

Toluol

MAK-Begründung, Nachtrag

A. Hartwig^{1,*}

MAK Commission^{2,*}

¹ *Vorsitz der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe*

² *Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn*

* E-Mail: A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Keywords

Toluol; Neurotoxizität; Maximale Arbeitsplatzkonzentration; MAK-Wert; Entwicklungstoxizität; Entwicklungsneurotoxizität; Keimzellmutagenität; Toxizität; Hautresorption

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated the maximum concentration at the workplace (MAK value), the Pregnancy Risk Group, sensitization, absorption through the skin and germ cell mutagenicity of toluene [108-88-3]. The critical effects of toluene are neurotoxicity in humans, especially on the central nervous system, behavioural toxicity and ototoxicity as well as effects on colour vision. No indication of chronic effects in the range of 50 ml toluene/m³ were observed in an epidemiological longitudinal study in rotogravure printing, even taking into account individual estimates of lifetime exposure to toluene. Extensive, well-controlled experimental studies demonstrate no short-term toxic effects on behaviour at exposures lower than 50 ml toluene/m³ (in some cases even higher), which would show up as a significant reduction in performance in neuropsychological tests. Therefore, on the basis of numerous human studies, the MAK value of 50 ml/m³ has been confirmed. As the critical effect of toluene is systemic, the classification in Peak Limitation Category II has been retained. Since exposure peaks of 200 ml/m³ and simultaneous physical work had an effect on neurophysiological parameters, but not on the performance tests, the excursion factor is reduced to 2. The most sensitive endpoint regarding developmental toxicity and developmental neurotoxicity is the decrease in perinatal body weight. The toxicokinetic data for the inhalation of toluene and the resulting blood concentrations do not indicate significant differences between humans and animals. The margin between the LOAEC of 1000 ml/m³ for minor and reversible effects on the body weight of the offspring on the first postnatal day in the rat and the MAK value is sufficient. Toluene therefore remains in Pregnancy Risk Group C despite the relatively narrow, 6-fold, margin between the NOAEC for developmental toxicity and the MAK value of 50 ml/m³. Toluene is not genotoxic in a large number of genotoxicity tests, including dominant lethal tests. Toluene can be absorbed via the skin in toxicologically relevant amounts. The designation with “H” is therefore retained. Data in animals and in vitro show no sensitizing potential of toluene.

Citation Note:

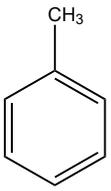
Hartwig A, MAK Commission. Toluol. MAK-Begründung, Nachtrag. MAK Collect Occup Health Saf. 2021 Dez;6(4):Doc079. DOI: https://doi.org/10.34865/mb10888d6_4ad

Manuskript abgeschlossen:
14 Apr 2020

Publikationsdatum:
30 Dez 2021

Lizenz: Dieses Werk ist
lizenziert unter einer [Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



MAK-Wert (1993)	50 ml/m³ (ppm) \approx 190 mg/m³
Spitzenbegrenzung (2020)	Kategorie II, Überschreitungsfaktor 2
Hautresorption (1998)	H
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung	–
Fruchtschädigende Wirkung (1993)	Gruppe C
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert (2017)	75 μg Toluol/l Urin
BAT-Wert (2009)	600 μg Toluol/l Blut
	1,5 mg o-Kresol/l Urin (nach Hydrolyse)
Synonyma	Methylbenzol Phenylmethan
Chemische Bezeichnung (IUPAC-Name)	Toluol
CAS-Nr.	108-88-3
Formel	
	C ₇ H ₈
Molmasse	92,14 g/mol
Schmelzpunkt	–95 °C (ECHA 2020)
Siedepunkt bei 1013 hPa	110,6 °C (ECHA 2020)
Dichte bei 20 °C	0,866 g/cm ³ (ECHA 2020)
Dampfdruck bei 25 °C	37,9 hPa (NLM 2020)
log K _{OW} bei 20 °C	2,73 (ECHA 2020)
Löslichkeit bei 25 °C	587 mg/l Wasser (ECHA 2020)
1 ml/m³ (ppm) \approx 3,82 mg/m³	1 mg/m³ \approx 0,262 ml/m³ (ppm)
Hydrolysestabilität	k. A.
Herstellung	Aus Rohöl durch katalytisches Reforming und Dehydrierung. Auch als Nebenprodukt bei Herstellung von Ethen und Propen, Koks oder Styrol (ATSDR 2017)
Verwendung	Lösungsmittel; Edukt in chemischer und Sprengstoffindustrie (Henschler 1986)

Zu Toluol liegen eine Begründung aus dem Jahr 1986 (Henschler 1986) und mehrere Nachträge vor (Greim 1993, 1998, 2002). Seit dem letzten Nachtrag sind zahlreiche Studien zu Toluol veröffentlicht worden. In diesem Nachtrag werden der MAK-Wert, die fruchtschädigende, keimzellmutagene und sensibilisierende Wirkung sowie die Hautresorption neu bewertet.

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Toluol verursacht nach kurzzeitiger Exposition erste neurotoxische Veränderungen, die sich in Befindlichkeitsstörungen, Schläfrigkeit, Erschöpfung und Kopfschmerz zeigen, oder als reversible Leistungsminderungen des Nervensystems im Verhalten erfasst werden können. Als Langzeiteffekte sind ausgeprägte Leistungsminderungen des zentralen Nervensystems (ZNS) zu erwarten. Weiterhin gibt es Hinweise auf eine sensorische Neurotoxizität, die sich in Beeinträchtigungen des Farbsehvermögens und des Hörvermögens nach langzeitiger Exposition gegen Toluol äußert. Die Ototoxizität wird durch Lärm verstärkt. In hohen Konzentrationen verursacht Toluol im Tierversuch schwere Leberschädigungen. Im Tierversuch zeigen sich ab 1000 ml/m³ bis zu 3500 ml/m³ erniedrigtes Fetengewicht, verzögertes Wachstum und verzögerte skeletale Entwicklung der Feten bei gleichzeitiger Maternaltoxizität in Form von Körpergewichterniedrigung. Als postnataler Effekt tritt bei der Ratte bei 1200 ml/m³ ein verzögerter Zeitpunkt des Schneidezahndurchbruchs auf. Durch Toluol werden bei bis zu 3500 ml/m³ keine Teratogenität, keine Embryoletalität und keine abortive Wirkung beim Tier hervorgerufen. Bei Ratten werden keine Effekte in Verhaltenstests bei den Nachkommen festgestellt, die in utero gegen Konzentrationen von bis zu 2000 ml/m³ exponiert waren. Eine Beeinträchtigung der Motoraktivität, Defizite im Lernen und beim Gedächtnis, eine steigende Zahl an Fehlbildungen und fetaler Tod wurden bei Ratten beobachtet, die in utero gegen hohe Konzentrationen exponiert waren, die den Lösungsmittel-Abusus nachstellen sollten (8000 bis 16 000 ml/m³, 15 bis 30 Minuten pro Tag). Toluol ist nicht genotoxisch. Der Stoff wirkt bei Kaninchen reizend an der Haut und leicht augenreizend. Es liegen weiterhin keine Hinweise auf eine sensibilisierende Wirkung von Toluol vor.

2 Wirkungsmechanismus

Die Mechanismen der akuten neurotoxischen Effekte führen zu einer Depression der Funktion des ZNS und basieren überwiegend auf reversibler Interaktion zwischen Toluol, aber nicht seiner Metabolite, und den Lipiden und Proteinen in den Membranen von Zellen des ZNS. Nach intraperitonealer Applikation von Toluol an Ratten zeigten die isolierten Synapsen (Synaptosome) der Neurone einen verringerten Phosphatidylethanolamin-Gehalt, veränderten Phospholipidmethylierungs-Status, veränderte äußere Membranfluidität und erhöhte Aktivität der Natrium-Kalium-Pumpen (Na⁺/K⁺-ATPase). In vitro wurde gezeigt, dass Toluol mit den spannungs- und ligandengesteuerten Ionenkanälen interagieren kann (ATSDR 2017).

Chronische Expositionen gegen hohe Konzentrationen oder der Missbrauch von Toluol als Rauschmittel können strukturelle Veränderungen in lipidreichen Bereichen des Gehirns verursachen; diese sind durch Magnetresonanztomographie (MRT) erfassbar (Yücel et al. 2008). Weiter wurde eine erhöhte Apoptose von Neuronen im Gehirn von Ratten festgestellt. Diese verursacht irreversible Gehirnschäden, die auch durch oxidativen Stress ausgelöst werden können. Erhöhte Marker für oxidativen Stress wurden auch in Blutproben von Arbeitern gefunden, die gegen Lösungsmittelgemische mit hohem Toluolanteil exponiert waren (ATSDR 2017; Kim et al. 2011).

Akute Toluolexposition kann die Synthese, Freisetzung und den Abbau von Neurotransmittern wie auch ihre Bindung an Rezeptoren verändern (ATSDR 2017). Toluol ist ein nichtkompetitiver Antagonist des N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA)-Rezeptors und dort insbesondere der NR1/2B-Untereinheit (Cruz et al. 1998). Neben diesen hemmenden Effekten auf exzitatorische Rezeptoren wirkt Toluol verstärkend auf die inhibitorischen Glycin- und GABA_A-Rezeptoren (Beckstead et al. 2000). Weiterhin beeinflusst Toluol die Funktion des nikotinischen Acetylcholinrezeptors (Bale et al. 2002; Win-Shwe et al. 2010). Diese Mechanismen bilden wahrscheinlich die Grundlage der akuten sedierenden Wirkung von Toluol. Auch die Dopamin-abhängige Neurotransmission in bestimmten Gehirnregionen, wie der Area

tegmentalis ventralis des Mittelhirns und dem Nucleus accumbens, einem zentralen Kerngebiet des mesolimbischen Systems, werden durch die akute Applikation von Toluol beeinflusst (Riegel et al. 2007; van Thriel 2014).

Nach wiederholter Exposition gegen Toluol wurde allerdings im Tierversuch eine Zunahme unterschiedlicher Unter-einheiten des NMDA-Rezeptors im medialen präfrontalen Kortex, aber nicht in den Basalganglien (dorsolaterales Striatum) festgestellt (van Thriel 2014; Williams et al. 2005). In verschiedenen tierexperimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass Toluol die Expression von Genen verändert, die zur neuronalen Plastizität beitragen und die neurobiologische Grundlage von Lern- und Gedächtnisfunktionen bilden (Ahmed et al. 2007; Hester et al. 2011). Zusammenfassend legen diese Mechanismen eine akute Sedierung und Effekte auf die neuronale Plastizität bei wiederholten Expositionen nahe.

An isolierten Purkinje-Zellen aus männlichen und weiblichen Long-Evans-Ratten wurde der Einfluss von Toluol mit Hilfe der Messung des Aktionspotentials und des hemmenden postsynaptischen Stroms untersucht. Toluol (1 mM) verringerte das Aktionspotential der Purkinje-Zellen, verbesserte die hemmende synaptische Transmission und hatte keinen Einfluss auf das Aktionspotential der großen Interneuronen. Diese Ergebnisse zeigen, dass Toluol einen Einfluss auf das kleinhirnabhängige motorische Verhalten hat (Gmaz und McKay 2014).

In weiteren tierexperimentellen Studien konnten Effekte auf das Immunsystem gezeigt werden, die ihrerseits die Effekte von Toluol auf den NMDA-Rezeptor beeinflussen und über neuroinflammatorische Prozesse die Neurotoxizität von Toluol verstärken können (Win-Shwe et al. 2011, 2012 a, b). Auch eine Störung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse nach Inhalation von hohen Konzentrationen von Toluol wurde beobachtet (ATSDR 2017). Die Relevanz dieser Befunde für den Menschen ist jedoch unklar.

Toluol verursacht bei Ratten Hörverlust durch direkte Veränderung des Cochlea-Mikrophonik-Potentials. Es wird angenommen, dass die Veränderung des Farbsehens durch Toluol mit einer Interaktion von Toluol mit Dopamin-abhängigen Mechanismen der Retinazellen zusammenhängt oder von einer toxischen Demyelinisierung des optischen Nervs verursacht wird (ATSDR 2017).

Die Wirkung von Toluol wurde in Konzentrationen von 100 und 200 μM in vitro an isolierten äußeren Haarzellen der Cochlea und an Zellen des Spiralganglions von Meerschweinchen untersucht. Toluol induzierte eine dosisabhängige Verkürzung der äußeren Haarzellen. In Konzentrationen von 30 μM und höher verursachte Toluol eine Erhöhung des intrazellulären Calciumgehalts sowohl in äußeren Haarzellen als auch in Zellen des Spiralganglions (Liu und Fechter 1997).

3 Toxikokinetik und Metabolismus

3.1 Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung

Bei neun männlichen Freiwilligen, die 50 Watt-Fahrradergometer-Arbeit verrichteten, betrug die Toluolkonzentration im Blut unmittelbar nach zweistündiger Exposition gegen 200 mg Toluol/ m^3 (ca. 52 ml/ m^3) 10 $\mu\text{mol/l}$ (0,92 mg/l). Das Fließgleichgewicht war nach einer Stunde fast erreicht. Etwa 50 % der eingeatmeten Menge wurden im Durchschnitt resorbiert. Die Toluolkonzentration im Blut nahm triphasisch ab. Die Halbwertszeit der alpha-Phase betrug drei Minuten, die der beta-Phase 40 Minuten und die der terminalen Phase 738 Minuten. Vier und 20 Stunden nach Beendigung der Exposition waren 65 bzw. 78 % der aufgenommenen Menge als Hippursäure mit dem Urin ausgeschieden worden (Löff et al. 1993).

Der mittlere Blut:Luft-Verteilungskoeffizient für Toluol beträgt 15,11 (Meulenberg und Vijverberg 2000).

In ATSDR (2017) sind mehrere Physiologie-basierte pharmakokinetische (PBPK) Modelle dargestellt. Zwei Studien der gleichen Arbeitsgruppe haben die Blutkonzentrationen nach Inhalation bei Mensch und Ratte untersucht. Bei der Ratte ist im Vergleich zum Menschen bei gleich hoher Konzentration von 100 ml/ m^3 nach drei- bis vierstündiger Exposition

etwas mehr Toluol im Blut (2–3 mg/l bei Ratten, ca. 1 mg/l beim Menschen) (Benignus et al. 2006; Kenyon et al. 2008). Bei der Wistar-Ratte führen 125 ml/m³ nach vierstündiger Inhalation zu einem Blutspiegel von 2 mg/l (Kishi et al. 1988).

Bei der Ratte wird also bei gleicher äußerer Konzentration im Vergleich zum Mensch eine höhere Konzentration von Toluol im Blut erreicht.

Für die orale Resorption ist bei Ratten 100 % anzunehmen (Turkall et al. 1991). Beim Menschen wurde eine 50%ige inhalative Resorption festgestellt (siehe oben: Löff et al. 1993).

3.2 Metabolismus

Toluol wird hauptsächlich oxidativ zu Benzoesäure metabolisiert, die als Hippursäure mit dem Urin ausgeschieden wird. Weiterhin entstehen in geringer Menge Benzoesäureglucuronid, die Sulfat- und Glucuronidkonjugate von o- und p-Kresol, S-Benzylmercaptursäure und S-p-Toluylmercaptursäure (ATSDR 2017).

4 Erfahrungen beim Menschen

4.1 Einmalige Exposition

In einem PBPK-Modell wurden verschiedene experimentelle Expositionsstudien mit gesunden Probanden verwendet. Dabei wurden mit dem PBPK-Modell die unterschiedlichen akuten Expositionen der sechs Studien in Toluolkonzentrationen im arteriellen Blut überführt, um so die verhaltenstoxischen Effekte mit diesem Expositionsmarker zu vergleichen. Die Modellierung der Autoren ergab bei einer arteriellen Blutkonzentration von 3 ml Toluol/l eine Abnahme der Wahlreaktionsleistung um 10 %. Aus dieser Blutkonzentration extrapolierten die Autoren äquivalente Expositionsdauern und Konzentrationen, die vorhersagten, dass eine zweistündige Exposition gegen 27 ml Toluol/m³ zu dieser verhaltenstoxischen Leistungsminderung führen würde (Benignus et al. 1998). Die Analyse birgt eine Vielzahl von Unsicherheiten in den mathematischen Modellierungen und in der Zusammenfassung der kognitiven Leistungstests in den Einzelstudien. Die Daten können daher nicht für die Ableitung eines MAK-Wertes genutzt werden.

In einer weiteren Metaanalyse der gleichen Autoren wurden die so geschätzten Toluol-Effekte mit den verhaltenstoxischen Effekten von Ethanol verglichen. Die jeweiligen Blutkonzentrationen wurden mit Hilfe eines GPAT-Modells (general physiological and toxicokinetic model) ermittelt. Die Dosis-Äquivalent-Funktion zeigt, dass 3 mg Toluol/l einer Ethanol-Blutkonzentration von ca. 1 g/l entspricht, was gemäß der Modellierung in diesem Datensatz zu einer Wahlreaktionszeit-Verlängerung von ca. 14 % führen würde. Aus diesen Daten extrapolieren die Autoren wiederum auf Expositionshöhen und -dauern. Sie errechnen so, dass die Exposition gegen 100 ml Toluol/m³ während acht Stunden in Ruhe einen äquivalenten Effekt von ungefähr 0,62 g Ethanol/l im Blut induzieren würde. Durch die Einbeziehung körperlicher Arbeit von 50 Watt in das Modell wiederum würde die Toluolkonzentration im Blut äquivalent zu der von 1,27 g Ethanol/l sein. Bei dieser Ethanolkonzentration erwartet das Modell der Autoren eine 20%ige Verlängerung der Wahlreaktionszeit. Bei 50 ml/m³ und 50 Watt körperlicher Arbeit wäre eine Verlängerung der Wahlreaktionszeit von weniger als 8 % zu erwarten, was dem Effekt von 0,7 g Ethanol/l Blut entsprechen soll (Benignus et al. 2005). In zwei Abbildungen der Publikation wird jedoch gezeigt, dass eine Konzentration von 1 mg Toluol/l einer Wahlreaktionszeit-Verlängerung von ca. 3 % und einer Ethanol-Blutkonzentration von 0,5 g/l entspricht. Da eine Konzentration von 50 ml Toluol/m³ bei einer Arbeitsbelastung von 50 Watt in einer Studie an Probanden 1 mg Toluol/l Blut entspricht (siehe Löff et al. 1993), überschätzt das GPAT-Modell die Effektstärke von Toluol. Das heißt, bei 50 ml/m³ und 50 Watt körperlicher Arbeit wäre eine Verlängerung der Wahlreaktionszeit von 3 % zu erwarten, was dem Effekt von 0,5 g Ethanol/l Blut entspricht. Auch diese Studie eignet sich aufgrund der Unsicherheiten bei den Modellierungen nicht für die Ableitung eines MAK-Wertes.

Zwanzig Personen wurden viereinhalb Stunden lang gegen 50 ml Toluol/m³ exponiert. Mit Hilfe eines pupillographischen Tests wurden keine Anzeichen von Schläfrigkeit festgestellt. Anhand eines Fragebogens wurden akute Symptome aus verschiedenen Bereichen bewertet. Es wurde ein statistisch signifikant vermehrtes Auftreten nur für die

Einzelsymptome „unangenehmer Geruch“ und „Rachenirritationen“ ermittelt, die subjektiven Angaben zur Müdigkeit waren nicht erhöht (Muttray et al. 2005).

Acht Druckereiarbeiter wurden vor und nach Reinigungsarbeiten mit Toluol mit Hilfe von Farbdiskriminationstests untersucht. Toluol war das einzige verwendete Lösungsmittel. Nach der Reinigung lagen die Toluolkonzentrationen im Blut zwischen 3,61 und 7,37 mg Toluol/l Blut (BAT-Wert: 0,6 mg/l). In dieser Studie hatte Toluol keinen Einfluss auf das Farbsehen der Exponierten (Muttray et al. 1999).

Siebzehn gesunde Probanden wurden nach einmaliger 40-minütiger Exposition gegen 200 ml Toluol/m³ mit 15-minütiger intermittierender Belastung auf dem Fahrradergometer bezüglich neurologischer Verhaltenseffekte und neurophysiologischer Effekte untersucht. Die Verhaltenstests, die unterschiedliche Aspekte der visuellen Aufmerksamkeit erfassten, wurden einmal vor und zweimal nach der 40-minütigen Exposition von den Probanden bearbeitet. Nur die Gruppe der gegen Toluol Exponierten zeigte vermehrt falsche Reaktionen in den Tests, die nach der Toluolexposition stattfanden. Diese Trendunterschiede traten in einem Test auf, der die Inhibierung einer Reaktion erfordert. Generell reagierten die Probanden der Toluolgruppe nach der Exposition in diesem Test etwas langsamer als die Kontrollpersonen. Ebenso zeigten die neurophysiologischen Befunde (N1 Amplitude im EEG) eine weniger effiziente Verarbeitung der visuellen Stimuli (Kobald et al. 2015).

Eine weitere experimentelle Expositionsstudie mit 17 gesunden Probanden untersuchte ebenfalls den Einfluss von Spitzenexpositionen auf neurophysiologische Prozesse und motorisches Lernen. Während der vierstündigen Exposition wurden zwei 35-minütige Expositionsspitzen von 200 ml/m³ appliziert, wobei die Probanden auf einem Fahrradergometer kontrollierte, körperliche Arbeit leisteten. Die 17 Probanden absolvierten ebenfalls eine vierstündige Sitzung, in der sie nicht gegen Toluol exponiert wurden. Mit Hilfe transkranieller Gleichstromstimulation (tDCS), einer nicht-invasiven Technik zur Induktion neuronaler Plastizität, wurden die akuten Effekte von Toluol auf neurophysiologischer Ebene untersucht. Anhand einer seriellen Reaktionsaufgabe wurden Lernleistungen der Probanden erfasst. Die Ergebnisse der Lernaufgabe wurden durch die Toluolexposition nicht beeinflusst. Unter der Kontrollbedingung konnte neuronale Plastizität durch tDCS induziert werden, jedoch wurde dieser neurophysiologische Effekt bei Toluolexposition nicht beobachtet (Yavari et al. 2018). Da der NMDA-Rezeptor bei der Induktion neuronaler Plastizität eine wesentliche Rolle spielt, könnte dessen Inhibierung diesen Befund mechanistisch erklären.

Eine 15-minütige Exposition gegen 15 ml Toluol/m³ verursachte an Chemikalien-sensitiven Patienten eine Beeinträchtigung des Kurz- und Langzeitgedächtnisses und der psychomotorischen Koordination (Little et al. 1999).

4.2 Wiederholte Exposition

Neurotoxizität

Beschäftigte (n = 98) in einer Rotationstiefdruckerei wurden neuropsychologisch mit Hilfe des Cognitive Function Scanner und neurologisch bezüglich Koordinationsvermögen, Tremor und Positionsstabilität auf insgesamt 17 Leistungsvariablen untersucht. Symptome wie Kopfschmerz, Schwindel und eingeschränkte Gedächtnisfunktion wurden mit Hilfe eines Fragebogens ermittelt. Es wurden drei Gruppen auf der Basis der Expositionsdauer gebildet: Gruppe 0 (keine Exposition, 19 Personen), Gruppe 1 (1–12 Jahre, 30 Personen), Gruppe 2 (> 12 Jahre, 49 Personen). Von den Beschäftigten der Gruppe 2 waren 37 länger als zehn Jahre gegen 100 ml/m³ exponiert, sonst betrug die Exposition gegen Toluol < 20 ml/m³. Bei den gegen < 20 ml Toluol/m³ Exponierten wurden keine Unterschiede zwischen den weniger als 13 Jahre Exponierten und den Kontrollpersonen festgestellt. Jedoch differierten Symptomerleben sowie zwei von 17 Leistungsvariablen statistisch signifikant zwischen Kontrollen (Gruppe 0) und den langfristig und hoch Exponierten (Gruppe 2). Toluol wird als das einzige organische Lösungsmittel in der Rotationstiefdruckereitechnik angegeben (Eller et al. 1999). Die Aussagekraft der Studie wird durch eine begrenzte Kontrolle von Kovariablen/Konfoundern (Alter und Alkoholkonsum) eingeschränkt. Weiterhin vermuten die Autoren Fehler bei der Abschätzung der zurückliegenden Expositionen, da die Expositionskonzentrationen bis 1983 höher lagen.

In einer Studie an 72 für mindestens fünf Jahre in einer Druckerei oder einem Pathologielabor Beschäftigten, die nur gegen Toluol (9 bis 467 ml/m³) exponiert waren, wurden im Vergleich zu Kontrollpersonen keine Veränderungen in kognitiven und neurologischen Funktionen festgestellt. Auch die Ergebnisse der psychometrischen Tests unterschieden sich nicht von denen der Kontrollpersonen. Allerdings berichteten die Exponierten über statistisch signifikant mehr Schleimhautirritationen als die Kontrollpersonen. In dieser Studie wurden die Tests mindestens zwei Tage nach Expositionsende durchgeführt, sodass Toluol aus dem Blut eliminiert war (Deschamps et al. 2001).

In einer Querschnittsstudie wurden die 278 Beschäftigten aus verschiedenen Tiefdruckereien, im Mittel 39,8 Jahre alt und mit einer Expositionsdauer gegen Toluol von 14,9 Jahren, in zwei Expositionsgruppen unterteilt. Die lebenszeitgewichtete durchschnittliche Exposition (LWAE; lifetime-weighted average exposure) der einen Gruppe (n = 154) betrug 45,1 ml/m³ und die mittlere aktuelle Exposition 24,7 ml/m³. Für die andere Gruppe (n = 124) lag die LWAE bei 9,3 ml/m³ und die mittlere aktuelle Exposition bei 3,3 ml/m³. Die manuelle Fingerfertigkeit wurde mit einer Testbatterie für motorische Leistungen (motorische Leistungsserie der Firma Schuhfried) getestet. Die subjektiven Symptome wurden mit einem psychologisch-neurologischen Fragebogen erfasst. Die feinmotorischen Leistungen in beiden Gruppen waren ähnlich. Es ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Exponierten und den Kontrollpersonen. Die Analyse der Symptome ergab keinen Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Zupanic et al. 2002).

