

# Toxische Wirkung von arbeitsmedizinisch relevanten Partikeln

Einfluss der Partikelgröße, der Partikelgeometrie und der Partikeloberfläche



Götz Westphal, Nina Rosenkranz,  
Thomas Brüning, Jürgen Bünger

*Biobeständige Stäube stellen an vielen Arbeitsplätzen nach wie vor eine besondere Herausforderung für den Gesundheitsschutz von Beschäftigten dar. Im vorgestellten Forschungsverbundprojekt wurde in einem In-vitro-Modell untersucht, welchen Einfluss Größe, Form und Oberfläche von Partikeln auf ihre toxische Wirkung haben.*



## Partikel am Arbeitsplatz weiter eine Herausforderung

Gesundheitliche Risiken durch biobeständige Stäube, einschließlich Fasern sind weiterhin eine besondere Herausforderung für den Schutz von Beschäftigten am Arbeitsplatz. Partikel und Fasern verursachen den größten Teil

schwerwiegender Berufskrankheiten und sind daher weiterhin von hoher Relevanz für die gesetzliche Unfallversicherung. Gleichzeitig werden Partikel und in jüngerer Zeit besonders Nanopartikel für zahlreiche neue Anwendungen entwickelt und in den Verkehr gebracht. Eingesetzt werden sie zum Beispiel im Leichtbau, in Elektro- und

Elektronikbauteilen, bei Oberflächenbeschichtungen oder medizinischen und kosmetischen Produkten.

Mögliche Gesundheitsgefährdungen sind toxikologisch noch nicht hinreichend untersucht. Erkenntnislücken betreffen vor allem die Eigenschaften, die die Toxizität von granulären (nicht faserförmigen) Partikeln maßgeblich bestimmen. Hierbei werden sowohl der Partikelgröße, der Form und auch der Oberfläche wesentliche Einflüsse zugeschrieben. Sollte sich dies bestätigen, wäre eine stärkere Berücksichtigung dieser Parameter hinsichtlich regulatorischer Fragen zu Sicherheit und Gesundheit am Arbeitsplatz notwendig. Die Grenzwertfindung würde deutlich erschwert, da nicht nur die chemische Identität, sondern auch Partikelgröße, Form und Oberfläche berücksichtigt werden müssten. Der Einsatz von granulären biobeständigen Stäuben ohne spezifische Toxizität (GBS) und Nano-GBS am Arbeitsplatz mit unterschiedlichen Grenzwerten ist schon heute in den verschiedenen Technischen Regeln (TRGS 527, TRGS 900) durch den Ausschuss für Gefahrstoffe reguliert.

Das von der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung geförderte Forschungsvorhaben FP-0412 zur toxischen Wirkung arbeitsmedizinisch relevanter Partikel ist eine Kooperation des IPA mit dem Institut für Anorganische Chemie der Universität Duisburg-Essen und der Chirurgischen Forschung des Berufsgenossenschaftlichen Universitätsklinikums Bergmannsheil. In Essen wurden gezielte Synthesen von chemisch identischen Partikeln durchgeführt, die sich lediglich in Größe, Oberfläche, Form und gegebenenfalls in ihrer Kristallinität unterscheiden. So sollte es erstmals möglich sein, den Einfluss dieser Parameter auf die Toxizität der Partikel systematisch zu untersuchen. Wegen des erheblichen Aufwands vergleichender Studien wurden die biologischen Untersuchungen *in vitro*, also in Zellsystemen, im IPA und in der Chirurgischen Forschung durchgeführt.

### Partikelsynthese und Einsatz des PICMA

Die Synthese der Partikel erfolgte mittels verschiedener Synthesestrategien. Die Partikel wurden physikalisch und chemisch überprüft und vergleichend biologisch und toxikologisch charakterisiert. Die biologische Charakterisierung schloss die Zelltoxizität, den programmierten Zelltod (Apoptose), die Freisetzung von Signalmolekülen und die Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) ein. Die Partikeltoxizität wird primär durch eine Entzündungsreaktion bewirkt, die dadurch gekennzeichnet ist,

### Kurz gefasst

Biobeständige Stäube stellen eine besondere Herausforderung für den Gesundheitsschutz am Arbeitsplatz dar.

