne i aberracje chromosomowe spowodowane działaniem aniliny (badania w warunkach in vitro), (RAR 2004; Bomhard, Herbold 2005)**

Rodzaj testu	Gatunek/typ	Stężenia aniliny	Wynik	
			– S9	+S9
Aberracje chromosomowe w komórkach ssaków	komórki jajnika chomika chińskiego CHO-K1	444 ÷ 2664 µg/ml	+	
	komórki jajnika chomika chińskiego CHO-W-B1	500 ÷ 5000 µg/ml	–	+
	komórki chomika chińskiego CHL	250 ÷ 2000 µg/ml	–	+
	komórki chomika chińskiego CH V79	0,4 ÷ 4,3 µl/ml	+	+
	komórki chłoniaka myszy TK ^{+/-}	do 2400 µg/ml	+	+
Test mikrojądrowy	fibroblasty embrionu chomika syryjskiego SHE	nie podano	–	
	CHL/IU	125 ÷ 2000 µg/ml	–	+

Tabela 10.**Działanie klastogenne i aberracje chromosomowe spowodowane działaniem aniliny (badania w warunkach in vivo), (RAR 2004; Bomhard, Herbold 2005)**

Rodzaj testu	Gatunek/płeć/szczep	Narażenie	Zakres dawek, mg/kg	Wynik
Test mikrojądrowy	szpik kostny myszy ♂CBA	2 · i.p.	100 ÷ 300 237,5 i 380	– +
	szpik kostny myszy ♂ i ♀CFLP	1 · p.o.	610	–
	szpik kostny myszy ♂ICR	1 · p.o.	125 i 250	–
	szpik kostny myszy ♂ i ♀ICR	2 · i.p.	30; 100; 300	+
	szpik kostny myszy ♂B6C3F1	2 · p.o.	12; 23; 47; 120; 470	+
	szpik kostny myszy ♂ i ♀Swiss	1 · i.p.	5; 50; 100; 200	+
	szpik kostny myszy ♂CRH	1 · p.o.	400; 500; 1000	+
			jako chlorowodorek	
		1 · i.p.	380 jako chlorowodorek	
	szpik kostny szczura ♂PVG	1 · p.o.	215 ÷ 500	+
Aberracje chromosomowe	krw. obwodowa myszy ♂ i ♀ B6C3F1	90 dni w paszy	jako chlorowodorek 500; 1000; 2000 ppm; jako chlorowodorek	+
	szpik kostny myszy ♂CBA	2 · i.p.	220; 300; 380	–
	szpik kostny szczura ♀PVG	1 · p.o.	jako chlorowodorek 300; 400; 500	+
			jako chlorowodorek	
	dominująca letalność, szczury ♂Alpk:ApfSD	5 · i.p.	75; 150; 200	–

W warunkach in vivo (tab. 10.) anilina powoduje wzrost częstości tworzenia mikrojader w komórkach somatycznych myszy i szczurów. Zakres dawek niezbędnych do wywołania tego skutku (p.o. rzędu 300 ÷ 400 mg/kg) leży już jednak w zakresie dawek wywołujących methemoglobinemię i inne skutki toksyczne działania aniliny. Także obserwowane aberracje chromosomowe (tylko u szczurów) są wywoływane raczej przez duże dawki aniliny (Bomhard, Herbold 2005).

Wyniki uzyskane z testów prowadzonych zarówno w warunkach in vitro (tab. 11.), jak i in vivo (tab. 12.) dotyczących uszkodzeń DNA przez anilinę są dość rozbieżne. Można na ich podstawie jednak przypuszczać, że zdolność aniliny do bezpośredniego uszkodzenia DNA jest bardzo niewielka, jeśli nawet nie pomijalna (Bomhard, Herbold 2005).

Powtarzane narażenie na anilinę (0,5 mmol/kg/dzień przez 30 dni, około 46,5 mg/kg) spowodowało oksydacyjne uszkodzenie DNA w śledzionie, manifestujące się około 3-krotnym wzrostem występowania 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyny (8-OHdG) w porównaniu z grupą kontrolną. Takie uszkodzenie DNA jest mutagenne i powoduje transwersję GC do TA (Ma i in. 2008).

Istniejące dane na temat mutagennego działania aniliny są niewystarczające, aby zaklasyfikować ten związek jako mutagen kategorii 2. Jednak ze względu na dodatnie wyniki w niektórych testach in vivo i in vitro, zwłaszcza w teście mikrojądrowym na komórkach szpiku kostnego, anilina została zaklasyfikowana jako mutagen kategorii 3. (RAR 2004).

Tabela 11.**Indukcja uszkodzeń DNA przez anilinę (badania in vitro), (Bomhard, Herbold 2005)**

Organizm, typ badania	Gatunek/szczep/typ	Stężenia aniliny	Wynik	
			– S9	+ S9
Bakterie i grzyby, <i>rec-assay</i>	<i>Escherichia coli</i> WP2, WP100	80 ÷ 2000 µg/ml do 400 µg/well 5; 10 mM	–	–
	<i>Bacillus subtilis</i> H17, M45		–	–
	<i>Bacillus subtilis</i> Marburg		–	–

cd. tab. 11.

Organizm, typ badania	Gatunek/szczep/typ	Stężenia aniliny	Wynik	
			- S9	+ S9
Bakterie i grzyby, uszkodzenie DNA	<i>Escherichia coli</i> K12 inductest	200 ÷ 2000 µg/ml	-	-
	<i>Escherichia coli</i> WP2/WP67 Pol test	80 ÷ 2000 µg/ml	-	-
	<i>Escherichia coli</i> WP2, WP2 uvrA, WP67, WP10, CM611, W3110, p3478	do 2000 µg/well	-	-
Bakterie i grzyby, naprawa DNA	<i>Bacillus subtilis</i> H17, M45	2 ÷ 4 mg/ml	-	-
	<i>Escherichia coli</i> WP2, WP67, CM871	do 1250 µg/płytke	(+)	-
	<i>Escherichia coli</i> polA ⁺ /polA ⁻	5 µg/ml	-	-
Bakterie i grzyby, SOS chromo test	<i>Escherichia coli</i> PQ37	do 100 mM	-	-
Bakterie i grzyby, Umu test	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA1535/pSK1002, NM2000, NM2009	250 ÷ 2000 µg/ml, jako chlorowodorek	-	-
	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA1535/pSK1002	4000 µg/ml	-	-
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1 ÷ 12 mg/ml	+	-
Bakterie i grzyby, rekombinacja mitotyczna	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D3	10 mg/ml	-	-
<i>Eye mosaic assay</i> (mię- dychromosomalna rekombinacja mitotyczna)	<i>Drosophila melanogaster</i>	1 ÷ 2 mM	(+)	-
Ssaki, nieplanowa synteza DNA	hepatocyty ludzkie	10 ⁻² ÷ 10 ⁻³ M	-	-
	hepatocyty szczura	10 ⁻⁶ ÷ 10 ⁻² M	-	-
	hepatocyty myszy	10 ⁻⁵ M	-	-
Ssaki, wymiana chromatyd siostrzanych	hepatocyty chomika	10 ⁻⁵ M	-	-
	linia komórek chomika chińskiego (Don)	10 ⁻⁶ ÷ 5 · 10 ⁻³ M jako chlorowodorek	(+)	-
	komórki nabłonka wątroby szczu- ra RL4	0,05 ÷ 10 ⁻³ M	(+)	-
	komórki jajników chomika chiń- skiego	160 ÷ 5000 µg/ml	(+)	(+)
	W-B1	10 ⁻⁵ ÷ 10 ⁻³ M jako chlorowodorek	(+)	-
	komórki jajników chomika chiń- skiego	0,05 ÷ 1 mM jako chlorowodorek	-	-
	limfocyty ludzkie	10 ⁻⁴ M	-	(+)
	ludzkie komórki lymphoblastoid NL3	0,05 ÷ 10 mM jako chlorowodorek	(+)	-
	ludzkie fibroblasty	0,05 ÷ 1 mM jako chlorowodorek	(+)	-
	ludzka pełna krew	1,07 ÷ 21,5 mM	(+)	-
Komórki ssaków, pęknięcie pojedynczej nici DNA (alkaliczna elucja)	komórki chłoniaiaka myszy L5178Y/TK ^{+/+}	1,07 ÷ 21,5 mM	-	?
	komórki chomika chińskiego V79	0,03 ÷ 3,0 mM	-	-
Test kometowy	ludzkie komórki MCL-5	0,49 ÷ 4,88 mM	+	+

Objaśnienia:

(+) wynik słabo pozytywny.

Tabela 12.**Indukcja uszkodzeń DNA przez anilinę (badania w warunkach in vivo), (Bomhard, Herbold 2005)**

Rodzaj badania	Gatunek/płeć/szczep	Narażenie	Zakres dawek, mg/kg	Wynik
Wymiana chromatyd siostrzanych	szpik kostny myszy ♂Swiss	1 · i.p.	210 ÷ 420	+
Pęknięcie nici DNA; (elucja alkaliczna)	wątroba i nerki myszy ♂Swiss	1 · i.p.	300	+
	wątroba i nerki myszy ♂Swiss	1 · i.p.	420	–
	szpik kostny myszy ♂Swiss	1 · i.p.	210 i 420	–
	wątroba szczura ♂SD	1 · i.p.	53 ÷ 810	+
	nerka szczura ♂SD	1 · i.p.	105 ÷ 420	+
	śledziona szczura ♂SD	1 · i.p.	210	–
	śledziona szczura ♂SD	1 · i.p.	880	(+)
Pęknięcie nici DNA, (viscometria)	wątroba szczura ♂SD	1 · i.p.	210	–
Test kometowy	myszy ♂ddY, wątroba, pęcherz, płuca, mózg, szpik kostny	1 · p.o.	100	+
	myszy ♂ddY, żołądek, jelito grube, nerki	1 · p.o.	100	–
	szczur ♂Wistar, żołądek, jelito grube, wątroba, nerki, pęcherz, płuca	1 · p.o.	150	+
	szczur ♂Wistar, mózg, szpik kostny	1 · p.o.	150	–

Objaśnienia:

(+) wynik słabo pozytywny.

Działanie rakotwórcze

Działanie rakotwórcze aniliny na zwierzęta badano jedynie po podaniu związku drogą pokarmową (w paszy jako chlorowodorek).

W przewlekłym doświadczeniu, prowadzonym przez CIIT (1982), szczury F344 (po 130 zwierząt każdej płci na grupę) przez 104 tygodnie otrzymywały paszę z dodatkiem chlorowodoru aniliny. Obliczone dawki dzienne (w przeliczeniu na

anilinę) wynosiły: 7; 22 lub 72 mg/kg. Sekcje (po 10 zwierząt każdej płci w grupie) wykonywano po: 26, 52 i 78 tygodniach. Obserwowane w tym badaniu zmiany nienowotworowe przedstawiono w tabeli. 7. (w rozdziale: Toksyczność podprzewlekła i przewlekła), natomiast w tabeli 13. zestawiono przypadki występowania nowotworów śledziony oraz innych zmian w tym narządzie, mogących być zmianami przedrakowymi.