Um mögliche Effekte nach einer Exposition gegen niedrige Toluolkonzentrationen zu erfassen, wurden in einer anderen Querschnittsstudie von 110 Beschäftigten in Betrieb A und 252 Beschäftigten im Betrieb B 129 Beschäftigte untersucht, welche in zwei verschiedenen Druckereien mit Offset- bzw. Heliogravur-Druckverfahren arbeiteten. Im Betrieb A (Offset) wurden Toluolkonzentrationen von 0 bis 18 ml/m³ und in Betrieb B (Heliogravur) 2 bis 27 ml/m³ gemessen. In Betrieb A wurde Toluol in der Atmungszone jedes Arbeiters individuell gemessen. In Betrieb B wurde nicht individuell für jeden Arbeiter gemessen, sondern repräsentative Messungen im jeweiligen Arbeitsbereich wurden genutzt, um die aktuelle Exposition individuell zu schätzen. Die geschätzten, zurückliegenden Toluolkonzentrationen lagen zwischen 0 und 179 ml/m³. Die Expositionsdauer von 0 bis 40 Jahren betrug im Mittel 14 Jahre. Damit lagen die individuellen, kumulativen Expositionsindizes (CEI) zwischen 0 und 2352 ml/m³ × Jahre. Die neurotoxischen Symptome wurden mit Hilfe des EUROQUEST-Fragebogens ermittelt, mögliche verhaltenstoxische Effekte mit standardisierten Testverfahren (Neurobehavioral Evaluation System) erfasst. Folgende sechs Tests wurden verwendet: einfache Reaktionszeit, Zahlen-Symbol-Test, Zahlenspanne vorwärts und rückwärts, visueller Kurzzeitgedächtnistest und ein Test zum Assoziationslernen, der Lern- und Gedächtnisleistungen erfasst. Aus diesen Tests wurden neun Parameter abgeleitet, die nach Adjustierung für Kovariablen regressionsanalytisch ausgewertet wurden. Dabei wurden der CEI und die aktuelle Exposition der Beschäftigten als individuelle Expositionsschätzer verwendet. Der CEI zeigte nur eine statistisch signifikante Assoziation mit den Testleistungen, bei den Symptomangaben ergaben sich keine Zusammenhänge. Wurden die aktuellen Messungen/Abschätzungen der Toluolkonzentrationen im Modell verwendet, so zeigten sich konzentrationsabhängige Leistungsminderungen bei beiden Versionen des Zahlenspannentests, also im Kurzzeitgedächtnis. Die Autoren vergleichen den Einfluss von Toluol auf die Testleistungen mit dem ebenfalls erfassten Effekt des Lebensalters. Bei der Zahlenspanne vorwärts nimmt die Leistung für 25 Lebensjahre um eine Zahl ab. Im Regressionsmodell wurde eine entsprechende Leistungsminderung bei aktuellen Toluolkonzentrationen von mehr als 36 ml/m³ beobachtet. Bei der schwierigeren Version, der Zahlenspanne rückwärts, sind 14 zusätzliche Lebensjahre notwendig, um die Leistung um eine „gemarkte“ Zahl zu reduzieren. Vergleichbare Effekte fanden die Autoren bei aktuellen Toluolkonzentrationen von mehr als 26 ml/m³. Obgleich einige der anderen Tests auch Gedächtnisleistungen erfasst haben, zeigen sich diese konzentrationsabhängigen Effekte in diesen Parametern nicht. Die Autoren vermuten eine massive Unterschätzung des Alkoholkonsums in dieser Studie (Chouanière et al. 2002). Sie machen weiterhin auf drei Schwächen der Studie aufmerksam: 1) auf unzureichende statistische Power, 2) auf die Ungenauigkeit der Erfassung der zurückliegenden Exposition und 3) auf die mögliche Reversibilität der Toluol-Neurotoxizität bei einer Reduktion der tatsächlichen Expositionen. Insgesamt zeigt diese Querschnittsstudie einige methodische Schwächen, vor allem bei der Expositionsabschätzung und der Adjustierung für Mehrfachvergleiche in den Regressionsmodellen.

In einer Metaanalyse wurden die Daten von zehn epidemiologischen Studien zusammengefasst, um die verhaltenstoxischen Effekte der beruflichen Exposition gegen Toluol zu ermitteln. So konnten Daten von 408 Kontrollpersonen und 447 Exponierten analysiert werden. Für sechs Testvariablen (Zahlenspanne vor-/rückwärts; Zahlen-Symbol-Test

als Papier- bzw. PC-Version; einfache Reaktionszeit; Block Design) wurden standardisierte Effektstärken berechnet, um die gemittelten Effektstärkenschätzer nach dem „random effects“-Modell auf Signifikanz zu prüfen. Die mittlere Expositionskonzentration aus allen zehn Studien betrug 57 ml/m^3 ($20\text{--}117 \text{ ml/m}^3$). Obgleich einige Studien Leistungsminderungen in den neuropsychologischen Tests der Exponierten berichtet haben, legt die zusammenfassende Analyse keine verhaltenstoxischen Effekte bei mittleren Expositionsschätzungen von bis zu 90 ml/m^3 nahe. Die Autorin schlägt jedoch eine Homogenisierung der Studiengruppen in Bezug auf Intelligenz, kulturellen Hintergrund und Durchführung der Tests vor, damit die Studienergebnisse verglichen und in Metaanalysen quantitativ zusammengefasst werden können (Meyer-Baron 2005). Auch die Expositionserfassung in den einzelnen Studien muss besser standardisiert werden, um ggf. Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen ableiten zu können.

In einer Studie wurden 54 Toluolexponierte verschiedener Betriebe auf verhaltenstoxische Effekte mit Hilfe einer standardisierten Testbatterie untersucht. Die verwendeten Tests waren Finger-Tapping, Zahlengedächtnis vorwärts und rückwärts, einfache Reaktionszeit, selektive Aufmerksamkeit und der Zahlen-Symbol-Test. Die „gering“ Exponierten waren gegen $< 10 \text{ ml Toluol/m}^3$, die „mittel“ Exponierten gegen $20\text{--}30 \text{ ml Toluol/m}^3$ und die „hoch“ Exponierten gegen $70\text{--}80 \text{ ml Toluol/m}^3$ exponiert. Es wurde mittels Kovarianzanalysen für Alter, Ausbildung und Arbeitszeit adjustiert. Nur bei den „hoch“ Exponierten wurden Defizite bei Zahlengedächtnis vorwärts, Finger-Tapping und selektiver Aufmerksamkeit festgestellt (Kang et al. 2005). Die Effekte zeigten sich somit erst in Konzentrationsbereichen oberhalb des MAK-Wertes.

Bei einer 38-jährigen Frau mit chronischen Kopfschmerzen und Übelkeit wurde mit Hilfe von MRT eine T2-hyperintensive Läsion in der zerebralen weißen Substanz der linken frontoparietalen Lappen festgestellt. Die Frau war in einem Betrieb beschäftigt, in dem Lackverdünner mit ca. 60 % Toluol verwendet wurde. Zusätzlich enthielt der Lackverdünner auch Xylol, Ethylacetat und Butylacetat (Kobayashi 2014).

Hörverlust

Für 190 Druckereiarbeiter ($75\text{--}365 \text{ ml Toluol/m}^3$, sechs Jahre Exposition, $88\text{--}98 \text{ dB(A)}$) wurde regressionsanalytisch untersucht, welche Expositionsbedingungen mit einem bilateralen Hörverlust von mehr als 25 dB assoziiert sind. Der bilaterale Hörverlust war am stärksten assoziiert mit gleichzeitiger Toluol- und Lärmexposition im Gegensatz zu reiner Toluol- oder Lärmexposition (Morata et al. 1993). In einer Nachfolgestudie an 124 Toluolexponierten wurde eine statistisch signifikante Beziehung zwischen Hippursäurekonzentration im Urin und bilateralem Hörverlust von mehr als 25 dB festgestellt. Ein Odds Ratio (OR) > 2 wurde über die Rückrechnung von der Hippursäurekonzentration auf die Toluolkonzentration am Arbeitsplatz bei 50 ml/m^3 ermittelt. Allerdings waren die Exponierten neben Toluol auch gegen Ethylacetat und Ethanol exponiert (Morata et al. 1997).

Es wurde gezeigt, dass die gleichzeitige Exposition gegen Lösungsmittel und Lärm einen größeren Einfluss auf einen Hörverlust hat, als reine Lärmexposition. In einer Studie wurde für eine Gruppe von 96 Exponierten (Toluol und n-Hexan, „individual average worklife exposure index“ $1,6 \pm 1,1$) ein Odds Ratio (OR) von 5,3 (95%-Konfidenzintervall (KI): $2,6\text{--}10,9$) für Hörverlust ermittelt, bei gleichzeitiger Exposition gegen Lärm ($> 85 \text{ dB}$) (Sliwiska-Kowalska et al. 2005).

Farbsehen

In einer Studie an 33 Toluol-exponierten Beschäftigten in der Gummi-Industrie und 16 Nichtexponierten wurde gezeigt, dass nach wiederholter Exposition gegen Toluol eine reduzierte Fähigkeit zur Farbdiskriminierung beobachtet wurde. Für die Bestimmung der Expositionshöhe wurde das unveränderte Toluol im Urin vor und nach der Arbeitsschicht bestimmt. Der mittlere Wert lag bei $63 \pm 27 \mu\text{g/l}$ Urin, was etwa 42 ml Toluol/m^3 in der Luft entspricht. Für die Berechnung der kumulativen Exposition wurde der Toluolgehalt im Urin mit der Expositionsdauer multipliziert. Die mittlere vorherige Expositionsdauer war gleich oder weniger als zehn Jahre. Das Farbsehen der Untersuchten wurde mit Hilfe des Lanthony D-15d-Tests (mit ungesättigten Farben), einem sogenannten Farblegetest, erfasst und zwei Indikatoren abgeleitet, der „Color Confusion Index“ (CCI) und „Total Confusion Index“ (TOTCI). Beide Indizes basieren auf Abweichungen von der richtigen, spektralen Anordnung von 15 Farben, wobei der TOTCI eine abweichende Formel

für die Berechnung der Abweichung von 1,00 verwendet, was bei diesem Test immer der fehlerfreien Anordnung der „Farbnäpfchen“ entspricht. Der mittlere CCI war 1,29 für die Exponierten und 1,10 für die Kontrollpersonen, der TOTCI lag bei 1,49 für die Exponierten und bei 1,16 für die Kontrollpersonen. Für beide Indizes waren diese Unterschiede statistisch signifikant. Darüber hinaus korrelierten beide Indizes positiv mit der kumulativen Dosis von Toluol. Hier war die Korrelation des TOTCI geringfügig höher. Obwohl die Beschäftigten gegen ein Lösungsmittelgemisch aus dem Kleber exponiert waren, erklären die Autoren, dass 1) Toluol die Hauptsubstanz in den Klebern war und 2) die anderen Lösungsmittel in diesem Gemisch keinen Einfluss auf das Farbsehen haben sollten (Cavalleri et al. 2000). Die Adjustierung der Auswertung zur Kontrolle möglicher Kofaktoren wird aber nicht sichtbar, obgleich die Toluol-exponierten mehr Alkohol tranken als die Kontrollpersonen. Die Autoren weisen auf den subklinischen Charakter von Störungen des Farbsehens hin und erwähnen, dass die Exponierten eigentlich nichts von dieser Beeinträchtigung bemerkten. Die Expositionsdauer war mit nur zehn Jahren allerdings etwas kurz, im Vergleich mit der Arbeitsdauer von 40 Jahren. Die Konzentration von 42 ml/m³ kann als LOAEC betrachtet werden, wobei die fehlende Kontrolle für die Kovariable Alkoholkonsum bei der Interpretation berücksichtigt werden muss.

In einer Studie an 92 Toluol-Exponierten wurde eine Beeinträchtigung der Farbdiskriminierungsleistung festgestellt. Diese Dyschromatopsie wurde mit und ohne Adjustierung für Alter und Alkoholkonsum festgestellt. Die Toluolkonzentration betrug im Mittel 136 (50–296) mg/m³ (36 (13–78) ml/m³) (Campagna et al. 2001).

Mögliche Effekte beruflicher Exposition gegen Toluol auf das Farbsehen wurden in einer Längsschnittstudie über einen Zeitrahmen von vier Jahren untersucht. Am Anfang der Studie nahmen 278 Exponierte teil, zum zweiten Zeitpunkt waren es noch 241 und bei der dritten Untersuchung noch 216 Arbeiter. Für insgesamt 162 Exponierte lagen Testdaten für alle drei Zeitpunkte vor. Die aktuell gemessene Expositionshöhe der Beschäftigten aus den Druckereibereichen betrug 26 ± 21 ml/m³ für die „hoch“ Exponierten und 3 ± 4 ml/m³ für die „niedrig“ Exponierten. Die LWAE lagen bei 43 ml/m³ bzw. 9 ml/m³. Es wurde das Farbsehen mit Hilfe des Lanthony D-15d-Tests gemessen und der CCI ermittelt. Weicht der CCI von 1 ab, so deutet das auf eine Farbdiskriminationsschwäche auf der Blau-Gelb-Achse hin. Die multiplen Regressionsanalysen und Varianzanalysen mit Messwiederholung zeigten keine statistisch signifikanten Effekte nach Exposition gegen Toluol (Schäper et al. 2004). Es wurden jedoch statistisch signifikante Effekte von Alter und beruflicher Qualifikation gefunden, deren Einfluss in vielen anderen epidemiologischen Studien nicht berücksichtigt wurde.

In einer Studie wurden 41 von 46 niedrig exponierten (11,30 bis 49,30 ml Toluol/m³) und 32 von 37 höher exponierten (66 bis 250 ml Toluol/m³) Beschäftigten untersucht. Die Kontrollgruppe bestand aus 83 Nichtexponierten. In der Studie wurde ebenfalls der Lanthony D-15d-Test verwendet, die Auswertung erfolgte anhand der Fehler in den beiden Farbachsen Blau-Gelb und Rot-Grün. Der Anteil der Personen mit Dyschromatopsie, vor allem in der Blau-Gelb-Achse (Typ III) war in der Gruppe der höher Exponierten statistisch signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Die Gruppe der niedrig Exponierten unterschied sich statistisch nicht signifikant von den Kontrollen, allerdings statistisch signifikant von den höher Exponierten. Hinweise auf eine Störung des Farbsehens ergeben sich in dieser Studie erst oberhalb des MAK-Wertes (Zavalić et al. 1998).

In einer Metaanalyse von 15 ausgewählten aus 39 publizierten Studien wurde die Wirkung von Lösungsmittelexposition auf das Farbseh-Vermögen zusammenfassend analysiert. Nur vier Studien zu Toluol stellten die erforderlichen Daten für eine quantitative Zusammenfassung der Ergebnisse zur Verfügung. Die mittleren Toluolkonzentrationen in diesen Studien lagen bei 26, 32, 42 und 50 ml/m³, die mittlere Expositionsdauer zwischen 9 und 16 Jahre. Das Farbsehen wurde mit Hilfe des Lanthony D-15d-Tests ermittelt. Die CCI für die Exponierten waren 1,07 bis 1,29 und für die Kontrollpersonen 1,10 bis 1,19. Die Effektstärken dieser Studien lagen zwischen –0,34 und 2,02 und in der zusammenfassenden Analyse mittels „random-effects“-Modell war die mittlere Effektstärke von 0,15 statistisch nicht signifikant von 0 verschieden. Exponierte und Kontrollen unterschieden sich somit statistisch nicht signifikant voneinander. Allerdings war die Expositionskonzentration in allen Studien relativ niedrig und die Störfaktoren wie Alter, Geschlecht, Alkoholkonsum und Rauchgewohnheiten wurden in den verschiedenen Studien nicht adäquat berücksichtigt (Paramei et al. 2004).

Eine hohe Korrelation zwischen Exposition gegen hohe Konzentrationen von Toluol am Arbeitsplatz und Dyschromatopsie wurde von Muttray et al. (2019) beschrieben. Mit Hilfe des Farnsworth Panel D-15-Tests, Lanthony D-15d-Tests, Vellhagen-Platten-Tests und des standardisierten Pseudoisochromatische-Platten-Tests wurden 51 Beschäftigte, die gegen Toluol exponiert waren und 51 Kontrollpersonen untersucht. Die Toluolkonzentration im Blut der Exponierten betrug 1,59 mg/l. Die zeitlich gewichtete durchschnittliche Toluolkonzentration in der Luft lag bei 97 bis 92 ml/m³. Bei den Exponierten wurden schwache Farbstörungen bei Konzentrationen festgestellt, die wesentlich höher lagen als der MAK-Wert.

4.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Toluol wirkt entfettend und austrocknend auf die Haut (Henschler 1986). Der wiederholte Hautkontakt kann zu toxischer Kontaktdermatitis führen (ECHA 2020; EU 2003).

Bei 16 männlichen Freiwilligen, die an vier aufeinanderfolgenden Tagen jeweils sechs Stunden pro Tag gegen 100 ml Toluol/m³ exponiert wurden, traten Augen- und Nasenreizungen auf, bei 40 ml/m³ wurden im Fragebogen keine Reizeffekte an Augen oder Nase angegeben (Henschler 1986).

In einer weiteren Probandenstudie wurde bei 20 männlichen Freiwilligen durch 4,5-stündige Exposition gegen 50 ml Toluol/m³ weder Augenreizung noch tränende Augen oder verschwommenes Sehen hervorgerufen (Muttray et al. 2005).

4.4 Allergene Wirkung

Hierzu liegen keine Angaben vor.

4.5 Reproduktionstoxizität

Eine umfassende Darstellung der Studien zur Reproduktionstoxizität ist im toxikologischen Profil für Toluol der Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR 2017) beschrieben. Im Folgenden sind die wesentlichen Studien zusammenfassend dargestellt.

4.5.1 Fertilität

Die Fruchtbarkeit der weiblichen (Wahrscheinlichkeit der Empfängnis), aber nicht der männlichen Beschäftigten in deutschen Druckbetrieben war für Beschäftigungszeiträume mit Exposition gegen Toluol im Vergleich zu Beschäftigungszeiträumen ohne Toluolexposition erniedrigt. Die Toluolexposition wurde in drei Gruppen eingeteilt, basierend auf der Arbeitshistorie und den Expositionsmessungen vergangener Jahre (durchgeführt durch die Industriehygieniker der Haftpflichtversicherung des Arbeitgebers): niedrige Exposition (z. B. Aufstapeln und Buchbinden; < 10 ml/m³), mittlere Exposition (Zylindervorbereitung, Galvanisierer; 10–30 ml/m³) und hohe Exposition (Drucker; < 200 ml/m³ vor 1984, < 100 ml/m³ 1984–1994 und < 50 ml/m³ nach 1994). Gesammelte Daten zur Fortpflanzungs- und Arbeitshistorie der Beschäftigten wurden ausgewertet, um den Fruchtbarkeitsindex zu ermitteln. Dieser basiert auf dem Zeitraum vom Beginn ungeschützten Geschlechtsverkehrs bis zum Eintritt der Schwangerschaft während des exponierten und nicht exponierten Zeitraums der Beschäftigung. Die Daten wurden nach Alter, ethnischer Zugehörigkeit, Rauchen, Parität, entzündlichen Erkrankungen des Beckens und Häufigkeit des Geschlechtsverkehrs adjustiert. Bei Frauen war der Fruchtbarkeitsindex in Zeiträumen der Toluolexposition (0,47; 95%-KI: 0,29–0,77) statistisch signifikant reduziert, während sich in den Zeiträumen der Toluolexposition bei Männern und ihren Partnerinnen kein Effekt auf die Fruchtbarkeit zeigte. In dieser Studie waren Frauen ausschließlich in Bereichen der Druckereien mit zu erwartenden niedrigen Luftkonzentrationen an Toluol beschäftigt (Aufstapeln und Buchbinden) und nicht in Bereichen mit hohen (Bedienen von Druckmaschinen) und mittleren (Zylindervorbereitung) Toluolexpositionen. Männer waren in allen drei Bereichen tätig (Plenge-Bönig und Karmaus 1999).

Zusammenfassend liefern die vorliegenden Daten keine überzeugende Evidenz dafür, dass akute oder wiederholte Inhalation von Toluol Effekte auf die Reproduktion des Menschen hervorruft. Eine schwache Evidenz liegt dafür vor, dass eine Exposition am Arbeitsplatz gegen Toluol zu einer erhöhten Inzidenz an spontanen Aborten (ATSDR 2017; Greim 1993) oder erniedrigter Fruchtbarkeit der weiblichen Beschäftigten (Plenge-Bönig und Karmaus 1999) führen kann. Eine Populations-basierte Kohorten-Studie berichtete über ein erhöhtes Risiko für Frühgeburten mit in der Umwelt zunehmender Toluolexposition (ATSDR 2017); allerdings limitiert die Koexposition gegen zahlreiche Umweltschadstoffe (die in der statistischen Analyse nicht berücksichtigt wurden) die Schlussfolgerung, die aus dieser Studie gezogen werden kann (ATSDR 2017).

4.5.2 Entwicklungstoxizität

Toluol erzeugt bei Kindern, deren Mütter große Mengen (4000–12 000 ml/m³) an Toluol oder anderen organischen Lösungsmitteln während der Schwangerschaft inhalierten, ähnliche Symptome wie das fetale Alkohol-Syndrom bei Ethanol (ATSDR 2017). Die Daten beim Menschen sind für eine quantitative Bewertung nicht geeignet, da Angaben zur Dauer fehlen und Mischexposition vorliegt (Greim 1993).

Es liegt nur eine Untersuchung mit niedrigen Konzentrationen am Arbeitsplatz vor. Aus dieser retrospektiven Studie an 14 Frauen in Finnland, die gegen verschiedene Lösungsmittel exponiert waren, ergibt sich ein Hinweis auf ein erhöhtes Risiko für Anomalien des zentralen Nervensystems und Defekte des Neuralrohres (ATSDR 2017). Aufgrund der geringen Zahl der untersuchten Fälle, zusammen mit der Mischexposition, ist diese Studie nicht geeignet, eine abschließende Bewertung der Entwicklungstoxizität beim Menschen bei niedriger Toluolexposition vorzunehmen.

4.6 Genotoxizität

Einige der Studien wurden in der MAK-Begründung von 1986 (Henschler 1986) schon ausführlich beschrieben, werden hier zum Vergleich aber nochmals mit aufgeführt.

Das genotoxische Potential von Toluol wurde in mehreren Studien bei Beschäftigten in Druckereien untersucht, welche beruflich hauptsächlich gegen Toluol exponiert waren. Die Anzahl der untersuchten Personen war jedoch gering, es lagen Mischexpositionen vor und die Ergebnisse sind widersprüchlich.

Erhöhte Inzidenzen an DNA-Strangbrüchen (Comet-Assay) in Blutlymphozyten sowohl bei Malern (Moro et al. 2012) als auch bei Arbeitern einer Schuhfabrik (Heuser et al. 2005, 2007) wurden beschrieben. Die Toluolkonzentrationen sind in den Studien jedoch nicht angegeben. Die Maler waren im Durchschnitt $46,15 \pm 9,94$ Monate beruflich exponiert und hatten eine Hippursäurekonzentration im Urin, die niedriger war als $1,60$ g/g Kreatinin. In der Schuhfabrik betrug die Expositionszeit durchschnittlich $5,80 \pm 4,03$ Jahre für Beschäftigte, welche mit wasserbasierten Klebstoffen arbeiteten, und $3,98 \pm 4,13$ Jahre für Beschäftigte, welche mit lösungsmittelbasierten Klebstoffen arbeiteten. Es traten Mischexpositionen gegen u. a. Hexan, Aceton, Methylethylketon, Polyurethan und Polychloropren auf. Angaben zur Luftkonzentration von Toluol fehlen.

Im Gegensatz dazu wurden keine expositionsbedingten Unterschiede in der DNA-Schädigung von Leukozyten bei Arbeiterinnen einer Schuhfabrik festgestellt, welche gegen 28 – 121 ml Toluol/m³ exponiert waren, gemessen mittels Comet-Assay (Pitarque et al. 1999).

Im Vergleich zu 24 nicht-exponierten Kontrollpersonen wurden in Blutlymphozyten von 20 männlichen Tiefdruckern, welche mindestens 16 Jahre lang gegen 200 – 300 ml Toluol/m³ ($< 0,3\%$ Benzol) inhalativ und über Hautresorption exponiert waren, erhöhte Raten an strukturellen Chromosomenveränderungen gefunden. Besonders die Anzahl an Schwesterchromatidbrüchen und -austauschen der Toluol-exponierten Beschäftigten war erhöht, sowohl bei Rauchern als auch bei Nichtrauchern. Die Autoren bewerten die genotoxische Wirkung von Toluol in diesem Konzentrationsbereich als schwach ausgeprägt (Bauchinger et al. 1982).

Bei 42 männlichen Druckern, welche durchschnittlich 19 Jahre lang Toluol am Arbeitsplatz ausgesetzt waren, wurden etwa dreimal so viele Schwesterchromatidaustausche (SCE) in den Lymphozyten gefunden wie in der Kontrollgruppe

($n = 45 \text{ ♂}$). Eine statistisch signifikante Korrelation war bei Druckern nach Bereinigung bezüglich des Raucherstatus zwischen der SCE-Häufigkeit und dem Verhältnis von Gesamt-Kresol/Hippursäure im Urin erkennbar, wogegen kein statistisch signifikanter Zusammenhang zu *o*- oder *p*-Kresol oder Hippursäure allein feststellbar war. Die Raumluftkonzentrationen schwankten von 37–86 ml/m³ (Median: 62 ml/m³) und individuelle Expositionen, gemessen mittels tragbarer Detektoren, lagen bei 15–118 ml Toluol/m³ (Median: 60 ml/m³). Verunreinigungen mit Benzol (0,01 %) und Xylol (0,165 %) waren gering (Hammer 2002; Hammer et al. 1998).

Bei 14 Rotationsdruckern (Expositionsdauer: 1,5–26 Jahre), welche 100–200 ml Toluol/m³ (Expositionsspitzen zwischen 500–700 ml/m³) ausgesetzt waren, fanden sich erhöhte Werte an Chromosomenbrüchen in Blutlymphozyten in Relation zur Kontrollgruppe, welche jedoch nicht mit der Höhe der Exposition korrelierten (Funes-Cravioto et al. 1977).

