



Bericht zum Forschungsvorhaben

Wirkung von Umweltpartikeln nach oraler Aufnahme

Dezember 2015

Sachgebiet Chemikaliensicherheit und Toxikologie

Projekttitel

Wirkung von Umweltpartikeln nach oraler Aufnahme (VH-ID TGC01GCU-63224)

Bericht

Berichtszeitraum: 01.01.2013 bis 31.12.2015

Herausgeber: Bayerisches Landesamt für
Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL)
Eggenreuther Weg 43, 91058 Erlangen
Telefon: 09131 6808-0
Telefax: 09131 6808-2102
E-Mail: poststelle@lgl.bayern.de
Internet: www.lgl.bayern.de
Bildnachweis: Bayerisches Landesamt für
Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL)

Autoren: Wolfgang Schober¹, Richard Winterhalter¹, Wolfgang Matzen¹,
Marina Sysoltseva¹, Hermann Fromme¹

¹ Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Sachgebiet Chemikaliensicherheit und Toxikologie. Pfarrstraße 3, D-80538 München

© Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit
alle Rechte vorbehalten

Im Auftrag des Bayerischen Staatsministeriums für Umwelt und Verbraucherschutz

INHALTSVERZEICHNIS

1. Hintergrund des Projektes	4
2. Ziel des Projektes	5
3. Arbeitsprogramm	6
4. Ergebnisse.....	7
4.1 Intestinale Resorption von Titandioxidpartikeln bei gesunden Probanden	7
4.1.1 Kinetik von mikroskaligem Titandioxid nach oraler Zufuhr	7
4.1.2 Kinetik von nanoskaligem Titandioxid (Korngröße 8 nm) nach oraler Zufuhr	9
4.1.3 Kinetik von nanoskaligem Titandioxid (Korngröße 80 nm) nach oraler Zufuhr ...	11
4.2 Einfluss des pH-Wertes auf die Größenverteilung der Titandioxidpartikel.....	12
4.3 Kinetik von mikroskaligem Silber nach oraler Zufuhr	14
4.4 Kinetik von nanoskaligem Silber nach oraler Zufuhr.....	16
5. Zusammenfassung	18

1. Hintergrund des Projektes

Synthetische Partikel (sP) werden mittlerweile weltweit in vielen Technikfeldern und Industriezweigen zur Optimierung von Produkten und Produktionsprozessen eingesetzt. Dadurch steigt das Risiko einer Weiterverteilung in den verschiedenen Umweltmedien und möglicherweise einer Anreicherung von sP in der unmittelbaren Lebenswelt des Menschen. Durch Aerolisierung, Schmutzwassertransport oder Abrasion und Korrosion (z.B. von Straßen und Gebäuden) können sP leicht in der Umwelt freigesetzt werden. Dies betrifft in erster Linie Partikel, die nicht in einer festen Matrix eingebunden, sondern auf Trägermaterialien fixiert sind. Dazu gehören Oberflächen, die mit Silberpartikeln beschichtet sind, um die Haltbarkeit von Produkten zu erhöhen, aber auch Funktionstextilien mit antimikrobieller Ausrüstung durch Nanosilber (Abbildung 1). Die aufgelagerten sP können durch Abrieb oder Auswaschung vom Menschen direkt nach Freisetzung in der Umwelt und indirekt über die Belastung des Nahrungsmittelpfades aufgenommen werden.

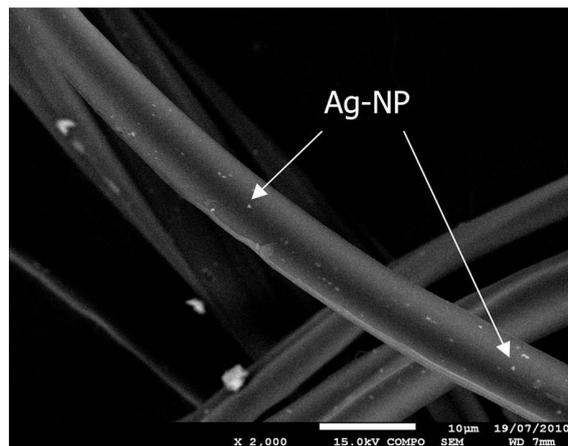


Abbildung 1: REM-Aufnahme von waschbeständigen Silbernanopartikeln (Ag-NP) in einem Kunstfaserwischtuch. (Bildmaterial: Technische Universität Dortmund).

Für die inhalative Aufnahme liegen mittlerweile zahlreiche Studien vor, die die Resorption von Partikeln aus dem Lungengewebe und den Weitertransport in Sekundärorgane belegen. Experimentelle Daten zur Aufnahme von mikro- und nanoskaligen sP aus dem Magen-Darm-Trakt fehlen dagegen weitgehend. Die Informationen sind jedoch im Rahmen der Risikovor-sorge notwendig, da Nanopartikel möglicherweise im Darm schneller resorbiert werden als mikroskalige Partikel desselben Materials (Abbildung 2). Dies hätte erhebliche Implikationen, da eine erhöhte Aufnahme von Nanopartikeln das zelluläre Gleichgewicht empfindlich stören und adverse Effekte in sekundären Zielorganen nach sich ziehen könnte. So zeigten Mäuse, die oral Mikrokupfer verabreicht bekamen, in allen Geweben weder pathologische Verände-