Tabela 13.**Występowanie nowotworów śledziony i innych zmian w tym narządzie obserwowane w 104-tygodniowym badaniu na szczurach (CIIT 1982)**

Skutek toksyczny	Płeć	Częstość występowania zmian			
		obliczona dawka aniliny, mg/kg m.c.			
		0	7	22	72
Liczba przedwczesnych padnięć	♂	16/130	14/130	15/130	26/130
	♀	20/130	21/130	14/130	13/130
Zmiany nowotworowe					
Włókniakomięsak	♂	0/123	0/129	0/128	3(1) ^a /130
	♀	0/129	0/129	0/130	0/130
Mięsak zrębu (<i>stromal sarcoma</i>)	♂	0/123	0/129	1/128	21(1)/130
	♀	0/129	0/129	0/130	0/130
Mięsak torebki (<i>capsular sarcoma</i>)	♂	0/123	0/129	0/128	1/130
	♀	0/129	0/129	0/130	0/130
Naczyniakomięsak	♂	0/123	0/129	0/128	6(4)/130
	♀	0/129	0/129	0/130	1/130

cd. tab. 13.

Skutek toksyczny	Płeć	Częstość występowania zmian			
		obliczona dawka aniliny, mg/kg m.c.			
		0	7	22	72
Mięsak wywodzący się z kości	♂	0/123	0/129	0/128	3(3)/130
	♀	0/129	0/120	0/130	0/130
Nowotwory węzłów chłonnych	♂	0/123	0/129	0/128	1/130
	♀	0/129	0/120	0/130	0/130
Zmiany nienowotworowe po 104 tygodniach					
Rozrost zrębu	♂	1/90	0/90	0/90	31/90
	♀	0/90	0/90	0/90	9/90
Chroniczne zapalenie torebki	♂	1/90	1/90	2/90	62/90
	♀	0/90	4/90	4/90	70/90
Stłuszczenie	♂	0/90	0/90	0/90	14/90
	♀	0/90	0/90	0/90	0/90

Objaśnienia:

^a W nawiasach podano liczbę nowotworów u zwierząt, które padły przed zakończeniem doświadczenia.

Inne, przewlekłe doświadczenie przeprowadziło NCI (1978) na szczurach i myszach. Grupy po 50 szczurów F344 każdej płci otrzymywały paszę z dodatkiem 0,3% lub 0,6% chlorowodoru aniliny, co odpowiadało dziennym dawkom aniliny wynoszącym 174,4 lub 360,5 mg/kg. Obserwowane przypadki nowotworów śledziony i o innym

umiejscowieniu przedstawiono w tabeli 14. Najczęściej obserwowanym nowotworem śledziony był naczyńniakomięsak krwionośny, który występował u 38% samców narażanych na mniejszą dawkę aniliny, a także u 43% samców otrzymujących dawkę większą. U samic obserwowano jedynie pojedyncze przypadki nowotworów.

Tabela 14.

Nowotwory śledziony i innych narządów u szczurów w badaniu 103-tygodniowym (NCI 1978)

Rodzaj nowotworu	Płeć	Częstość występowania nowotworów		
		obliczona dawka aniliny, mg/kg m.c.		
		0	174,4	350,5
Nowotwory śledziony				
Mięsak NOS (<i>sarcoma</i>)	♂	0/25	4/50	2/46
	♀	0/23	0/50	3/50
Włókniak (<i>fibroma</i>)	♂	0/25	7/50	6/46
	♀	0/23	0/50	0/50
Włókniakomięsak (<i>fibrosarcoma</i>)	♂	0/25	3/50	7/46
	♀	0/23	0/50	0/50
Naczyniakomięsak (<i>hemangiosarcoma</i>)	♂	0/25	19/50	20/46
	♀	0/23	1/50	2/50
Tłuszczak (<i>lipoma</i>)	♂	0/25	0/50	0/46
	♀	0/23	0/50	1/50
Naczyniak krwionośny (<i>hemangioma</i>)	♂	0/25	0/50	0/46
	♀	0/23	0/50	1/50
Nowotwory innych narządów				
Włókniakomięsak (<i>fibrosarcoma</i>)	♂	0/25	2/50	8/43
	♀	0/24	1/50	3/50
Mięśniakomięsak (<i>leiomyosarcoma</i>)	♂	0/25	0/50	2/43
	♀	1/24	0/50	0/50
Naczyniakomięsak (<i>hemangiosarcoma</i>)	♂	0/25	0/50	1/43
	♀	0/24	0/50	0/50
Mięsak NOS (<i>sarcoma</i>)	♂	0/25	0/50	1/43
	♀	0/24	0/50	1/50

W NCI (1978) przeprowadzono podobne doświadczenie na myszach B6C3F1 (po 50 zwierząt każdej płci w grupie) otrzymujących paszę z zawartością 0,6 lub 1,2% chlorowodoru aniliny. Skarmianie zwierząt prowadzono przez 103 tygodnie, po których następował 4-tygodniowy okres obserwacji. Stężenia badanej substancji w paszy były równoważne dziennym dawkom 737 lub 1510 mg/kg dla samców oraz 733 lub 1560 mg/kg dla samic. Badania histopatologiczne przeprowadzono dla ponad 32 narządów i/lub tkanek pobranych od narażanych zwierząt. Żadnego z obserwowanych nowotworów nie uznano za związanego z narażeniem na anilinę, gdyż nowotwory występowały z podobną częstością zarówno w grupach badanych, jak i w grupie kontrolnej. W śledzienie stwierdzano tylko pojedyncze przypadki nowotworów.

W Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (IARC) uznano, że dowód na rakotwórcze działanie aniliny u ludzi jest niewystarczający, a dowody działania rakotwórczego aniliny u zwierząt doświadczalnych są ograniczone. W ogólnej ocenie zaliczono anilinę do grupy 3. – związków nieklasyfikowanych pod względem rakotwórczości dla ludzi (IARC 1987).

W USA uznano w ACGIH anilinę za związek o potwierdzonym działaniu rakotwórczym dla zwierząt i nieznanym działaniu rakotwórczym na ludzi (grupa A3), (ACGIH 2001).

W SCOEL zaliczono anilinę do grupy C – genotoksycznych kancerogenów, dla których można ustalić praktyczną wartość dopuszczalną na podstawie istniejących danych (SCOEL 2010).

W Unii Europejskiej zaklasyfikowano anilinę jako substancję rakotwórczą Car. 2 z przypisanym zwrotem określającym rodzaj zagrożenia H351 – podejrzewa się, że powoduje raka (tabela 3.1. załącznika VI do rozporządzenia CLP).

Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

Nie ma w dostępnym piśmiennictwie wiarygodnych danych dotyczących toksyczności rozwojowej oraz wpływu aniliny na rozrodczość u ludzi.

W przewlekłym badaniu (do 104 tygodni), którym poddano szczury F344 otrzymujące *per os* anilinę w dawkach: 7; 22 lub 72 mg/kg/dzień, nie stwierdzono związanych z narażeniem zmian

masy jąder i ich obrazu histopatologicznego w żadnym z przyjętych czasów obserwacji (26, 52, 78 lub 104 tygodnie). U samic masa jajników nie ulegała zmianie pod wpływem aniliny aż do 78. tygodnia. Pod koniec doświadczenia (104 tygodnie) w grupie otrzymującej największą dawkę aniliny stwierdzono zmniejszenie masy jajników (CIIT 1982).

W podobnym, przewlekłym doświadczeniu (103 tygodnie) przeprowadzonym na myszach B6C3F1 otrzymujących anilinę w dawkach do 1510 mg/kg/dzień nie stwierdzono żadnych zmian związanych z narażeniem w narządach układu rozrodczego samców i samic. Także u samców szczurów F344 otrzymujących anilinę w dawkach do 350,5 mg/kg/dzień przez 103 tygodnie nie obserwowano zmian w narządach układu rozrodczego. U samic otrzymujących takie same dawki aniliny stwierdzono jedynie wzrost przypadków polipów w endometrium macicy (*uterine endometrium polyps*) w porównaniu do grupy kontrolnej (NCI 1978).

Grupie 5 myszy (samców) podawano dootrzewnowo anilinę (jako chlorowodorek) w dawkach $17 \div 200$ mg/kg przez 5 kolejnych dni. Po ostatniej dawce podanej po 5 tygodniach nie stwierdzono wzrostu częstości występowania nieprawidłowości w budowie morfologicznej plemników (Topham 1980).

Badania toksyczności rozwojowej przeprowadzono na szczurach szczepu F344 otrzymujących dożołądkowo chlorowodorek aniliny (Price i in. 1985). Ciężarne samice (21 do 24 w grupie) dostawały dawki wynoszące: 7,2; 21,6 lub 71,8 mg aniliny/kg/dzień między 7. a 20. dniem ciąży (część prenatalna badania). Dodatkowa grupa samic ($12 \div 15$ /grupę) otrzymywała takie same dawki aniliny między 7. dniem ciąży a porodem (część postnatalna badania). Toksyczność aniliny dla matek objawiała się istotnym zmniejszeniem przyrostu masy ciała (po największej dawce) i zależnym od dawki wzrostem masy śledziony (po wszystkich dawkach). Matki otrzymujące największą dawkę wykazywały objawy charakterystyczne dla toksycznego działania aniliny (we krwi wzrost stężenia MetHb, zmniejszenie liczby erytrocytów, zwiększenie liczby retikulocytów). Po żadnej z dawek aniliny nie obserwowano skutków embriotoksycznych i fetotoksycznych oraz teratogennych. Badania płodów wykazały niewielki, lecz

istotny statystycznie wzrost względnej masy wątroby oraz marginalny (choć istotny statystycznie) wzrost objętości erytrocytów (MCV).

W części postnatalnej badania stwierdzono, że pomimo zakończenia narażenia na anilinę skutki toksyczne działania aniliny u matek utrzymywały się jeszcze przez okres karmienia potomstwa. Obserwowano także zależny od wielkości dawki, lecz nieistotny statystycznie, wzrost liczby miotów, w których wystąpiły przypadki padnięć zwierząt (śmierci postnatalnych): 3/16, 4/15 i 5/16 w porównaniu z 2/15 w grupie kontrolnej. W 60. dniu po urodzeniu nie było żadnych objawów toksycznych u młodych. Prenatalne narażenie na anilinę nie spowodowało żadnych zaburzeń w rozwoju fizycznym i behawioralnym potomstwa (Price i in. 1985).