Der Einfluss einer Toluol-Exposition auf die Induktion von genotoxischen Effekten wurde an peripheren Lymphozyten bei 21 Druckern, welche durchschnittlich 25 Jahre (Bereich: 0,5–37) gegen Toluol exponiert waren, untersucht und mit einer nicht-exponierten Kontrollgruppe ($n = 21$; Toluol im Blut: $\leq 0,1 \text{ } \mu\text{mol/l}$) verglichen. Tägliche Messungen für die Dauer einer Woche ergaben, dass die Beschäftigten durchschnittlich 39 ml Toluol/m³ pro Woche (Bereich: 8–110 ml/m³ in der Luft; Toluol im Blut: 1,6 $\mu\text{mol/l}$) ausgesetzt waren. Bei der Analyse des genotoxischen Potentials zeigte die Auswahl des Mitogens für Wachstumsstimulation der kultivierten Lymphozyten einen Einfluss auf die Rate an Mikronuklei. Im Vergleich zur Kontrollgruppe wurden statistisch signifikant ($p = 0,03$) höhere Werte an Mikronuklei in mit Pokeweed-Mitogen-(PWM)-stimulierten Lymphozyten (Aktivierung von T- und B-Zellen), aber nicht in mit Phytohämagglutinin-Mitogen-(PHM)-stimulierten Lymphozyten (nur T-Zell-Aktivierung) von Druckern gefunden. Die Rate an kleinen Mikronuklei (Größenverhältnis MN/Zellkern $\leq 0,03$) in PWM-stimulierten Lymphozyten korrelierte positiv mit der Toluol-Exposition ($p = 0,05$) und bei den Druckern mit dem Toluol-Blutwert ($p = 0,0005$). In PHM-stimulierten Lymphozyten wurden keine Korrelationen zwischen Expositionsparametern und dem Wert an kleinen Mikronuklei gefunden, jedoch eine schwache Assoziation zwischen dem kumulativen Expositionsindex (Summe der Expositionszeit (Jahre) \times korrespondierende Expositionsschätzungen (mg/m³)) für jeden Beschäftigten und der Anzahl an Gesamtmikronuklei ($p = 0,07$). Chromosomenaberrationen (CA) (Chromosomenbrüche) in PHM-stimulierten Lymphozyten wurden mit früheren Benzol-Expositionen assoziiert (0,03 %/Jahr; $p = 0,01$). Bei der Berechnung der statistischen Signifikanzen wurden Raucherstatus und Alter berücksichtigt (Nise et al. 1991).

Bei 23 Druckern, welche durchschnittlich fünf Jahre lang 155 ml Toluol/m³ (Bereich: 8–410 ml/m³) am Arbeitsplatz ausgesetzt waren, wurden statistisch signifikant ($p = 0,05$) mehr CA in den peripheren Lymphozyten und korrespondierend mehr ($p = 0,01$) Hippursäure im Urin im Vergleich zur Kontrollgruppe gefunden ($n = 22$) (Pelclová et al. 2000).

In einer weiteren Studie wurden bei 42 Druckern, welche im Durchschnitt 13 Jahre lang 104–1170 ml/m³ in der Luft am Arbeitsplatz ausgesetzt waren, sowie bei 28 technischen Mitarbeitern und Büroangestellten, die gegen 2,1–4,3 ml Toluol/m³ exponiert waren und zusätzlich 0–2 Stunden/Tag in der Rotationstiefdruckwerkstatt verbrachten, im Vergleich zur Kontrollgruppe ($n = 32$) statistisch signifikant mehr CA, aber keine SCE, in Lymphozyten gefunden (Pelclová et al. 1990). Die Anzahl an Zellen mit strukturellen Aberrationen (hauptsächlich Chromatidbrüche) betrug $3,64 \pm 2,05 \%$ bei den Druckern, $3,32 \pm 1,63 \%$ bei der niedrig-exponierten Gruppe und $2,09 \pm 1,53 \%$ bei der Kontrollgruppe. Hippursäure im Urin betrug $6,31 \pm 3,41 \text{ mmol/l}$ bei der Kontrollgruppe, $12,89 \pm 4,64 \text{ mmol/l}$ bei der gering exponierten Gruppe und $38,28 \pm 17,53 \text{ mmol/l}$ bei den Druckern. Die Werte an Toluol im Blut betragen $10,3 \pm 3,1$ bzw. $124,0 \pm 63,1$ für die letzten zwei Gruppen. Die Analyse des eingesetzten Toluols ergab eine Reinheit von 98,4 % und Verunreinigungen mit 0,45 % Ethylbenzol, 0,4 % *m*- und *p*-Xylol sowie 0,3 % *o*-Xylol.

Im Vergleich zur nicht-exponierten Kontrollgruppe waren die Werte an CA, aber nicht an SCE, in peripheren Lymphozyten noch bis zu zwei Jahre nach Beendigung der Beschäftigung bei 27 ehemaligen Druckern erhöht, welche gegen 200–300 ml Toluol/m³ für 1–34 Jahre exponiert waren (Schmid et al. 1985).

Auch bei männlichen Malern ($n = 30$) wurden höhere Werte ($p < 0,05$) an SCE ($4,81 \pm 0,92$) gefunden in Relation zu 30 Kontrollpersonen ($1,73 \pm 0,54$). Die Toluolkonzentrationen in der Luft wurden nicht gemessen, die durchschnittliche Hippursäurekonzentration im Urin war 2,5-mal so hoch wie die in der Kontrollgruppe. Träger bestimmter Polymorphismen in den Toluol-metabolisierenden Enzymen Cytochrom P450 (CYP) 2E1 und CYP1A1 generierten höhere Werte an SCE im Vergleich zu Exponierten vom Wildtyp-Genotyp (Priya et al. 2015).

Allgemein wird bei Beschäftigten aus Druckereibetrieben diskutiert, ob die positiven Ergebnisse aus einigen Studien auch auf andere Chemikalien als Toluol zurückzuführen sind, wie polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe aus Industrierußen (Carbon Black) in Druckfarben (Hammer et al. 1998; Pelclová et al. 1990, 2000). Allerdings waren Druckfarben in Mutagenitätstests mit *Salmonella typhimurium* nicht mutagen (Pelclová et al. 2000).

Nach 14 Jahren Exposition gegen Toluol (Konzentration unbekannt) wurden bei 31 männlichen Druckern häufiger dizentrische Chromosomen gefunden im Vergleich zur Kontrollgruppe ($n = 31 \text{ ♂}$). Chromatidaberrationen und SCE zeigten keine statistisch signifikanten Unterschiede (Carbonell et al. 1982).

Im Vergleich zur Kontrollgruppe von 34 männlichen Personen gleichen Alters (matched pairs) fanden sich bei 24 männlichen Rotationsdruckern, welche im Mittel 3–15 Jahre lang $200 \text{ ml Toluol/m}^3$ mit kurzzeitig stark erhöhten Werten ausgesetzt waren, keine höheren Werte an Chromosomenaberrationen (Forni 1971).

Auch eine Exposition gegen $7\text{--}112 \text{ ml Toluol/m}^3$ ($n = 32 \text{ ♂}$, 8 Stunden/Tag, 3–35 Jahre exponiert) führte zu keiner Differenz in Bezug auf SCE oder CA gegenüber einer Kontrollgruppe ($n = 15 \text{ ♂}$). Raucher zeigten statistisch signifikant höhere SCE-Werte als Nichtraucher. Der Benzolgehalt im Toluol, der regelmäßig gaschromatographisch überprüft wurde, lag immer unter 0,05 % und im Durchschnitt bei 0,006 % (Mäki-Paakkanen et al. 1980).

Untersuchungen zur Genotoxizität von Toluol bei Arbeitnehmern aus anderen Industriezweigen sind ebenfalls nicht eindeutig. In einer Studie mit 16 männlichen Beschäftigten in der Farbenindustrie, welche mehr als zehn Jahre (8 Stunden/Tag) gegen ein Gemisch aus Lösungsmitteln (elf Stoffe, z. B. Xylol, Ethanol) mit im Durchschnitt $2,9 \text{ ml Toluol/m}^3$ ($0,3\text{--}329 \text{ ml/m}^3$) in der Luft exponiert waren, wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede an SCE oder CA im Vergleich mit der Kontrollgruppe ($n = 17$; matched pairs) gefunden (Haglund et al. 1980).

In kultivierten Lymphozyten war die Rate an Mikronuklei, aber nicht an SCE bei 52 weiblichen Beschäftigten einer Schuhfabrik, welche gegen ein Gemisch aus Toluol (20 oder 63 ml/m^3), Benzin, Aceton und anderen Lösungsmitteln exponiert waren, im Vergleich zu nicht-exponierten Beschäftigten statistisch signifikant erhöht. Als Biomarker der Toluol-Exposition wurde Hippursäure im Urin bestimmt (Pitarque et al. 2002).

Die Häufigkeit von Mikronuklei war bei 34 Beschäftigten ($n = 11 \text{ ♀} / 23 \text{ ♂}$) einer Schuhfabrik, die im Durchschnitt zehn Jahre ($0,3\text{--}46$) gegen 8 ml/m^3 ($1,7\text{--}95 \text{ ml/m}^3$) exponiert waren, verglichen mit Kontrollen erhöht. Unter Verwendung einer multivariaten Analyse von Alter, BMI, Rauchen, Alkoholkonsum, Expositionsdauer und Expositionsniveau von Aceton, Ethylacetat, Methylethylketon und Toluol war die einzige Variable, die statistisch signifikant mit der Mikronukleus-Induktion verbunden war, die Toluolkonzentration (González-Yebra et al. 2009).

In zwei weiteren Studien konnte keine Korrelation zwischen Exposition gegen lösungsmittelbasierten Klebstoff ($n = 29 \text{ ♂}$; exponiert $3,98 \pm 4,13$ Jahre) (Heuser et al. 2005) oder Farben und der Induktion von Mikronuklei festgestellt werden, weder in Lymphozyten noch in Zellen der Mundschleimhaut (Heuser et al. 2005, 2007; Moro et al. 2012).

Studie zum Missbrauch von Lösungsmitteln: Bei chronischen Klebstoffschnüfflern ($n = 20 \text{ ♂}$; $16,2 \pm 2,8$ Jahre alt) war die durch den alkalischen Comet-Assay bestimmte DNA-Schädigung in peripheren Blutlymphozyten im Vergleich zu altersgerechten Kontrollen ($n = 20$) statistisch signifikant erhöht, unabhängig vom Raucherstatus. Expositionskonzentrationen sind nicht bekannt, die verwendeten Klebstoffe enthalten meist hohe Mengen an Toluol und zusätzlich andere leichtflüchtige Komponenten wie Aceton, Ethylacetat und Methylethylketon. Der Mittelwert von Hippursäure- und o-Kresolausscheidung lag bei Klebstoffschnüfflern 73- bzw. 1582-mal höher als bei historischen Kontrollen ($n = 54$) (Cok et al. 2004).

Kontrollierte Expositionsstudie: Fünf männliche Probanden (Nichtraucher) wurden in einer Expositions-kammer inhalativ dreimal im Abstand von jeweils zwei Wochen drei Tage lang für je sieben Stunden/Tag gegen 50 ml Toluol/m^3 exponiert. Es waren keine Effekte auf die Häufigkeit an SCE in Blutproben erkennbar, welche jeweils vor und nach jeder dreitägigen Exposition genommen wurden (Richer et al. 1993).

Fazit: Die vorliegenden Studien an Beschäftigten in Druckereien, die beruflich hauptsächlich gegen Toluol exponiert waren, ergeben zum Teil widersprüchliche Ergebnisse hinsichtlich eines genotoxischen Potentials. Zudem war die

Anzahl der untersuchten Personen gering und es lagen Mischexpositionen vor. Nach kontrollierter Exposition in Höhe des MAK-Wertes von 50 ml/m³ induzierte Toluol bei fünf männlichen Probanden keine SCE.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

5.1.1 Inhalative Aufnahme

Die zehnminütige Beatmung von anästhetisierten Ratten (k. w. A., je fünf/Gruppe) mit 18–450 ml Toluol/m³ verursachte erhöhte Durchlässigkeit der Gefäße in den Hauptbronchien (ab 30 ml Toluol/m³) und in der Trachea (ab 50 ml/m³) (Sakamoto et al. 2012).

Bei vierstündiger Gabe von 0 oder 100 ml Toluol/m³ an männliche pigmentierte DA/HAN Ratten (10/Gruppe) zeigten sich nach Ende der Toluol-Exposition eine unstete Augenruheposition, eine langsamere Reaktion und mehr irreguläre Augenbewegungen nach visueller Stimulation, welche auch noch nach Beendigung des visuellen Reizes zu beobachten waren (Hogie et al. 2009).

Untersuchungen an Swiss-Webster-Mäusen ergaben, dass während der 30-minütigen Exposition gegen 0, 2000 oder 4000 ml Toluol/m³ mit anschließender 30-minütiger Nachbeobachtung die Bewegungsaktivität der Toluol-exponierten Tiere erhöht war. Eine erhöhte Dopamin-Neurotransmission wurde nur bei den Tieren gemessen, die gegen 4000 ml Toluol/m³ exponiert wurden (Apawu et al. 2015).

Jeweils 16 C57BL/6- und DKO-Mäuse (C57BL/6-Mutanten ohne Calcium/Calmodulin-stimulierte Adenylylzyklen 1 und 8) wurden gegen 0, 500, 1000, 2000, 6000 oder 8000 ml Toluol/m³ während der Lichtphase des Tageszyklus (12:00–17:00 Uhr) exponiert. Sowohl die C57BL/6- als auch die DKO-Mäuse zeigten eine erhöhte Bewegungsaktivität nach der Exposition gegen 2000 ml Toluol/m³. Toluol in höheren Konzentrationen wirkte beruhigend auf C57BL/6- und DKO-Mäuse während der Expositions- und der Erholungszeit (Conti et al. 2012).

An Mäusen wurden RD₅₀-Werte von 12 590, 12 650 und 19 875 mg/m³ (3300, 3314, 5200 ml/m³) erhalten (EU 2003).

5.1.2 Orale Aufnahme

In einer Studie wurde 16 Wistar-Albino-Ratten per Schlundsonde 0 oder 5200 mg Toluol/kg KG appliziert. Nach drei Stunden wurden Blut- und Lebergewebe-Proben analysiert. Die Aktivitäten von Aspartat- und Alanin-Aminotransferasen im Blut waren statistisch signifikant erhöht. Histopathologisch wurde in Relation zur Kontrolle eine leichte Degeneration der Hepatozyten und mononukleäre Infiltration im Lebergewebe festgestellt, sowie eine erhöhte Expression der Apoptose-vermittelnden Proteine Bax und Caspase-1 (Ayan et al. 2013).

Toluol (6 ml/kg KG entspricht 5220 mg/kg KG) wurde per Schlundsonde an zehn Wistar-Albino-Ratten appliziert. Zusätzlich gab es zehn Kontrolltiere. Das Experiment wurde 150 Minuten nach der Applikation beendet. Alle 30 Minuten wurden für 90 Minuten der Blutdruck und die Herzfrequenz der Tiere gemessen. Bei den mit Toluol behandelten Tieren war der mittlere Blutdruck, jedoch nicht die Herzfrequenz, statistisch signifikant niedriger im Vergleich zu den Kontrolltieren. Die histopathologischen Untersuchungen des Herzgewebes zeigten Ödeme und Verdickungen. Bei den Herzen der mit Toluol behandelten Tiere war die Zahl der apoptotischen Zellen, gemessen mittels TUNEL- und Caspase-3-Test, statistisch signifikant höher als bei den Kontrolltieren (Tas et al. 2013 a).

5.1.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine neuen Studien vor.

5.1.4 Intraperitoneale Aufnahme

Sprague-Dawley-Ratten (k. A. zur Tierzahl) wurde intraperitoneal 1100 mg Toluol/kg KG injiziert. Es wurde keine Erhöhung der OH-Radikale im präfrontalen Kortex gemessen, jedoch eine Lipidperoxidation (gemessen als Abnahme der Konzentration von freiem Malondialdehyd) in den Geweben verschiedener Areale des Gehirns festgestellt (Chalansonnet et al. 2013).

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

5.2.1 Inhalative Aufnahme

In einer Studie an Swiss-Webster-Mäusen wurde gezeigt, dass die siebentägige Exposition gegen 2000 oder 4000 ml Toluol/m³ für 30 Minuten/Tag im Vergleich zu den Kontrolltieren eine konzentrationsabhängige Verringerung des evozierten Dopamins in Kern und Schale des Nucleus accumbens um 25 bis 50 % induzierte, jedoch keinen Effekt auf die stimulierte Dopamin-Freisetzung im Putamen verursachte. Eine Erhöhung der Bewegungsaktivität der exponierten Tiere wurde ebenfalls beobachtet (Apawu et al. 2015).

Männliche C3H/HeN-Mäuse (n = 5–10) wurden gegen 0 oder 9 ml Toluol/m³ jeweils 30 Minuten an drei aufeinanderfolgenden Tagen und dann 3 Wochen lang wöchentlich exponiert. Zusätzlich wurden Mäuse entweder mit Ratten-IgG, Ovalbumin oder anti-CD4-Antikörpern behandelt. Der Gehalt an Wachstumsfaktor BDNF (brain-derived neurotrophic factor) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit und der Gehalt an Nervenwachstumsfaktor (NGF) im Plasma waren statistisch signifikant erhöht. Nach einer Behandlung mit anti-CD4-Antikörpern waren diese Effekte bei den Toluol-behandelten Mäusen nicht mehr nachzuweisen. Diese Befunde zeigen, dass die CD4-T-Zellen bei der Produktion von Neurotrophin nach Exposition gegen Toluol eine Rolle spielen (Fujimaki et al. 2009).

Toluol kann die chemosensorische Empfindlichkeit beeinträchtigen. Weibliche Crlf:OF-1-Mäuse wurden an fünf Stunden pro Tag, fünf Tage pro Woche, vier Wochen lang gegen 0 oder 1000 ml Toluol/m³ exponiert. Während der Exposition und zwei Wochen danach wurde eine statistisch signifikante Leistungsminderung im Labyrinth-Test beobachtet. Vier Wochen nach Expositionsende zeigten die Mäuse keine Leistungsminderung. Histopathologisch wurde eine verminderte Zellzahl und Gewebedicke am olfaktorischen Epithel während der Behandlungszeit beobachtet. Am Ende der Erholungsperiode war die Dicke des Epithels normal, seine Zelldichte jedoch geringer als vor der Exposition (Jacquot et al. 2006).

Je zehn weibliche Crlj:C3H/HeN-Mäuse wurden an sechs Stunden pro Tag, sechs Tage pro Woche entweder sechs oder zwölf Wochen lang gegen 0 oder 50 ml Toluol/m³ exponiert. In der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit war sowohl die Gesamtzellzahl als auch die Zahl der Makrophagen erhöht und die Konzentrationen von Interferon-gamma und Substanz-P nach sechs- und zwölfwöchiger Exposition statistisch signifikant verringert. Die Neurotrophin-3-Konzentration war nur nach zwölfwöchiger Exposition erhöht (Fujimaki et al. 2007).

In einer 14-Wochen-Inhalationsstudie wurden je zehn weibliche und männliche B6C3F1-Mäuse an fünf Tagen pro Woche, sechseinhalb Stunden pro Tag gegen 0, 100, 625, 1250, 2500 oder 3000 ml Toluol/m³ exponiert. In den ersten zwei Wochen starben 60 % der männlichen und 100 % der weiblichen Mäuse, welche gegen 3000 ml Toluol/m³ exponiert waren, und 70 % der mit 2500 ml Toluol/m³ behandelten weiblichen Mäuse. Das Körpergewicht aller exponierten Gruppen war 7–13 % niedriger als das der Kontrollen. Im Vergleich zu den Kontrollen induzierten Konzentrationen ab 625 ml Toluol/m³ ein statistisch signifikant erhöhtes relatives Lebergewicht; ab 1250 ml Toluol/m³ wurden statistisch signifikant erhöhte relative Lungengewichte (9–15 %) und nur bei weiblichen Mäusen statistisch signifikant erhöhte relative Nierengewichte detektiert. Die erhöhten Lungengewichte gingen jedoch nicht einher mit erhöhten Inzidenzen an histopathologischen Läsionen in Lunge, Trachea oder Nase. Bei den männlichen Mäusen entwickelten alle der gegen 2500 und 70 % der gegen 3000 ml Toluol/m³ exponierten Tiere eine zentrilobuläre Hypertrophie der Leber (NTP 1990).

Die inhalative Exposition von je zehn weiblichen und männlichen B6C3F1-Mäusen gegen 0, 600 oder 1200 ml Toluol/m³ (6,5 Stunden/Tag, 5 Tage/Woche) über einen Zeitraum von 15 Monaten führte zu keinen konsistenten hämatologischen

Effekten oder Veränderungen von Organgewichten. Bei den gegen 1200 ml Toluol/m³ exponierten Tieren entwickelten 40 % der weiblichen Mäuse minimale Hyperplasien des bronchialen Epithels (NTP 1990).

Männliche F344-Ratten (6/Konzentration und Dauer) wurden sechs Stunden pro Tag, drei oder sieben Tage lang gegen 0 oder 1000 ml Toluol/m³ exponiert. Die Kortikosteronkonzentration war statistisch signifikant höher bei den Ratten, bei welchen auch eine Verringerung des GFAP (glial fibrillary acidic protein) im Gehirn gemessen wurde. Diese Ergebnisse zeigen, dass eine Verringerung von GFAP im Gehirn eine Konsequenz der Störung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse und der hormonellen Homöostase sein kann (Little et al. 1998).

Männliche pigmentierte DA/HAN-Ratten (5/Gruppe) wurden gegen 0 oder 100 ml/m³ drei Stunden pro Tag, fünf Tage lang exponiert. Am Ende der Exposition wurden unetete Augenruheposition, langsamere Reaktion und mehr irreguläre Augenbewegungen nach visueller Stimulation festgestellt, welche nach Beendigung des visuellen Reizes persistierten (Hogie et al. 2009).

Sprague-Dawley-Ratten (8/Gruppe) wurden sechs Stunden pro Tag, fünf Tage pro Woche, zehn Tage lang gegen 0 oder 1000 ml Toluol/m³ exponiert. Die OH-Radikal-Produktion und der Gehalt an extrazellulärem Malondialdehyd wurde durch eine Mikrodialyse des präfrontalen Kortex bestimmt. Der freie Gesamt-Malondialdehydgehalt wurde in verschiedenen Bereichen des Gehirns wie frontalem und präfrontalem Kortex, Striatum und Cerebellum bestimmt. Es wurde keine Erhöhung der freien Radikale durch die Exposition gegen Toluol gemessen und keine Zunahme des Gehalts an freiem Malondialdehyd (Chalansonnet et al. 2013).

Je acht bis 24 männliche Long-Evans-Ratten wurden sechs Stunden pro Tag, fünf Tage pro Woche, vier Wochen lang gegen 0, 1000, 1250, 1500, 1750 oder 2000 ml Toluol/m³ exponiert. Die audimetrischen Schwellen wurden 24–32 Stunden nach Exposition bestimmt und gleich nach Expositionsende wurden die Ohren der Tiere histopathologisch untersucht. In der mittleren und mittleren apikalen Windung der Cochlea wurde bei allen Toluol-behandelten Tieren ein Verlust von äußeren Haarzellen innerhalb des Corti-Organs beobachtet, der von der ersten zur dritten Haarzellreihe konzentrationsabhängig anstieg. Bei Konzentrationen ab 1750 ml Toluol/m³ zeigte die Messung der audimetrischen Schwellen eine signifikante Störung des Hörvermögens im Bereich von 8–24 Herz an. Die fehlenden Effekte auf das Hörvermögen trotz nachgewiesener histologischer Veränderungen bei niedrigeren Konzentrationen führen die Autoren auf fehlende Sensitivität der Messmethode zurück (Campo et al. 1997).

In einer Studie wurden sieben Wistar-Albino-Ratten eine Stunde pro Tag, 30 Tage lang gegen 0 oder 3000 ml Toluol/m³ exponiert. Die Leberzellen der behandelten Tiere zeigten massive Degeneration und eine Abnahme der PAS-Reaktion (Reaktion mit Periodsäure-Schiff-Reagens). Es wurde eine erhöhte Apoptose im TUNEL-Test beobachtet (Tas et al. 2013 b).

Je zehn männliche Wistar-Ratten wurden zwölf Wochen lang (8 Stunden/Tag, 6 Tage/Woche) gegen 0 oder 3000 ml Toluol/m³ exponiert. Die histopathologische Untersuchung der Lunge ergab bei den Toluol-exponierten Tieren inflammatorische Effekte wie entzündliche Zellinfiltration in peribronchialen und alveolären Lungenregionen, alveoläre Septeninfiltration, Ödeme und Exsudate und interstitielle Fibrose und Nekrose (Kanter 2011 b). In Neuronen im frontalen Kortex waren starke degenerative Zellveränderungen zu beobachten, wie die Abnahme des Zytoplasmas, stark vergrößerte Cisternae des Endoplasmatischen Retikulums (ER) und vergrößerte Mitochondrien mit degenerierten Christae, Auflösung der Kernmembran und Desorganisation des Chromatins (Kanter 2011 a). Die Leber zeigte vergrößerte und mit Blut gefüllte Sinusoide. Zusätzlich war in einigen Hepatozyten ein Verlust des Zytoplasmas und ein hyperchromatischer Zellkern zu beobachten (Kanter 2012). Mitochondriale Degeneration, Vergrößerung des glatten ER und des Interzellularraums, sowohl in Sertoli- als auch in Spermatozyten, wurden ebenfalls detektiert (Kanter 2011 c). Zusätzlich kam es in allen Organen im Vergleich zur Kontrolle zu erhöhter Apoptose (Kanter 2011 a, b, c, 2012).

Je sechs weibliche und männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden 16 Wochen lang gegen 0 oder 40 ml Toluol/m³ exponiert. Toluol verursachte keine Veränderung der Bewegungsaktivität, verringerte aber die Aufrichtaktivität statistisch signifikant. Eine durch akute Toluolgabe induzierte Narkose wurde bei den für 16 Wochen vorbehandelten Tieren bei niedrigeren Toluolkonzentrationen als bei den Kontrolltieren beobachtet. Weiterhin wurde eine veränderte Neurotransmission in verschiedenen Arealen des Gehirns durch Toluol induziert (Berenguer et al. 2003, 2004). Gleich-

zeitige Exposition gegen Lärm (80 dBA) und 40 ml Toluol/m³ verstärkte die Toluol-induzierten Effekte nicht (Berenguer et al. 2004).