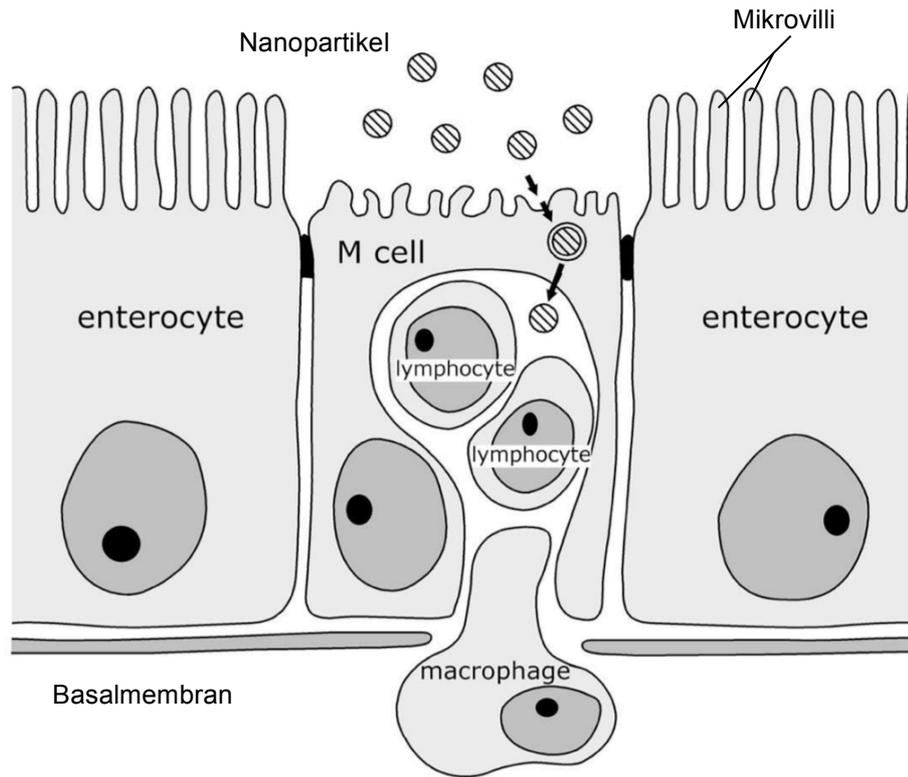


Abbildung 2: Aufnahme von Nanopartikeln über spezialisierte phagozytische Epithelzellen (M-Zellen) der Darmschleimhaut. M-Zellen besitzen typischerweise eine im Vergleich zu normalen Enterozyten reduzierte Zahl von irregulären Mikrovilli und verfügen im Bereich der Basalmembran über eine zytosolische Tasche, in der sich Lymphozyten und Makrophagen befinden. M-Zellen haben eine hohe Transportkapazität und repräsentieren ein effizientes Resorptionsportal für partikuläre Feststoffe. Eine parazelluläre Aufnahme von synthetischen Nanopartikeln zwischen den Epithelzellen wird durch Tight Junctions weitgehend verhindert. Aus (Schober et al., 2012. Nanomaterialien am Arbeitsplatz: Exposition, gesundheitliche Risiken und Präventionsmaßnahmen).

rungen noch erhöhte Kupferspiegel. Die gleiche Menge Nanokupfer lagerte sich hingegen präferentiell in Niere, Milz und Leber ab und induzierte pathologische Veränderungen in den Organen der behandelten Tiere (Chen et al., 2007. Identification of target organs of copper nanoparticles with ICP-MS technique. J. Radioanal. Nucl. Chem. 272: 599-603). Inwieweit solche Effekte auch auf den Menschen übertragbar sind, ist derzeit unklar. Aus diesem Grund ist ein besseres Verständnis der toxikokinetischen Eigenschaften von mikro- und nanoskaligen sP im menschlichen Organismus dringend erforderlich.

2. Ziel des Projektes

Das Projekt zielte darauf ab, die Aufnahmekinetik von umweltrelevanten synthetischen Mikro- und Nanopartikeln aus dem Magen-Darm-Trakt des Menschen zu charakterisieren. Von besonderem Interesse waren Partikel, die sich durch äußere Einträge in der unmittelbaren Lebenswelt des Menschen anreichern (Silber) oder in größeren Mengen gezielt eingesetzt

werden (Titandioxid). In einem experimentellen Ansatz sollte möglichst umfassend geklärt werden, ob Nanopartikel nach oraler Zufuhr schneller intestinal resorbiert werden als mikroskalige Partikel desselben Materials. Im Rahmen eines Humanbiomonitorings bei gesunden Probanden wurde der zeitliche Verlauf der Partikelaufnahme durch Konzentrationsmessungen in Blut und Urin analysiert und größenspezifische Kinetikprofile errechnet. Zusätzlich sollte auch der Einfluss des Einnahmemediums (Wasser, kleines Frühstück) auf die intestinale Resorption der Partikel untersucht werden. Alle im Rahmen des Projektes durchgeführten Untersuchungen wurden von der Ethik-Kommission der Bayerischen Landesärztekammer gebilligt.

3. Arbeitsprogramm

An jeweils zwei Versuchstagen nahmen die Studienteilnehmer eine wässrige Suspension, die Nano- oder Mikropartikel (Titandioxid oder Silber) in pharmazeutischer Qualität enthielt, zusammen mit partikelfreiem VE-Wasser und einem Käsebrötchen oral auf. Im Rahmen eines Humanbiomonitorings wurde mittels sequenzieller induktiv gekoppelter Hochfrequenzplasma-Massen-Spektrometrie (ICP-MS) der zeitliche Verlauf der Partikelresorption über den Magen-Darm-Trakt durch Konzentrationsmessungen in Blut und Urin analysiert und größenspezifische Kinetikprofile errechnet. Titandioxid ist ohne Höchstmengenbeschränkung als Zusatzstoff (E171) für Lebensmittel allgemein zugelassen und toxikologisch unbedenklich. Ein ADI-Wert ist nicht festgelegt. Titandioxid ist damit als Modellpartikel zur Bestimmung der Aufnahmekinetik im menschlichen Darm gut geeignet. Die Dosierung von Silber lag 3-fach unter dem LOAEL und richtete sich nach der oralen Referenzdosis von 0,005 mg/kg Körpergewicht/Tag. Ursprünglich sollte im Rahmen eines Humanbiomonitorings auch die Kinetik von mikro- und nanoskaligen Siliziumdioxidpartikeln untersucht werden. Zu Beginn des Projektes wurden dazu umfangreiche Vorarbeiten durchgeführt. Es zeigte sich jedoch, dass die Blutproben bei der analytischen Aufarbeitung in Glasgefäßen mit Silizium verunreinigt werden. Die eigentlichen Silizium-Blutkonzentrationen konnten deshalb durch den hohen Hintergrundspiegel nicht reproduzierbar gemessen werden. Dies hätte eine Analyse der Blutproben unter glasfreien Bedingungen erfordert. Da wesentliche Messkomponenten des ICP-MS aus Glas bestehen, musste auf diesen Teil der Untersuchung verzichtet werden.

Der vorliegende Bericht fasst die Ergebnisse und Weiterentwicklungen in diesem Projekt vom 1. Januar 2013 bis 31. Dezember 2015 zusammen.