Po dużej, jednorazowej dawce aniliny (≥ 260 mg/kg) podawanej matkom dootrzewnowo obserwowano u potomstwa wady serco-

wo-naczyniowe i rozszczęp podniebienia. Skutki te były spowodowane niedotlenieniem organizmu matek z powodu wysokiego poziomu MetHb we krwi (Matsumoto 2003).

W skринingowym badaniu ciężarne myszy otrzymywały dożołądkowo dawkę 560 mg/kg aniliny między 6. a 12. dniem ciąży. Obserwowano toksyczność aniliny dla matek (łącznie z padnięciami) oraz zmniejszoną masę urodzeniową oraz zmniejszony przyrost masy ciała u potomstwa. Nie stwierdzono natomiast wpływu aniliny na liczbę żywych płodów w miocie oraz na przeżywalność potomstwa w pierwszych 2 tygodniach (Hardin i in. 1987).

Na podstawie omówienia wyników powyższych badań stwierdzono, że anilina w dawkach nietoksycznych dla matek nie wykazuje ani działania embriotoksycznego, ani teratogenne oraz nie wpływa na rozrodczość.

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie

Anilina jest szybko wchłaniana z: przewodu pokarmowego, dróg oddechowych i przez skórę (SCOEL 2010).

Wydajność wchłaniania z przewodu pokarmowego zwierząt wynosi: u szczurów ponad 90%, u świń 56%, u myszy 72% i u owiec 80% (RAR 2004).

Szybkość wchłaniania par aniliny w drogach oddechowych ludzi (ochotników) wynosiła w stanie spoczynku odpowiednio $2 \div 11$ mg/h dla stężeń $5 \div 30$ mg/m³. Retencja par aniliny w płucach wynosiła 91,3% po 5 h narażenia (Dutkiewicz 1961).

Anilina w postaci par wchłania się również przez skórę. Stwierdzono, że gdy stężenie aniliny wynosiło $5 \div 50$ mg/m³, to szybkość jej wchłaniania przez skórę wynosiła $3 \div 11$ mg/h i była tego samego rzędu co szybkość wchłaniania w drogach oddechowych. Szybkość absorpcji wzrastała wraz ze zwiększeniem temperatury otoczenia i wilgotności. Odzież ochronna zmniejszała wchłanianie par aniliny przez skórę o około 40% (Dutkiewicz 1961; Dutkiewicz, Piotrowski 1961).

Anilina wchłania się przez skórę także w postaci ciekłej. Szybkość wchłaniania ciekłej aniliny naniesionej na skórę ochotników

(10 mg/cm²) wynosiła $0,18 \div 0,72$ mg/cm²/h, przy temperaturze skóry od $29,8 \div 35$ °C. Zwilżenie skóry powodowało zwiększenie szybkości wchłaniania o rząd wielkości (do 3,8 mg/cm²/h), (Piotrowski 1957). Wodne roztwory aniliny (1- ÷ 2-procentowe) wchłaniały się przez skórę ochotników z mniejszą szybkością ($0,2 \div 1,2$ mg/cm²/h) niż ciekła anilina (3,0 mg/cm²/h) i anilina zawierająca 3% wody (2,5 mg/cm²/h), (Baranowska-Dutkiewicz 1982).

Porównując szybkości wchłaniania przez skórę par aniliny ($0,2 \div 0,4$ µg/cm²/h) z szybkością wchłaniania ciekłej aniliny ($0,18 \div 0,72$ mg/cm²/h), stwierdzono, że wchłanianie par aniliny przez skórę jest około 1000 razy wolniejsze niż wchłanianie ciekłej aniliny (Dutkiewicz, Piotrowski 1961).

Rozmieszczanie

Na podstawie wyników badań przeprowadzonych na szczurach i myszach, którym podawano anilinę znakowaną izotopem ¹⁴C (w postaci chlorowodoru) dożołądkowo lub dożylnie, wykazano, że największe stężenia aniliny występują we krwi (zwłaszcza w erytrocytach), a następnie w: śledzionie, nerkach, wątrobie, pę-

cherzu moczowym i przewodzie pokarmowym (Bus i in. 1978; Bus, Sun 1979; Sun, Bus 1980; McCarty i in. 1985; Khan i in. 1995a; Irons i in. 1980). Nie stwierdzano spadku stężenia znacznika w śledzenie w miarę upływu czasu (Irons i in. 1980). Stwierdzono ponadto, że powtarzane podawanie aniliny prowadzi do kumulacji kowalencyjnej związanej ^{14}C -aniliny w erytrocytach i śledzenie (Bus, Sun 1979; 1980).

Ze względu na zasadowy charakter zarówno anilina, jak i *N*-acetyloanilina podlegają krążeniu jelitowo-żołądkowemu (Irons i in. 1980).

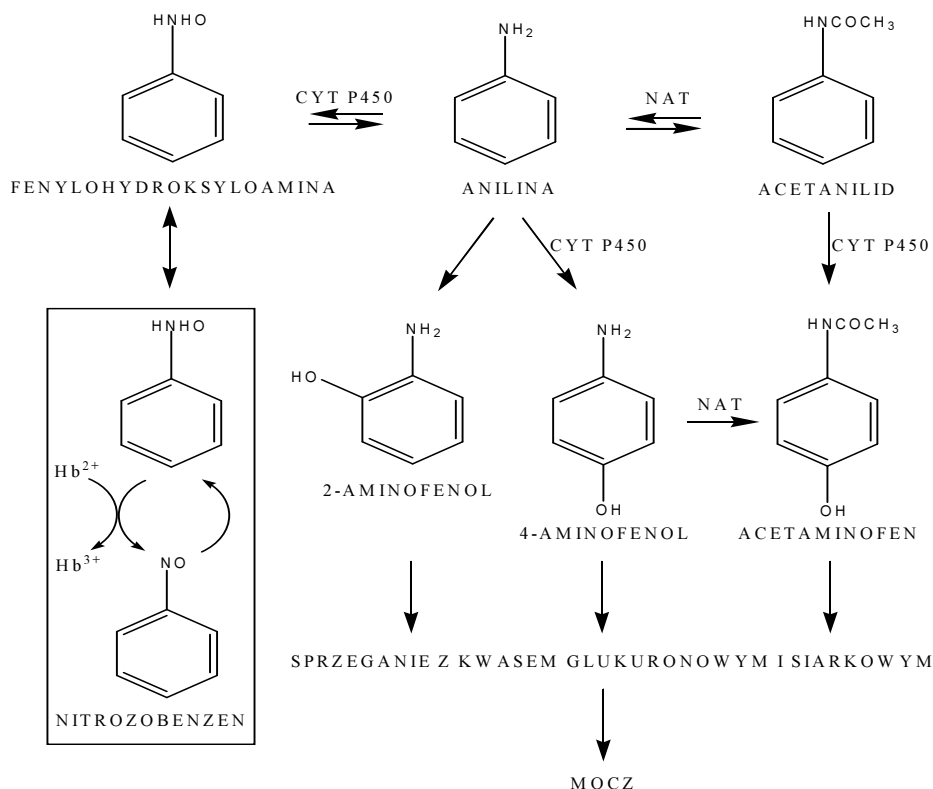
Anilina przechodzi przez barierę krew/łożysko. We krwi stężenie aniliny (znakowanej izotopem ^3H) podawanej ciężarnym samicom szczura było nieznacznie większe (około $10 \div 15\%$) u płodów niż u matek. Natomiast zarówno u płodów, jak i matek okres połowicznego zaniku był taki sam i wynosił 1,5 h (Maickel, Snodgrass 1973).

Metabolizm

Anilina jest metabolizowana głównie w wątrobie trzema szlakami metabolicznymi: *N*-acetylacji, *C*-hydroksylacji i *N*-hydroksylacji. Procesy hydroksylacji zachodzą przy udziale hydroksylazy aniliny

związanej z cytochromem P-450, natomiast w *N*-acetylacji bierze udział *N*-acetylotransferaza. Schemat metabolizmu aniliny przedstawiono na rysunku 2.

Głównym szlakiem metabolicznym jest *N*-acetylacja, a następnie *p*-hydroksylacja do *N*-acetylo-*p*-aminofenolu (acetaminofen/paracetamol), który jest wydalany z moczem w postaci sprzężonej z kwasem siarkowym lub glukuronowym. Część aniliny ulega hydroksylacji do 2- i 4-aminofenolu, które są sprzęgane i wydalone z moczem. Szlak metaboliczny, w którym anilina ulega *N*-hydroksylacji, prowadzi do powstania *N*-fenylohydroksyloaminy. Uważa się, że szlak *N*-acetylacji jest drogą prowadzącą do detoksykacji aniliny, natomiast *N*-hydroksylacja prowadzi do powstawania skutków działania toksycznego związku, w tym methemoglobinemii (SCOEL 2010). Aminofenole (*orto*- oraz *para*-) również mogą powodować tworzenie MetHb, lecz ich potencjał methemoglobinoformujący w porównaniu z fenylohydroksyloaminą jest dużo mniejszy i wynosi 100: 4: 1, prawdopodobnie na skutek szybkiego wydalania aminofenoli w warunkach *in vivo* (Harrison, Jollow 1987).



Rys. 2. Schemat metabolizmu aniliny (wg Harrison, Jollow 1987): NAT – *N*-acetylotransferaza

Udział poszczególnych szlaków metabolicznych aniliny jest różny u różnych gatunków zwierząt. *C*-hydroksylacja w pozycji *para*-przeważa u szczurów i królików, a w pozycji *orto*- u psów i kotów (Parke 1960). U ludzi wydajność przemiany aniliny do *p*-aminofenolu wynosi około 30% (Dutkiewicz 1961).

U szczurów główny metabolit *N*-acetylo-*p*-aminofenol jest wydalany głównie w postaci sprzężonej z kwasem siarkowym (po dawkach aniliny do 50 mg/kg). Po większych dawkach szlak ten ulega wysyceniu, co prowadzi do powstawania 4-aminofenylosiarczanu i *N*-acetylo-4-aminofenyloglukuronidu. Sprzęganie z kwasem glukuronowym stanowi główną drogę metabolizmu aniliny u: myszy, owiec i świń, przy czym nie obserwuje się wysycenia tego szlaku (Kao i in. 1978; McCarthy i in. 1985).

Różnice w metabolizmie mogą także prowadzić do różnej wrażliwości zwierząt na anilinę, a zwłaszcza na tworzenie MetHb. Powstała MetHb jest redukowana przez NADH-zależną reduktazę methemoglobiny. Porównawcze badania wykazały, że szczury i myszy mają odpowiednio 5 i 10 razy większą aktywność reduktazy MetHb niż człowiek, dlatego są mniej wrażliwe na powstawanie MetHb (RAR 2004). U psów Beagle ak-

tywność MetHb-reduktazy jest mniejsza niż u gryzoni i człowieka (Srivastava i in. 2002; Rockwood i in. 2003). Psy tej rasy mają także niedobór *N*-acetylotransferaz (Collins 2001), dlatego są one bardziej wrażliwe na powstawanie methemoglobinemii niż nawet „wolni acetylatorzy” (Pauluhn 2005).