Eine 15-wöchige inhalative Exposition von je zehn männlichen und weiblichen F344/N-Ratten gegen 0, 100, 625, 1250, 2500 oder 3000 ml Toluol/m³ (6,5 Stunden/Tag, 5 Tage/Woche) führte ab 1250 ml Toluol/m³ zu statistisch signifikant erhöhten relativen Leber-, Nieren- und Herzgewichten und ab 2500 ml Toluol/m³ zu um 14–25 % verminderten Körpergewichten. Histopathologische Veränderungen an Lunge, Trachea, Nase oder Herz wurden jedoch nicht beobachtet. Weibliche Tiere zeigten ab 1250 ml Toluol/m³ eine Abnahme der Leukozyten im Blut. Bei 3000 ml Toluol/m³ starben acht von zehn männlichen Ratten in der zweiten Woche (NTP 1990).

Eine inhalative Exposition von je zehn weiblichen und männlichen F344/N-Ratten gegen 0, 600 oder 1200 ml Toluol/m³ (6,5 Stunden/Tag, 5 Tage/Woche) für 15 Monate führte zu keinen konsistenten hämatologischen Effekten oder Veränderungen an Organgewichten. Die Exposition gegen Toluol erhöhte Inzidenzen und Schweregrad von nichtneoplastischen Läsionen in der Nasenhöhle, wie Degeneration des olfaktorischen und respiratorischen Epithels und Becherzellhyperplasie. Bei den weiblichen Tieren war auch der Schweregrad bei Nephropathien geringfügig erhöht. Es wurden keine Toluol-induzierten Neoplasien beobachtet (NTP 1990).

5.2.2 Orale Aufnahme

Je zehn weibliche und männliche B6C3F1-Mäuse und F344-Ratten wurden mittels Schlundsonde mit 0, 312, 625, 1250, 2500 oder 5000 mg Toluol/kg KG und Tag, fünf Tage die Woche für 13 Wochen behandelt. Alle Ratten der Hochdosis-Gruppe starben in der ersten Woche. Die Dosis von 2500 mg/kg KG und Tag wirkte vor Studienende bei 1/10 der weiblichen und 8/10 der männlichen Ratten letal. Im Vergleich zur Kontrolle traten statistisch signifikante Effekte ab Dosen von 625 mg Toluol/kg KG und Tag auf und beinhalteten erhöhte relative Leber-, Nieren- und Herzgewichte, vermindertes Körpergewicht, Nekrosen in Gehirn und Blutungen in der Harnblase (NTP 1990).

Alle Mäuse, welche die höchste Dosis von 5000 mg Toluol/kg KG und Tag erhielten, starben in der ersten Woche, 40 % derjenigen, die 2500 mg Toluol/kg KG und Tag erhielten und 10 % der weiblichen Mäuse, die 1250 mg/kg KG und Tag erhielten, starben vor Studienende. Das Körpergewicht der männlichen Mäuse lag in der 2500-mg/kg-Gruppe um 16 % unter dem der Kontrolle. Bei 1250 und 2500 mg Toluol/kg KG und Tag waren die relativen Lebergewichte bei Mäusen erhöht (NTP 1990).

Eine Zusammenfassung weiterer Studien mit Schlundsondengabe ist in ATSDR (2017) beschrieben.

5.2.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

5.3.1 Haut

Tierstudien zeigen eine reizende Wirkung von Toluol auf die Haut von Kaninchen, Mäusen und Meerschweinchen, wobei eine dieser Studien nach EU-Prüfrichtlinie B.4 durchgeführt wurde (ECHA 2020; EU 2003).

Auf die Ohren von weiblichen BALB/c-Mäusen wurde einmal pro Woche, fünf Wochen lang 10-, 50- oder 100%iges Toluol aufgetragen. Toluol verursachte nur eine leichte Schwellung der Haut. Histopathologisch wurde nur nach der Behandlung mit 100%igem Toluol eine leichte Invasion von Entzündungszellen gezeigt (Saito et al. 2011). Auch die einmalige Applikation von 20 µl unverdünntem Toluol auf die Ohrenhaut von Swiss-Mäusen führte zu einer Zunahme der Ohrdicke. Die maximale Schwellung war 30 Minuten nach der Applikation erreicht. Die gleiche Behandlung führte bei TRPA1-Knockout-Mäusen (TRPA1 = transient receptor potential channel ankyrin type-1) zu einer sehr viel schwächeren Reaktion am Mausohr (75 % geringere Schwellung im Vergleich zu den Wildtyp-Swiss-Mäusen). Die topische Vorbehandlung mit einem TRPA1-Antagonisten führte bei den Wildtyp-Mäusen zu einer um 50 % schwächeren

Reaktion im Vergleich zur alleinigen Behandlung mit Toluol. Die Autoren schließen aus diesen Ergebnissen, dass die Aktivierung des TRPA1-Rezeptors an Symptomen der Reizstoff-vermittelten Kontakt-Dermatitis wie Ödemen, Schmerzen und neurogene Entzündungen beteiligt ist (Norões et al. 2019).

5.3.2 Auge

In einer nach OECD-Prüfrichtlinie 405 durchgeführten Studie war die Applikation von 0,1 ml Toluol bei drei von sechs Kaninchen leicht augenreizend. Die mittleren Reizindizes (nach 24, 48 und 72 Stunden) von 1,47 für Rötung und 0,39 für Schwellung führten nicht zu einer Kennzeichnung als augenreizend. In einer weiteren Studie mit drei weiblichen Kaninchen wurde Toluol nach der Applikation von 0,1 ml in den Konjunktivalsack als mäßig bis schwer augenreizend unter Beteiligung der Kornea bewertet, wobei die Effekte innerhalb von 21 Tagen reversibel waren (k. w. A.) (ECHA 2020; EU 2003).

5.4 Allergene Wirkung

5.4.1 Hautsensibilisierende Wirkung

Im Datenbestand der Europäischen Chemikalienagentur (ECHA) ist ein negativer Maximierungstest nach OECD-Prüfrichtlinie 406 aufgeführt. In diesem Test wurde die Testsubstanz als 10%ige Zubereitung in Maiskeimöl zur intradermalen und unverdünnt zur topischen Applikation eingesetzt. Die Auslösebehandlung wurde mit 25- und 50%iger Zubereitung in Maiskeimöl vorgenommen. Bei der Auswertung nach 24 und 48 Stunden fand sich bei einem der 200 Meerschweinchen eine Reaktion auf die 50%ige, nicht aber auf die 25%ige Zubereitung (ECHA 2020).

5.4.2 Atemwegssensibilisierende Wirkung

Hierzu liegen keine Studien vor.

5.5 Reproduktionstoxizität

Eine umfassende Darstellung der Studien zur Reproduktionstoxizität von Toluol ist in ATSDR (2017) beschrieben. Im Folgenden sind die wesentlichen Studien zusammenfassend dargestellt.

5.5.1 Fertilität

In wenigen Studien wurden nach Inhalation von Toluol ab Konzentrationen von 2000 ml/m³ Effekte auf die weiblichen und männlichen Geschlechtsorgane berichtet. Diese umfassten bei den weiblichen Ratten histologische Veränderungen in den Reproduktionsorganen (antrale Follikel der Ovarien mit vielen Vakuolen, lytischen Bereichen und Degeneration der Mitochondrien) (Tap et al. 1996) und bei den männlichen Ratten verminderte Anzahl, verringerte Motilität und Qualität der Spermien sowie Veränderungen bei Gewicht und Histologie der Reproduktionsorgane (Kanter 2011 c; Ono et al. 1996, 1999). Die Veränderungen der Spermienzahl und des Epididymisgewichtes wurden nach 60-tägiger Exposition vor der Verpaarung gegen 2000 ml/m³ nicht von Effekten auf die Fertilität begleitet (Ono et al. 1996). In der Mehrheit der Studien an Ratten konnten keine Effekte auf die Verpaarung und Fertilität nach wiederholter Inhalation von 1200–2000 ml/m³ nachgewiesen werden (HRC 1991; IRDC 1985; Ono et al. 1996; Roberts et al. 2003; Thiel und Chahoud 1997).

Im Konzentrationsbereich von 50 bis 12 000 ml/m³ zeigten sich bei Ratten und Mäusen keine Effekte auf die Wurfparameter (Bowen et al. 2005, 2007, 2009 a, b; Bowen und Hannigan 2013; Courtney et al. 1986; Dalgaard et al. 2001; Hougaard et al. 2003; HRC 1991, 1992; Jones und Balster 1997; Klimisch et al. 1992; Ladefoged et al. 2004; Litton Bionetics Inc 1978; Ono et al. 1995; Roberts et al. 2007; Saillenfait et al. 2007; Thiel und Chahoud 1997) trotz gleichzeitig vorliegender Maternaltoxizität in Form von verringerter Körpergewichtszunahme bei Konzentrationen von nur 1200 ml/m³ (Dalgaard et al. 2001; HRC 1991; Ono et al. 1995; Roberts et al. 2007; Saillenfait et al. 2007; Thiel und Chahoud 1997).

5.5.2 Entwicklungstoxizität

Eine umfassende Darstellung der Studien zur Entwicklungstoxizität ist im ATSDR-Bericht für Toluol beschrieben (ATSDR 2017).

Die Studien zur Entwicklungstoxizität nach Inhalation sind in [Tabelle 1](#), die nach oraler Gabe in [Tabelle 2](#) dargestellt. In [Tabelle 3](#) sind die Studien zur Entwicklungs- und Entwicklungsneurotoxizität vergleichend zusammengefasst.

5.5.2.1 Inhalative Exposition

Pränatale Entwicklung

Die bewertungsrelevanten Studien aus dem Nachtrag 1993 (Greim 1993) sind hier nochmals kurz beschrieben.

In einer nach OECD-Prüfrichtlinie 414 durchgeführten Studie wurden Sprague-Dawley-Ratten sechs Stunden täglich vom 6. bis zum 15. Gestationstag gegen Toluolkonzentrationen von 0 (Kontrolle), 250, 750, 1500 oder 3000 ml/m³ Ganzkörper-exponiert. Ab 750 ml/m³ zeigten die Muttertiere Lethargie, ab 1500 ml/m³ wiesen sie Bewegungsstörungen und Überempfindlichkeit auf akustische Reize und eine verminderte Körpergewichtsentwicklung auf. Die NOAEC für Maternaltoxizität beträgt somit 250 ml/m³. Hinweise auf Fruchtschädigung fehlten bei 250 und bei 750 ml/m³, wohingegen die embryofetale Entwicklung ab 1500 ml/m³ insofern konzentrationsbezogen beeinträchtigt war, als dass die Fetengewichte vermindert waren und die Anzahl der Feten mit nicht ossifizierten Rippen vermehrt war. Somit liegt die NOAEC für Entwicklungstoxizität bei 750 ml/m³. Es wurde keine Teratogenität festgestellt (HRC 1992; Roberts et al. 1993).

Bei Kaninchen ergab sich nach Inhalation von 0, 30, 100, 300 oder 500 ml/m³ eine NOAEC für Entwicklungs- und Maternaltoxizität von 500 ml/m³, die höchste getestete Konzentration (Klimisch et al. 1992).

In einer Übersichtsarbeit aus dem Gesundheitsministerium des US-Staates Kalifornien aus dem Jahre 1991 sind die bis dahin veröffentlichten tierexperimentellen Studien und Humanbefunde zusammengefasst und kritisch bewertet (Donald et al. 1991). Insbesondere wird auf die fragwürdige Qualität einiger Tierversuche hingewiesen, die nicht zur Risikoabschätzung und Grenzwertfindung geeignet seien. So wurde der von Courtney et al. (1986) als teratogen bezeichnete Effekt, die Verschiebung im fetalen Rippenprofil bei den gegen 400 ml/m³ exponierten Mäusen, von Donald et al. (1991) nicht als fruchtschädigender Effekt gesehen, sondern als „normales“ Profil. Daher wurden 400 ml/m³ als NOAEC für Entwicklungstoxizität für die siebenstündige tägliche Exposition von Mäusen akzeptiert.

Eine Zusammenfassung und kritische Bewertung des Sachstandes wurde auch von der American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH 1991) veröffentlicht. Dieses Expertengremium ist der Auffassung, die vorliegenden tierexperimentellen Daten würden zeigen, dass der Embryo nicht empfindlicher auf Toluol reagiert als die Muttertiere.

Im Folgenden sind weitere Studien, die im niedrigen Konzentrations- bzw. Dosisbereich durchgeführt worden sind, summarisch beschrieben.

In Studien zur pränatalen Entwicklungstoxizität bei Ratten treten bis 750 ml/m³ (HRC 1991, 1992; Litton Bionetics Inc 1978; Ono et al. 1995; Roberts et al. 2007; Saillenfait et al. 2007; Thiel und Chahoud 1997), bei Mäusen bis 400 ml/m³ (Donald et al. 1991; Tsukahara et al. 2009; Win-Shwe et al. 2012 a, b; Yamamoto et al. 2009) und bei Kaninchen bis 500 ml/m³ (höchste Konzentration; Klimisch et al. 1992) nach täglich sechs- bis siebenstündiger Exposition während der Gestation keine Effekte auf die Feten und die Muttertiere auf. Ab 1000 bis 3500 ml/m³ kommt es bei Ratten zu erniedrigtem Gewicht, verzögertem Wachstum und verzögerter skelettaler Entwicklung der Feten bei gleichzeitiger Maternaltoxizität (erniedrigtes Körpergewicht) (HRC 1992; Ono et al. 1995; Roberts et al. 2007; Saillenfait et al. 2007; Thiel und Chahoud 1997), ausgenommen in einer Studie, in der bei 1200 ml/m³ keine Veränderung der Körpergewichtszunahme bei den Muttertieren festgestellt werden konnte (Hass et al. 1999). Im Tierexperiment zeigt sich bei bis zu 3500 ml/m³ keine Embryoletalität und keine abortive Wirkung durch Toluol. Bis zu dieser Konzentration wurde auch keine Teratogenität festgestellt (ATSDR 2017).

Postnatale Entwicklung

Inhalationsstudien an Ratten mit bis zu 1200 ml Toluol/m³, sechs Stunden lang täglich während der Gestation und zum Teil im frühen postnatalen Entwicklungszeitraum, erbrachten wenig Evidenz für adverse Effekte bezüglich der Reproduktionstoxizität im Erwachsenenalter. Weibliche Nachkommen von Muttertieren, die 1200 ml Toluol/m³ sechs Stunden pro Tag vom 9. bis zum 21. Gestationstag inhaliert hatten, zeigten eine statistisch signifikante Verzögerung der Vaginalöffnung im Vergleich zur Kontrolle. Es wurden aber bis zur höchsten Konzentration von 1200 ml/m³ keine weiteren substanzbedingten Effekte auf Verpaarung, Fertilität und Wurfparameter der männlichen und weiblichen Nachkommen festgestellt (Thiel und Chahoud 1997). Es traten keine substanzbedingten Veränderungen bei männlichen und weiblichen Nachkommen von Muttertieren auf, die gegen 1200 ml Toluol/m³ sechs Stunden lang täglich vom 7. bis zum 18. Gestationstag exponiert waren (Hass et al. 1999).

Tab. 1 Inhalationsstudien mit niedrigen Toluolkonzentrationen zur Entwicklungstoxizität und Entwicklungsneurotoxizität

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Sprague Dawley, 15–19 ♀	GD 6–20 , 0, 500, 1500 ml/m ³ , Ganzkörper, 6 h/d, Reinheit: 99,7 % Untersuchung: GD 21 untersuchte Parameter ähnlich OECD-Prüfrichtlinie 414, Entwicklungstoxizität	500 ml/m³: NOAEC Entwicklungstoxizität, NOAEC Maternaltoxizität 1500 ml/m³: Muttertiere: KG-Zunahme ↓; Feten: KG ↓; keine Embryoletalität od. Teratogenität	Saillenfait et al. 2007
Ratte, CD Sprague Dawley BR VAF/ Plus, 12 ♀	GD 6–15 , 0, 250, 750, 1500, 3000 ml/m ³ , Ganzkörper, 6 h/d, Entwicklungstoxizität	250 ml/m³: NOAEC Maternaltoxizität; 750 ml/m³: NOAEC Entwicklungstoxizität; ab 750 ml/m³: Muttertiere: Lethargie; ab 1500 ml/m³: Muttertiere: Bewegungsstörungen, Überempfindlichkeit auf akustische Reize, KG ↓; Feten: KG ↓, Zahl der Feten mit nicht ossifizierten Rippen ↑	Greim 1993; HRC 1992; Roberts et al. 1993, 2007
Ratte, Wistar, 16 ♀	GD 7–20 , 0, 1500 ml/m ³ , Ganzkörper, 6 h/d, Entwicklungsneurotoxizität	1500 ml/m³: NOAEC Entwicklungsneurotoxizität, NOAEC Maternaltoxizität, Nachkommen: KG-Zunahme ↓ (PND 7–23), KG um 8–9 % ↓, nicht statistisch signifikant (PND 0), Kleinhirn: Caspase-3 Aktivität ↑ (nur PND 6); 1 ♀/Wurf (12 Würfe): Keine Effekte auf Lernen und Gedächtnis im Openfield- und Morris- Water-Maze-Test als Adulte	Hougaard et al. 2005; Ladefoged et al. 2004
Ratte, Sprague Dawley, 11 ♀	GD 7–17 , 0, 600, 2000 ml/m ³ , Ganzkörper, 6 h/d, Reinheit 98 %, Entwicklungs- und Entwicklungsneurotoxizität	600 ml/m³: NOAEC Entwicklungstoxizität, Muttertiere: Hb ↓, KG ↓; 2000 ml/m³: NOAEC Entwicklungsneurotoxizität, Muttertiere: KG ↓, Futterverbrauch ↓; Feten: KG ↓ um 12 % bei der Geburt, KG ↓ am PND 21: ♂: um 7 %, ♀: um 5,5 %; keine Embryoletalität, keine Teratogenität; Entwicklungsneurotoxizität: keine Effekte bei Testung von Reflexen, Motoraktivität, Lernen (Biel Water Maze) und motorische Koordination (Rotarod)	Ono et al. 1995
Ratte, Wistar, 18 ♀, 14 ♀ in der Kontrolle	GD 7–PND 18 , 0, 1200 ml/m ³ , Ganzkörper, 6 h/d, Entwicklungs- und Entwicklungsneurotoxizität	1200 ml/m³: NOAEC Maternaltoxizität, Nachkommen: KG ↓ um 12 % (5,5 g versus 6,3 g Kontrolle) (PND 0), Reflex-Entwicklung ↓ (auditive Schreckreaktion: 24 versus 57 % PND 13); Zunahme an motorischer Aktivität (Openfield); ♀: Zeitverlängerung im Morris-Water-Maze-Test (3,5 Monate)	Hass et al. 1999

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Wistar, 23–29 ♀, 38 ♀ in der Kontrolle	GD 9–21, 0, 300, 600, 1000, 1200 ml/m ³ , Ganzkörper, 6 h/d, Entwicklungs- und Entwicklungsneurotoxizität	600 ml/m³: NOAEC Entwicklungstoxizität, NOAEC Maternaltoxizität; 1000 ml/m³: Muttertiere: KG ↓ um 6 %, KG-Zunahme ↓ um 13,6 %; Feten: KG ↓ um 8 % an PND 1 (5,7 versus 6,2 g in der Kontrolle), ab PND 7 reversibel; 1200 ml/m³: NOAEC Entwicklungsneurotoxizität, Muttertiere: KG ↓ um 7,5 %, KG-Zunahme ↓ um 18 %; Feten: KG ↓ um 8 % an PND 1 (5,7 versus 6,2 g in der Kontrolle), ab PND 14 reversibel; Mortalität während der Laktation ↑, Schneidezahn-Durchbruch u. Vaginalöffnung bei ♀ verzögert; keine Effekte auf die physische postnatale Entwicklung und auf Verhaltenstests (Rotarod, motorische Aktivität, Lernen und Gedächtnis im Openfield- und Morris-Water-Maze-Test)	Thiel und Chahoud 1997
Kaninchen, Himalaya, Chbb:HM, 15–20 ♀	GD 6–18, 0, 30, 100, 300, 500 ml/m ³ , Ganzkörper, 6 h/d, Reinheit: 99,9 %, Entwicklungstoxizität	500 ml/m³: NOAEC Entwicklungstoxizität, NOAEC Maternaltoxizität	Greim 1993; Klimisch et al. 1992
Maus, CD-1, 16 ♀, 15 ♀ in der Kontrolle	GD 6–16, 0, 200, 400 ml/m ³ , Ganzkörper, 7 h/d, Entwicklungstoxizität	200 ml/m³: Feten: Zahl der Würfe mit erweiterten Nierenbecken erhöht, nicht in höherer Konzentration; 400 ml/m³: NOAEC Entwicklungstoxizität, Verschiebung des fetalen Rippenprofils	Courtney et al. 1986; Donald et al. 1991; Greim 1993
Maus, CD-1, 13 ♀	GD 12–17, 0, 200, 400, 2000 ml/m ³ , Ganzkörper, 3×1 h pro d, Entwicklungs- und Entwicklungsneurotoxizität	400 ml/m³: NOAEC Entwicklungsneurotoxizität/ Entwicklungstoxizität; 2000 ml/m³: NOAEC Maternaltoxizität; Nachkommen: KG/Fetus PND 0 ↓ (bestimmt durch Wiegen einzelner Feten des Wurfes, aber KG des Wurfes nicht unterschiedlich zur Kontrolle), KG-Zunahme ↓ (PND 1–20), physische Entwicklung untersucht: Leistung in den Verhaltenstests ↓ (Aufrichtreflex, Griffstärke, “inverted screen”)	Jones und Balster 1997

GD: Gestationstag; Hb: Hämoglobin; PND: Postnataltag

5.5.2.2 Orale Gabe

Die Studien zur Entwicklungstoxizität nach oraler Gabe sind in [Tabelle 2](#) und [3](#) dargestellt.

In Screeningstudien nach Chernoff und Kavlock zeigten sich bei Mäusen nach Schlundsondengabe von 1800 mg/kg KG und Tag vom 8. bis zum 12. Gestationstag (Seidenberg et al. 1986) bzw. 2350 mg/kg KG und Tag vom 7. bis 14. Gestationstag (NIOSH 1983) keine Effekte auf die Wurfparameter und viszerale Fehlbildungen.

In einer Studie mit Schlundsondengabe an die Muttertiere vom 16. bis zum 19. Gestationstag wurden bei Rattenfeten dilatierte Nierenbecken bei 1250 mg/kg KG und Tag festgestellt (Warner et al. 2008). Der NOAEL für Entwicklungstoxizität liegt bei 750 mg/kg KG und Tag (siehe [Tabelle 2](#)).

Tab. 2 Studien zur Entwicklungstoxizität und Entwicklungsneurotoxizität mit oraler Gabe von Toluol

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Sprague Dawley, 5 ♀	GD 16–19, 0, 250, 750, 1250 mg/kg KG u. d. Gavage, Entwicklungstoxizität	750 mg/kg KG: NOAEL Entwicklungstoxizität, NOAEL Maternaltoxizität; 1250 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> Niere: angeschwollene Tubuli, Gewebadhäsion in den Bowmanschen Kapseln ↑, <u>Feten:</u> Inzidenz an dilatierten Nierenbecken ↑	Warner et al. 2008
Maus, CD-1, 10 ♀	GD 7–14, 0, 2350 mg/kg KG u. d. Gavage, Screeningtest nach Chernoff und Kavlock	2350 mg/kg KG: NOAEL Embryotoxizität u. viszerale Fehlbildungen, NOAEL Maternaltoxizität, Dosisfindungsstudie: ab 5890 mg/kg KG u. Tag, 8 Tage: Letalität der weiblichen Maus	NIOSH 1983
Maus, ICR/SIM, 30 ♀	GD 8–12, 0, 1800 mg/kg KG u. d. Gavage, Screeningtest nach Chernoff und Kavlock	1800 mg/kg KG: NOAEL Embryotoxizität u. viszerale Fehlbildungen, NOAEL Maternaltoxizität	Seidenberg et al. 1986
Maus, Nya:NYLAR, 12 ♀	GD 0–21 u. PND 0–55, 0, 16, 80, 400 mg/l im Trinkwasser (0; 2,9; 14,4; 72 mg/ kg KG u. d.), postnatale Entwicklungs- u. Entwicklungsneurotoxizität	14,4 mg/kg KG: NOAEL Entwicklungsneurotoxizität; 72 mg/kg KG: NOAEL für postnatale Entwicklung, <u>Nachkommen:</u> Abnahme der Habituation während einer 20-minütigen Openfield-Aktivität, keine Änderungen in der physischen postnatalen Entwicklung (Augenöffnung, Loslösung der Ohrmuschel), Aufrichtreflex od. Schreckreaktion), <u>Anmerkung:</u> Abnahme der Habituation im Openfield-Test kein solider Endpunkt, Auswertung nicht verblindet; keine Dosis- Wirkungs-Beziehung im Rotarod-Test; Studie fragwürdig	Kostas und Hotchin 1981

GD: Gestationstag; MTD: maximal tolerable Dosis; PND: Postnataltag

5.5.2.3 Entwicklungsneurotoxizität

Die Studien zur Entwicklungsneurotoxizität sind in [Tabelle 1](#), [2](#) und [3](#) dargestellt.

Inhalative Exposition

Bei Ratten wiesen die Nachkommen, deren Muttertiere sechs Stunden lang vom 7. bis zum 17. Gestationstag gegen 600 oder 2000 ml Toluol/m³ exponiert waren, keine statistisch signifikanten Unterschiede zu den Kontrolltieren bei folgenden Parametern auf: postnatale Überlebensfähigkeit oder physische Entwicklung bis zum 21. Postnataltag, Reflextests vom 6. bis zum 10. Postnataltag, motorische Aktivität während der vierten Postnatalwoche, Balance auf einer rotierenden Scheibe (Rotarod) in der 7. Postnatalwoche und Lernen im Biel-Water-Maze-Test während der 6. Postnatalwoche (Ono et al. 1995). Damit ergibt sich eine NOAEC für Entwicklungsneurotoxizität von 2000 ml/m³, der höchsten getesteten Konzentration.