4. Ergebnisse

4.1 Intestinale Resorption von Titandioxidpartikeln bei gesunden Probanden

4.1.1 Kinetik von mikroskaligem Titandioxid nach oraler Zufuhr

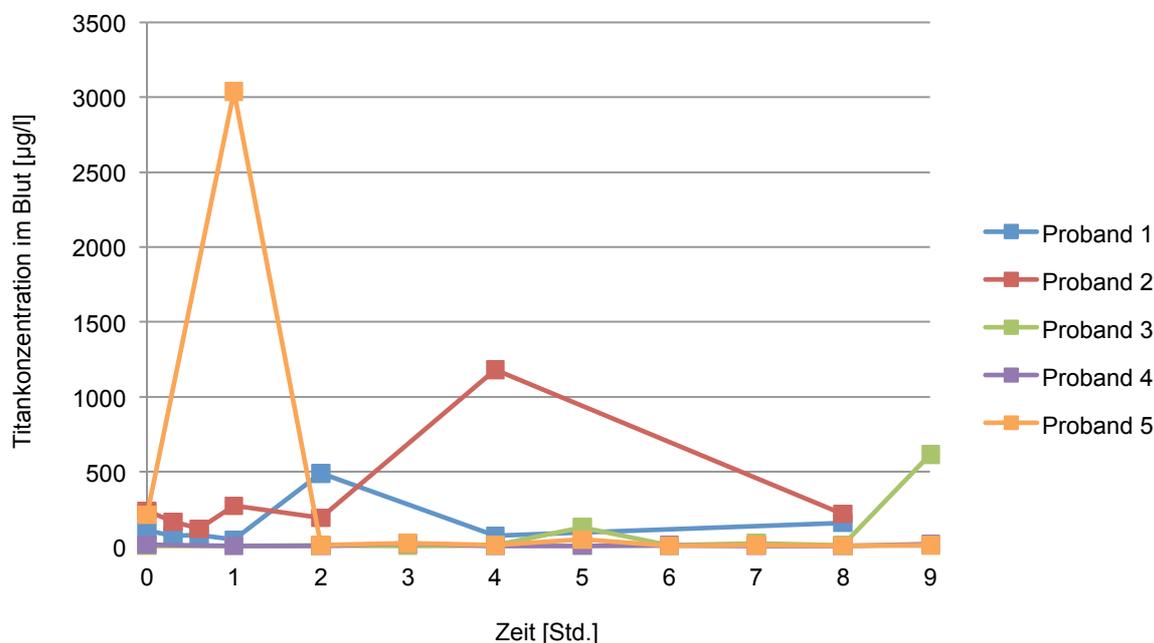


Abbildung 3: Konzentrationsverlauf von Titan im Blut von fünf gesunden Probanden über neun Stunden nach oraler Einnahme von 45 mg mikroskaligem Titandioxid suspendiert in VE-Wasser. Bei Proband 1 und 2 wurden nicht zu allen Zeitpunkten Blutproben genommen.

An der Kinetikstudie nahmen fünf gesunde Probanden teil (Geschlecht: zwei weiblich, drei männlich; Alter: $41,6 \pm 11,3$ Jahre). Alle Teilnehmer wurden ausführlich über die Studie informiert und mussten schriftlich ihre Einwilligung zur Teilnahme erklären. Vor Studienbeginn wurden alle Teilnehmer medizinisch untersucht, um Personen mit Vorerkrankungen auszuschließen. Zusätzlich wurde bei den weiblichen Probanden die Beta-hCG-Konzentration im Blut bestimmt, um zu gewährleisten, dass zum Zeitpunkt der Studie keine Schwangerschaft vorlag. Alle Teilnehmer wurden angewiesen, 24 Stunden vor Titandioxideinnahme keine Kaugummis zu kauen und nach Möglichkeit nur titandioxidfreie Zahncremes zu verwenden. Zur Bestimmung der Hintergrundbelastung sollte in diesem Zeitraum zusätzlich der Urin gesammelt werden. Am Morgen der Untersuchung erschienen die Probanden „nüchtern“, um einen niedrigen Titan grundspiegel im Blut sicherzustellen. Nach Abgabe einer Blutprobe nahmen die Studienteilnehmer eine wässrige Suspension, die 45 mg mikroskaliges Titandioxid enthielt, zusammen mit partikelfreiem VE-Wasser und einem Käsebrötchen oral auf. Anschließend wurden über neun Stunden Blutproben genommen und für 24 Stunden der Urin gesammelt. In diesem Zeitraum konnten die Studienteilnehmer auch wieder ohne Einschränkungen essen und trinken. Nach entsprechender Aufarbeitung der Blut- und Urinproben wurde der Titangehalt mittels hochauflösender ICP-MS gemessen.

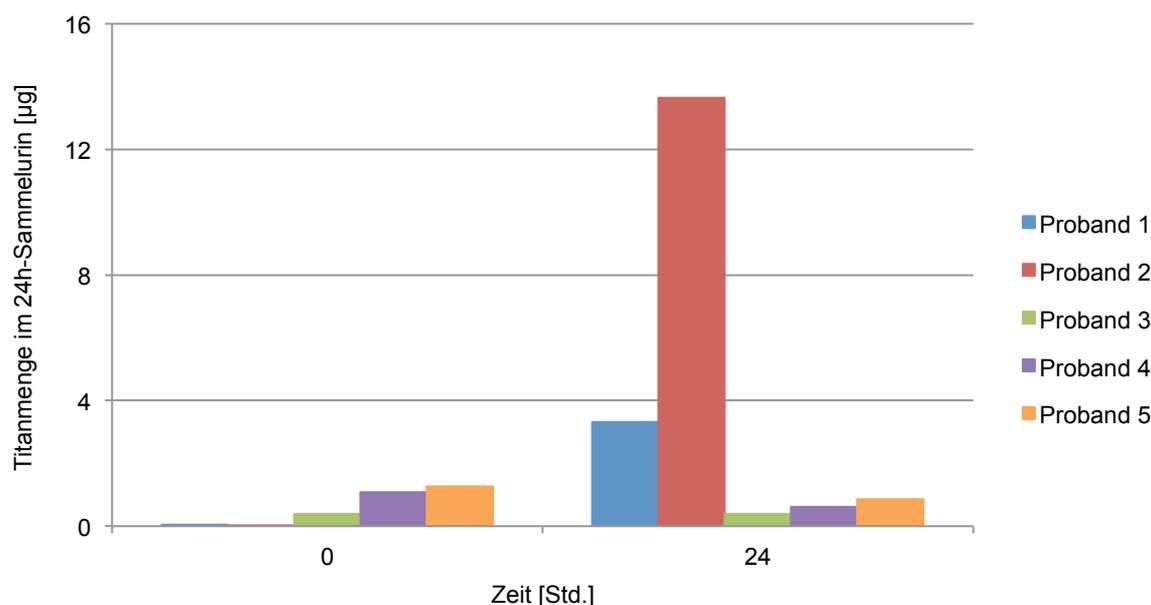


Abbildung 4: Dargestellt ist die Titanmenge im 24h-Sammelurin von fünf Probanden jeweils 24 Stunden vor (0-Stundenwert) und 24 Stunden nach (24-Stundenwert) oraler Einnahme einer wässrigen Suspension mit 45 mg mikroskaligem Titandioxid. Die 0-Stundenwerte von Proband 1 und 2 repräsentieren die Titanmenge im Spoturin.