U ludzi metabolizm aniliny jest podobny jak u zwierząt. Około 50% Europejczyków ma genetycznie uwarunkowaną zmniejszoną aktywność *N*-acetylotransferazy (tzw. wolni acetylatorzy). U ludzi tych *N*-acetylowanie aniliny zachodzi z mniejszą wydajnością, przesuwając metabolizm w kierunku *N*-hydroksylacji do fenylohydroksyloaminy, aktywnego metabolitu odpowiedzialnego za powstawanie MetHb. Drugi z produktów *N*-hydroksylacji i następnego utlenienia – nitrozobenzenu może reagować z grupami sulfhydrylowymi makrocząsteczek (np. z hemoglobina), tworząc addukty, wykrywalne w dłuższym czasie niż MetHb. Ilość tworzonych adduktów z hemoglobina także jest większa u wolnych acetylatorów. Wyniki otrzymane u pracowników narażonych na anilinę o stężeniu poniżej 8 mg/m³ przedstawiono w tabeli 15. (Lewalter, Korallus 1985).

Tabela 15.

Wyniki monitoringu pracowników narażonych na anilinę (Lewalter, Korallus 1985)

Grupa acetylatorów	MetHb, %	Związki w moczu, mg/g kreatyniny				Anilina z adduktów z Hb, µg/l krwi
		<i>p</i> -aminofenol	<i>p</i> -acetaminofenol	anilina	acetanilid	
Szybcy	0,9	3,6	3,4	0,38	0,34	10
Wolni	1,4	3,9	1,2	0,40	0,03	123

Wydalanie

U wszystkich badanych gatunków zwierząt główną drogą wydalania metabolitów aniliny i/lub aniliny były nerki. Z kałem wydalało się jedynie poniżej 2% dawki (Parke 1960; Kao i in. 1978). Wydalaniu z moczem ulegają sprzężone z kwasem glukuronowym lub siarkowym produkty *C*-hydroksylacji (*orto*- i *para*-aminofenol, a u królików i psów także ślady *meta*-aminofenolu) oraz *N*-acetylowanie (acetaminofen). U poszczególnych gatunków zwierząt są wydane różne metabolity, w różnej procentowej ilości (patrz rozdział: Metabolizm).

Ochotnicy narażani na pary aniliny o stężeniach 5 ÷ 300 mg/m³ przez 5 h wydychali z powietrzem poniżej 0,25% dawki wchłoniętej. Około 30% dawki wydawali z moczem w postaci *p*-aminofenolu (Dutkiewicz 1961).

Obliczono okresy połowicznego wydalania *p*-aminofenolu w moczu u ludzi, które wynoszą dla drogi inhalacyjnej $T_{1/2} = 4,35$ h, a dla wchłaniania przez skórę – $T_{1/2} = 3,96$ h. Przyjmując za kryterium kumulacji czas potrzebny do wydalania *p*-aminofenolu równy $4 \div 5 T_{1/2}$, stwierdzono, że anilina nie ulega kumulacji w warunkach narażenia zawodowego (Dutkiewicz 1962).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Niezależnie od drogi podania, charakterystycznym skutkiem toksycznego działania aniliny jest methemoglobinemia. Metaboliczna aktywacja aniliny jest do tego niezbędna, gdyż sama anilina nie indukuje powstawania MetHb w warunkach *in vitro*. W methemoglobinie żelazo w grupie hemowej jest utlenione do Fe^{3+} , dlatego MetHb nie ma zdolności do przenoszenia tlenu. Gromadzenie się MetHb w erytrocytach i odpowiadający temu spadek ilości przenoszonego tlenu prowadzi do toksycznych skutków, których nasilenie zależy od poziomu MetHb. Pierwszym, widocznym symptomem zatrucia MetHb jest sinica, po której występują objawy neurologiczne ze strony OUN i przy większych stężeniach MetHb inne oznaki niedotlenienia (SCOEL 2010).

N-Hydroksylacja jest najważniejszym etapem w bioaktywacji aniliny. W jej wyniku powstaje fenylohydroksyloamina działająca jako substrat w procesie utleniania erytrocytów, prowadzącym do powstania nitrozobenzenu i methemoglobiny. Ponieważ nitrozobenzen w erytrocytach może być enzymatycznie redukowany z powrotem do fenylohydroksyloaminy, inicjuje to cykl *red-ox*. Aminofenole także mogą inicjować cykl *red-ox*, jednak są tworzone w dużo mniejszym stopniu niż fenylohydroksyloamina, która jest najważniejszym związkiem odpowiedzialnym za powstawanie MetHb (Harrison, Jollow 1987).

Inne skutki działania aniliny obejmują denaturację białek, głównie hemoglobiny z występowaniem depozytów denaturowanych białek (ciałka Heinza) w krwinkach czerwonych (SCOEL 2010). Uszkodzenie erytrocytów z tworzeniem ciałek Heinza i związana z tym

niedokrwistość hemolityczna są charakterystycznymi objawami zatrucia aniliną. Retikuloocytoza, wzrost aktywności erytropoetycznej szpiku kostnego i obserwowana erytropoeza pozaszpikowa są reakcjami kompensującymi erytrotoksyczne (hematootoksyczne) działanie aniliny (SCOEL 2010).

Anilina po przewlekłym narażeniu szczurów na ten związek wykazywała działanie splenotoksyczne, objawiające się: splenomegalią, nadmierną pigmentacją, rozrostem (hyperplasia), zwłóknieniem oraz powstawaniem nowotworów (głównie mięsaków), (NCI 1978; CIIT 1982; Khan i in. 1997; 1997a; 1999; 2003a; 2003b; 2003c).

Istnieje ścisły związek między toksycznym działaniem aniliny na erytrocyty a obserwowaną toksycznością związku śledziony. Uszkodzone erytrocyty są wychwytywane głównie przez śledzionę, co może prowadzić nie tylko do uwolnienia aniliny i/lub jej metabolitów w tym narządzie, lecz także do nagromadzenia żelaza w wątrobie (hemosyderoza), co z kolei może powodować: peroksydację lipidów, utlenianie białek (Khan i in. 1997; 1997a; 1999; 2003a; 2003b; 2003c) i DNA (Ma i in. 2008). Akumulacja mutagennych oksydacyjnych uszkodzeń DNA może odgrywać istotną rolę w procesie powstawania nowotworów śledziony (Ma i in. 2008). Anilina powoduje także aktywację szeregu ścieżek sygnałowych, zależnych od stresu oksydacyjnego (np. TF, NF- κ B, AP-1, IL-1, IL-6, TNF- α), co w konsekwencji może inicjować zmiany zwłóknieniowe i/lub nowotworowe w śledzionie (Wang i in. 2005; 2008; 2011; Khan i in. 2006).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji dotyczących badania łącznego działania aniliny i innych związków chemicznych u zwierząt doświadczalnych.

Czynnikiem powodującym gwałtowne powstawanie skutków toksycznych (toksyczna methemoglobinemia) u osób narażonych na

aminozwiązki (w tym anilinę) jest spożycie alkoholu. Mechanizm tego zjawiska nie jest w pełni jasny. Skutki po spożyciu alkoholu mogą pojawić się u osoby, u której nie są one uzasadnione aktualnym poziomem aminozwiązków w organizmie lub ich metabolitów (Bruchajzer 2006).

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Na podstawie wyników zarówno badań na zwierzętach doświadczalnych, jak i badań ludzi ochotników narażonych na anilinę wykazano, że związek ten wykazuje głównie działanie hematotoksyczne (tworzenie MetHb, anemia hemolityczna, pozaszpikowa erytropoeza). Najbardziej widocznym skutkiem działania aniliny jest met-hemoglobinemia. Po ostrym narażeniu na działanie aniliny minimalne dawki/stężenia, po których obserwowano MetHb wynosiły:

- człowiek: $3 \cdot$ około $0,2 \text{ mg/kg per os}$
- szczur: $1 \cdot 20 \text{ mg/kg per os}$
- pies: $1 \cdot 15 \text{ mg/kg per os}$
- pies: 20 mg/m^3 przez 4 h, inhalacyjnie
- kot: $1 \cdot 2,6 \text{ mg/kg per os}$.

Po powtarzanym narażeniu na anilinę wzrost stężenia MetHb obserwowano, począwszy od dawek (stężeń):

- szczur: 116 mg/m^3 przez 4 dni, inhalacyjnie
- szczur: $96,5 \text{ mg/m}^3$ przez 2 tygodnie, inhalacyjnie
- szczur: 19 mg/m^3 przez 26 tygodni, inhalacyjnie
- szczur: 186 mg/kg przez 4 dni, *per os*
- szczur: 30 mg/kg przez 30 dni, *per os*.

Gromadzenie się MetHb w erytrocytach i odpowiadający temu spadek ilości przenieszonego tlenu prowadzi do nasilenia toksycznych skutków i ma ścisły związek z obserwowaną toksycznością śledziony.

Rakotwórcze działanie aniliny (nowotwory śledziony) obserwowano jedynie po przewlekłym narażeniu na duże dawki związku (72 mg/kg i większe) i ograniczone tylko do jednego gatunku (szczury) i właściwie jednej płci (samce).

NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIA W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

Istniejące wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń i ich podstawy

Istniejące wartości normatywów higienicznych (NDS – najwyższe dopuszczalne stężenie,

NDSch – najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe i DSB – dopuszczalne stężenie w materiale biologicznym) aniliny w różnych państwach przedstawiono w tabeli 16.

Tabela 16.

Odpowiedniki wartości NDS i NDSch aniliny przyjęte w różnych państwach (ACGIH 2004; RTECS 2010; CIOP 2003; SCOEL 2010; DFG 2012)

Państwo/organizacja/rok	Wartość NDS, mg/m^3	Wartość NDSch, mg/m^3	Uwagi	Wartość DSB
Australia (2008)	7,6	–	–	
Belgia (2002)	7,7	–		
Dania (2002)	4	–	Skin	
Finlandia ((2009)	7,7	15	Skin	
Francja (2006)	10	–	Skin, C3	
Holandia (2003)	1	–	Skin	
Japonia (2007)	3,8	–	Skin	
Meksyk (2004)	10	20	Skin	
Niemcy (2011)	7,7	15,4 II(2)	Rakotw. Kat. 4. Sh – działanie uczulające na skórę	wolna anilina w moczu, BAT: 1 mg/l anilina uwolniona z połączenia z hemoglobina, BAT: 100 $\mu\text{g/l}$

cd. tab. 16.