Keine konsistenten Konzentrations-abhängigen Defizite wurden in den Verhaltenstests an Ratten bei den Reflexen am 3. Postnataltag, der Balance auf der rotierenden Scheibe (Rotarod) am 18. Postnataltag, der motorischen Aktivität vom 31. bis zum 34. Postnataltag und den Tests auf Lernen und Gedächtnis (Openfield- und Morris-Water-Maze-Test) vom 70. bis zum 81. Postnataltag bei den Nachkommen, deren Muttertiere gegen 300, 600, 1000 oder 1200 ml Toluol/m³ sechs Stunden lang pro Tag vom 9. bis zum 21. Gestationstag exponiert waren, festgestellt (Thiel und Chahoud 1997). Es leitet sich eine NOAEC für Entwicklungsneurotoxizität von 1200 ml/m³, der höchsten Konzentration, ab.

Keine Veränderungen wurden bei Ratten im Morris-Water-Maze-Test und beim Openfield-Test bei weiblichen Nachkommen festgestellt, deren Muttertiere gegen 1500 ml Toluol/m³ sechs Stunden lang pro Tag vom 7. bis zum 20. Gestationstag exponiert waren (Hougaard et al. 2005; Ladefoged et al. 2004).

Die Exposition weiblicher Ratten gegen 1200 ml Toluol/m³ sechs Stunden pro Tag vom 7. Gestationstag bis zum 18. Postnataltag rief ein statistisch signifikant reduziertes Körpergewicht von der Geburt bis zum 10. Postnataltag, eine verzögerte Entwicklung der Reflexe zwischen 2. und 13. Postnataltag und eine Zunahme an motorischer Aktivität im Openfield-Test am 28. Postnataltag bei den männlichen und weiblichen Nachkommen im Vergleich zu den Kontrolltieren hervor. Eine statistisch signifikant erhöhte Latenzzeit zum Auffinden der verborgenen Plattform im Morris-Water-Maze-Test nach Neuordnung der Plattform wurde bei den 13 Wochen alten weiblichen Nachkommen nur auf Nachkommenbasis, aber nicht auf Wurfbasis festgestellt. Keine statistisch signifikanten Effekte wurden im Rotarod-Test, im Hörtest im Alter von vier Monaten und bei der physischen Entwicklung (Augenöffnung etc.) beobachtet (Hass et al. 1999).

Bei Mäusen wiesen die Nachkommen der Muttertiere, die 60 Minuten lang, dreimal am Tag vom 12. bis zum 17. Gestationstag gegen 2000 ml Toluol/m³ exponiert waren, ein niedrigeres Körpergewicht zwischen dem 2. und 8. Postnataltag im Vergleich zu den Kontrolltieren auf. Zudem zeigte sich eine statistisch signifikant verlängerte Latenzzeit für den Aufrichtreflex am 1., 5. und 6. Postnataltag, verringerte Griffstärke der Vordergliedmaßen vom 5. bis 7. und vom 9. bis 11. Postnataltag sowie eine zunehmende Latenzzeit im „inverted screen test“ vom 14. bis 17. Postnataltag. Keine statistisch signifikanten Effekte bei diesen Endpunkten, getestet nach demselben Protokoll, wurden bei Expositionen gegen 200 oder 400 ml Toluol/m³ beobachtet. Es zeigten sich keine Unterschiede im Erreichen der Entwicklungsmeilensteine wie Schneidezahndurchbruch und Augenöffnung (Jones und Balster 1997). Aus dieser Studie lässt sich eine NOAEC für Entwicklungsneurotoxizität von 400 ml/m³ ableiten.

Orale Gabe

Die Entwicklung des Verhaltens von Mäusen wurde nach Gabe von 0, 16, 80, 400 mg/l Toluol im Trinkwasser (entspricht 0; 2,9; 14,4; 72 mg Toluol/kg KG und Tag) vom 0. Gestationstag bis zum 55. Postnataltag untersucht. Eine signifikant reduzierte Habituation während einer 20-minütigen Openfield-Aktivität wurde in der höchsten Dosisgruppe von 72 mg/kg KG und Tag festgestellt. Die Autoren berichten, dass der NOAEL bzw. der LOAEL in diesem Entwicklungstoxizitätstest 14,4 und 72 mg/KG KG und Tag betragen, basierend auf der längeren Zeit zur Gewöhnung an die Umgebung im Openfield-Test. Die intraperitoneale Gabe einer akuten Dosis, die der durchschnittlichen Toluol-Dosis über das Trinkwasser in der fünften Behandlungswoche entsprach, führte zu keinen Effekten im Openfield-Test (Kostas und Hotchin 1981). Wie in [Tabelle 2](#) bereits erläutert, ist die Abnahme der Habituation im Openfield-Test kein solider Endpunkt und zeigte sich nicht nach i.p. Gabe. Zudem war die Auswertung nicht verblindet, und es ist keine Dosis-Wirkungs-Beziehung beim Rotarod-Test gegeben. Insgesamt erscheinen die Ergebnisse dieser Studie als fragwürdig.

Untersuchungen an Tieren zur Modellierung des Lösungsmittel-Missbrauchs

Es wurde eine Reihe von Studien an Ratten durchgeführt, um an diesem Modell den Lösungsmittel-Abusus während der Schwangerschaft zu untersuchen. Die Frage war, ob wiederholte kurze Expositionen gegen sehr hohen Konzentrationen während der Gestation entwicklungstoxische Effekte hervorrufen können. Nach Expositionen gegen 8000 bis 16 000 ml Toluol/m³, für 15 bis 30 Minuten, zweimal täglich vom 6. bis zum 20. Gestationstag, wurde Maternaltoxizität in Form von reduzierter Körpergewichtszunahme und bei den Feten eine Abnahme des Körpergewichts, der Scheitel-Steißbeinlänge und des postnatalen Wachstums festgestellt. Zudem war das Plazentagewicht reduziert. Die Zahl der Würfe mit fehlgebildeten und verkümmerten oder toten Feten nahm zu und bei den Nachkommen zeigte sich eine Beeinträchtigung der Motoraktivität, des Lernens und der Gedächtnisleistung und ein verändertes Belohnungsverhalten mit erhöhter Impulsivität (Bowen et al. 2005, 2007, 2009 a, b; Bowen und Hannigan 2013; Callan et al. 2017; Jarosz et al. 2008). Es wurden keine Veränderungen bei der physischen postnatalen Entwicklung festgestellt (Bowen et al. 2005; Bowen und Hannigan 2013).

Zusammenfassung zur Entwicklungsneurotoxizität

In wenigen Verhaltenstests (Aufrichtreflex, Griffstärke, “inverted screen“) zeigten sich Defizite bei Nachkommen von Mäusen, die über einen Zeitraum von 60 Minuten dreimal täglich vom 12. bis zum 17. Gestationstag 2000 ml/m³ inhalierten, nicht aber bei 400 ml/m³ (Jones und Balster 1997). Bei Ratten hingegen, die pro Tag sechs Stunden lang während der Gestation gegen Konzentrationen von bis zu 2000 ml/m³ exponiert waren, wurden bei den Nachkommen in Verhaltenstests keine Effekte festgestellt (Hougaard et al. 2005; Ladefoged et al. 2004; Ono et al. 1995; Thiel und Chahoud 1997). Eine Beeinträchtigung der Motoraktivität, Defizite beim Lernen und beim Gedächtnis, eine steigende Zahl an Fehlbildungen und fetaler Tod wurden bei Ratten beobachtet, die während der Gestation gegen höhere Konzentrationen exponiert waren, die den Lösungsmittel-Abusus nachstellen sollten (8000 bis 16 000 ml/m³, 15 bis 30 min pro Tag) (Bowen et al. 2005, 2009 b; Bowen und Hannigan 2013; Callan et al. 2017).

Tab. 3 Vergleich der Entwicklungs- und Entwicklungsneurotoxizität bei Ratte und Maus

Entwicklungstoxizität	Entwicklungsneurotoxizität	Bemerkung	Literatur
Maus			
400 ml/m³: NOAEC 2000 ml/m ³ : KG-Zunahme ↓ (PND 1–20)	400 ml/m³: NOAEC 2000 ml/m ³ : Leistung in den Verhaltenstests ↓ (Aufrichtreflex, Griffstärke, “inverted screen“)	Großer Abstand zwischen NOAEC und LOAEC, deswegen höhere NOAEC möglich. Bestimmung der durchschnittlichen KG der Nachkommen fragwürdig; nur ein weibliches u. ein männliches Tier pro Wurf gewogen, kein klarer Effekt auf das Gewicht der Feten, Feten zwar leichter, aber Aufhebung des ersten Effekts durch größere Wurfgröße	Jones und Balster 1997
72 mg/kg KG u. d. NOAEL postnatale Entwicklungstoxizität (höchste Dosis; Meilensteine der Entwicklung)	14,4 mg/kg KG u. d. NOAEL 72 mg/kg KG u. d. Nachkommen: Abnahme der Habituation während einer 20-minütigen Openfield-Aktivität	Abnahme der Habituation im Openfield-Test kein solider Endpunkt, Auswertung nicht verblindet, keine Dosis-Wirkungs-Beziehung im Rotarod-Test, Studie fragwürdig	Kostas und Hotchin 1981
Ratte			
1500 ml/m ³ : KG-Zunahme ↓ (PND 7–23), KG um 8–9% ↓, nicht statistisch signifikant (PND 0)	1500 ml/m³: NOAEC (nur eine Konzentration)		Hougaard et al. 2005; Ladefoged et al. 2004
600 ml/m³: NOAEC 2000 ml/m ³ : KG ↓ um 12% bei der Geburt	2000 ml/m³: NOAEC (höchste Konzentration)		Ono et al. 1995
1200 ml/m ³ : KG ↓ um 12% (5,5 g versus 6,3 g Kontrolle) (PND 0)	1200 ml/m ³ : Reflex-Entwicklung ↓ (auditive Schreckreaktion: 24 versus 57% PND 13)	Überprüft durch Thiel und Chahoud (1997): keine Bestätigung der Effekte auf die Entwicklungsneurotoxizität von Hass et al. (1999)	Hass et al. 1999
600 ml/m³: NOAEC 1000 ml/m ³ : KG ↓ um 8% (5,7 g versus 6,2 g Kontrolle) (PND 1) 1200 ml/m ³ : KG ↓; Entwicklung verzögert bei Schneidezahndurchbruch, Vaginalöffnung	1200 ml/m³: NOAEC (höchste Konzentration) , keine Effekte in Verhaltenstests bis 1200 ml/m ³	ausführlich u. gut durchgeführte Studie mit hohem Stellenwert	Thiel und Chahoud 1997

5.5.2.4 PBPK-Modelle

Im ATSDR-Bericht (ATSDR 2017) sind mehrere PBPK-Modelle dargestellt. Zwei Studien der gleichen Arbeitsgruppe haben die Blutkonzentrationen nach Inhalation bei Mensch und Ratte untersucht. Bei der Ratte ist im Vergleich zum Menschen bei einer gleich hohen Konzentration von 100 ml/m³ nach drei- bis vierstündiger Exposition etwas mehr Toluol im Blut (2–3 mg/l bei Ratte, Mensch ca. 1 mg/l) (Benignus et al. 2006; Kenyon et al. 2008). Bei der Wistar-Ratte führen 125 ml/m³ nach vierstündiger Inhalation zu einem Blutspiegel von 2 mg/l (Kishi et al. 1988).

Damit wird bei der Ratte im Vergleich zum Menschen bei etwa gleich hoher Exposition eine etwas höhere Blutkonzentration erreicht. Ein deutlicher Unterschied ist damit nicht zu belegen.

5.6 Genotoxizität

Einige der Studien wurden in der Begründung von 1986 (Henschler 1986) schon ausführlich beschrieben, werden hier zum Vergleich aber nochmals mit aufgeführt.

5.6.1 In vitro

Toluol induzierte keine differentielle Abtötung, SOS-Antwort oder Prophageninduktion in Bakterien (McCarroll et al. 1981 a, b; Nakamura et al. 1987; Rossman et al. 1991).

Genmutationstests in *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538, UTH8413 und UTH8414 mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung (Ratte, Hamster) waren negativ für Toluol bei Konzentrationen von bis zu 5000 µg/Platte (LC₅₀: ca. 4350 µg/Platte) (Bos et al. 1981; Connor et al. 1985; Haworth et al. 1983; Litton Bionetics Inc 1983; Nestmann et al. 1980; NTP 1990; Spanggard et al. 1982). Da Toluol leichtflüchtig ist, sind besonders die Flüssigpräinkubationstests (Haworth et al. 1983; Litton Bionetics Inc 1983; NTP 1990) für die Beurteilung von Bedeutung. Die Studie von Litton Bionetics Inc (1983) erbrachte jedoch starke Schwankungen der Ergebnisse und kann daher nicht für die Beurteilung herangezogen werden.

In *Saccharomyces cerevisiae* verursachte Toluol bis zur LC₅₀ keine mitotische Genkonversion in einem Suspensionstest (Litton Bionetics Inc 1983). Da in einem von zwei Experimenten mit metabolischem Aktivierungssystem die Positivkontrolle weniger Revertanten als die Lösungsmittelkontrolle induzierte, wird dieser Test als nicht valide eingestuft und nicht zur Beurteilung herangezogen.

Toluol induzierte DNA-Strangbrüche in humanen HL-60-Zellen im Comet Assay. Die eingesetzten Konzentrationen verursachten 20 % (105 µg/ml) und 50 % (253 µg/ml) Zytotoxizität. Der Anteil apoptotischer Zellen, bestimmt mittels Durchflusszytometrie, sowie die Expression Apoptose-induzierender Proteine lag nach Toluol-Behandlung im Vergleich zur Kontrolle ebenfalls höher (Sarma et al. 2011).

In Rattenhepatozyten führte die Behandlung mit Toluol zu statistisch signifikant mehr DNA-Einzelstrangbrüchen (alkalische Elution) ab Konzentrationen von 2,76 µg/ml (Sina et al. 1983). Der eingesetzte Glutamat-Oxalacetat-Transaminase-Test zur Messung der Zytotoxizität scheint keine verlässlichen Ergebnisse zu liefern, weshalb keine valide Aussage zur Zytotoxizität der eingesetzten Konzentrationen gemacht werden kann (siehe Tabelle 4). Das Ergebnis wird deshalb nicht zur Beurteilung herangezogen.

Die 100-fache Konzentration von 276 µg/ml induzierte in humanen Fibroblasten weder DNA-Strangbrüche (Nick-Translation) noch anschließende DNA-Reparatur (Snyder und Matheson 1985).

Toluol induzierte keine SCE in CHO-Zellen bis zu stark zytotoxischen Konzentrationen mit oder ohne Zugabe eines metabolischen Aktivierungssystems (NTP 1990) und in primären menschlichen Lymphozyten in Konzentrationen von 4,6–92 (Richer et al. 1993) und 15,2–1520 µg/ml (Gerner-Smidt und Friedrich 1978). Toluol hatte keinen Effekt auf die Häufigkeit von CA in CHO-Zellen (Richer et al. 1993) und in primären menschlichen Lymphozyten im gleichen Konzentrationsbereich, inhibierte jedoch deren Zellwachstum (Gerner-Smidt und Friedrich 1978).

In einem Mikronukleustest mit Cytochalasin B in verschiedenen humanen Zelllinien stieg die Anzahl Toluol-induzierter Mikronuklei mit zunehmender metabolischer Kompetenz der Zellen. Transfizierte humane Lymphoblasten mit erhöhter CYP1A1-Aktivität und stabiler cDNA-Expression verschiedener xenobiotischer Enzyme (CYP2E1 in 2hE1-Zellen; CYP1A2, CYP2A6, CYP3A4, CYP2E1 und mikrosomale Epoxidhydrolase in MCL-5-Zellen) generierten statistisch signifikant höhere Häufigkeiten von Mikronuklei verglichen mit der parentalen AHH-1-Zelllinie, welche nur eine nativ niedrige CYP1A1-Aktivität aufweist. Alle Zelllinien bildeten mehr Kinetochor- und Zentromer-negative als -positive Mikronuklei; letztere waren in allen Zelllinien nur bei Zytotoxizitäten über 62 % (5 mM) statistisch signifikant höher als die der Kontrolle. Die Zytotoxizität, gemessen als Anteil binukleärer Zellen, stieg konzentrationsabhängig von

3–11 % bei 0,01 mM und auf 62–75 % bei 5 mM (AHH-1: 62 %; h2E1: 75 %; MCL-5: 66 %) in Relation zur Kontrolle (Doherty et al. 1996).

Es fanden sich keine erhöhten Werte an Mikronuklei in humanen Blutlymphozyten von vier Spendern nach Behandlung mit 9,2–184 µg Toluol/ml ohne Zugabe eines metabolischen Aktivierungssystems (Zarani et al. 1999). Das Ergebnis in Anwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems wird als nicht valide bewertet, da nur einmalig Lymphozyten eines Spenders ausgewertet wurden.

Im TK^{+/–}-Mutationstest in L5178Y-Zellen war Toluol in einer Studie mit und ohne Zugabe eines metabolischen Aktivierungssystems nur in stark zytotoxischen Konzentrationen positiv, wobei keine Unterscheidung zwischen kleinen und großen Kolonien erfolgte. Statistische Signifikanz wurde ab 200 µg Toluol/ml erreicht, was gleichzeitig die Viabilität auf 30–40 % reduzierte. Die Autoren führen zusätzlich die Möglichkeit einer Toluol/Wasser-Emulsionsbildung an, was die eingesetzten Konzentrationen verändern würde (McGregor et al. 1988; NTP 1990).

In allen weiteren In-vitro-Studien, die ebenfalls Konzentrationen in diesem Bereich und höher in Zellkulturmedium einsetzen, wird keine Emulsionsbildung beschrieben und dieser Punkt generell nicht diskutiert.

Ein weiterer TK^{+/–}-Mutationstest im selben Zelltyp war mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung bis zu stark zytotoxischen Konzentrationen negativ. Die Viabilität bei der höchsten Konzentration von 260 µg/ml lag unter 10 % (Litton Bionetics Inc 1983).

Tab. 4 In-vitro-Genotoxizität von Toluol

Endpunkt	Testsystem	Konzentration	wirksame Konz.	Zytotoxizität	Ergebnis		Anmerkungen	Literatur
					–m. A.	+m. A.		
Prophagen-induktion	E. coli WP2s (λ) (Mikrotiterplatte)	1. Exp.: 0; 0,78–100 µg/Vertiefung 2. Exp.: höchste eingesetzte Konzentration limitiert durch Löslichkeit oder Zytotoxizität, k. w. A.	–	k. A.	–	–		Rossmann et al. 1991
Prophagen-induktion und UMU-Test	S. typhimurium TA1535/pSK 1002 <i>umu</i>	≤100 µg/ml	–	k. A.	–	–		Nakamura et al. 1987
differentielle Abtötung (Rec-Assay)	B. subtilis <i>rec^{+/–}</i>	≤20 000 µg/Vertiefung	–	bei 20 000 µg/Vertiefung	–	–		McCarroll et al. 1981 a
	E. coli WP2, WP2 <i>uvrA[–]</i> , WP67 <i>uvrA[–] pol[–]</i> , CM611 <i>uvrA[–] lexA[–]</i> , WP100 <i>uvrA[–] recA[–]</i> , W3110 <i>polA⁺</i> , p3478 <i>polA[–]</i>	≤60 000 µg/Vertiefung	–	bei 60 000 µg/Vertiefung	–	–		McCarroll et al. 1981 b
Genmutation (Flüssigprä-inkubations-test)	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537	0, 10–1000 µg/Platte	–	bei 1000 µg/Platte	–	–	S9-Mix: Ratte, Hamster	Haworth et al. 1983; NTP 1990
Genmutation (Platteninkorporation)	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	k. A.	–	bei 4300 µg/Platte	–	–		Nestmann et al. 1980

Tab. 4 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konzentration	wirksame Konz.	Zytotoxizität	Ergebnis		Anmerkungen	Literatur
					-m. A.	+m. A.		
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0, 100–2000 µg/ Platte	–	0–20 % bei 2000 µg/Platte	–	–	S9-Mix: Ratte, Aroclor- und unbehandelt	Bos et al. 1981
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0, 10–5000 µg/ Platte	–	k. A.	–	–		Spanggard et al. 1982
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538, UTH8413, UTH8414	0, 50–2000 µg/ Platte	–	bei 2000 µg/ Platte	–	–	Reinheit >99 %	Connor et al. 1985
Genmutation (Platteninkor- poration und Flüssigpräin- kubationstest)	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0; 0,87–4350 µg (0,001–5 µl)/Platte	–	C _{max} =LD ₅₀	– ^{a)}	– ^{a)}		Litton Bionetics Inc 1983
Mitotische Genkonversion	Saccharomyces cerevisiae D4	0; 0,1375–1,1 % (v/v)	–	C _{max} =LD ₅₀	–	(–) ^{b)}		Litton Bionetics Inc 1983
DNA- Strangbrüche (Comet-Assay)	humane akute myeloische Leukämiezellen (HL-60)	0; 1,14; 2,74 mM (105, 253 µg/ml)	≥105 µg/ml	105 µg/ml: IC ₂₀ ; 253 µg/ml: IC ₅₀	+	n. u.		Sarma et al. 2011
DNA-Strang- brüche (alkalische Elution)	Rattenhepatozyten	0; 0,03; 0,3; 3 mM (2,76; 27,6; 276 µg/ml)	≥2,76 µg/ml	2,76; 27,6 µg/ ml: ca. 85 % 276 µg/ml: ca. 50 %	+ ^{c)}	n. u.	Zytotox. mittels Glutamat- Oxalacetat- Transaminase- Test	Sina et al. 1983
DNA- Strangbrüche (Nick-Trans- lation)	humane Fibroblasten	0, 3 mM (276 µg/ml)	–	k. A.	–	n. u.		Snyder und Matheson 1985
SCE	CHO	0, 16–5000 µg/ml	–	–m. A.: ≥400 µg/ml +m. A.: ≥500 µg/ml	–	–		NTP 1990
	primäre humane Lymphozyten (Blut)	0; 15,2; 152; 1520 µg/ml	–	ab 152 µg/ ml ≥5 % Zell- wachstums- inhibition; k. w. A	–	n. u.		Gerner-Smidt und Friedrich 1978
	primäre humane Lymphozyten (Blut)	0; 0,05; 0,5; 1; 2,5 mM (4,6; 46; 92; 230 µg/ml)	–	4,6 µg/ml: ca. 10 %; 230 µg/ml: 100 %	–	n. u.		Richer et al. 1993
CA	CHO	0, 50–1600 µg/ml	–	–	–	–		NTP 1990

Tab. 4 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konzentration	wirksame Konz.	Zytotoxizität	Ergebnis		Anmerkungen	Literatur
					-m. A.	+m. A.		
	primäre humane Lymphozyten (Blut)	0; 15,2; 152; 1520 µg/ml	–	ab 152 µg/ml ≥5 % Zellwachstumshemmung; k. w. A.	–	n. u.		Gerner-Smidt und Friedrich 1978
MN (Kinetocho- und Zentromer-Labeling)	humane Lymphoblasten (AHH-1)	0; 0,01; 0,1; 1; 2; 5 mM (0,92; 9,2; 92; 184; 460 µg/ml)	K-ve/ K+ve: 5 mM	5 mM: 62 %	+	n. u.	stat. sign. pos. nur bei starker Zytotox.	Doherty et al. 1996
	humane Lymphoblasten (MCL-5)	0; 0,01; 0,1; 1; 2; 5 mM (0,92; 9,2; 92; 184; 460 µg/ml)	K-ve: 1 mM; K+ve: 5 mM	1 mM: 32 %; 5 mM: 66 %	+	n. u.		
	humane Lymphoblasten (h2E1)	0; 0,01; 0,1; 1; 2; 5 mM (0,92; 9,2; 92; 184; 460 µg/ml)	K-ve: 1 mM; K+ve: 5 mM	1 mM: 36 %; 5 mM: 75 %	+	n. u.		
MN	humane Lymphozyten	0; 0,1; 0,5; 1; 2 mM (9,2; 46; 92; 184 µg/ml)	–	k. A.	–	(-) ^{d)}		Zarani et al. 1999
Genmutation (TK ^{+/–})	Mauslymphomzellen (L5178Y)	–m. A.: 0; 31,25–500 µg/ml; +m. A.: 0; 6,25–250 µg/ml	–/+m. A.: ≥200 µg/ml	200 µg/ml: ≥60–70 %; ab 275 µg/ml: letal	(+) ^{e)}	(+) ^{e)}	stat. sign. pos. nur bei starker Zytotox.	McGregor et al. 1988; NTP 1990
	Mauslymphomzellen (L5178Y)	0; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,3 µl/ml (44 bis 260 µg/ml)	–	0,15; 0,2 µl/ml: ca. 50 %; 0,3 µl/ml: >90 %	–	–		Litton Bionetics Inc 1983

a) große Schwankungsbreite beim Flüssigpräinkubationstest

b) In einem von zwei Tests mit S9 zeigt die Positivkontrolle weniger Revertanten als die Lösungsmittelkontrolle.

c) Die Messwerte der Zytotoxizitätstests deuten auf ein nicht valides System hin. Eine Aussage zur Zellviabilität bei statistisch signifikanten Ergebnissen ist somit nicht möglich.

d) nicht aussagekräftig, da nur ein Experiment mit einer Probe mit S9 durchgeführt

e) Positiv nur bei stark zytotoxischen Konzentrationen. Zusätzlich können die Autoren Bildung einer Emulsion nicht ausschließen, weshalb keine Aussage über die tatsächlich erreichten Konzentrationen möglich ist. Löslichkeit von Toluol in Wasser ca. 0,52 mg/ml.

CA: Chromosomenaberrationen; Exp.: Experiment; k. A.: keine Angabe; K-ve/K+ve: Kinetocho- und Zentromer-negative und -positive Mikronuklei; m. A.: metabolische Aktivierung, wenn nicht weiter spezifiziert, S9-Mix aus Rattenleber nach PCB-Gabe; MN: Mikronuklei; n. u.: nicht untersucht; pos.: positiv; SCE: Schwesterchromatidaustausche; stat. sign.: statistisch signifikant; Zytotox.: Zytotoxizität

5.6.2 In vivo

Toluol induzierte bei Konzentrationen bis zur LD₅₀ keine X-chromosomal rezessiven Letalmutationen oder Translokationen, jedoch ab 66 % der LD₅₀ in männlichen *Drosophila melanogaster* numerische CA (Rodriguez Arnaiz und Villalobos Pietrini 1985 a, b). In einer weiteren, nur als Abstract veröffentlichten Studie war Toluol ebenfalls negativ im SLRL-Test (Donner et al. 1981).