Abbildung 3 zeigt, dass von allen Probanden nur ein geringer Teil des oral zugeführten Titandioxids über den Magen-Darm-Trakt ins Blut aufgenommen wurde. Die höchste Titankonzentration wurde bei Proband 5 (3040 µg/l) eine Stunde nach Einnahme erreicht. Der Titan Gehalt fiel allerdings in den nächsten 60 Minuten unter das Ausgangsniveau und blieb dort bis zum Ende der Untersuchung. Proband 1 und 2 zeigten ebenfalls einen Anstieg der Titankonzentration, wobei die Höchstwerte erst nach zwei (490 µg/l) bzw. vier Stunden (1189 µg/l) erreicht wurden und 2,6- bis 6-fach unter dem Maximum von Proband 5 lagen. Abgesehen von einer Zunahme der Titankonzentration (Proband 3) am Ende der Beobachtungszeit, waren bei Proband 3 und 4 über neun Stunden keine Veränderungen des Titanspiegels nach Einnahme von mikroskaligem Titandioxid zu beobachten. Bei allen Studienteilnehmern lagen die Titanmengen im Urin vor und nach Exposition auf ähnlichem Niveau (Abbildung 4). Interessanterweise zeigten die Probanden, bei denen ein Anstieg der Titankonzentration im Blut beobachtet werden konnte, keine nennenswerte Erhöhung der Titanmenge im Urin. Lediglich bei Proband 2 lag die Titanmenge (13,6 µg) 2,7-fach über dem Höchstwert der im Rahmen dieser Studie ermittelten ernährungsbedingten Schwankungsbreite (Abbildung 5). Analysen von Urin- und Blutproben, die unter identischen Versuchsbedingungen ohne Einnahme von mikroskaligem Titandioxid gesammelt wurden, zeigten, dass der Titanspiegel im Blut (2,1 µg/l bis 29,3 µg/l) und die über den Urin ausgeschiedene Titanmenge (2,1 µg bis 5,1 µg) ernährungsbedingt z.T. erheblich schwanken kann.

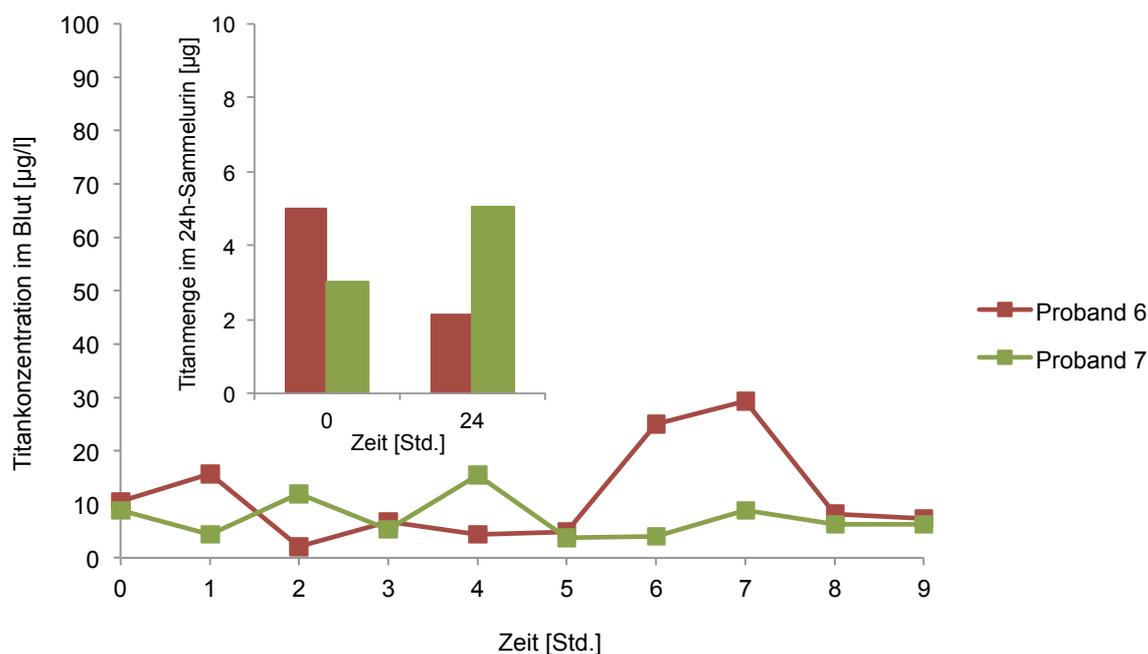


Abbildung 5: Dargestellt ist die ernährungsbedingte Schwankungsbreite der Titanmenge im Blut und im 24h-Sammelurin (Inset), die unter identischen Versuchsbedingungen ohne Einnahme von Titandioxid (Negativkontrolle) bei 2 Probanden aus dem Mikrosilberversuch gemessen wurde.

4.1.2 Kinetik von nanoskaligem Titandioxid (Korngröße 8 nm) nach oraler Zufuhr

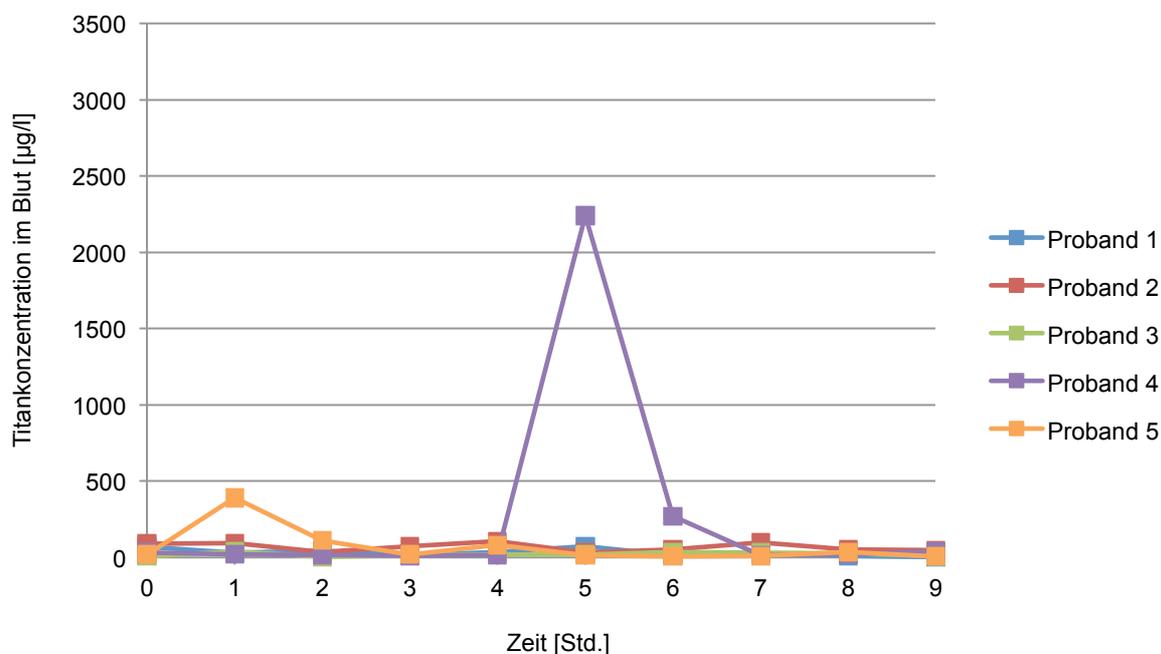


Abbildung 6: Konzentrationsverlauf von Titan im Blut von fünf gesunden Probanden über neun Stunden nach oraler Einnahme von 45 mg Nano-Titandioxid (8 nm) suspendiert in VE-Wasser.