Państwo/organizacja/rok	Wartość NDS, mg/m ³	Wartość NDSCh, mg/m ³	Uwagi	Wartość DSB
Nowa Zelandia (2002)	4	—	Skin	2% MetHb we krwi
Norwegia (1999)	4	—		
Polska (1999)	5	20	Ft, Sk	
Szwecja (2005)	4	8	Skin, carcinogen	
Szwajcaria (2006)	8	16		30 mg <i>p</i> -aminofenolu/l moczu zbieranego 0 ÷ 2 h po zakończeniu zmiany roboczej
Unia Europejska Propozycja SCOEL SCOEL/SUM/153/2008 Projekt dyrektywy ustalającej czwarty wykaz wartości indykatorynych	1,94	3,87	Skin, Grupa C rakotwórczości	
Wielka Brytania (2005)	4	—	Skin	
USA:		—		
— OSHA	19	—	Skin	50 mg <i>p</i> -aminofenolu/l moczu zbieranego po zakończeniu zmiany roboczej
— ACGIH (NDS 2001; DSB 2004)	7,6	—	Skin, A3	

W ACGIH zalecono dla aniliny wartość 7,6 mg/m³ (2 ppm) jako najwyższe dopuszczalne stężenie (TLV-TWA) z jednoczesnym oznakowaniem „Skin” oraz zaliczeniem do grupy A3 ze względu na działanie rakotwórcze związku (potwierdzone działanie rakotwórcze dla zwierząt, o nieznanym działaniu na ludzi), (ACGIH 2001).

Uzasadnienie ACGIH (2001)

Na podstawie wzrostu stężenia methemoglobiny we krwi, obserwowanego po narażeniu zwierząt na anilinę o stężeniu wynoszącym 19,35 mg/m³ (5 ppm) oraz wchłanianie przez skórę u ludzi, zaproponowano określenie wartości TLV-TWA tego samego rzędu, jak wartość ustalona dla strukturalnie podobnego związku – nitrobenzenu. Zgodnie z tym, zaproponowano przyjęcie wartości TLV-TWA równej 7,6 mg/m³ (2 ppm), przy jednoczesnym założeniu, że wyeliminowane jest wchłanianie ciekłej aniliny przez skórę. Ponadto, na podstawie toksyczności układowej obserwowanej po wchłanianiu przez skórę, zalecono oznakowanie aniliny literami „skin” (Dutkiewicz 1962). Na podstawie obserwacji z badań na gryzoniach, otrzymujących w paszy chlorowodorek aniliny, w których stwierdzano powstawanie: naczyń mięsaków krwionośnych, włókniakomięsaków i mięsaków w śledzionie i innych narządach (NCI 1978), zalecono zaliczenie aniliny do grupy rakotwórczości A3 – potwierdzone działanie rakotwórcze dla zwierząt, o nieznanym działaniu na ludzi.

Nie ma wystarczających danych, aby zaproponować określenie wartości TLV-STEL (NDSCh) czy oznakowanie SEN (substancja o działaniu uczulającym).

Anilina jest związkiem, dla którego zalecono określenie wartości dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym BEI (DSB), (ACGIH 2004). Wartość DSB wynosi 50 mg *p*-aminofenolu/l moczu zbieranego pod koniec zmiany roboczej jako wskaźnika zintegrowanego dziennego narażenia na anilinę. Test jest uważany za półilościowy i niespecyficzny, należy kontrolować narażenie na związki, które mogą być metabolizowane i wydalone jako *p*-aminofenol. Poza tym poziom tła może mieć znaczący udział w oznaczonym stężeniu *p*-aminofenolu. Zalecana wartość DSB jest równoważna stężeniu 0,46 mmol *p*-aminofenolu/l moczu.

Dodatkowym (nieilościowym) wskaźnikiem narażenia na anilinę w czasie zmiany roboczej jest stężenie aniliny w moczu zbieranym pod koniec dnia pracy. Test jest specyficzny, a poziom tła nie przeszkadza w interpretacji wyników.

Kolejnym wskaźnikiem (nieilościowym) będącym miarą kilkudniowego narażenia na anilinę jest oznaczanie adduktów aniliny z hemoglobina. Test jest czuły na anilinę o małym stężeniu i specyficzny, jednak różnice w szybkości acetylacji u pracowników mogą wpływać na interpretację wyników.

W ACGIH w 2004 r. zrezygnowano z oznaczeń MetHb we krwi jako wartości DSB, gdyż

uznano, że w praktyce przemysłowej wskaźnik ten jest niedogodny i dający zaniżone wyniki oznaczeń. Po pobraniu krwi reduktaza MetHb jest ciągle aktywna w erytrocytach, tak więc czas, jaki upływa od pobrania próby do jej oznaczenia, jest wartością krytyczną w tym teście (SCOEL 2010).

Uzasadnienie SCOEL (2010)

Oceniając toksyczność aniliny, wzięto pod uwagę następujące skutki jej działania:

- rakotwórczość
- tworzenie MetHb powiązane z działaniem toksycznym na układ krwiotwórczy, łącznie z działaniem toksycznym na erytrocyty i śledzionę.

Genotoksyczność i rakotwórczość

Anilina nie działała mutagenie w standardowych testach bakteryjnych. Wyniki badań prowadzonych w warunkach *in vitro* w komórkach ssaków nie są jednoznaczne, gdyż obserwowano dodatnie wyniki dotyczące: zmian chromosomalnych, wymiany chromatyd siostrzanych i mutagenności. W warunkach *in vivo* obserwowano tworzenie mikrojąder w komórkach szpiku kostnego szczurów i myszy. W badaniach tych stosowano duże dawki aniliny, które generowały stosunkowo duże stężenia MetHb we krwi (Bomhard, Herbold 2005). Ogólnie genotoksyczność aniliny wydaje się być niewielka, jeżeli w ogóle ma miejsce. Natomiast metabolity aniliny wykazują działanie genotoksyczne, jeżeli są badane jako indywidualne związki chemiczne. Równowaga między tworzeniem i detoksykacją tych metabolitów nie była jednak badana. Biorąc pod uwagę rozpiętość między dużymi dawkami aniliny, które powodowały w niektórych testach działanie genotoksyczne, a proponowaną wartością normatywu higienicznego (OEL, odpowiednik NDS), skutki genotoksycznego działania aniliny są praktycznie pomijane.

Dane dotyczące rakotwórczego działania aniliny u ludzi są niewystarczające do dokonania oceny związku. Anilina jest rakotwórcza dla szczurów, lecz nie dla myszy. Nowotwory były stwierdzane głównie w śledzionie szczurów samców, a częstość występowania tych nowotworów nie była liniowo zależna od dawki aniliny. Należy rozważyć, czy rozwój nowotworów jest powiązany z toksycznością dla erytrocytów, która objawia się tworzeniem MetHb i ciałek

Heinza, a zmiany histopatologiczne w śledzionie są wynikiem takiego toksycznego działania (RAR 2004). Jeżeli by tak było, to można przyjąć, że powtarzane skutki toksycznego działania aniliny na śledzionę odgrywają decydującą rolę w rozwoju nowotworów i nie należy spodziewać się wzrostu ryzyka wystąpienia nowotworu w warunkach braku wzmożonego obrotu erytrocytów (Greim 1992). Ten punkt widzenia może być potwierdzony przez pracę Mellerta i in. (2004), w której wykazano, że rakotwórcze dawki aniliny powodują: wczesne skutki w parametrach hematologicznych, reakcję zapalną śledziony oraz zaburzenia w metabolizmie żelaza, będące wynikiem niedokrwistości hemolitycznej.

Zgodnie z powyższym, rakotwórcze działanie aniliny obserwowane w przeprowadzonych doświadczeniach może być wynikiem określonych, progowych procesów. Zgodnie ze strategią SCOEL wyprowadzania wartości OEL (NDS) dla związków rakotwórczych i mutagennych (Bolt, Huici-Montagud 2008), anilina została zaklasyfikowana do grupy C (genotoksyczne kancerogeny, dla których można ustalić praktyczną wartość dopuszczalną na podstawie istniejących danych). Można więc także dla aniliny ustalić praktyczną wartość dopuszczalną na podstawie istniejących danych.

Działanie na rozrodczość

W badaniach toksyczności rozwojowej przeprowadzonych na szczurach skutki działania toksycznego aniliny dla matek obserwowano po podaniu zwierzętom do żołądka związku w dawce wynoszącej 7,2 mg/kg/dzień (Price i in. 1985). Po dawkach aniliny nietoksycznych dla matek nie stwierdzano działania fetotoksycznego i teratogennego związku. Zgodnie z tym, nie należy spodziewać się wpływu aniliny na rozrodczość przy stężeniach, które chronią przed wystąpieniem skutków hematotoksycznych.

Tworzenie methemoglobiny i inne skutki hematotoksyczne

Krytycznym skutkiem działania aniliny w warunkach narażenia ostrego jest tworzenie MetHb. U ludzi poziom MetHb wynoszący 5% został uznany za tolerowany (Bolt i in. 1985).

Po powtarzanym narażeniu zwierząt na anilinę krytycznymi skutkami działania związku było działanie związku na erytrocyty oraz śle-

dzionę. W podostrym badaniu inhalacyjnym prowadzonym na szczurach zaobserwowano niewielkiego stopnia zmiany histopatologiczne w śledzionie, które wystąpiły już po najmniejszym badanym stężeniu wynoszącym $64,7 \text{ mg/m}^3$ (17 ppm), (Du Pont 1982). W innym, podostrym doświadczeniu na szczurach, graniczne stężenie, po którym wzrastała pozaszpikowa hematopoeza, wynosiło $32,4 \text{ mg/m}^3$ (8 ppm), podczas gdy narażenie na anilinę o stężeniu $9,2 \text{ mg/m}^3$ (2,4 ppm) nie wywoływało żadnych istotnych skutków (Pauluhn 2004).

U szczurów, psów, myszy i świnek morskich po narażeniu na anilinę o stężeniu $19,35 \text{ mg/m}^3$ (5 ppm) w warunkach podprzewlekłych obserwowano niewielką sinicę bez innych skutków, ale ograniczenia tego badania nie pozwalają na wyciągnięcie definitywnych wniosków (Oberst i in. 1956).

Na podstawie wyników podostrych doświadczeń inhalacyjnych na szczurach można określić wartość NOAEC na poziomie $9,2 \text{ mg/m}^3$ (2,4 ppm). W obu dostępnych podostrych inhalacyjnych doświadczeniach na szczurach (Du Pont 1982; Pauluhn 2004) nie uwzględniono jednak dodatkowego narażenia na anilinę drogą dermalną. Ogólnie można przyjąć, że doświadczalne dane uzyskane po narażeniu szczurów są porównywalne (kompatybilne) z obserwacjami u ludzi.