In einer Vielzahl an Studien wurden keine CA oder Mikronuklei im Knochenmark der oral, inhalativ oder intraperitoneal behandelten Ratten oder Mäuse induziert. Oftmals liegen zwar keine Informationen zur Zytotoxizität im Knochenmark vor, es ist jedoch aufgrund von Toxikokinetik-Studien von einer Erreichbarkeit des Knochenmarks auszugehen, da sich Toluol neben Fettgewebe und Gehirn auch bevorzugt im Knochenmark anreichert (ATSDR 2017).

Bei Mäusen (n = 3), welche bis zu acht Wochen gegen 250 ml Toluol/m³ inhalativ exponiert waren, wurde keine Induktion von DNA-Strangbrüchen in Leber, Blut oder Knochenmark gegenüber der Kontrolle festgestellt. Die Proben von jeweils drei Tieren wurden zusammen analysiert. Toluol induzierte keine Anämie und zeigte keinen Effekt auf die Anzahl an Lymphozyten und Granulozyten im Blut. Nach acht, jedoch nicht nach vier Wochen war die Anzahl an

Erythrozytenvorläuferzellen (Erythroid burst forming unit, BFU-E) im Knochenmark signifikant reduziert bei Tieren, welche gegen 500 ml/m³ Toluol exponiert waren (Plappert et al. 1994).

Zusätzlich liegen positive TUNEL-Tests auf DNA-Strangbrüche in Gehirn, Herz, Leber, Lunge und Testis von männlichen Ratten vor, welche in vivo mit Toluol behandelt wurden. Histopathologische Untersuchungen, beziehungsweise Detektion von Apoptose-spezifischen Markern (Caspase-3) deuten jedoch darauf hin, dass die gemessenen DNA-Strangbrüche auf apoptotischen Mechanismen basieren und nicht durch Genotoxizität induziert wurden (Kanter 2011 a, b, c, 2012; Tas et al. 2013 a, b).

In einer Studie, die nur als Konferenz-Abstract publiziert ist, zeigte eine 15-wöchige inhalative Exposition gegen 300 ml Toluol/m³ keinen Effekt auf die Häufigkeit von CA im Knochenmark von männlichen Wistar-Ratten. Ein Test auf SCE war nach elf und 13 Wochen positiv, jedoch nicht nach 15 Wochen (Donner et al. 1981).

In einer weiteren, nur als Abstract publizierten Studie wird berichtet, dass zehnmahlige orale Gabe von bis zu 20 % der LD₅₀ zu keinem signifikant erhöhten Auftreten von CA bei männlichen SHR-Mäusen führte (Feldt et al. 1985).

Im Knochenmark von Ratten führte weder einmalige (ausgewertet 6, 24 oder 48 Stunden p. a.) noch mehrmalige (1/Tag; 5 Tage lang) intraperitoneale Gabe von 22–215 mg Toluol/kg KG zur Induktion von CA. Zytotoxizität, gemessen als Reduktion des Mitotischen Index (MI), wurde ab 71 mg Toluol/kg KG sowohl bei einmaliger als auch bei mehrmaliger Gabe hervorgerufen (Litton Bionetics Inc 1983). Es kann also davon ausgegangen werden, dass Toluol oder seine Metaboliten das Knochenmark erreichen.

Ein Test auf CA im Knochenmark war an Mäusen negativ, welche zweimal innerhalb von 30 Stunden je 1720 mg Toluol/kg KG oral erhielten. Zytotoxizität wurde nicht analysiert (Gad-El Karim et al. 1984).

In mehreren älteren Studien aus der ehemaligen Sowjetunion induzierte tägliche subkutane Gabe von 800 bis 1000 mg Toluol/kg KG für fünf bis zwölf Tage oder tägliche Inhalation von 162 ml/m³ über 16 Wochen Chromosomenschäden im Knochenmark und Blut von Ratten (Dobrokhotov 1972; Dobrokhotov und Enikeev 1977; Lyapkalo 1973). In einer weiteren Studie an Ratten zeigte inhalative Exposition gegen 1,4 ml/m³ über 16 Wochen keinen statistisch signifikanten Effekt auf chromosomale Aberrationen (Aristov et al. 1981). Bei keiner Studie wurde die Zytotoxizität bestimmt. Zusätzlich wurden Schäden analysiert, die nach heutigen Standards nicht als CA gezählt werden. Die Studien werden somit nicht für die Bewertung herangezogen.

Toluol führte in einem CA-Test im Knochenmark von Ratten, welche innerhalb von 30 Stunden zwei Dosen von bis zu 435 mg Toluol/kg KG intraperitoneal erhalten hatten, nur bei gleichzeitiger Zytotoxizität zu statistisch signifikant positiven Ergebnissen (Roh et al. 1987). Da der Test spezifische (Chromosomenbrüche) und unspezifische (Gaps) Läsionen summiert betrachtet, wird er nicht für eine Bewertung herangezogen.

Im Knochenmark von männlichen NMRI- und B6C3F1-Mäusen, welche intraperitoneal zweimal im Abstand von 24 Stunden mit 0,12; 0,25; 0,37 oder 0,5 ml Toluol/kg KG (104, 218, 322, 435 mg/kg KG) behandelt wurden, induzierte Toluol einen konzentrationsabhängigen Anstieg von Mikronuklei in polychromatischen Erythrozyten, untersucht 30 Stunden nach der ersten Injektion. Ein signifikanter Unterschied zur Kontrolle wurde ab 0,25 ml/kg KG bei NMRI- und ab 0,12 ml/kg KG bei B6C3F1-Mäusen gesehen, wobei bei beiden Stämmen das Maximum an Mikronuklei bei der zweithöchsten Dosis lag. Die in Vorversuchen bestimmte LD₅₀ betrug für NMRI-Mäuse 1,64 ± 0,09 ml/kg KG und für B6C3F1-Mäuse 1,88 ± 0,07 ml/kg KG (Mohtashampur et al. 1985).

In einem weiteren Mikronukleustest wurde ein statistisch signifikanter Anstieg an Mikronuklei in männlichen NMRI-Mäusen detektiert, welche 30 Stunden vor der Auswertung entweder einmal mit 0,5 ml/kg KG (435 mg/kg KG) oder zweimal im Abstand von 24 Stunden mit je 0,37 (322 mg/kg KG) oder je 0,5 ml (435 mg/kg KG) Toluol/kg KG behandelt wurden. Das Ergebnis der zweimaligen Behandlung mit je 0,25 ml/kg KG (218 mg/kg KG) war nicht statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle. Alle Auswertungen erfolgten wieder 30 Stunden nach der ersten Injektion. Die Häufigkeit der Mikronuklei wurde durch Injektion mit den CYP-Modulatoren Aroclor 1254, Phenobarbital, 3-Methylcholanthren, alpha-Naphthoflavon oder Metyrapon 24 Stunden vor der Toluolgabe gesteigert. Die gleichzeitige Gabe von Toluol und alpha-Naphthoflavon oder Metyrapon induzierte ähnliche Mikronukleushäufigkeiten wie

die Toluolbehandlung alleine (Mohtashamipur et al. 1987). Untersuchungen zum Einfluss der Toluol-Behandlung auf die Zellviabilität fehlen auch hier.

Bei Ratten führte die zweimalige intraperitoneale Applikation von 218 mg Toluol/kg KG zu einem statistisch signifikant höheren Anteil von Mikronuklei im Knochenmark als bei der Kontrolle, allerdings war ab dieser Konzentration auch das Verhältnis von polychromatischen zu normochromatischen Erythrozyten statistisch signifikant verringert (Roh et al. 1987).

Einmalige oder zweimalige orale Gabe von bis zu 1720 mg Toluol/kg KG induzierte keine Mikronuklei im Knochenmark von männlichen und weiblichen CD1-Mäusen. Angaben zur Zytotoxizität fehlen (Gad-El Karim et al. 1984, 1986).

In zwei Studien an männlichen CD-1 Mäusen (10–12/Konzentration) führte inhalative Exposition gegen 100 ml Toluol/m³ (6 Stunden/Tag, acht Tage, entweder aufeinanderfolgend oder über einen Zeitraum von 15 Tagen) zu keiner höheren Bildung von Mikronuklei im Blut oder Knochenmark. Benzol als Positivkontrolle zeigte ein funktionierendes System an. Die Toluol-Behandlung hatte einen uneinheitlichen Einfluss auf verschiedene Enzymaktivitäten (CYP2E1, EH, GST, NQO1; Daten nicht angegeben). Gleichzeitige Depletion von Glutathion (GSH) durch intraperitoneale Buthioninsulfoximin-Applikation zeigte keinen Einfluss auf die Mikronuklei im Blut. Keines der Tiere wies Toluol-bedingte klinische Effekte auf. Das Verhältnis von polychromatischen zu normochromatischen Erythrozyten blieb im Vergleich zur Negativkontrolle unverändert (Bird et al. 2010; Wetmore et al. 2008).

Wie in einem Konferenz-Abstract berichtet, induzierte eine fünfwöchige orale Verabreichung von Toluol (0,001–0,2 × LD₅₀) keine dominanten Letalmutationen bei männlichen SHR-Mäusen (Feldt et al. 1985).

In einem weiteren Dominant-Letaltest führte subchronische Exposition männlicher CD-1-Mäuse gegen Toluol (100 oder 400 ml/m³, 6 Stunden/Tag, 5 Tage/Woche, 8 Wochen lang) ebenfalls zu keiner Induktion von Dominant-Letalmutationen sowie Veränderungen weiterer Parameter (Gesamtimplantate, tote oder lebende Implantate pro trächtiger Maus). Die Positivkontrolle zeigte ein funktionierendes Testsystem an (Litton Bionetics Inc 1983).

Tab. 5 In-vivo-Studien zur Genotoxizität von Toluol

Testsystem		Dosis/Konzentration	Resultat	Anmerkungen	Literatur
Genmutation, Keimzellen (SLRL)	D. melanogaster (weiß) ♂	0; 0,05; 0,1 %, im Futter, 24 h	–	keine Angabe zur Zytotox.; >3000 X-Chr. untersucht	Donner et al. 1981
Genmutation, Keimzellen (SLRL)	D. melanogaster („Oster“)	0; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5 % im Futter, k. w. A.	–	keine Angabe zur Zytotox.; C _{max} =LD ₅₀ : 1,5 %	Rodriguez Arnaiz und Villalobos Pietrini 1985 b
Aneuploidie (non-disjunction oder Verlust von Geschlechtschromosomen)	D. melanogaster („Oster“), ♀, ♂	0; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5 % im Futter, k. w. A.	♀: – ♂: +	♂: stat. sign. ≥1,0 %; keine Angabe zur Zytotox.; C _{max} =LD ₅₀ : 1,5 %	Rodriguez Arnaiz und Villalobos Pietrini 1985 a
DNA-SB (Comet-Assay)	Maus, B6D2F1, je 3 ♀, Blut, KM, Leber	0, 250 ml/m ³ , inhal., 6 h/d, 5 d/Wo, 2, 8 Wo	–	Zytotox. im KM nach 8 Wo; Proben von 3 Tieren zusammen analysiert	Plappert et al. 1994
SCE, Knochenmark	Ratte, Wistar, ♂, k. w. A.	0, 300 ml/m ³ , inhal., 6 h/d, 5 d/Wo, 11, 13, 15 Wo	+ ^{a)}	keine Angabe zur Zytotox.; stat. sign. nach 11 und 13 Wo	Donner et al. 1981
CA, Knochenmark	Ratte, Wistar, ♂, k. w. A.	0, 300 ml/m ³ , inhal., 6 h/d, 5 d/Wo, 15 Wo	–	keine Angabe zur Zytotox.	Donner et al. 1981
CA, Knochenmark	Ratte, k. w. A., je 5 ♂	12 × 0, 800 mg/kg KG u. d. s.c., k. w. A.	+	keine Angabe zur Zytotox.	Dobrokhotov 1972

Tab. 5 (Fortsetzung)

Testsystem		Dosis/Konzentration	Resultat	Anmerkungen	Literatur
CA, Knochenmark	Ratte, Albino (k. w. A.), je 6 ♂	12 × 0, 1000 mg/kg KG u. d; s.c.	+	Metaphasen mit CA: 11,7%; davon 60,5% Gaps u. 39,5% Brüche; im Blut: Leukozytose, Anämie; im KM: Zellproliferation u. Hyperplasie	Lyapkalo 1973
CA, Knochenmark	Ratte, Albino (k. w. A.), je 6 ♂	0, 160 ml/m ³ , inhal., 4 h/d, 5 d/ Wo, 4, 10, 16 Wo	+	Summe aus Gaps, Brüchen, Translokationen, Ringchr. u. dizentrischen Chr.; stat. sign. ≥4 Wo	Dobrokhotov und Enikeev 1977
CA, Knochenmark	Ratte, k. w. A., je 5 ♂	1 × 0, 22, 71, 215 mg/kg KG (0,025; 0,082; 0,247 ml/kg KG, i.p., 6, 24 oder 48 h 0, 22, 71, 215 mg/kg KG u. d (0,025; 0,082; 0,247 ml/kg KG); i.p., 1/d, 5 d; untersucht 6 h nach letzter Dosis	-	Zytotox. ab 71 mg/kg KG	Litton Bionetics Inc 1983
CA, Knochenmark	Ratte, Albino (k. w. A.), je 8 ♂	0; 1,4 ± 0,2; 13,3 ± 0,4 ml/m ³ , inhal., 4 h/d, 5 d/Wo, 16 Wo	-		Aristov et al. 1981
CA, Knochenmark	Maus, CD 1, je 5 ♀/♂	2 × 0, 1720 ^b mg/kg KG, oral, mit 24 h Abstand, untersucht 30 h nach 1. Gabe	-	keine Angabe zur Zytotox.; Reinheit 99%	Gad-El Karim et al. 1984
CA, Knochenmark	Maus, random-bred SHR, ♂ (k. w. A.)	10 × je vier versch. Dosen von 0,001–0,2 × LD ₅₀ , Gavage, k. w. A.	-		Feldt et al. 1985
CA, Knochenmark	Ratte, Crj: Sprague Dawley, je 5 ♂	2 × 0, 109, 218, 435 mg/kg KG, i.p., mit 24 h Abstand, untersucht 30 h nach 1. Gabe	+	stat. sign. bei 435 mg/kg KG; Zytotox. sign. ≥ 217,5 mg/kg KG; pulverisierte Zellen, Brüche und Gaps erhöht; keine Translokationen	Roh et al. 1987
MN, Knochenmark	Maus, CrI:CD 1, je 5 ♀/♂	2 × 0, 1720 ^b mg/kg KG, oral, mit 24 h Abstand, untersucht 30 h nach 1. Gabe	-	keine Angabe zur Zytotox.; Reinheit 99%	Gad-El Karim et al. 1984
MN, Knochenmark	Maus, CrI:CD 1, je 5 ♂	1 × 0, 860 mg/kg KG, oral, 30 h	-	keine Angabe zur Zytotox.; Reinheit 99%	Gad-El Karim et al. 1986
MN, Knochenmark	Maus, NMRI und B6C3F1, je 5 ♂	je 2 × 0; 0,12; 0,25; 0,37; 0,5 ml (104, 218, 322, 435 mg)/kg KG, i.p., mit 24 h Abstand, untersucht 30 h nach 1. Injektion	+	keine Angabe zur Zytotox.; NMRI: pos. ≥2 × 0,25 ml/kg KG; B6C3F1: pos. ≥2 × 0,12 ml/ kg KG; LD ₅₀ (NMRI): 1,64 ml/kg KG; LD ₅₀ (B6C3F1): 1,88 ml/kg KG; Reinheit: 99%	Mohtashamipur et al. 1985
MN, Knochenmark	Maus, NMRI, je 5 ♂	je 2 × 0; 0,25; 0,37; 0,5 ml (218, 322, 435 mg)/kg KG, mit 24 h Abstand, oder 1 × 0; 0,5 ml (435 mg)/kg KG, i.p., jeweils 30 h nach 1. Injektion untersucht	+	keine Angabe zur Zytotox.; stat. sign. pos: 1 × 0,5 und 2 × 0,37; 0,5 ml/kg KG; Reinheit: 99%, Vehikel: Maisöl	Mohtashamipur et al. 1987

Tab. 5 (Fortsetzung)

Testsystem		Dosis/Konzentration	Resultat	Anmerkungen	Literatur
MN, Knochenmark	Ratte, Crj; Sprague Dawley, je 5 ♂	2 × 0, 109, 218, 435 mg (0,125; 0,25; 0,5 ml)/kg KG, i.p., mit 24 h Abstand, untersucht 30 h nach 1. Injektion	+ ^{a)}	stat. sign. nur bei 218 mg/kg KG; Zytotoxizität stat. sign. ≥218 mg/kg KG; Vehikel: Olivenöl	Roh et al. 1987
MN, Blut	Maus, CD 1, je 12 ♂	0, 100 ml/m ³ , inhal. (GK), 6 h/d, 8 d, untersucht 18 h nach letzter Dosis	–	mit/ohne GSH-Depletion ^{d)}	Bird et al. 2010
MN, Knochenmark	Maus, CrI:CD 1, 10 ♂	0, 100 ml/m ³ , inhal. (GK), 6 h/d, 8 d innerhalb 15 d (Behandlung an Tag 1, 2, 5, 7, 9, 12, 13 und 15), untersucht 18 h nach letzter Dosis	–	PCE/NCE unverändert; Reinheit >90 %	Wetmore et al. 2008
Dominant- Letaltest	Maus, random-bred SHR, ♂, k. w. A.	0,001–0,2 × LD ₅₀ , Gavage, 5 Wo, k. w. A.	–	lineare Dosis-Wirkungs- Beziehung; PCE stat. sign. erhöht ≥200 mg/kg KG, k. w. A.	Feldt et al. 1985
Dominant- Letaltest	Maus, CD 1, je 12 ♂	0, 100, 400 ml/m ³ , inhal., 6 h/d, 5 d/Wo, 8 Wo, Verpaarung über 2 Wo mit je 2 unbehandelten ♀ pro Wo	–		Litton Bionetics Inc 1983

a) SCE signifikant erhöht in 11. und 13. aber nicht 15. Woche

b) Zusätzliche Angabe im Text: „höhere und niedrigere Dosen, p.o. und i.p., führten zu ähnlichen Ergebnissen“ (Gad El Karim und Legator, unveröffentlichte Daten)

c) Statistisch signifikant nur bei gleichzeitiger Toxizität (Abnahme PCE/NCE)

d) Um den Einfluss einer GSH-Depletion auf die Toluol-vermittelte Induktion von MN zu untersuchen, wurden 12 Tiere i.p. mit 4 mmol Buthioninsulfoximin/kg KG zweimal täglich über die gesamte Versuchsdauer behandelt.

CA: Chromosomenaberrationen; Chr.: Chromosomen; DNA-SB: DNA-Strangbrüche; GK: Ganzkörper; GSH: Glutathion; inhal.: inhalativ; i.p.: intraperitoneal; KM: Knochenmark; MI: Mitotischer Index; MN: Mikronuklei; NCE: normochromatische Erythrozyten; neg.: negativ; PCE: polychromatische Erythrozyten; pos.: positiv; SCE: Schwesterchromatidaustausche; SLRL: Test auf X-chromosomale rezessive Letalmutationen (sex-linked recessive lethal test); stat. sign.: statistisch signifikant; Zytotox.: Zytotoxizität.

Zusammenwirken mit Benzol

Es finden sich inkonsistente Ergebnisse für die genotoxische Wirkung simultaner Applikation von Toluol und Benzol. Als Reinstoff wirkt Benzol in allen diesen Studien klar genotoxisch, wogegen der Reinstoff Toluol keine Genotoxizität zeigt. Als Gemisch finden sich sowohl Hinweise auf eine additive wie auch auf eine subtraktive Wirkung. Simultane orale, subkutane oder intraperitoneale Applikation von Toluol und Benzol reduzierte den Benzol-induzierten Schaden in Mäusen und Ratten, gemessen als SCE (Tice et al. 1982) oder Mikronuklei (Gad-El Karim et al. 1984; Roh et al. 1987; Tunek et al. 1982).

Im Gegensatz dazu war die Anzahl an Mikronuklei bei Mäusen höher, welche inhalativ gegen ein Gemisch (Benzol: Toluol; 1:1 und 1:2) exponiert waren, als bei alleiniger Benzol-Exposition (Bird et al. 2010; Wetmore et al. 2008).

5.6.3 Fazit

In vitro wirkt Toluol nicht mutagen in Bakterien und zeigt in Säugerzellen im Konzentrationsbereich ohne erhebliche Zytotoxizität keine mutagene, klastogene oder aneugene Wirkung in Tests auf SCE, Mikronuklei, chromosomale Aberrationen und Genmutationen. Bei starker Zytotoxizität werden im Mikronukleustest vermehrt Kinetochor-positive und -negative Mikronuklei induziert.

In-vivo-Tests auf CA und Mikronuklei verliefen uneinheitlich. Der eine Teil der Tests nach inhalativer, oraler und intraperitonealer Gabe verlief negativ. In einigen Tests hingegen zeigte sich eine klastogene Wirkung nach subkutaner und intraperitonealer Gabe, jedoch nur bei gleichzeitiger Zytotoxizität.

Es wurden keine Letalmutationen in *Drosophila* bzw. in der Maus induziert.

Toluol ist somit als nicht genotoxisch zu bewerten.

6 Bewertung

Kritische Effekte von Toluol sind die neurotoxischen Wirkungen, vor allem auf das zentrale Nervensystem. Akute Expositionen können verhaltenstoxische und neurophysiologische Effekte auslösen. Chronische Expositionen sind mit verhaltens- und ototoxischen Effekten assoziiert und beeinträchtigen möglicherweise das Farbsehen.

MAK-Wert. Der MAK-Wert von 50 ml/m³ wurde 1993 aufgrund neurotoxischer Wirkungen beim Menschen abgeleitet (Greim 1993). Spätere Arbeiten, die im Nachtrag von 2002 (Greim 2002) summarisch dargestellt werden, geben keinen Hinweis auf chronische Effekte im Bereich von 50 ml Toluol/m³. Die Daten stammen aus einer epidemiologischen Längsschnittstudie im Rotationstiefdruck und berücksichtigen auch individuelle Schätzungen der lebenslangen Exposition gegenüber Toluol. Einzelne neuere Studien zeigen unterhalb von 50 ml Toluol/m³ Effekte wie eine Beeinträchtigung der kognitiven Leistungen, des Hörvermögens und des Farbsehens. Diese Arbeiten sind ausschließlich Querschnittsstudien, es wurde nur teilweise eine adäquate Kontrolle von Kofaktoren (z. B. Alter, Bildung etc.) durchgeführt und die Erfassung bzw. Schätzung der chronischen Exposition ist problematisch, da keine quantitativen Schätzungen der kumulativen Exposition zum Zeitpunkt der Testung vorlagen. Teilweise können Mischexpositionen mit anderen Lösungsmitteln nicht ausgeschlossen werden. Ausführliche, gut kontrollierte experimentelle Studien zu Kurzeffekten belegen bei Expositionen niedriger als 50 ml Toluol/m³ (teilweise auch darüber) keine verhaltenstoxischen Effekte, die sich als signifikante Leistungsminderung in neuropsychologischen Tests zeigen würden. PBPK-basierte Modellrechnungen zu kurzzeitigen Effekten auf die Verlängerung der Wahlreaktionszeit sagen 10%ige Leistungsminderungen bei Expositionen < 50 ml Toluol/m³ vorher. Diese Vorhersagen zeigen erhebliche Unsicherheiten bei der Modellierung der Toluolkonzentrationen und der Zusammenfassung der Testleistungen in den zugrundeliegenden Probandenstudien. Unter kontrollierten Expositionen, die den Effekt von Konzentrationsspitzen auf kognitive und neurophysiologische Endpunkte untersuchten, konnte bei Spitzenwerten von 200 ml/m³ und gleichzeitiger körperlicher Arbeit ein Effekt auf die neurophysiologischen Parameter, nicht jedoch auf die Leistungstests gefunden werden. In den meisten Tierstudien mit niedrigen Expositionen wurde die Wirkung von Toluol auf molekularer Ebene untersucht, aber es ist nicht bekannt, in wieweit diese Ergebnisse direkt mit den Ergebnissen der Humanstudien vergleichbar sind. Daher wird auf der Basis zahlreicher Humanstudien der bisherige MAK-Wert von 50 ml/m³ bestätigt.

Spitzenbegrenzung. Der kritische Effekt von Toluol ist die Neurotoxizität, daher wird die Zuordnung zu Kurzzeitwert-Kategorie II beibehalten. Da bei Expositionsspitzen von 200 ml/m³ und gleichzeitiger körperlicher Arbeit (Yavari et al. 2018) zwar kein Effekt auf die Leistungstests, jedoch auf neurophysiologische Parameter gefunden wurde, wird der Überschreitungsfaktor auf 2 gesenkt.

Fruchtschädigende Wirkung. Bisher ist Toluol bei einem MAK-Wert von 50 ml/m³ der Schwangerschaftsgruppe C zugeordnet.

Entwicklungstoxizität

Toluol erzeugt bei Kindern von Müttern, die während der Schwangerschaft hohe Konzentrationen an Toluol von 4000 bis 12 000 ml/m³ oder anderen organischen Lösungsmitteln inhalierten, ähnliche Symptome wie das fetale Alkohol-Syndrom bei Ethanol. Konzentrationsabhängig treten Embryoletalität oder verzögertes Wachstum der Feten sowie eine retardierte Entwicklung des Skelettsystems auf.

Belastbare Untersuchungen im Niedrigdosisbereich beim Menschen liegen nicht vor.

In pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudien an Ratten treten nach Inhalation bis 750 ml/m³ an sechs bis sieben Stunden pro Tag während der Gestation keine entwicklungstoxischen Effekte auf. Ab 1000 ml/m³ bis zu 3500 ml/m³ zeigen sich erniedrigtes Fetengewicht, verzögertes Wachstum und verzögerte skeletale Entwicklung der Feten bei

gleichzeitiger Maternaltoxizität in Form von Körpergewichtserniedrigung. In diesem Konzentrationsbereich tritt keine Teratogenität auf. Als postnataler Effekt zeigt sich bei der Ratte bei 1200 ml/m³ ein verzögerter Zeitpunkt des Schneidezahndurchbruchs. Durch Toluol werden bis 3500 ml/m³ keine Embryoletalität und keine abortive Wirkung beim Tier hervorgerufen (siehe [Tabelle 1](#); ATSDR 2017).

Im Nachtrag von 1993 (Greim 1993) wurden nach Inhalation NOAEC für Entwicklungstoxizität von 750, 500 und 400 ml/m³ für Ratte, Kaninchen bzw. Maus abgeleitet (HRC 1992; Jones und Balster 1997; Klimisch et al. 1992; Roberts et al. 1993). Gleichzeitig lag Maternaltoxizität vor. Daraus ergaben sich mit dem damaligen Vorgehen 15-, 10- bzw. 8-fache Abstände zum MAK-Wert von 50 ml/m³. Bei der Maus und beim Kaninchen sind dies die höchsten getesteten Konzentrationen. Unter Berücksichtigung des erhöhten Atemvolumens am Arbeitsplatz im Vergleich zum Versuchstier in Ruhe (1:2) resultieren nun 8-, 5- bzw. 4-fache Abstände für Ratte, Kaninchen und Maus nach Inhalation. In einer Studie von Thiel und Chahoud (1997) an der Ratte zeigt sich bei 1000 und 1200 ml/m³ ebenfalls ein um 8% reduziertes Fetengewicht am ersten Postnataltag bei gleichzeitiger Maternaltoxizität in Form von erniedrigtem Körpergewicht und verminderter Körpergewichtszunahme. Ab dem 14. Postnataltag ist kein Effekt auf das Körpergewicht der Nachkommen mehr nachweisbar. Die NOAEC für pränatale Entwicklungstoxizität beträgt 600 ml/m³ und die LOAEC 1000 ml/m³, was unter Berücksichtigung des erhöhten Atemvolumens (1:2) einem 6- bzw. 10-fachen Abstand zum MAK-Wert von 50 ml/m³ entspricht.

Bei Rattenfeten werden bei 1250 mg/kg KG und Tag nach Schlundsondengabe vom 16. bis zum 19. Gestationstag dilatierte Nierenbecken (Variation) festgestellt (Warner et al. 2008). Der NOAEL liegt bei 750 mg/kg KG und Tag (siehe [Tabelle 2](#)). Zur toxikokinetischen Übertragung dieses NOAEL in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen der Ratte und dem Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturfaktor (1:4), die experimentell bestimmte 100%ige orale Resorption bei der Ratte (Turkall et al. 1991), das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen (10 m³) des Menschen sowie die experimentell ermittelte 50%ige inhalative Resorption beim Menschen (Löff et al. 1993). Damit errechnet sich eine entsprechende Konzentration von 691 ml/m³ (2626 mg/m³), was einem 14-fachen Abstand zum MAK-Wert entspricht.

Entwicklungsneurotoxizität

Seit 2016 ist für Substanzen, deren MAK-Wert von einem neurotoxischen Effekt abgeleitet wurde, eine Aussage über entwicklungsneurotoxische Effekte beim Fetus notwendig.

Bei Expositionen mit 400 bis 1500 ml/m³ sind keine Veränderungen in Verhaltenstests bei der Ratte feststellbar. Für die Ratte betragen die NOAEC 1200 und 2000 ml/m³ in den Entwicklungsneurotoxizitätsstudien und unter Berücksichtigung des erhöhten Atemvolumens (1:2) sind die 12- bzw. 20-fachen Abstände zum MAK-Wert ausreichend groß. Die Verhaltensstudien an Mäusen weisen erhebliche methodische Mängel auf und werden nicht zur Bewertung der Entwicklungsneurotoxizität herangezogen (siehe [Tabelle 3](#)).

Insgesamt ist die NOAEC für Entwicklungstoxizität niedriger als die für Entwicklungsneurotoxizität. Toluol bewirkt leichte unspezifische Entwicklungsverzögerungen bei gleichzeitiger maternaler Toxizität, jedoch bis 3500 ml/m³ keine Teratogenität beim Tier. Die Erniedrigung des perinatalen Körpergewichts ist der empfindlichste Endpunkt. Aus den toxikokinetischen Daten zur inhalativen Aufnahme von Toluol und den daraus resultierenden Blutkonzentrationen ergeben sich keine Hinweise auf wesentliche Unterschiede zwischen Mensch und Versuchstieren. Die Effekte auf das Körpergewicht der Nachkommen am ersten Postnataltag sind bei der Ratte bei den beiden hohen Konzentrationen nur sehr gering ausgeprägt, nach zwei Wochen reversibel und treten nur bei gleichzeitiger Maternaltoxizität auf (Thiel und Chahoud 1997). Der Abstand der LOAEC von 1000 ml/m³ mit diesen geringgradigen und reversiblen Effekten zum MAK-Wert beträgt unter Berücksichtigung des erhöhten Atemvolumens (1:2) das 10-Fache. Toluol bleibt daher trotz des geringen 6-fachen Abstands der NOAEC für Entwicklungstoxizität zum MAK-Wert von 50 ml/m³ der Schwangerschaftsgruppe C zugeordnet.

Keimzellmutagene Wirkung. Bei männlichen Tiefdruckern, welche mindestens 16 Jahre lang gegen hohe Toluolkonzentrationen von 200–300 ml/m³ (< 0,3% Benzol) inhalativ und über Hautresorption exponiert waren, ruft Toluol SCE hervor. Auch zeigen einige Versuche mit Toluol in Mischexposition mit anderen Lösungsmitteln eine klastogene

Wirkung. Nach kontrollierter Exposition in Höhe des MAK-Wertes von 50 ml/m³ induzierte Toluol keine Klastogenität bei männlichen Probanden.

In vitro wirkt Toluol nicht mutagen in Bakterien und zeigt in Säugerzellen im Konzentrationsbereich ohne erhebliche Zytotoxizität keine mutagene, klastogene oder aneugene Wirkung in Tests auf SCE, Mikronuklei, CA und Genmutationen. Bei starker Zytotoxizität werden im Mikronukleustest vermehrt Kinetochor-positive und -negative Mikronuklei induziert. Die In-vivo-Tests auf CA und Mikronuklei verliefen uneinheitlich. Der eine Teil der Tests nach inhalativer, oraler und intraperitonealer Gabe verlief negativ. In einigen Tests hingegen zeigte sich eine klastogene Wirkung nach subkutaner und intraperitonealer Gabe nur bei gleichzeitiger Zytotoxizität. In Keimzellen wurden keine Letalmutationen bei *Drosophila* bzw. der Maus induziert.

Toluol ist somit als nicht genotoxisch zu bewerten. Aus den vorliegenden Daten ergibt sich kein Verdacht auf eine keimzellmutagene Wirkung. Toluol wird daher nicht in eine Kategorie für Keimzellmutagene eingestuft.

Hautresorption. Die Vergabe der „H“-Markierung für Toluol bei einem MAK-Wert von 50 ml/m³ wurde bereits im Nachtrag von 1998 begründet (Greim 1998). Eine Exposition gegen flüssiges Toluol unter Standardbedingungen führt bei Probanden zu einer Aufnahme von Toluol über die Haut, die so hoch ist wie die über die Lunge aufgenommene Menge bei Exposition in Höhe des MAK-Wertes. Die Markierung mit „H“ wird daher beibehalten.

Sensibilisierende Wirkung. Zur sensibilisierenden Wirkung liegen keine Befunde beim Menschen und keine positiven Ergebnisse aus experimentellen Untersuchungen am Tier oder aus In-vitro-Untersuchungen vor. Toluol wird daher weiterhin weder mit „Sh“ noch mit „Sa“ markiert.

Anmerkungen

Interessenkonflikte

Die in der Kommission etablierten Regelungen und Maßnahmen zur Vermeidung von Interessenkonflikten (https://www.dfg.de/dfg_profil/gremien/senat/arbeitsstoffe/interessenkonflikte/index.html) stellen sicher, dass die Inhalte und Schlussfolgerungen der Publikation ausschließlich wissenschaftliche Aspekte berücksichtigen.

Literatur

- ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) (1991) Notice of intended changes – toluene, trimethylamine, and vinyl acetate. *Appl Occup Environ Hyg* 6(11): 966–977. DOI: <https://doi.org/10.1080/1047322X.1991.10387999>
- Ahmed S, Win-Shwe T-T, Yamamoto S, Tsukahara S, Kunugita N, Arashidani K, Fujimaki H (2007) Increased hippocampal mRNA expression of neuronal synaptic plasticity related genes in mice chronically exposed to toluene at a low-level human occupational-exposure. *Neurotoxicology* 28(1): 168–174. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2006.03.011>
- Apawu AK, Mathews TA, Bowen SE (2015) Striatal dopamine dynamics in mice following acute and repeated toluene exposure. *Psychopharmacology (Berl)* 232(1): 173–184. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00213-014-3651-x>
- Aristov VN, Red'kin IV, Bruskin ZZ, Ogleznev GA (1981) [Experimental data on the mutagenic action of toluene, isopropanol and sulfur dioxide]. *Gig Tr Prof Zabol* (7): 33–36
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2017) Toxicological profile for toluene. ATSDR, Atlanta, GA. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp56.pdf>, abgerufen am 04 Mai 2020
- Ayan M, Tas U, Sogut E, Kuloglu T, Cayli S, Kocaman N, Karaca ZI, Sahin M (2013) The apoptotic effect of a high dose of toluene on liver tissue during the acute phase: an experimental study. *Toxicol Ind Health* 29(8): 728–736. DOI: <https://doi.org/10.1177/0748233712442731>
- Bale AS, Smothers CT, Woodward JJ (2002) Inhibition of neuronal nicotinic acetylcholine receptors by the abused solvent, toluene. *Br J Pharmacol* 137(3): 375–383. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704874>
- Bauchinger M, Schmid E, Dresch J, Kolin-Gerresheim J, Hauf R, Suhr E (1982) Chromosome changes in lymphocytes after occupational exposure to toluene. *Mutat Res* 102(4): 439–445. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(82\)90106-9](https://doi.org/10.1016/0165-1218(82)90106-9)

- Beckstead MJ, Weiner JL, Eger EI, Gong DH, Mihic SJ (2000) Glycine and gamma-aminobutyric acid(A) receptor function is enhanced by inhaled drugs of abuse. *Mol Pharmacol* 57(6): 1199–1205
- Benignus VA, Boyes WK, Bushnell PJ (1998) A dosimetric analysis of behavioral effects of acute toluene exposure in rats and humans. *Toxicol Sci* 43(2): 186–195. DOI: <https://doi.org/10.1006/toxs.1998.2458>
- Benignus VA, Bushnell PJ, Boyes WK (2005) Toward cost-benefit analysis of acute behavioral effects of toluene in humans. *Risk Anal* 25(2): 447–456. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2005.00601.x>
- Benignus VA, Coleman T, Eklund CR, Kenyon EM (2006) A general physiological and toxicokinetic (GPAT) model for simulating complex toluene exposure scenarios in humans. *Toxicol Mech Methods* 16(1): 27–36. DOI: <https://doi.org/10.1080/15376520500191862>
- Berenguer P, Soulage C, Perrin D, Pequignot J-M, Abraini JH (2003) Behavioral and neurochemical effects induced by subchronic exposure to 40 ppm toluene in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 74(4): 997–1003. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(03\)00027-3](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(03)00027-3)
- Berenguer P, Soulage C, Fautrel A, Péquignot J-M, Abraini JH (2004) Behavioral and neurochemical effects induced by subchronic combined exposure to toluene at 40 ppm and noise at 80 dB-A in rats. *Physiol Behav* 81(3): 527–534. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.02.017>
- Bird MG, Wetmore BA, Letinski DJ, Nicolich M, Chen M, Schnatter AR, Whitman FT (2010) Influence of toluene co-exposure on the metabolism and genotoxicity of benzene in mice using continuous and intermittent exposures. *Chem Biol Interact* 184(1–2): 233–239. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.01.012>
- Bos RP, Brouns RM, van Doorn R, Theuvs JL, Henderson PT (1981) Non-mutagenicity of toluene, o-, m- and p-xylene, o-methylbenzylalcohol and o-methylbenzylsulfate in the Ames assay. *Mutat Res* 88(3): 273–279. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(81\)90038-0](https://doi.org/10.1016/0165-1218(81)90038-0)
- Bowen SE, Hannigan JH (2013) Binge toluene exposure in pregnancy and pre-weaning developmental consequences in rats. *Neurotoxicol Teratol* 38: 29–35. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2013.04.002>
- Bowen SE, Batis JC, Mohammadi MH, Hannigan JH (2005) Abuse pattern of gestational toluene exposure and early postnatal development in rats. *Neurotoxicol Teratol* 27(1): 105–116. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2004.09.007>
- Bowen SE, Charlesworth JD, Tokarz ME, Wright MJ, Wiley JL (2007) Decreased sensitivity in adolescent vs. adult rats to the locomotor activating effects of toluene. *Neurotoxicol Teratol* 29(6): 599–606. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2007.08.001>
- Bowen SE, Hannigan JH, Cooper PB (2009 a) Abuse pattern of gestational toluene exposure alters behavior in rats in a „waiting-for-reward“ task. *Neurotoxicol Teratol* 31(2): 89–97. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2008.11.002>
- Bowen SE, Irtenkauf S, Hannigan JH, Stefanski AL (2009 b) Alterations in rat fetal morphology following abuse patterns of toluene exposure. *Reprod Toxicol* 27(2): 161–169. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2009.01.002>
- Callan SP, Hannigan JH, Bowen SE (2017) Prenatal toluene exposure impairs performance in the Morris Water Maze in adolescent rats. *Neuroscience* 342: 180–187. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.08.050>
- Campagna D, Stengel B, Mergler D, Limasset JC, Diebold F, Michard D, Huel G (2001) Color vision and occupational toluene exposure. *Neurotoxicol Teratol* 23(5): 473–480. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0892-0362\(01\)00163-5](https://doi.org/10.1016/s0892-0362(01)00163-5)
- Campo P, Lataye R, Cossec B, Placidi V (1997) Toluene-induced hearing loss: a mid-frequency location of the cochlear lesions. *Neurotoxicol Teratol* 19(2): 129–140. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0892-0362\(96\)00214-0](https://doi.org/10.1016/s0892-0362(96)00214-0)
- Carbonell F, Ganser A, Suhr E, Wandl U, Hauf R, Flidner TM (1982) Chromosomenanalysen bei Schadstoff-exponierten. In: *Kombinierte Belastungen am Arbeitsplatz, 22. Jahrestagung in Ulm/Neu-Ulm, Arbeitsmedizinisches Kolloquium*. Deutsche Gesellschaft für Arbeitsmedizin, Bd 22. Gentner Verlag, Stuttgart, 269
- Cavalleri A, Gobba F, Nicali E, Fiocchi V (2000) Dose-related color vision impairment in toluene-exposed workers. *Arch Environ Health* 55(6): 399–404. DOI: <https://doi.org/10.1080/00039890009604037>
- Chalansonnet M, Carabin N, Boucard S, Cosnier F, Nunge H, Gagnaire F (2013) Study of the potential oxidative stress induced by six solvents in the rat brain. *Neurotoxicology* 35: 71–83. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.12.002>
- Chouanière D, Wild P, Fontana J-M, Héry M, Fournier M, Baudin V, Subra I, Rousselle D, Toamain J-P, Saurin S, Ardiot M-R (2002) Neurobehavioral disturbances arising from occupational toluene exposure. *Am J Ind Med* 41(2): 77–88. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajim.10030>
- Cok I, Sardaş S, Kadioglu E, Ozcagli E (2004) Assessment of DNA damage in glue sniffers by use of the alkaline comet assay. *Mutat Res* 557(2): 131–136. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2003.10.009>
- Connor TH, Theiss JC, Hanna HA, Monteith DK, Matney TS (1985) Genotoxicity of organic chemicals frequently found in the air of mobile homes. *Toxicol Lett* 25(1): 33–40. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(85\)90097-9](https://doi.org/10.1016/0378-4274(85)90097-9)
- Conti AC, Lowing JL, Susick LL, Bowen SE (2012) Investigation of calcium-stimulated adenylyl cyclases 1 and 8 on toluene and ethanol neurobehavioral actions. *Neurotoxicol Teratol* 34(5): 481–488. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2012.06.005>
- Courtney KD, Andrews JE, Springer J, Ménache M, Williams T, Dalley L, Graham JA (1986) A perinatal study of toluene in CD-1 mice. *Fundam Appl Toxicol* 6(1): 145–154. DOI: [https://doi.org/10.1016/0272-0590\(86\)90270-8](https://doi.org/10.1016/0272-0590(86)90270-8)
- Cruz SL, Mirshahi T, Thomas B, Balster RL, Woodward JJ (1998) Effects of the abused solvent toluene on recombinant N-methyl-D-aspartate and non-N-methyl-D-aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 286(1): 334–340

- Dalgaard M, Hossaini A, Hougaard KS, Hass U, Ladefoged O (2001) Developmental toxicity of toluene in male rats: effects on semen quality, testis morphology, and apoptotic neurodegeneration. *Arch Toxicol* 75(2): 103–109. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002040000209>
- Deschamps D, Géraud C, Dally S (2001) Cognitive functions in workers exposed to toluene: evaluation at least 48 hours after removal from exposure. *Int Arch Occup Environ Health* 74(4): 285–288. DOI: <https://doi.org/10.1007/pl00007945>
- Dobrokhotov VB (1972) [Mutagenic effect of benzene and toluene under experimental conditions]. *Gig Sanit* 37(10): 36–39
- Dobrokhotov VB, Enikeev MI (1977) [Mutagenic action of benzene, toluene and a mixture of these hydrocarbons in a chronic experiment]. *Gig Sanit* 42(1): 32–34
- Doherty AT, Ellard S, Parry EM, Parry JM (1996) An investigation into the activation and deactivation of chlorinated hydrocarbons to genotoxins in metabolically competent human cells. *Mutagenesis* 11(3): 247–274. DOI: <https://doi.org/10.1093/mutage/11.3.247>
- Donald JM, Hooper K, Hopenhayn-Rich C (1991) Reproductive and developmental toxicity of toluene: a review. *Environ Health Perspect* 94: 237–244. DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.94-1567945>
- Donner M, Husgafvelpursiainen K, Makipaakkanen J, Sorsa M, Vainio H (1981) Genetic effects of in vivo exposure to toluene. *Mutat Res* 85(4): 293–294. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(81\)90194-1](https://doi.org/10.1016/0165-1161(81)90194-1)
- ECHA (European Chemicals Agency) (2020) Toluene (CAS Number 108-88-3). Registration dossier. Joint submission, first publication 17 Feb 2011, last modification 13 Aug 2020. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/15538>, abgerufen am 25 Aug 2020
- Eller N, Netterstrøm B, Laursen P (1999) Risk of chronic effects on the central nervous system at low toluene exposure. *Occup Med (Lond)* 49(6): 389–395. DOI: <https://doi.org/10.1093/occmed/49.6.389>
- EU (European Union) (2003) European Union Risk Assessment Report. Toluene. CAS No. 108-88-3, EINECS No. 203-625-9. EU, Luxembourg. <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC24380>, abgerufen am 20 Aug 2019
- Feldt EG, Feldt VS, Zhurkov VS (1985) Study of the mutagenic effects of benzene and toluene in the mammalian somatic and germ cells. *Mutat Res* 147(5): 294. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(85\)90156-6](https://doi.org/10.1016/0165-1161(85)90156-6)
- Forni A (1971) Chromosome studies in workers exposed to benzene or toluene or both. *Arch Environ Health* 22(3): 373–378
- Fujimaki H, Yamamoto S, Win-Shwe T-T, Hojo R, Sato F, Kunugita N, Arashidani K (2007) Effect of long-term exposure to low-level toluene on airway inflammatory response in mice. *Toxicol Lett* 168(2): 132–139. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.11.008>
- Fujimaki H, Win-Shwe T-T, Yamamoto S, Nakajima D, Goto S (2009) Role of CD4⁺ T cells in the modulation of neurotrophin production in mice exposed to low-level toluene. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 31(1): 146–149. DOI: <https://doi.org/10.1080/08923970802504762>
- Funes-Cravioto F, Zapata-Gayon C, Kolmodin-Hedman B, Lambert B, Lindsten J, Norberg E, Nordenskjöld M, Olin R, Swensson Å (1977) Chromosome aberrations and sister-chromatid exchange in workers in chemical laboratories and a rototyping factory and in children of women laboratory workers. *Lancet* 2(8033): 322–325. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(77\)91485-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(77)91485-4)
- Gad-El Karim MM, Harper BL, Legator MS (1984) Modifications in the myeloclastogenic effect of benzene in mice with toluene, phenobarbital, 3-methylcholanthrene, Aroclor 1254 and SKF-525A. *Mutat Res* 135(3): 225–243. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(84\)90126-5](https://doi.org/10.1016/0165-1218(84)90126-5)
- Gad-El Karim MM, Sadagopa Ramanujam VM, Legator MS (1986) Correlation between the induction of micronuclei in bone marrow by benzene exposure and the excretion of metabolites in urine of CD-1 mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 85(3): 464–477. DOI: [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(86\)90354-6](https://doi.org/10.1016/0041-008x(86)90354-6)
- Gerner-Smidt P, Friedrich U (1978) The mutagenic effect of benzene, toluene and xylene studied by the SCE technique. *Mutat Res* 58(2–3): 313–316. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(78\)90024-1](https://doi.org/10.1016/0165-1218(78)90024-1)
- Gmaz JM, McKay BE (2014) Toluene decreases Purkinje cell output by enhancing inhibitory synaptic transmission in the cerebellar cortex. *Neurosci Lett* 560: 1–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.12.010>
- González-Yebra AL, Kornhauser C, Barbosa-Sabanero G, Pérez-Luque EL, Wrobel K, Wrobel K (2009) Exposure to organic solvents and cytogenetic damage in exfoliated cells of the buccal mucosa from shoe workers. *Int Arch Occup Environ Health* 82(3): 373–380. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00420-008-0344-y>
- Greim H (Hrsg) (1993) Toluol. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 19. Lieferung. VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb10888d0019>
- Greim H (Hrsg) (1998) Toluol. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 27. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb10888d0027>
- Greim H (Hrsg) (2002) Toluol. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 34. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb10888d0034>
- Haglund U, Lundberg I, Zech L (1980) Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Swedish paint industry workers. *Scand J Work Environ Health* 6(4): 291–298. DOI: <https://doi.org/10.5271/sjweh.2606>
- Hammer KD (2002) Metabolite ratio of toluene-exposed rotogravure printing plant workers reflects individual mutagenic risk by sister chromatid exchanges. *Mutat Res* 519(1–2): 171–177. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(02\)00134-1](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(02)00134-1)

- Hammer KD, Mayer N, Pfeiffer EH (1998) Sister chromatid exchanges in rotogravure printing plant workers. *Int Arch Occup Environ Health* 71(2): 138–142. DOI: <https://doi.org/10.1007/s004200050261>
- Hass U, Lund SP, Hougaard KS, Simonsen L (1999) Developmental neurotoxicity after toluene inhalation exposure in rats. *Neurotoxicol Teratol* 21(4): 349–357. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0892-0362\(99\)00013-6](https://doi.org/10.1016/s0892-0362(99)00013-6)
- Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W, Zeiger E (1983) Salmonella mutagenicity test results for 250 chemicals. *Environ Mutagen* 5 Suppl 1: 3–49. DOI: <https://doi.org/10.1002/em.2860050703>
- Henschler D (Hrsg) (1986) Toluol. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 11. Lieferung. VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb10888d0011>
- Hester SD, Johnstone AFM, Boyes WK, Bushnell PJ, Shafer TJ (2011) Acute toluene exposure alters expression of genes in the central nervous system associated with synaptic structure and function. *Neurotoxicol Teratol* 33(5): 521–529. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2011.07.008>
- Heuser VD, de Andrade VM, da Silva J, Erdtmann B (2005) Comparison of genetic damage in Brazilian footwear-workers exposed to solvent-based or water-based adhesive. *Mutat Res* 583(1): 85–94. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2005.03.002>
- Heuser VD, Erdtmann B, Kvitko K, Rohr P, da Silva J (2007) Evaluation of genetic damage in Brazilian footwear-workers: biomarkers of exposure, effect, and susceptibility. *Toxicology* 232(3): 235–247. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.01.011>
- Hogie M, Guerbet M, Reber A (2009) The toxic effects of toluene on the optokinetic nystagmus in pigmented rats. *Ecotoxicol Environ Saf* 72(3): 872–878. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.02.016>
- Hougaard KS, Hansen AM, Hass U, Lund SP (2003) Toluene depresses plasma corticosterone in pregnant rats. *Pharmacol Toxicol* 92(3): 148–152. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0773.2003.920308.x>
- Hougaard KS, Andersen MB, Hansen AM, Hass U, Werge T, Lund SP (2005) Effects of prenatal exposure to chronic mild stress and toluene in rats. *Neurotoxicol Teratol* 27(1): 153–167. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2004.08.001>
- HRC (Huntingdon Research Centre) (1991) Toluene, effect on pregnancy of the rat by inhalation exposure (status report with cover letter dated 02/21/1991). NTIS/OTS0000802. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0000802.xhtml>, abgerufen am 19 Okt 2019
- HRC (Huntingdon Research Centre) (1992) Support: the effects of toluene on pregnancy of the rat (inhalation exposure), final report, with cover letter dated 10/02/92. NTIS/OTS00008021. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS00008021.xhtml>, abgerufen am 19 Okt 2019
- IRDC (International Research and Development Corporation) (1985) Toluene – Two generation inhalation reproduction/fertility study on a petroleum derived hydrocarbon with toluene with submittal letter dated 08/20/1985. NTIS/OTS00002942. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS00002942.xhtml>, abgerufen am 19 Okt 2019
- Jacquot L, Pourie G, Buron G, Monnin J, Brand G (2006) Effects of toluene inhalation exposure on olfactory functioning: behavioral and histological assessment. *Toxicol Lett* 165(1): 57–65. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.01.018>
- Jarosz PA, Fata E, Bowen SE, Jen K-LC, Coscina DV (2008) Effects of abuse pattern of gestational toluene exposure on metabolism, feeding and body composition. *Physiol Behav* 93(4–5): 984–993. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.12.016>
- Jones HE, Balster RL (1997) Neurobehavioral consequences of intermittent prenatal exposure to high concentrations of toluene. *Neurotoxicol Teratol* 19(4): 305–313. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0892-0362\(97\)00034-2](https://doi.org/10.1016/s0892-0362(97)00034-2)
- Kang S-K, Rohlman DS, Lee M-Y, Lee H-S, Chung S-Y, Anger WK (2005) Neurobehavioral performance in workers exposed to toluene. *Environ Toxicol Pharmacol* 19(3): 645–650. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2004.12.049>
- Kanter M (2011 a) Protective effects of thymoquinone on the neuronal injury in frontal cortex after chronic toluene exposure. *J Mol Histol* 42(1): 39–46. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10735-010-9305-3>
- Kanter M (2011 b) Thymoquinone attenuates lung injury induced by chronic toluene exposure in rats. *Toxicol Ind Health* 27(5): 387–395. DOI: <https://doi.org/10.1177/0748233710387630>
- Kanter M (2011 c) Thymoquinone reestablishes spermatogenesis after testicular injury caused by chronic toluene exposure in rats. *Toxicol Ind Health* 27(2): 155–166. DOI: <https://doi.org/10.1177/0748233710382541>
- Kanter M (2012) Protective effect of quercetin on liver damage induced by chronic toluene exposure in rats. *Toxicol Ind Health* 28(6): 483–491. DOI: <https://doi.org/10.1177/0748233711414613>
- Kenyon EM, Benignus V, Eklund C, Highfill JW, Oshiro WM, Samsam TE, Bushnell PJ (2008) Modeling the toxicokinetics of inhaled toluene in rats: influence of physical activity and feeding status. *J Toxicol Environ Health Part A* 71(4): 249–265. DOI: <https://doi.org/10.1080/15287390701528363>
- Kim JH, Moon JY, Park E-Y, Lee K-H, Hong Y-C (2011) Changes in oxidative stress biomarker and gene expression levels in workers exposed to volatile organic compounds. *Ind Health* 49(1): 8–14. DOI: <https://doi.org/10.2486/indhealth.ms1112>
- Kishi R, Harabuchi I, Ikeda T, Yokota H, Miyake H (1988) Neurobehavioural effects and pharmacokinetics of toluene in rats and their relevance to man. *Br J Ind Med* 45(6): 396–408. DOI: <https://doi.org/10.1136/oem.45.6.396>