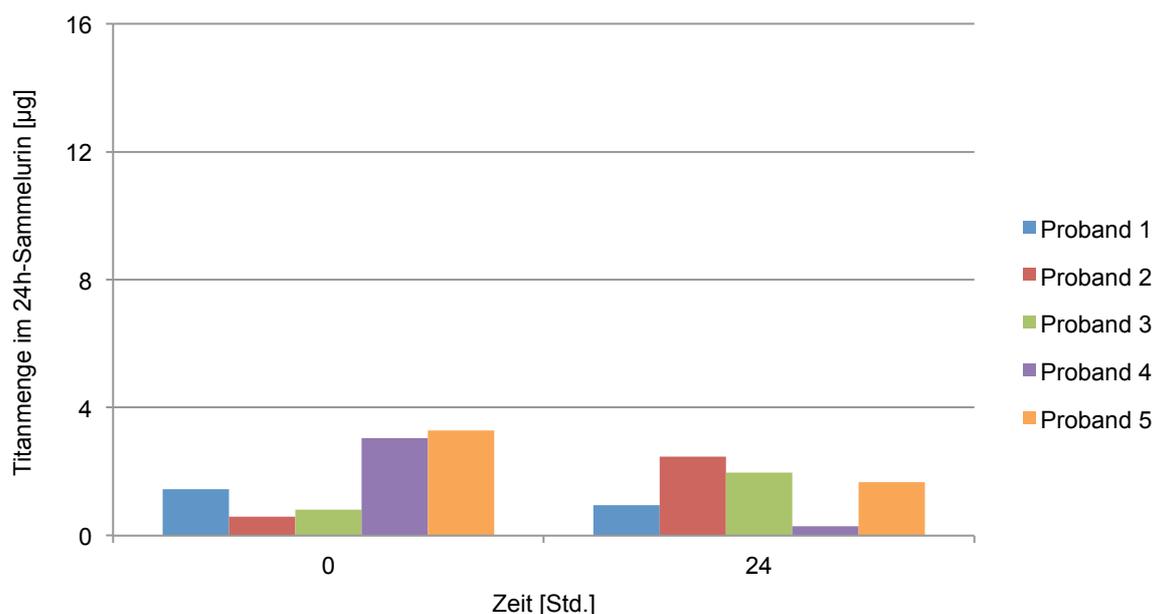


Abbildung 7: Dargestellt ist die Titanmenge im 24h-Sammelurin von fünf Probanden jeweils 24 Stunden vor (0-Stundenwert) und 24 Stunden nach (24-Stundenwert) oraler Einnahme einer wässrigen Suspension mit 45 mg nanoskaligem Titandioxid (Korngröße 8 nm).

Eine Woche später nahmen dieselben Probanden unter identischen Bedingungen eine wässrige Suspension mit 45 mg nanoskaligem Titandioxid (Korngröße 8 nm) oral auf. Abbildung 6 zeigt, dass im Beobachtungszeitraum bei keinem der Probanden ein dauerhafter Anstieg der Titankonzentration im Blut beobachtet werden konnte. Lediglich bei Proband 4 und 5 war nach einer bzw. fünf Stunden eine kurzfristige Zunahme der Titanmenge auf 393 µg/l und 2240 µg/l festzustellen, die allerdings 60 Minuten später wieder auf Ausgangsniveau zurückfiel. Zu Versuchsbeginn stimmten die Hintergrundspiegel der Studienteilnehmer weitgehend gut mit den Null-Stundenwerten der Mikro-Kinetiksitung überein (Abbildung 3). Im weiteren Verlauf des Beobachtungszeitraums bewegten sich die Titankonzentrationen aber hauptsächlich innerhalb der ernährungsbedingten Schwankungsbreite (Abbildung 5). Auch die Analyse der Urinproben zeigten lediglich einen Anstieg des Titans im Rahmen der natürlichen Streuung (Abbildung 7). Insgesamt legen die Ergebnisse den Schluss nahe, dass mikro- und nanoskaliges Titandioxid gleichermaßen schlecht über den Magen-Darm-Trakt in die Blutbahn aufgenommen wird und die Ausscheidung des Metalls mehrheitlich über Fäzes verläuft. Um Größenfiltereffekte der phagozytischen M-Zellen im Darm (Abbildung 2) auszuschließen, wurde durch weitere Untersuchungen die Möglichkeit geprüft, ob Titandioxidpartikel mit einer Korngröße von 80 nm besser intestinal aufgenommen werden als 8 nm-Partikel desselben Materials. Dazu wurde der Versuch mit zwei Probanden unter Einnahme einer wässrigen Suspension mit 45 mg 80 nm-Titandioxidpartikeln (P90) wiederholt.