W podostrym doświadczeniu, w którym anilinę podawano szczurom w paszy, najmniejsza dawka, po której obserwowano minimalne działanie związku na erytrocyty ze sporadycznym występowaniem ciałek Heinz'a i minimalnym przekrwieniem śledziony, wynosiła 4 mg/kg/dzień (Mellert i in. 2004). Ponieważ obserwowane skutki były słabo nasilone, więc wartość NOAEL nie powinna być dużo mniejsza.

W badaniu przewlekłym toksyczności i rakotwórczości aniliny (CIIT 1982) najmniejsza stosowana dawka wynosząca 7 mg/kg/dzień odpowiada wartości LOAEL w odniesieniu do skutków toksycznych dla erytrocytów i śledziony. Na podstawie jednak analizy wyników tych doświadczeń nie można określić definitywnie wartości NOAEL. Przez bezpośrednie porównanie dróg podania dawka 4 mg/kg/dzień odpowiada stężeniu 28 mg/m^3 (7 ppm), przy założeniu masy ciała człowieka wynoszącej 70 kg i objętości wdychanego przez człowieka powietrza wynoszącej 10 m^3 podczas 8 h narażenia oraz 100-procentowej absorpcji ani-

liny w drogach oddechowych. Porównanie skutków obserwowanych w badaniach podprzewlekłych i przewlekłych nie wykazało, aby wraz z wydłużeniem narażenia skutki działania aniliny w istotny sposób zwiększały swoje nasilenie. Podobnie, jak w badaniach podprzewlekłych, w obu doświadczeniach przewlekłych (Mellert i in. 2004; CIIT 1982) nie uwzględniono dodatkowego wchłaniania aniliny przez skórę.

Biorąc pod uwagę powyższe dane, można określić oparty na skutkach zdrowotnych normatyw higieniczny (OEL), który będzie zabezpieczał przed takim działaniem nierakotwórczym aniliny, jak methemoglobinemia. Doświadczalne dane uzyskane na podstawie badań na szczurach wskazują, że skutki hematotoksyczne (tworzenie MetHb i związane z tym ciałka Heinz'a) oraz splenotoksyczne zaczynają pojawiać się po powtarzanym narażeniu na anilinę o stężeniach powyżej $19,35 \text{ mg/m}^3$ (5 ppm).

W przypadku ludzi nie ma wiarygodnych danych na temat zależności stężenie-odpowiedź po narażeniu inhalacyjnym na anilinę. Badania inhalacyjne prowadzone były na psach (Pauluhn 2002; 2005) i szczurach (Pauluhn 2004), lecz istnieją bardzo duże różnice międzygatunkowe między zwierzętami doświadczalnymi a człowiekiem w ilości tworzonej MetHb po narażeniu na anilinę, dlatego wyprowadzenie wartości OEL powinno opierać się na dostępnych danych dla ludzi. Takie ilościowe dane dotyczące tworzenia MetHb po doustnym pobraniu aniliny przez ochotników przedstawił Jenkins i in. (1972).

Doustna dawka aniliny wynosząca 35 mg/osobę powodowała maksymalny wzrost stężenia MetHb o 3,7%. Biorąc pod uwagę fizjologiczny poziom około 1% MetHb, to maksymalny poziom MetHb wynosi 4,7%. Te warunki, które są zgodne z wcześniejszymi propozycjami Dutkiewicza (1961) oraz Dutkiewicza i Piotrowskiego (1961), wydają się być dobrym punktem wyjścia do wyprowadzenia wartości OEL. Pobranie przez człowieka aniliny zawartej w powietrzu zarówno przez płuca, jak i przez skórę było badane przez Dutkiewicza (1961). Porównania oparto na monitoringu biologicznym wydalania *p*-aminofenolu z moczem. Na podstawie tych danych, a także zakładając 90-procentową retencję (pobranie inhalacyjne) i wentylację wynoszącą 10 m^3 w ciągu 8 h zmiany roboczej, modelowe obliczenia dla 8 h pracy przy narażeniu na stężenie 2 ppm (około 8 mg/m^3) daje dzienne

wchłanianie 72 mg aniliny drogą inhalacyjną (Greim 1992). Dodatkowo, na podstawie danych z pracy Dutkiewicza (1961) wskazano na istotne wchłanianie aniliny z fazy gazowej (par) przez skórę. W warunkach doświadczalnych, przy 35-procentowej wilgotności należy uwzględnić dodatkowe pobranie 20 mg aniliny w ciągu 8 h pracy. Wartość ta będzie większa przy większej wilgotności powietrza, np. 40 mg przy 75-procentowej wilgotności (Greim 1992). Dutkiewicz (1961) stwierdził, że zależnie od warunków, pobranie aniliny przez człowieka drogą inhalacyjną i dermalną może być tego samego rzędu wielkości. Taka proporcja została potwierdzona przez dane z doświadczeń Pauluhn (2005), który porównywał narażenie psów na anilinę tylko przez głowę (*head-only*) i przez całe ciało (*whole-body*). Jeżeli równy udział obu dróg narażenia przyjąć za najgorszy przypadek, to modelowe obliczenie dla stężenia aniliny w powietrzu, wynoszące około 8 mg/m^3 (2 ppm) i 8 h pracy daje całkowite pobranie około 140 mg aniliny w ciągu zmiany roboczej. Stąd, dopuszczalnej dziennej dawce aniliny wynoszącej 35 mg będzie odpowiadało 8-godzinne narażenie na stężenie aniliny w powietrzu wynoszące $1,94 \text{ mg/m}^3$ (0,5 ppm). Wartość ta jest proponowana jako wartość OEL aniliny. Nasilenia się skutków w czasie następnej zmiany roboczej można nie brać pod uwagę, gdyż okres połowicznego trwania MetHb po zakończeniu narażenia na anilinę wynosi około 3,5 h.

Ze względu na możliwy udział methemoglobiny w powstawaniu zmian nowotworowych obserwowanych u zwierząt, należy ustalić wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSch) aniliny, aby zapobiec powstawaniu MetHb przy krótkim czasie narażenia. Okres połowicznego trwania MetHb we krwi ludzi po zakończeniu narażenia wynosi około 3,5 h. Biorąc to pod uwagę, zaproponowano przyjęcie wartości krótkoterminowej (STEL) na poziomie $2 \cdot$ wartość OEL, czyli $3,8 \text{ mg/m}^3$. Wartość ta powinna odpowiednio zabezpieczać pracowników narażonych na anilinę przed powstawaniem podwyższonych poziomów MetHb we krwi (Greim 2002).

Monitoring biologiczny

Odpowiednim punktem wyjściowym do ustalenia wartości BLV dla aniliny jest wydalanie z moczem głównego metabolitu – *p*-aminofenolu (po hydrolizie w środowisku kwaśnym), co

zostało potwierdzone w badaniach na ochotnikach oraz w ograniczonych danych z przemysłu (ACGIH 2001). Jak wynika z pracy Dutkiewicza i Piotrowskiego (1961), proponowana wewnętrzna dawka 35 mg aniliny odpowiada maksymalnej ilości 15 mg *p*-aminofenolu w 24-godzinnej zbiórce moczu lub szybkości wydalania nieprzekraczającej $1,5 \text{ mg/h}$ w 2-godzinnej zbiórce moczu pobieranego po zakończeniu pracy. Odpowiada to z kolei stężeniu około 30 mg *p*-aminofenolu/l moczu (ACGIH 2004). Za wartość BLV zaproponowano więc w SCOEL przyjęcie wartości 30 mg *p*-aminofenolu/l moczu pobieranego 0 ÷ 2 h po zakończeniu zmiany roboczej (narażenia).

Podstawy proponowanej wartości NDS

Za krytyczne skutki toksyczne po powtarzanym narażeniu na anilinę uznano tworzenie methemoglobiny i toksyczność dla erytrocytów.

Jakkolwiek istnieją dane z doświadczeń na zwierzętach (szczurach i psach), w których po narażeniu inhalacyjnym lub drogą pokarmową obserwowano tworzenie MetHb, to jednak istnieją bardzo duże różnice międzygatunkowe między zwierzętami doświadczalnymi a człowiekiem w ilości tworzonej MetHb i dlatego wyprowadzenie wartości NDS aniliny powinno opierać się na dostępnych danych dla ludzi. Takie ilościowe dane dotyczące tworzenia MetHb po doustnym pobraniu aniliny przez ochotników przedstawił Jenkins i in. (1972). Przy wyprowadzeniu wartości NDS dla aniliny oparto się na metodzie zaproponowanej przez SCOEL (2010).

Za tolerowany poziom MetHb u ludzi przyjęto stężenie we krwi wynoszące 5% (Bolt i in. 1985). Przy takim stężeniu MetHb nie obserwuje się żadnych objawów klinicznych działania aniliny.

Z badań Jenkinsa i in. (1972) wynika, że doustna dawka aniliny wynosząca 35 mg/osobę powodowała maksymalny wzrost stężenia MetHb o 3,7%. Biorąc pod uwagę fizjologiczny poziom około 1% MetHb, to maksymalny poziom MetHb wynosi 4,7%. Dawkę tę uznano za wewnętrzną dawkę dopuszczalną.

Obliczenia modelowe wykonano, zakładając 90-procentową retencję (pobranie inhalacyjne) i wentylację wynoszącą 10 m^3 w ciągu 8 h zmiany roboczej oraz stężenie w powietrzu około $7,6 \text{ mg/m}^3$. W takich warunkach zachodzi dzienne

wchłanianie około 70 mg aniliny drogą inhalacyjną.

Dane Dutkiewicza (1961) wskazują na istotne wchłanianie par aniliny przez skórę. Zależnie od warunków pobranie aniliny przez człowieka drogą inhalacyjną i dermalną mogą być tego samego rzędu wielkości. Taka proporcja została potwierdzona przez dane z doświadczeń Pauluhna (2005), który porównywał narażenie całego ciała psów na anilinę lub tylko głowy.

Jeżeli równy udział obu dróg narażenia przyjmą za najgorszy przypadek, to modelowe obliczenie dla stężenia aniliny w powietrzu wynoszącego $7,6 \text{ mg/m}^3$ i 8 h pracy daje całkowite pobranie około 140 mg aniliny w ciągu zmiany roboczej. A więc, dopuszczalnej dziennej dawce aniliny wynoszącej 35 mg (pochodzącej z pobrania drogą inhalacyjną i dermalną) będzie odpowiadało narażenie na stężenie aniliny w powietrzu $1,9 \text{ mg/m}^3$ przez 8 h. Stężenie to jest proponowane jako wartość NDS dla aniliny. Proponuje się normatyw oznakować także literami „Sk” oznaczającymi substancję wchłaniającą się przez skórę.