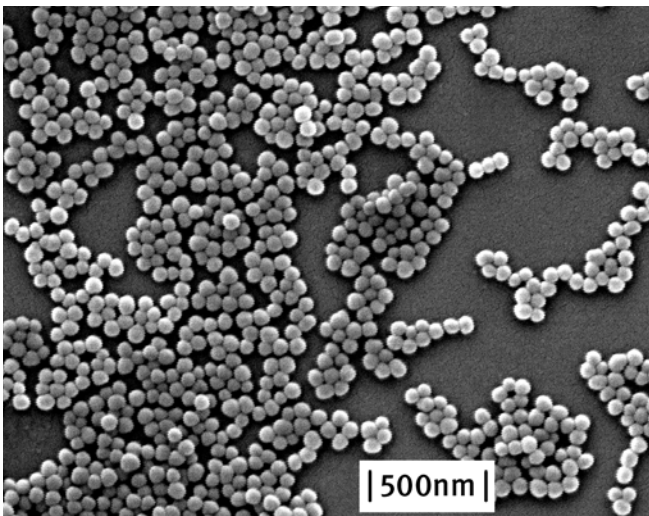
Viele Partikel sind nicht hinreichend auf ihre möglichen gesundheitlichen Effekte beim Menschen untersucht.

Im Verbundprojekt wurde untersucht, ob sich in einem *In-vitro*-Modell aufgrund verschiedener Partikelparameter, wie Größe, Form und Oberfläche Rückschlüsse auf gesundheitliche Auswirkungen ergeben.

dass lokal vermehrt Entzündungszellen einwandern. Daher erfolgten im IPA Untersuchungen mit dem hier entwickelten „Particle-Induced Chemotaxis Assay“ (PICMA). Mithilfe dieses Testsystems kann gezeigt werden, wie Entzündungszellen (Makrophagen und Granulozyten) durch Partikel angelockt werden. Man spricht hier von einer Chemotaxis. Die Aufnahme der Partikel durch die Zellen führt zu einer Entzündungsreaktion, die bei fortgesetzter Partikelexposition zur Zelltoxizität führt. Daher können mit dem PICMA solche spezifischen Wirkungen bereits unterhalb toxischer Partikelkonzentrationen mit hoher Sensitivität nachgewiesen werden (Schremmer et al. 2015, Westphal et al. 2015, 2019). Die *In-vitro*-Systeme erlauben es zudem, mit einem verhältnismäßig geringen Aufwand eine größere Anzahl unterschiedlicher Partikel qualitätsgesichert direkt vergleichend zu untersuchen.

### Testung häufig verwendeter Partikel

Die industriell häufig verwendeten granulären Partikel in Form von kristallinem und amorphem Siliciumdioxid (kurz Silika), Zinkoxid und Titandioxid (Anatas und Rutil sowie amorphe Formen) wurden in verschiedenen Größen vom Nano- bis zum Mikrometerbereich und in unterschiedlichen Formen wie Kugeln und Stäbchen synthetisiert und bezüglich ihrer Reinheit und Stabilität eingehend analytisch charakterisiert. Die biologischen Untersuchungen erfolgten in einer Zelllinie mit Zellen, die für die Reaktionen in den tiefen Atemwegen bestimmend sind (NR8383-Lungenmakrophagen). Die Makrophagen wurden den Partikeln *in vitro* ausgesetzt und die biologischen Reaktionen erfasst. Die gewonnenen Daten wurden abschließend hinsichtlich eines möglichen