4.1.3 Kinetik von nanoskaligem Titandioxid (Korngröße 80 nm) nach oraler Zufuhr

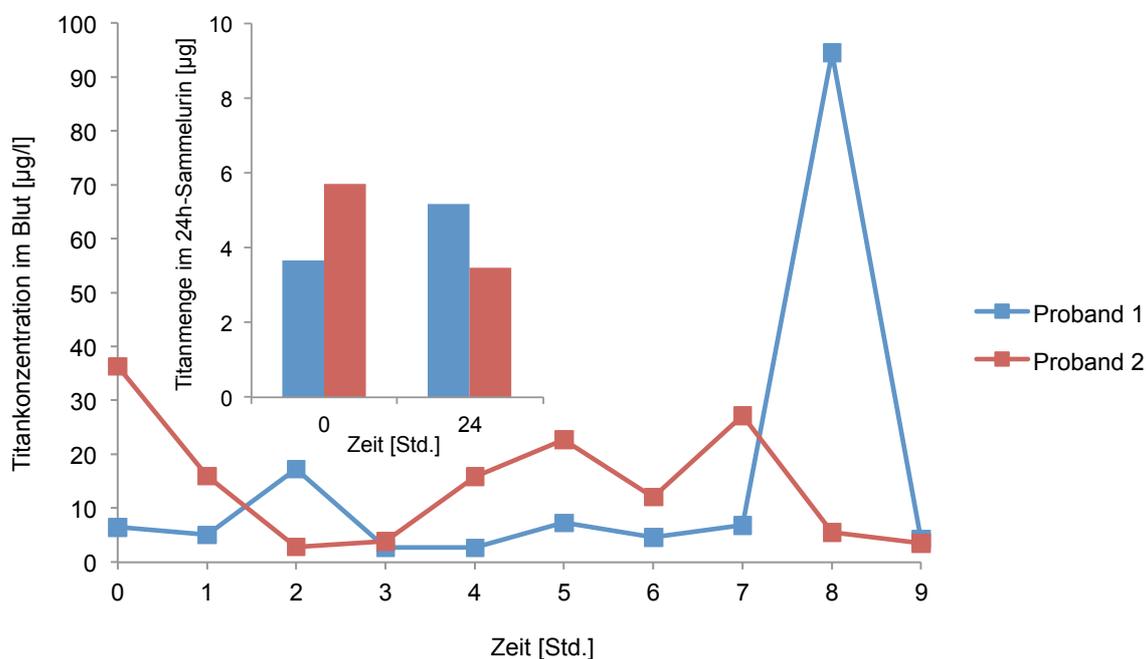


Abbildung 8: Konzentrationsverlauf von Titan im Blut von zwei gesunden Probanden über neun Stunden nach oraler Zufuhr von 45 mg 80 nm-Titandioxidpartikeln suspendiert in VE-Wasser. Das Inset zeigt die Titanmenge im Sammelurin jeweils 24 Stunden vor (0-Stundenwert) und nach Einnahme.

Abbildung 8 belegt, dass die Partikelgröße generell keinen Einfluss hat auf die intestinale Resorption von oral zugeführtem Titandioxid. Im Rahmen unserer Untersuchungen konnte weder ein Unterschied in der Aufnahmekinetik zwischen Nanopartikeln unterschiedlicher Korngröße (8/80 nm) noch im Vergleich zu mikroskaligen Titandioxidpartikeln beobachtet werden. Alle drei Korngrößen wurden gleichermaßen schlecht über den Darm resorbiert. Nach Einnahme der Partikel bewegten sich die Titan-Blutkonzentrationen bei fast allen Probanden innerhalb der ernährungsbedingten Schwankungsbreite. Die wenigen kurzfristigen Belastungsspitzen traten uneinheitlich auf und oftmals bei nicht mehr als zwei Probanden. Darüber hinaus zeigten die Verläufe nicht die für kinetische Untersuchungen typischen Anflut- und Abklingprofile, wie sie beispielsweise im Nanosilberversuch zu beobachten waren (Abbildung 13). Da in den allen Urinproben der Studienteilnehmer kein signifikanter Anstieg der Titanmenge festzustellen war, ist davon auszugehen, dass das aufgenommene Titan über alle Korngrößen hinweg mehrheitlich über Fäzes ausgeschieden wurde. Möglicherweise beeinflusst der saure pH-Wert das Agglomerationsverhalten der Partikel während der Magen-Darm-Passage. Dies könnte auch die Bioverfügbarkeit und damit die Partikelresorption reduzieren. Um diese Frage zu klären, wurde nachfolgend der Einfluss des pH-Wertes auf die Größenverteilung aller eingesetzten Titandioxidpartikel untersucht.

4.2 Einfluss des pH-Wertes auf die Größenverteilung der Titandioxidpartikel

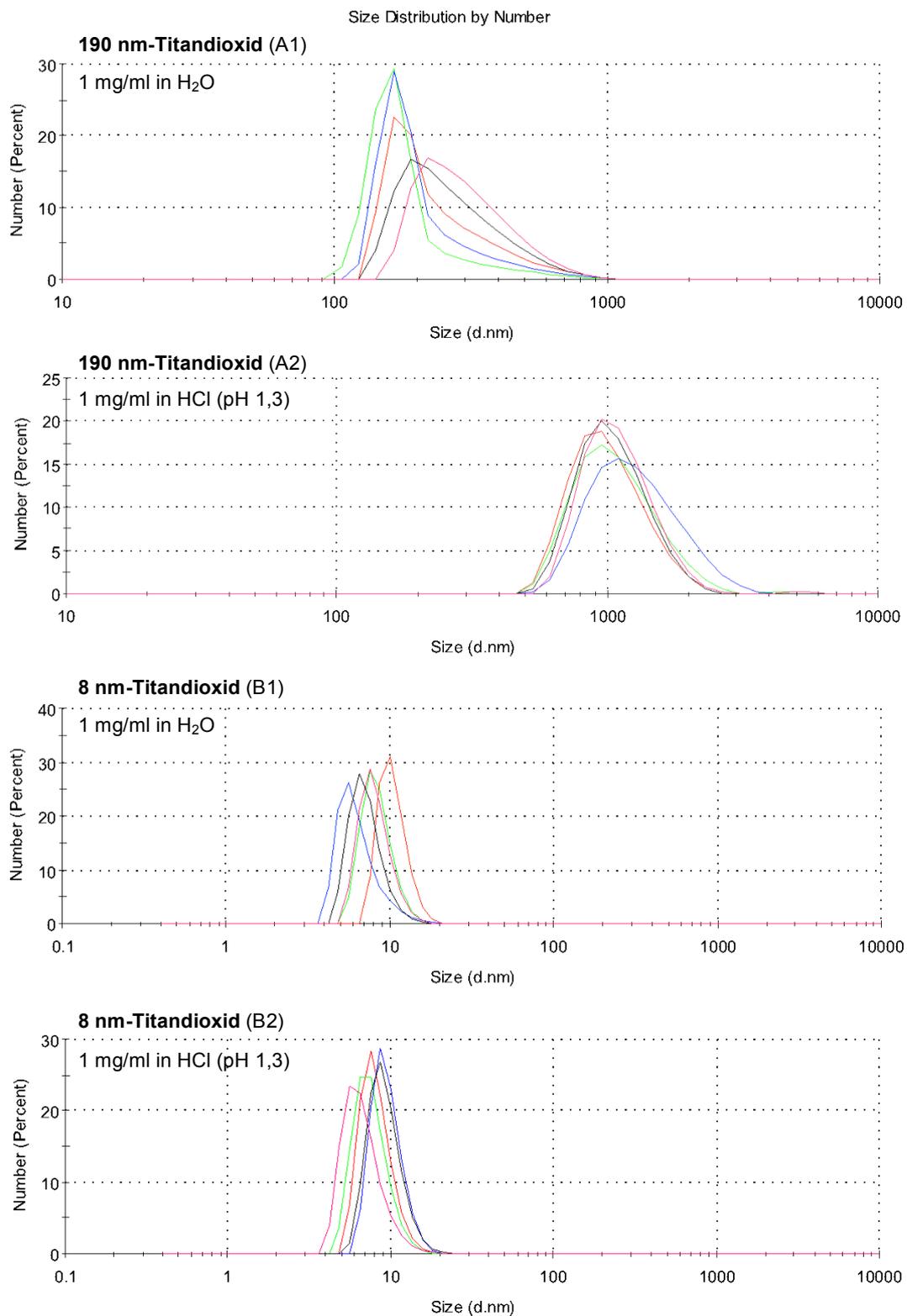


Abbildung 9: Größenverteilung von Mikro- (A: Kronos 1171) und Nano-Titandioxid (B: 8 nm, PlasmaChem) dispergiert in Wasser bei neutralem pH-Wert (A1/B1) und dispergiert in Wasser/HCl bei pH 1,3 (A2/B2) gemessen mit DLS. Die Analysen wurden mehrfach durchgeführt (verschiedene Linien).