Oparty na skutkach zdrowotnych normatyw higieniczny powinien zabezpieczać pracowników przed takim działaniem nierakotwórczym aniliny,

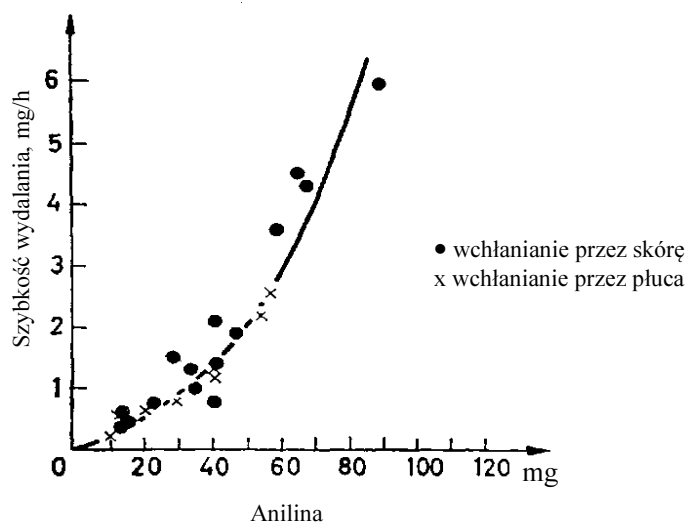
jak methemoglobinemia. Nasilenia skutków działania aniliny w czasie następnej zmiany roboczej można nie brać pod uwagę, gdyż okres połowicznego trwania MetHb we krwi po zakończeniu narażenia na anilinę wynosi około 3,5 h.

Ze względu na: działanie toksyczne aniliny na eryocyty, tworzenie methemoglobiny i uszkodzenie śledziony prowadzące do zmian nowotworowych obserwowanych tylko u szczurów, należy ustalić wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSch), aby zapobiec powstawaniu MetHb, gdy czas narażenia jest krótki. Ponieważ okres połowicznego trwania MetHb we krwi po zakończeniu narażenia wynosi około 3,5 h, w SCOEL zaproponowano przyjęcie wartości NDSch wynoszącej $2 \cdot \text{NDS}$, czyli $3,8 \text{ mg/m}^3$.

Zgodnie z przyjętą w Polsce metodą obliczania, wartość NDSch można wyznaczyć na podstawie wzoru:

$$\text{NDSch} = 1,859 \cdot \text{NDS} \div 2,888 \cdot \text{NDS}.$$

Przyjmując stężenie $1,9 \text{ mg/m}^3$ za wartość NDS aniliny, to wartość NDSch związku powinna wynosić $3,53 \div 5,49 \text{ mg/m}^3$. Proponuje się przyjęcie stężenia $3,8 \text{ mg/m}^3$ aniliny za wartość NDSch związku.



Rys. 3. Zależność wydalania *p*-aminofenolu z moczem od wchłoniętej dawki aniliny (Dutkiewicz, Piotrowski 1961)

Proponowana wewnętrzna dawka aniliny wynosząca 35 mg, zgodnie z modelem opracowanym przez Dutkiewicza i Piotrowskiego (1961), odpowiada szybkości wydalania *p*-aminofenolu z moczem nieprzekraczającej $1,5 \text{ mg/h}$ w 2-godzinnej

zbiórce moczu pobieranego pod koniec ($6 \div 8 \text{ h}$ pracy) zmiany roboczej (rys. 3.).

Zaproponowano przyjęcie za wartość DSB aniliny $1,5 \text{ mg } p\text{-ami-nofenolu/h}$.

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

dr n. med. EWA WĄGROWSKA-KOSKI
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, badania czynności wątroby (ALT, AspAT i bilirubina).

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, a w zależności od wskazań: badania czynności wątroby (ALT, AspAT i bilirubina) oraz badanie zawartości methemoglobiny we krwi.

Częstotliwość badań okresowych: co 2 ÷ 3 lata.

U w a g a

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

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, badania czynności wątroby (ALT, AspAT i bilirubina), a w zależności od wskazań badanie zawartości methemoglobiny we krwi.

Narządy (układy) krytyczne

Układ krwiotwórczy (czerwonokrwinkowy) oraz wątroba.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Niedokrwistość, przewlekłe choroby przebiegające z upośledzeniem funkcji wątroby oraz methemoglobinemia wrodzone i nabyte.

U w a g a

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy.

O przeciwwskazaniach w przebiegu zatrudnienia powinien decydować lekarz sprawujący opiekę profilaktyczną, biorąc pod uwagę wielkość i okres trwania narażenia zawodowego oraz ocenę stopnia zaawansowania i dynamikę zmian chorobowych.

Substancja może powodować podrażnienie oczu i uczulenie w bezpośrednim kontakcie ze skórą.

PIŚMIENNICTWO

ACGIH (2001) Aniline.

ACGIH (2004) Aniline BEI.

Baranowska-Dutkiewicz B. (1982) Skin absorption of aniline from aqueous solutions in man. *Toxicol. Lett.* 10, 367–372 [cyt. za RAR 2004].

BASF (1971) Unpublished report [cyt. za RAR 2004].

BASF (2001) Aniline hydrochloride – study on the mode of action in male Fischer 344 rats. Administration

in the diet up to 4 weeks. Project No 99CO298/99044 [cyt. za RAR 2004].

Bayer (1984) Anilin. Untersuchungen zur Akuten Oralnen Toxizität an der Katze. Unpublished Report, 23.1.1984 [cyt. za RAR 2004].

Bier C.B., Oliveira P.H. (1980) Acute oral toxicity in albino rats administered test article aniline. Bio. Research Laboratories Ltd., Montreal, Project No 12085, 21.3.1980 [cyt. za RAR 2004].

- Bio-Fax Industrial Bio-Test Laboratories, Inc. (1969) Aniline. Acute oral LD50 male albino rats. Acute eye irritation albino rabbits. Primary skin irritation albino rabbits. Acute dermal LD50 albino rabbits. Acute inhalation LC50 $t = 1$ h male albino rats. Subacute feeding (28 days) male albino rats. Unpublished report [cyt. za RAR 2004].
- Bolt H.M. i in. (1985) Zur problematik von BAT-Werten für aromatische amine. *Arbeitsmed. Sozialmed. Präventivmed.* 20, 197–201 [cyt. za SCOEL 2010].
- Bolt H.M., Huici-Montagud A. (2008) Strategy of the scientific committee on occupational exposure limits (SCOEL) in the derivation of occupational exposure limits for carcinogens and mutagens. *Arch. Toxicol.* 82, 61–64.
- Bomhard E.M. (2003) High-dose clastogenic activity of aniline in the rat bone marrow and its relationship to the carcinogenicity in the spleen of rats. *Arch. Toxicol.* 77, 291–297.
- Bomhard E.M., Herbold B.A. (2005) Genotoxic activities of aniline and its metabolites and their relationship to the carcinogenicity of aniline in the spleen of rats. *Crit. Rev. Toxicol.* 35, 783–835.
- Bruchajzer E. (2006) Wybrane związki aromatyczne. [W:] *Podstawy toksykologii*. Warszawa, WNT.
- Bus J.S. i in. (1978) The pharmacokinetics and metabolism of aniline hydrochloride in Fischer 344 rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 45, 256 [cyt. za RAR 2004].
- Bus J.S., Sun J.D. (1979) Accumulation and covalent binding of radioactivity in rat spleen after ^{14}C -aniline HCl administration. *Pharmacologist* 21, 221 [cyt. za RAR 2004].
- Burgess B.A. i in. (1984a) Aniline induced methaemoglobinemia and hemolysis as a function of exposure concentration and duration. *Toxicologist* 5, 64 [cyt. za RAR 2004].
- Burgess B.A. i in. (1984b) Effects on aniline primarily concentration-dependent. *Ind. Hyg. News – Rep.* 27, 3 [cyt. za RAR 2004].
- Case R.A.M. i in. (1954) Tumors of the urinary bladder in workmen engaged in the manufacture and use of certain dyestuff intermediates in the British chemical industry. Part I. The role of aniline, benzidine, alpha-naphthylamine, and beta-naphthylamine. *Brit. I. Industr. Med.* 11, 75–96.
- Chwatowa M. (1950) Zatrucie nitro- i aminozwiązkami w przemyśle barwiarskim. *Med. Pracy* 1(2), 53–76.
- CIIT, Chemical Industry Institute of Toxicology (1977) Four week pilot study in rats, aniline hydrochloride. Final Report. Hazelton Laboratories America Inc., project no 2010-101, Virginia, USA [cyt. za RAR 2004].
- CIIT, Chemical Industry Institute of Toxicology (1982) 104-Week chronic toxicity study in rats. Aniline hydrochloride. Final Report. CIIT Docket No 11642, CIIT, Research Triangle Park, NC [cyt. za RAR 2004; SCOEL 2010].
- Czynniki szkodliwe w środowisku pracy. Wartości dopuszczalne (2012) Warszawa, CIOP-PIB.
- Collins J.M. (2001) Inter-species differences in drug properties. *Chem. Biol. Interact.* 134, 237–242 [cyt. za SCOEL 2010].
- DFG (2012) Deutsche Forschungsgemeinschaft List of MAK and BAT Values. Report No 48.
- Du Pont de Nemours and Co. (1982) Inhalation median lethal concentration (LC50) with cover letter. Unpublished Report 1.12.80–29.1.81 [cyt. za RAR 2004; SCOEL 2010].
- Dutkiewicz T. (1961) Wchłanianie par aniliny u ludzi. *Med. Pracy* 12(1), 1–14.
- Dutkiewicz T., Piotrowski J. (1961) Experimental investigations on the quantitative estimation of aniline absorption in man. *Pure Appl. Chem.* 3, 319–323.
- Dutkiewicz T. (1962) The absorption and metabolism of aniline in man. Soc. Sci. Lodz, Poland [cyt. za ACGIH 2001].
- EPA (1981) Subacute inhalation toxicity study of aniline in rats. Haskell Laboratory for Toxicology and Industrial Medicine, Newark, Delaware. EPA/OTS, Doc No 40-8376093 and EPA/OTS, Doc No 40-8476183 [cyt. za RAR 2004].
- ESIS, European Chemical Substances Information System (online). Aniline [<http://ecb.jrc.ec.europa.eu>].
- GIS, Główny Inspektor Sanitarny (2010) [dane nieopublikowane].
- Godwin B.F. i in. (1981) A comparison of three guinea-pig sensitization procedures for the detection of 19 reported human contact sensitizers. *Contact Dermatitis* 7, 248–258 [cyt. za RAR 2004; SCOEL 2010].
- Gralla E.J. i in. (1979) Studies of aniline HCl in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 48, A97 (abstract).
- Greim H. (1992) Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten. Loseblattsammlung, 18 Lfg. DFG. Deutsche Forschungsgemeinschaft Wiley-VCH Verlag, Weinheim [cyt. za SCOEL 2010].
- Greim H. (2002) Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten. Loseblattsammlung, 34 Lfg. DFG. Deutsche Forschungsgemeinschaft Wiley-VCH Verlag, Weinheim [cyt. za SCOEL 2010].
- Hagiwara A. i in. (1980) Chronic effects of norharman in rats treated with aniline. *Toxicol. Lett.* 6, 71–75 [cyt. za RAR 2004; SCOEL 2010].
- Hardin B.D. i in. (1987) Evaluation of 60 chemicals in a preliminary developmental toxicity test. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.* 7, 29–48 [cyt. za SCOEL 2010].
- Harrison J.H., Jollow D.J. (1987) Contribution of aniline metabolites to aniline-induced methemoglobinemia. *Mol. Pharmacol.* 32, 423–431 [cyt. za RAR 2004; SCOEL 2010].
- HSDB, Hazardous Substances Data Bank (2005) Aniline. Last revision date 24.06.2005. [<http://toxnet.nlm.nih.gov>].
- IARC (1987) IARC Monographs, suppl. 6, 68–70.
- Irons R.D. i in. (1980) Aniline: Evidence for an entero-gastric cycle in the rat. *Food Cosmet. Toxicol.* 18, 393–397 [cyt. za RAR 2004].