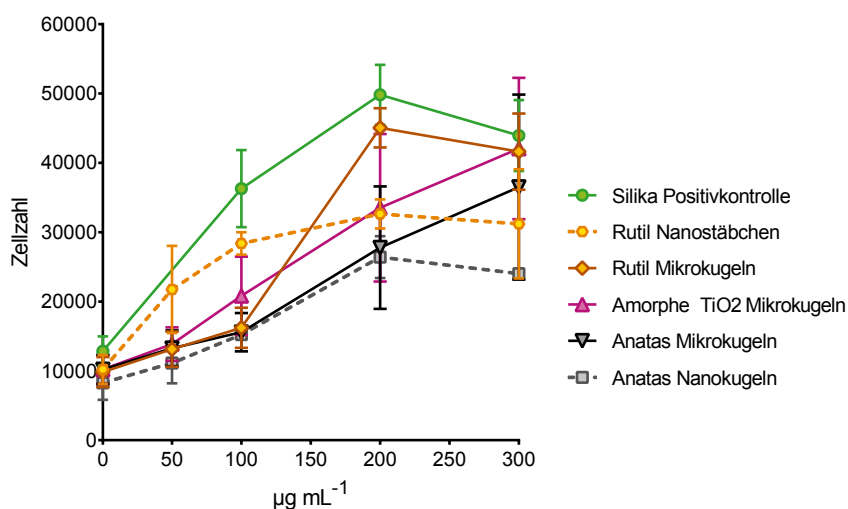


**Abb. 1** Elektronenmikroskopische Aufnahme von Silika-Nanopartikeln (Aufnahme Arbeitsgruppe Prof. Mathias Eppe, Institut für Anorganische Chemie, Universität Duisburg-Essen).

Zusammenhang zwischen den Partikelparametern und der Stärke der Reaktionen wie Toxizität, Apoptose, ROS, Ausschüttung von Biomarkern der Entzündung sowie Partikel-induzierte Chemotaxis getestet.

### Physikalische Partikeleigenschaften zeigen keine Effekte auf Toxizität

In diesem Projekt konnten Silicumdioxid-, Zinkoxid- und Titandioxid-Partikel, teils in unterschiedlichen kristallinen Formen mit definierten Partikelformen und Größen erfolgreich synthetisiert werden. Die Partikelreinheit und Identität sowie deren kolloidale Partikelstabilität wurden bestätigt.



**Abb. 2**

Zahl gewanderter (migrierter) Zellen abhängig von der Partikeldosis. Die Partikel wurden in Konzentrationen zwischen 50 und 300  $\mu\text{g mL}^{-1}$  zu den NR-8383-Zellen gegeben. Die Daten sind als Mittelwert  $\pm$  SD ( $n = 3$ ) dargestellt aus drei unabhängigen Experimenten. Als Positivkontrolle dienten handelsübliche Silika-Nanopartikel.

Die *In-vitro*-Analyse der biologischen Zellreaktionen von chemisch identischen Partikeln ergab keine Hinweise auf wesentliche Unterschiede in Bezug auf deren Partikelgröße, Form und Oberfläche. Als Modell für entzündliche Partikelwirkungen in der Lunge sind in Abbildung 2 die Ergebnisse mit dem PICMA exemplarisch für die untersuchten Formen von Titandioxid dargestellt. Silika wird als Positivkontrolle verwendet, um die Vergleichbarkeit der Daten sicher zu stellen. Als Maß für die Entzündungswirkung dient die Anzahl eingewanderter dHL-60-Zellen. Hierbei handelt es sich um Zellen, die mit Granulozyten vergleichbar sind. Die dHL-60-Zellen folgen Signalmolekülen in den Zellüberständen, die nach Belastung von NR8383-Zellen mit  $\text{TiO}_2$ -Partikeln erhalten wurden.

Abbildung 2 zeigt beispielhaft an den verschiedenen untersuchten Titandioxid-Partikeln die Ergebnisse mit dem PICMA, die in ähnlicher Form ebenfalls für Silicumdioxid- und Zinkoxid-Partikel erzielt wurden. Die verschiedenen Titandioxid-Partikel bewirken zwar unterschiedliche Zellmigrationen, die aber auf einem verhältnismäßig niedrigen Niveau liegen. Sie befinden sich unterhalb der Wirkungen der Silika-Positivkontrolle und korrelieren nicht mit bestimmten Partikeleigenschaften.

Auch hinsichtlich der untersuchten Zelltoxizität, der Apoptose, der Freisetzung von Signalmolekülen und der Entstehung von ROS wurden zwar unterschiedliche biologische Wirkungen beobachtet, die aber nicht mit besonderen Partikeleigenschaften verknüpft waren (Kersting et al. 2020; Olejnik, et al. 2021a, b). Auf Basis dieser Untersuchungsergebnisse scheint es daher nicht notwendig, bei der Festlegung von Grenzwerten für biobeständige granuläre Stäube deren physikalischen Eigenschaften, wie Größe, Form und Oberfläche über das bisherige Maß

hinaus zu berücksichtigen; auch wenn bislang nur eine begrenzte Anzahl von Partikeln in dieser Weise vergleichend untersucht werden konnten.