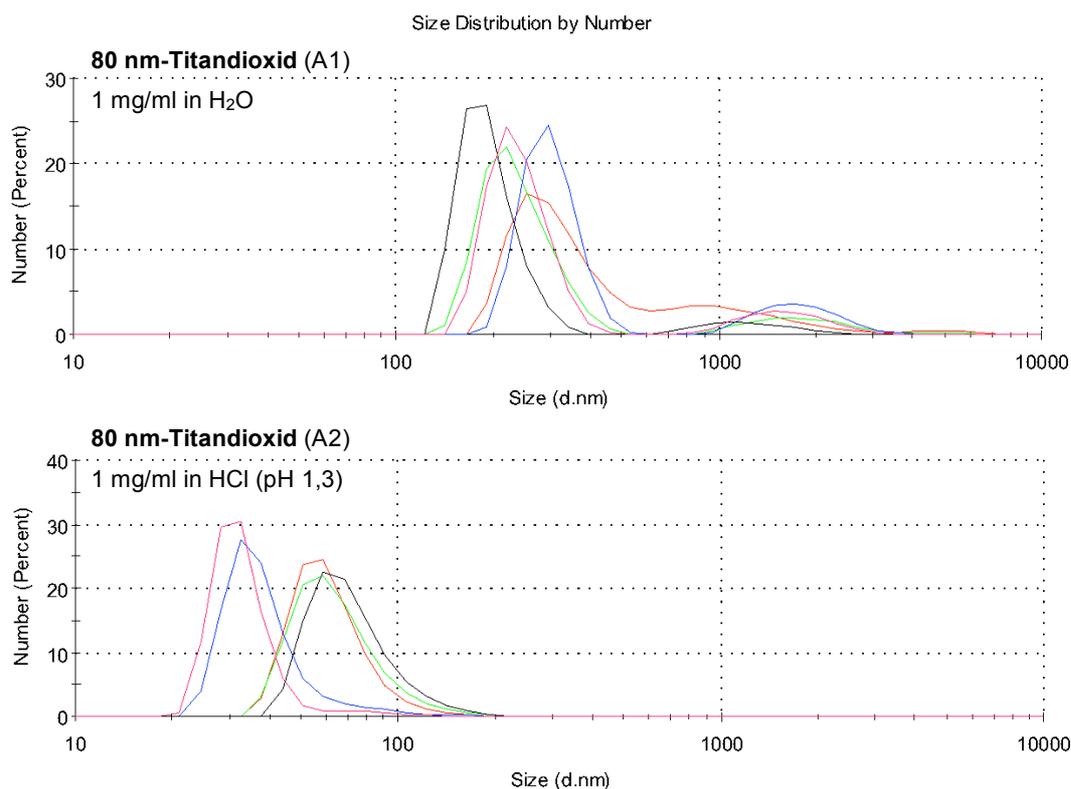


Abbildung 10: Dargestellt ist die Größenverteilung von 80 nm-Titandioxidpartikeln (P90) dispergiert in Wasser bei neutralem pH-Wert (A1) und dispergiert in Wasser/HCl bei pH 1,3 (A2) gemessen mit DLS. Die Analysen wurden mehrfach durchgeführt (verschiedene Linien).

Saure pH-Bedingungen beeinflussten das Agglomerationsverhalten von mikroskaligem Titandioxid erheblich. Die Primärpartikel (190 nm) bildeten nach Ansäuern mit HCl (pH-Wert 1,3) größere Strukturen mit einem hydrodynamischen Durchmesser von etwa 1000 nm (Abbildung 9A). Auf die Größenverteilung von Nano-Titandioxid hatte der pH-Wert dagegen keinen Einfluss. Im sauren Milieu war keine Agglomeratbildung zu beobachten, die Partikel blieben reproduzierbar bei einem Durchmesser von 8 nm (Abbildung 9B). Bei den 80 nm-Partikeln führte die Zugabe von Säure sogar zu einer Verschiebung der Größenverteilung in Richtung kleinerer Partikeldurchmesser (Abbildung 10). Damit konnte gezeigt werden, dass nanoskaliges Titandioxid durch pH-Bedingungen, wie sie während der Verdauung im Magen vorherrschen, von einer Aggregatbildung unbeeinflusst bleibt. Die schlechte Partikelresorption muss demnach mit anderen Faktoren (z.B. Wechselwirkungen mit Komponenten aus dem Speisebrei) zusammenhängen oder liegt generell in der physikochemischen Beschaffenheit (Unverdaulichkeit) des Materials begründet. Für Letzteres spricht, dass bei allen Probanden nach Einnahme keine erhöhten Titanmengen im Urin beobachtet werden konnten. Titandioxid ist ohne Höchstmengenbeschränkung als Zusatzstoff (E171) für Lebensmittel allgemein zugelassen und toxikologisch unbedenklich.