- Jamrog D. i in. (1954) Wyniki badań toksykologicznych w fabryce barwników organicznych. *Med. Pracy* 5(4), 287–298.
- Janik-Kurylcio S. i in. (1973) *Pol. Tyg. Lek.* 28, 1241 [cyt. za RAR 2004].
- Jenkins F.P. i in. (1972) The no-effect dose of aniline in human subjects and a comparison of aniline toxicity in man and the rats. *Food Cosmet. Toxicol.* 10, 671–679 [cyt. za RAR 2004; SCOEL 2010].
- Kanno T. i in. (2010) Activity of 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNPase) in spinal cord with spongy change induced by a single oral dose of aniline in rats. *Toxicol. Pathol.* 38, 359–365
- Kao J. i in. (1978) Metabolism of aniline in rats, pigs and sheep. *Drug. Metab. Dispos.* 6, 549–555 [cyt. za RAR 2004].
- Khan M.F. i in. (1993) Subchronic toxicity of aniline hydrochloride in rats. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 24, 368–374.
- Khan M.F. i in. (1995a) Erythrocyte-aniline interaction leads to their accumulation and iron deposition in rat spleen. *J. Toxicol. Environ. Health* 44, 415–421 [cyt. za RAR 2004].
- Khan M.F. i in. (1995b) Hematopoietic toxicity of linoleic acid anilide: importance of aniline. *Fund. Appl. Toxicol.* 25, 224–232 [cyt. za RAR 2004].
- Khan M.F. i in. (1997) Oxidative stress in the splenotoxicity of aniline. *Fund. Appl. Toxicol.* 35, 22–30.
- Khan M.F. i in. (1997a) Acute hematopoietic toxicity of aniline in rats. *Toxicol. Lett.* 92, 31–37.
- Khan M.F. i in. (1999) Oxidative modification of lipids and proteins in aniline-induced splenic toxicity. *Toxicol. Sci.* 48, 134–140.
- Khan M.F. i in. (2003a) Malondialdehyde-protein adducts in the spleen of aniline-treated rats: immunochemical detection and localization. *J. Toxicol. Environ. Health. Part A* 66, 93–102.
- Khan M.F. i in. (2003b) Up-regulation of transforming growth factor- β 1 in the spleen of aniline-treated rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 187, 22–28.
- Khan M.F. i in. (2003c) Nitrotyrosine formation in splenic toxicity of aniline. *Toxicology* 194, 95–102.
- Khan M.F. i in. (2006) Activation of transcription factor AP-1 and mitogen-activated protein kinases in aniline induced splenic toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 210, 86–93.
- Kim Y.C., Carlson G.P. (1986) The effect of an unusual workshift on chemical toxicity. II. Studies on the exposure of rats to aniline. *Fund. Appl. Toxicol.* 7, 144–152.
- Korinth G. i in. (2007) Percutaneous absorption of aromatic amines in rubber industry workers: impact of impaired skin and skin barrier creams. *Occup. Environ. Med.* 64, 366–372.
- Leksykon terminów (2008) Bezpieczeństwo chemiczne. Bezpieczeństwo żywności. [Red.] J.K. Ludwicki. Warszawa, NIZP-PZH.
- Lewalter J., Korallus U. (1985) Blood protein conjugates and acetylation of aromatic amines. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 56, 179–196 [cyt. za RAR 2004; SCOEL 2010].
- Ma H. i in. (2008) Oxidative DNA damage and its repair in rat spleen following subchronic exposure to aniline. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 233(2), 247–253.
- Maickel R.P., Snodgrass W.R. (1973) Physicochemical factors in maternal-fetal distribution of drugs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 26, 218–230 [cyt. za RAR 2004].
- Matsumoto K. (2003) 1. Induction of cleft palate in aniline hydrochloride-treated rats: possible effect of maternal methemoglobinemic hypoxia. 2. Cardiovascular malformations associated with maternal hypoxia due to methemoglobinemia in aniline hydrochloride-treated rats. *Congenital Anomalies* 43, 225 [cyt. za SCOEL 2010].
- McCarthy D.J. i in. (1985) Disposition and metabolism of aniline in Fischer 344 rats and C57BL/6 x C3HFI mice. *Cancer Res.* 45, 174–180.
- McLean S. i in (1969) Methemoglobin formation by aromatic amines. *J. Pharm. Pharmacol.* 21, 441–450 [cyt. za SCOEL 2010].
- Mellert W. i in. (2004) Aniline: early indicators of toxicity in male rats and their relevance to spleen carcinogenicity. *Hum. Exp. Toxicol.* 23, 379–389.
- NCI, National Cancer Institute (1978) Bioassay of aniline hydrochloride for possible carcinogenicity. CAS No 142-04-1. Technical Report Series No 130, NTIS PB-287539, NCI, Bethesda, USA [cyt. za RAR 2004; SCOEL 2010].
- Oberst F.W. i in. (1956) Chronic toxicity of aniline vapor (5 ppm) by inhalation. *Arch. Ind. Health* 13, 379–384 [cyt. za RAR 2004; SCOEL 2010].
- Okazaki Y. i in. (2001) Neurotoxicity induced by a single oral dose of aniline in rats. *J. Vet. Med. Sci* 63(5), 539–546.
- Pauluhn J. (2002) Aniline-induced methemoglobinemia in dogs: pitfalls of route-to-route extrapolations. *Inhal. Toxicol.* 14, 959–973.
- Pauluhn J. (2004) Subacute inhalation toxicity of aniline in rats: analysis of time-dependence and concentration-dependence of hematotoxic and splenic effects. *Toxicol. Sci.* 81, 198–215.
- Pauluhn J. (2005) Concentration-dependence of aniline-induced methemoglobinemia in dogs: a derivation of an acute reference concentration. *Toxicology* 214, 140–150.
- Parke D.V. (1960) Studies in detoxication. The metabolism of [^{14}C]aniline in the rabbit and other animals. *Biochem. J.* 77, 493–503 [cyt. za RAR 2004].
- Piotrowski J. (1957) Quantitative estimation of aniline absorption through the skin in man. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 23(1), 1–9.
- Piotrowski J. (1954) Próba zastosowania biochemicznych wskaźników wchłaniania aniliny, nitrobenzenu i benzenu u pracowników przemysłu barwniarskiego. *Med. Pracy* 4, 299–307.
- Price C.J. i in. (1985) Teratologic and postnatal evaluation of aniline hydrochloride in the Fischer 344 rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 77, 465–478 [cyt. za RAR 2004; SCOEL 2010].

- RAR (2004) European Union Risk Assessment Report. Aniline. vol. 50. European Chemicals Bureau, Luxembourg.
- Rockwood G.A. i in. (2003) Species comparison of methemoglobin reductase. *Exp. Biol. Med.* 228, 79–83.
- Rozporządzenie ministra zdrowia z dnia 8 lutego 2010 r. w sprawie wykazu substancji niebezpiecznych wraz z klasyfikacją i oznakowaniem (DzU 2010 r., nr 27, poz. 140).
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Dz. Urz. L353 Unii Europejskiej z dnia 31.12.2008 r.; ze zm.)
- RTECS (2010) Registry of Toxic Effects on Chemical Substances: Aniline.
- SCOEL (2010) Recommendation from Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for aniline.
- SCOEL/SUM/153, European Commission, August 2010.
- Short C.R. i in. (1983) Subacute toxicity of several ring-substituted dialkylanilines in the rat. *Fund. Appl. Toxicol.* 3, 285–292 [cyt. za RAR 2004].
- Smyth H.F. (1931) The toxicity of certain benzene derivatives and related compounds. *J. Ind. Hyg.* 13, 285–292 [cyt. za RAR 2004; SCOEL 2010].
- Sorahan T. i in. (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- β -naphthylamine and o-toluidine. *Occup. Environ. Med.* 57, 106–115.
- Srivastava S. i in. (2002) Methemoglobin reductase activity and in vitro sensitivity towards oxidant induced methemoglobinemia in swiss mice and beagle dogs erythrocytes. *Mol. Cell. Biochem.* 232, 81–85.
- Summary RAR (2004) Summary Risk Assessment Report: Aniline. Final Report. European Chemical Bureau.
- Sun J.D., Bus J.S. (1980) Comparison of covalent binding of 14C-aniline HCl in red blood cells, spleen and liver of rats. *Pharmacologist* 22, 247 [cyt. za RAR 2004].
- Topham J.C. (1980) The detection of carcinogen-induced sperm head abnormalities in mice. *Mutat. Res.* 69, 149–155.
- Uter W. i in. (2007) Aniline – a “historical” contact allergen? Current data from the IVDK and review of the literature. *Ann. Occup. Hyg.* 51(2), 219–226.
- Vasilenko N.M. i in. (1972) Clinico-hygienic parallels in the effects of aniline on the body. *Vrach. Delo* 8, 132–134 [cyt. za SCOEL 2010].
- Wang J. i in. (2005) Cytokine gene expression and activation of NF-kappaB in aniline induced splenic toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 150, 36–44.
- Wang J. i in. (2008) Activation of oxidative stress-responsive signaling pathways in early splenotoxic response of aniline. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 230, 227–234.
- Wang J. i in. (2011) Enhanced expression of cyclins and cyclin-dependent kinases in aniline-induced cell proliferation in rat spleen. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 250, 213–220.
- Ward E. i in. (1991) Excess number of bladder cancer in workers exposed to ortho-toluidine and aniline. *J. Natl. Cancer Inst.* 83, 501–506.
- Ward E.M. i in. (1996) Monitoring of aromatic amine exposure in workers at a chemical plant with a known bladder cancer excess. *J. Natl. Cancer Inst.* 88(15), 1046–1052.
- Wiernikowski A., Pach J. (1998) Kliniczna problematyka methemoglobinemii toksycznych. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 48, 117–125.