Zu ähnlichen Ergebnissen kommt ein tierexperimentelles Verbundprojekt zur toxikologischen Bewertung der granulären Nanopartikel Cerdioxid und Bariumsulfat im Niedrigdosisbereich. Zwei Langzeitinhalationsversuche bei der Ratte mit Cerdioxid und Bariumsulfat ergaben, dass granuläre Nanopartikel „keine besondere oder besonders hohe Gesundheitsgefahr“ im Vergleich zu entsprechenden mikroskaligen Partikeln aufweisen (BAuA 2022).

### Folgen für die Grenzwertsetzung

Die hier dargestellten *In-vitro*-Untersuchungsergebnisse zeigen in Ergänzung zu Ergebnissen anderer Autoren aus Tierversuchen hinsichtlich Größe, Form und Oberfläche chemisch identischer, granulärer Partikel keinen Einfluss auf die untersuchten biologischen Effekte. Es ist beabsichtigt, diese Ergebnisse in die regulatorischen Gremien einzubringen. Für eine abschließende generelle Bewertung des Einfluss der untersuchten Parameter sind vergleichende Untersuchungen zu weiteren Partikeln notwendig.

### Das Projektteam

#### Koordinierender Forschungsleiter

Prof. Dr. Matthias Epple  
Institut für Anorganische Chemie  
Universität Duisburg-Essen

#### Weitere Projektbeteiligte

Jun.-Prof. Dr. Christina Sengstock  
Prof. Dr. Manfred Köller  
Chirurgische Forschung  
Chirurgische Universitätsklinik  
Berufsgenossenschaftliches Universitätsklinikum  
Bergmannsheil

Prof. Dr. Jürgen Bünger  
Dr. Georg Johnen  
Dr. Daniel Weber  
PD Dr. Götz Westphal  
IPA

#### Die Autoren:

Prof. Dr. Thomas Brüning  
Prof. Dr. Jürgen Bünger  
Nina Rosenkranz  
PD Dr. Götz Westphal  
IPA

### Literatur

AGS: TRGS 527 <https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRGS/TRGS-527.html>

AGS Beurteilungsmaßstab für technisch gezielt hergestellte ultrafeine Stäube aus alveolengängigen granulären biobeständigen Stäuben ohne bekannte signifikante spezifische Toxizität (nanoskalige GBS) (A-Staub). 2015

BAuA. Informationspapier zur Nano InVivo Studie. 2022 <https://www.baua.de/DE/Aufgaben/Forschung/Forschungsprojekte/pdf/F2325-Informationenpapier-NanoInVivo.html>

Kersting M, Olejnik M, Rosenkranz N, Loza K, Breisch M, Rostek A, Westphal G, Bünger J, Ziegler N, Ludwig A, Köller M, Sengstock C, Epple M. Subtoxic cell responses to silica particles with different size and shape. *Sci Reports* 2020; 10: 21591

Olejnik M, Breisch M, Sokolova V, Loza K, Prymak O, Rosenkranz N, Westphal G, Bünger J, Köller M, Sengstock C, Epple M. The effect of short silica fibers (0.3 µm · 3.2 µm) on macrophages. *Sci Tot Environ* 2021a; 769: 144575

Olejnik M, Kersting M, Rosenkranz N, Loza K, Breisch M, Rostek A, Prymak O, Schürmeyer L, Westphal G, Köller M, Bünger J, Epple M, Sengstock C. Cell-biological effects of zinc oxide spheres and rods from the nano- to the microscale at sub-toxic levels. *Cell Biol Toxicol* 2021b, 37: 573-593

Schremmer I, Westphal GA, Rosenkranz N, Bünger J. Partikel-induzierter Zellmigratoinstest (PICMA). *IPA-Journal* 2015; 03: 34-37

Westphal GA, Schremmer I, Rostek A, Loza K, Rosenkranz N, Brüning T, Epple M, Bünger J. Particle-induced cell migration assay (PICMA): A new in vitro assay for inflammatory particle effects based on permanent cell lines. *Toxicol In Vitro* 2015; 29: 997-1005

Westphal GA, Rosenkranz N, Brik A, Weber DG, föhrling I, Monsé C, Kaisern N, Hellack B, Mattenklott M, Brüning T, Johnen G, Bünger J. Multi-walled carbon nanotubes induce stronger migration of inflammatory cells in vitro than asbestos or granular particles but a similar pattern of inflammatory mediators. *Toxicol In Vitro* 2019; 58: 215-233