- Klimisch HJ, Hellwig J, Hofmann A (1992) Studies on the prenatal toxicity of toluene in rabbits following inhalation exposure and proposal of a pregnancy guidance value. *Arch Toxicol* 66(6): 373–381. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02035125>
- Kobald SO, Wascher E, Blaszkewicz M, Golka K, van Thriel C (2015) Neurobehavioral and neurophysiological effects after acute exposure to a single peak of 200 ppm toluene in healthy volunteers. *Neurotoxicology* 48: 50–59. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2015.03.005>
- Kobayashi M (2014) Marked asymmetry of white matter lesions caused by chronic toluene exposure. *Neurol Sci* 35(3): 495–497. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10072-013-1581-8>
- Kostas J, Hotchin J (1981) Behavioral effects of low-level perinatal exposure to toluene in mice. *Neurobehav Toxicol Teratol* 3(4): 467–469
- Ladefoged O, Hougaard KS, Hass U, Sørensen IK, Lund SP, Svendsen GW, Lam HR (2004) Effects of combined prenatal stress and toluene exposure on apoptotic neurodegeneration in cerebellum and hippocampus of rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 94(4): 169–176. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2004.pto940403.x>
- Little AR, Gong Z, Singh U, El-Fawal H, Evans HL (1998) Decreases in brain glial fibrillary acidic protein (GFAP) are associated with increased serum corticosterone following inhalation exposure to toluene. *Neurotoxicology* 19(4–5): 739–747
- Little CH, Georgiou GM, Shelton MJ, Simpson F, Cone RE (1999) Clinical and immunological responses in subjects sensitive to solvents. *Arch Environ Health* 54(1): 6–14. DOI: <https://doi.org/10.1080/00039899909602230>
- Litton Bionetics Inc (1978) Teratology study in rats with toluene (final report) with cover sheets and letter dated 083078. NTIS/OTS0533204. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0533204.xhtml>, abgerufen am 19 Okt 2019
- Litton Bionetics Inc (1983) Mutagenicity evaluation of toluene with cover letter prepared by Litton Bionetics. NTIS/OTS0205875. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0205875.xhtml>, abgerufen am 19 Okt 2019
- Liu Y, Fechter LD (1997) Toluene disrupts outer hair cell morphometry and intracellular calcium homeostasis in cochlear cells of guinea pigs. *Toxicol Appl Pharmacol* 142(2): 270–277. DOI: <https://doi.org/10.1006/taap.1996.8059>
- Löf A, Wigaeus Hjelm E, Colmsjö A, Lundmark BO, Norström A, Sato A (1993) Toxicokinetics of toluene and urinary excretion of hippuric acid after human exposure to 2H8-toluene. *Br J Ind Med* 50(1): 55–59. DOI: <https://doi.org/10.1136/oem.50.1.55>
- Lyapkaloo AA (1973) [Genetic activity of benzene and toluene]. *Gig Tr Prof Zabol* (17): 24–28
- Mäki-Paakkanen J, Husgafvel-Pursiainen K, Kalliomäki PL, Tuominen J, Sorsa M (1980) Toluene-exposed workers and chromosome aberrations. *J Toxicol Environ Health* 6(4): 775–781. DOI: <https://doi.org/10.1080/15287398009529896>
- McCarroll NE, Keech BH, Piper CE (1981 a) A microsuspension adaptation of the bacillus subtilis “rec” assay. *Environmental Mutagenesis* 3(6): 607–616. DOI: <https://doi.org/10.1002/em.2860030603>
- McCarroll NE, Piper CE, Keech BH (1981 b) An E coli microsuspension assay for the detection of DNA damage induced by direct-acting agents and promutagens. *Environ Mutagen* 3(4): 429–444. DOI: <https://doi.org/10.1002/em.2860030404>
- McGregor DB, Brown A, Cattanach P, Edwards I, McBride D, Riach C, Caspary WJ (1988) Responses of the L5178Y tk⁺/tk⁻ mouse lymphoma cell forward mutation assay: III. 72 coded chemicals. *Environ Mol Mutagen* 12(1): 85–154. DOI: <https://doi.org/10.1002/em.2860120111>
- Meulenberg CJ, Vijverberg HP (2000) Empirical relations predicting human and rat tissue:air partition coefficients of volatile organic compounds. *Toxicol Appl Pharmacol* 165(3): 206–216. DOI: <https://doi.org/10.1006/taap.2000.8929>
- Meyer-Baron M (2005) A meta-analytical approach to neurobehavioural effects of occupational toluene exposure. *Environ Toxicol Pharmacol* 19(3): 651–657. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2004.12.032>
- Mohtashamipour E, Norpoth K, Woelke U, Huber P (1985) Effects of ethylbenzene, toluene, and xylene on the induction of micronuclei in bone marrow polychromatic erythrocytes of mice. *Arch Toxicol* 58(2): 106–109. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00348318>
- Mohtashamipour E, Sträter H, Triebel R, Norpoth K (1987) Effects of pretreatment of male NMRI mice with enzyme inducers or inhibitors on clastogenicity of toluene. *Arch Toxicol* 60(6): 460–463. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00302390>
- Morata TC, Dunn DE, Kretschmer LW, Lemasters GK, Keith RW (1993) Effects of occupational exposure to organic solvents and noise on hearing. *Scand J Work Environ Health* 19(4): 245–254. DOI: <https://doi.org/10.5271/sjweh.1477>
- Morata TC, Fiorini AC, Fischer FM, Colacioppo S, Wallingford KM, Krieg EF, Dunn DE, Gozzoli L, Padrão MA, Cesar CL (1997) Toluene-induced hearing loss among rotogravure printing workers. *Scand J Work Environ Health* 23(4): 289–298. DOI: <https://doi.org/10.5271/sjweh.222>
- Moro AM, Brucker N, Charão M, Bulcão R, Freitas F, Baierle M, Nascimento S, Valentini J, Cassini C, Salvador M, Linden R, Thiesen F, Buffon A, Moresco R, Garcia SC (2012) Evaluation of genotoxicity and oxidative damage in painters exposed to low levels of toluene. *Mutat Res* 746(1): 42–48. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2012.02.007>
- Muttray A, Wolters V, Jung D, Konietzko J (1999) Effects of high doses of toluene on color vision. *Neurotoxicol Teratol* 21(1): 41–45. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0892-0362\(98\)00027-0](https://doi.org/10.1016/s0892-0362(98)00027-0)
- Muttray A, Spelmeyer U, Hommel G, Oesch F, Jung D, Rose D-M, Mayer-Popken O, Rossbach B, Letzel S (2005) Acute exposure to 50 ppm toluene does not increase sleepiness. *Environ Toxicol Pharmacol* 19(3): 665–669. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2004.12.034>
- Muttray A, Wolters V, Rose D-M (2019) Blue-yellow dyschromatopsia in toluene-exposed workers. *Int Arch Occup Environ Health* 92(5): 699–707. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00420-019-01405-8>

- Nakamura SI, Oda Y, Shimada T, Oki I, Sugimoto K (1987) SOS-inducing activity of chemical carcinogens and mutagens in *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002: examination with 151 chemicals. *Mutat Res* 192(4): 239–246. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(87\)90063-7](https://doi.org/10.1016/0165-7992(87)90063-7)
- Nestmann ER, Lee EG, Matula TI, Douglas GR, Mueller JC (1980) Mutagenicity of constituents identified in pulp and paper mill effluents using the *Salmonella/mammalian-microsome* assay. *Mutat Res* 79(3): 203–212. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(80\)90067-1](https://doi.org/10.1016/0165-1218(80)90067-1)
- NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) (1983) Determination of the reproductive effects in mice of nine selected chemicals. PB84183540, NTIS198415. NIOSH, Cincinnati, OH. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/PB84183540.xhtml>, abgerufen am 12 Mai 2019
- Nise G, Högstedt B, Bratt I, Skerfving S (1991) Cytogenetic effects in rotogravure printers exposed to toluene (and benzene). *Mutat Res* 261(3): 217–223. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(91\)90070-3](https://doi.org/10.1016/0165-1218(91)90070-3)
- NLM (National Library of Medicine) (2020) Toluene. ChemIDplus Data Bank. <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/108-88-3>, abgerufen am 23 Apr 2020
- Norões MM, Santos LG, Gavioli EC, de Paula Soares Rachetti V, Otuki MF, de Almeida Cabrini D, da Silveira Prudente A, Oliveira JRJM, de Carvalho Gonçalves M, Ferreira J, Preti D, De Logu F, Nassini R, André E (2019) Role of TRPA1 receptors in skin inflammation induced by volatile chemical irritants in mice. *Eur J Pharmacol* 858: 172460. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172460>
- NTP (National Toxicology Program) (1990) Toxicology and carcinogenesis studies of toluene (CAS No. 108-88-3) in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies). TR 371. NTP, Research Triangle Park, NC. https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr371.pdf, abgerufen am 09 Nov 2019
- Ono A, Sekita K, Ohno K, Hirose A, Ogawa Y, Saito M, Naito K, Kaneko T, Furuya T, Matsumoto K (1995) Reproductive and developmental toxicity studies of toluene. I. Teratogenicity study of inhalation exposure in pregnant rats. *J Toxicol Sci* 20(2): 109–134. DOI: <https://doi.org/10.2131/jts.20.109>
- Ono A, Sekita K, Ogawa Y, Hirose A, Suzuki S, Saito M, Naito K, Kaneko T, Furuya T, Kawashima K, Yasuhara K, Matsumoto K, Tanaka S, Inoue T, Kurokawa Y (1996) Reproductive and developmental toxicity studies of toluene. II. Effects of inhalation exposure on fertility in rats. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 15(1): 9–20
- Ono A, Kawashima K, Sekita K, Hirose A, Ogawa Y, Saito M, Naito K, Yasuhara K, Kaneko T, Furuya T, Inoue T, Kurokawa Y (1999) Toluene inhalation induced epididymal sperm dysfunction in rats. *Toxicology* 139(3): 193–205. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(99\)00120-1](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(99)00120-1)
- Paramei GV, Meyer-Baron M, Seeber A (2004) Impairments of colour vision induced by organic solvents: a meta-analysis study. *Neurotoxicology* 25(5): 803–816. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2004.01.006>
- Pelclová D, Rössner P, Picková J (1990) Chromosome aberrations in rotogravure printing plant workers. *Mutat Res* 245(4): 299–303. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(90\)90160-1](https://doi.org/10.1016/0165-7992(90)90160-1)
- Pelclová D, Cerná M, Pastorková A, Vrbíková V, Procházka B, Hurychová D, Dlasková Z, Hornychová M (2000) Study of the genotoxicity of toluene. *Arch Environ Health* 55(4): 268–273. DOI: <https://doi.org/10.1080/00039890009603417>
- Pitarque M, Vaglenov A, Nosko M, Hirvonen A, Norppa H, Creus A, Marcos R (1999) Evaluation of DNA damage by the Comet assay in shoe workers exposed to toluene and other organic solvents. *Mutat Res* 441(1): 115–127. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(99\)00042-x](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(99)00042-x)
- Pitarque M, Vaglenov A, Nosko M, Pavlova S, Petkova V, Hirvonen A, Creus A, Norppa H, Marcos R (2002) Sister chromatid exchanges and micronuclei in peripheral lymphocytes of shoe factory workers exposed to solvents. *Environ Health Perspect* 110(4): 399–404. DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.02110399>
- Plappert U, Barthel E, Seidel HJ (1994) Reduction of benzene toxicity by toluene. *Environ Mol Mutagen* 24(4): 283–292. DOI: <https://doi.org/10.1002/em.2850240405>
- Plenge-Bönig A, Karmaus W (1999) Exposure to toluene in the printing industry is associated with subfecundity in women but not in men. *Occup Environ Med* 56(7): 443–448. DOI: <https://doi.org/10.1136/oem.56.7.443>
- Priya K, Yadav A, Kumar N, Gulati S, Aggarwal N, Gupta R (2015) Association of polymorphisms of phase I metabolizing genes with sister chromatid exchanges in occupational workers exposed to toluene used in paint thinners. *Genet Res Int* 2015: 630296. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/630296>
- Richer CL, Chakrabarti S, Sénécal-Quevillon M, Duhr MA, Zhang XX, Tardif R (1993) Cytogenetic effects of low-level exposure to toluene, xylene, and their mixture on human blood lymphocytes. *Int Arch Occup Environ Health* 64(8): 581–585. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00517704>
- Riegel AC, Zapata A, Shippenberg TS, French ED (2007) The abused inhalant toluene increases dopamine release in the nucleus accumbens by directly stimulating ventral tegmental area neurons. *Neuropsychopharmacology* 32(7): 1558–1569. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301273>
- Roberts L, Vernot E, Bevan C, Bui Q, Koschier F, Panson R, Brooker A, Harris S (1993) Developmental toxicity of toluene in the rat. Teratology Society abstracts–platform sessions. *Teratology* 47(5): 434. DOI: <https://doi.org/10.1002/tera.1420470503>
- Roberts LG, Bevans AC, Schreiner CA (2003) Developmental and reproductive toxicity evaluation of toluene vapor in the rat. I. Reproductive toxicity. *Reprod Toxicol* 17(6): 649–658. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0890-6238\(03\)00106-0](https://doi.org/10.1016/s0890-6238(03)00106-0)
- Roberts LG, Nicolich MJ, Schreiner CA (2007) Developmental and reproductive toxicity evaluation of toluene vapor in the rat. II. Developmental toxicity. *Reprod Toxicol* 23(4): 521–531. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.01.009>

- Rodriguez Arnaiz R, Villalobos Pietrini R (1985 a) Genetic effects of thinner, benzene and toluene in *Drosophila melanogaster*. 1. Sex chromosome loss and non-disjunction. *Rev Int Contam Ambient* 1(1): 35–43
- Rodriguez Arnaiz R, Villalobos Pietrini R (1985 b) Genetic effects of thinner, benzene and toluene in *Drosophila melanogaster*. 2. Sex linked recessive lethal, mutations and translocations II-III. *Rev Int Contam Ambient* 1(1): 45–49
- Roh J, Moon YH, Kim KY (1987) The cytogenetic effects of benzene and toluene on bone marrow cells in rats. *Yonsei Med J* 28(4): 297–309. DOI: <https://doi.org/10.3349/ymj.1987.28.4.297>
- Rossmann TG, Molina M, Meyer L, Boone P, Klein CB, Wang Z, Li F, Lin WC, Kinney PL (1991) Performance of 133 compounds in the lambda prophage induction endpoint of the Microscreen assay and a comparison with *S. typhimurium* mutagenicity and rodent carcinogenicity assays. *Mutat Res* 260(4): 349–367. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(91\)90021-d](https://doi.org/10.1016/0165-1218(91)90021-d)
- Saillefait A-M, Gallissot F, Sabaté J-P, Bourges-Abella N, Muller S (2007) Developmental toxic effects of ethylbenzene or toluene alone and in combination with butyl acetate in rats after inhalation exposure. *J Appl Toxicol* 27(1): 32–42. DOI: <https://doi.org/10.1002/jat.1181>
- Saito A, Tanaka H, Usuda H, Shibata T, Higashi S, Yamashita H, Inagaki N, Nagai H (2011) Characterization of skin inflammation induced by repeated exposure of toluene, xylene, and formaldehyde in mice. *Environ Toxicol* 26(3): 224–232. DOI: <https://doi.org/10.1002/tox.20547>
- Sakamoto T, Kamijima M, Miyake M (2012) Neurogenic airway microvascular leakage induced by toluene inhalation in rats. *Eur J Pharmacol* 685(1–3): 180–185. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2012.04.035>
- Sarma SN, Kim Y-J, Song M, Ryu J-C (2011) Induction of apoptosis in human leukemia cells through the production of reactive oxygen species and activation of HMOX1 and Noxa by benzene, toluene, and o-xylene. *Toxicology* 280(3): 109–117. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.11.017>
- Schäper M, Demes P, Kiesswetter E, Zupanic M, Seeber A (2004) Colour vision and occupational toluene exposure: results of repeated examinations. *Toxicol Lett* 151(1): 193–202. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.01.020>
- Schmid E, Bauchinger M, Hauf R (1985) Chromosome changes with time in lymphocytes after occupational exposure to toluene. *Mutat Res* 142(1–2): 37–39. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0165-7992\(85\)80009-9](https://doi.org/10.1016/s0165-7992(85)80009-9)
- Seidenberg JM, Anderson DG, Becker RA (1986) Validation of an in vivo developmental toxicity screen in the mouse. *Teratog Carcinog Mutagen* 6(5): 361–374. DOI: <https://doi.org/10.1002/tcm.1770060503>
- Sina JF, Bean CL, Dysart GR, Taylor VI, Bradley MO (1983) Evaluation of the alkaline elution/rat hepatocyte assay as a predictor of carcinogenic/mutagenic potential. *Mutat Res* 113(5): 357–391. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(83\)90228-5](https://doi.org/10.1016/0165-1161(83)90228-5)
- Sliwiska-Kowalska M, Zmyslowska-Szmytko E, Szymczak W, Kotylo P, Fiszer M, Wesolowski W, Pawlaczyk-Luszczynska M (2005) Exacerbation of noise-induced hearing loss by co-exposure to workplace chemicals. *Environ Toxicol Pharmacol* 19(3): 547–553. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2004.12.018>
- Snyder RD, Matheson DW (1985) Nick translation – a new assay for monitoring DNA damage and repair in cultured human fibroblasts. *Environ Mutagen* 7(3): 267–279. DOI: <https://doi.org/10.1002/em.2860070304>
- Spanggord RJ, Mortelmans KE, Griffin AF, Simmon VF (1982) Mutagenicity in *Salmonella typhimurium* and structure-activity relationships of wastewater components emanating from the manufacture of trinitrotoluene. *Environ Mutagen* 4(2): 163–179. DOI: <https://doi.org/10.1002/em.2860040207>
- Tap O, Solmaz S, Polat S, Mete UO, Ozbilgin MK, Kaya M (1996) The effect of toluene on the rat ovary: an ultrastructural study. *J Submicrosc Cytol Pathol* 28(4): 553–558
- Tas U, Ekici F, Koç F, Söğüt E, Ayan M, Kuloğlu T, Arici A, Özyurt B (2013 a) Acute cardiotoxic effects of high dose toluene: an experimental study. *Anadolu Kardiyol Derg* 13(1): 3–8. DOI: <https://doi.org/10.5152/akd.2013.001>
- Tas U, Ogeturk M, Kuloglu T, Sapmaz HI, Kocaman N, Zarsarsiz I, Sarsilmaz M (2013 b) HSP70 immune reactivity and TUNEL positivity in the liver of toluene-inhaled and melatonin-treated rats. *Toxicol Ind Health* 29(6): 514–522. DOI: <https://doi.org/10.1177/0748233712440138>
- Thiel R, Chahoud I (1997) Postnatal development and behaviour of Wistar rats after prenatal toluene exposure. *Arch Toxicol* 71(4): 258–265. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002040050385>
- van Thiel C (2014) Toxicology of solvents (including alcohol). In: Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier, Amsterdam. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.00210-5>
- Tice RR, Vogt TF, Costa DL (1982) Cytogenetic effects of inhaled benzene in murine bone marrow. In: Tice RR, Costa DL, Schaich KM (Hrsg) Genotoxic effects of airborne agents. Environmental science research. Springer US, Boston, MA, 257–275. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4613-3455-2_20
- Tsukahara S, Nakajima D, Kuroda Y, Hojo R, Kageyama S, Fujimaki H (2009) Effects of maternal toluene exposure on testosterone levels in fetal rats. *Toxicol Lett* 185(2): 79–84. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.12.001>
- Tunek A, Högstäd B, Olofsson T (1982) Mechanism of benzene toxicity. Effects of benzene and benzene metabolites on bone marrow cellularity, number of granulopoietic stem cells and frequency of micronuclei in mice. *Chem Biol Interact* 39(2): 129–138. DOI: [https://doi.org/10.1016/0009-2797\(82\)90116-8](https://doi.org/10.1016/0009-2797(82)90116-8)
- Turkall RM, Skowronski GA, Abdel-Rahman MS (1991) Differences in kinetics of pure and soil-adsorbed toluene in orally exposed male rats. *Arch Environ Contam Toxicol* 20(2): 155–160. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01055899>

- Warner R, Ritchie HE, Woodman P, Oakes D, Pourghasem M (2008) The effect of prenatal exposure to a repeat high dose of toluene in the fetal rat. *Reprod Toxicol* 26(3–4): 267–272. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2008.09.002>
- Wetmore BA, Struve MF, Gao P, Sharma S, Allison N, Roberts KC, Letinski DJ, Nicolich MJ, Bird MG, Dorman DC (2008) Genotoxicity of intermittent co-exposure to benzene and toluene in male CD-1 mice. *Chem Biol Interact* 173(3): 166–178. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.03.012>
- Williams JM, Stafford D, Steketee JD (2005) Effects of repeated inhalation of toluene on ionotropic GABA_A and glutamate receptor subunit levels in rat brain. *Neurochem Int* 46(1): 1–10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2004.07.006>
- Win-Shwe T-T, Kageyama S, Tsukahara S, Nakajima D, Fujimaki H (2010) Effect of D-cycloserine on spatial learning performance and memory function-related gene expression in mice following toluene exposure. *J UOEH* 32(2): 127–140. DOI: <https://doi.org/10.7888/juoeh.32.127>
- Win-Shwe T-T, Kunugita N, Yoshida Y, Fujimaki H (2011) Role of hippocampal TLR4 in neurotoxicity in mice following toluene exposure. *Neurotoxicol Teratol* 33(5): 598–602. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2011.07.005>
- Win-Shwe T-T, Kunugita N, Nakajima D, Yoshida Y, Fujimaki H (2012 a) Developmental stage-specific changes in immunological biomarkers in male C3H/HeN mice after early life toluene exposure. *Toxicol Lett* 208(2): 133–141. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.10.015>
- Win-Shwe T-T, Kunugita N, Yoshida Y, Nakajima D, Tsukahara S, Fujimaki H (2012 b) Differential mRNA expression of neuroimmune markers in the hippocampus of infant mice following toluene exposure during brain developmental period. *J Appl Toxicol* 32(2): 126–134. DOI: <https://doi.org/10.1002/jat.1643>
- Yamamoto S, Win-Shwe T-T, Yoshida Y, Kunugita N, Arashidani K, Fujimaki H (2009) Suppression of Th1- and Th2-type immune responses in infant mouse spleen after prenatal and postnatal exposure to low-level toluene and peptidoglycan. *Inhal Toxicol* 21(9): 793–802. DOI: <https://doi.org/10.1080/08958370902798448>
- Yavari F, van Thriel C, Nitsche MA, Kuo M-F (2018) Effect of acute exposure to toluene on cortical excitability, neuroplasticity, and motor learning in healthy humans. *Arch Toxicol* 92(10): 3149–3162. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00204-018-2277-x>
- Yücel M, Takagi M, Walterfang M, Lubman DI (2008) Toluene misuse and long-term harms: a systematic review of the neuropsychological and neuroimaging literature. *Neurosci Biobehav Rev* 32(5): 910–926. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.01.006>
- Zarani F, Papazafiri P, Kappas A (1999) Induction of micronuclei in human lymphocytes by organic solvents in vitro. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 18(1): 21–28
- Zavalić M, Mandić Z, Turk R, Bogadi-Sare A, Plavec D (1998) Quantitative assessment of color vision impairment in workers exposed to toluene. *Am J Ind Med* 33(3): 297–304. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0274\(199803\)33:3<297::aid-ajim12>3.0.co;2-v](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0274(199803)33:3<297::aid-ajim12>3.0.co;2-v)
- Zupanic M, Demes P, Seeber A (2002) Psychomotor performance and subjective symptoms at low level toluene exposure. *Occup Environ Med* 59(4): 263–268. DOI: <https://doi.org/10.1136/oem.59.4.263>