4.3 Kinetik von mikroskaligem Silber nach oraler Zufuhr

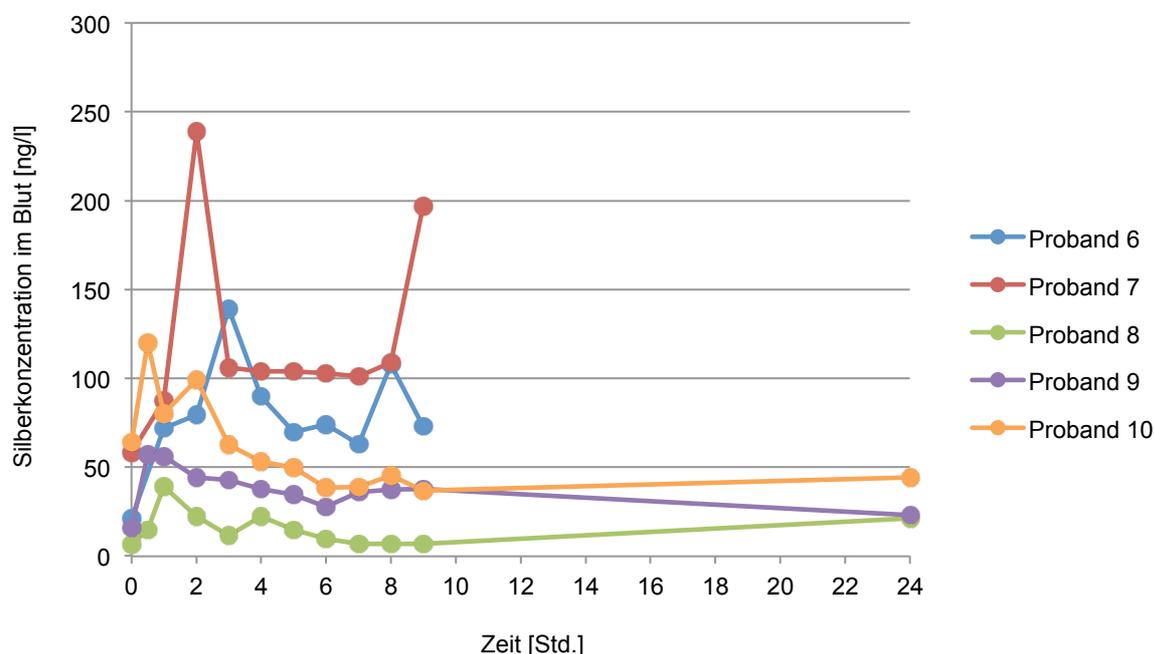


Abbildung 11: Konzentrationsverlauf von Silber im Blut von fünf gesunden Probanden über 24 Stunden nach oraler Einnahme von 1,75 mg mikroskaligem Silber suspendiert in VE-Wasser. Bei Proband 6 und 7 wurden nicht zu allen Zeitpunkten Blutproben genommen.

An der Silberkinetikstudie nahmen fünf weitere gesunde Probanden teil (Geschlecht: drei weiblich, zwei männlich; Alter: $44,8 \pm 4,1$ Jahre). Alle Teilnehmer wurden ausführlich über die Studie informiert und mussten schriftlich ihre Einwilligung zur Teilnahme erklären. Vor Studienbeginn wurden die Probanden ebenfalls medizinisch untersucht, um Personen mit Vorerkrankungen auszuschließen. Zusätzlich wurde bei den weiblichen Probanden die Beta-hCG-Konzentration im Blut bestimmt, um zu gewährleisten, dass zum Zeitpunkt der Studie keine Schwangerschaft vorlag. Zur Bestimmung der Hintergrundbelastung wurden alle Teilnehmer angewiesen, 24 Stunden vor Silbereinnahme den Urin zu sammeln. Am Morgen der Untersuchung erschienen die Probanden „nüchtern“, um einen niedrigen Silbergrundspiegel im Blut sicherzustellen. Nach Abgabe einer Blutprobe nahmen die Studienteilnehmer eine wässrige Suspension, die 1,75 mg mikroskaliges Silber enthielt, zusammen mit partikelfreiem VE-Wasser und einem Käsebrötchen oral auf. Anschließend wurden über neun Stunden Blutproben genommen und für 24 Stunden der Urin gesammelt. In diesem Zeitraum konnten die Studienteilnehmer auch wieder ohne Einschränkungen essen und trinken. Bei drei Probanden wurde zusätzlich noch eine Blutprobe 24 Stunden nach Silbereinnahme entnommen. Nach entsprechender Aufarbeitung der Blut- und Urinproben wurde der Silbergehalt mittels hochauflösender ICP-MS gemessen.

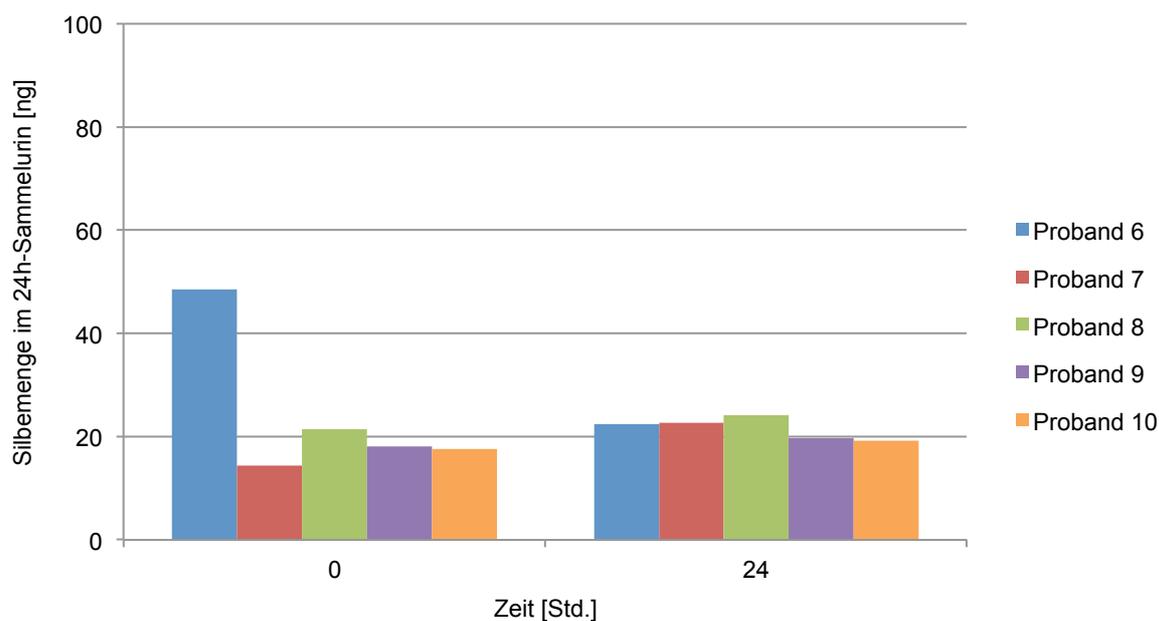


Abbildung 12: Dargestellt ist die Silbermenge im 24h-Sammelurin von fünf Probanden jeweils 24 Stunden vor (0-Stundenwert) und 24 Stunden nach (24-Stundenwert) oraler Einnahme einer wässrigen Suspension mit 1,75 mg mikroskaligem Silber.

Vor Einnahme des Mikrosilbers schwankten die Silbergehalte im Blut aller Teilnehmer zwischen 6,7 ng/l und 64 ng/l (MW $33,3 \pm 23,5$ ng/l) und erreichten nach Einnahme Belastungsspitzen zwischen 39,2 ng/l und 239 ng/l (Abbildung 11). Bei Proband 8 und 9 lagen die Höchstwerte (39,2 ng/l bzw. 57,2 ng/l) im Rahmen der natürlichen Streuung. Die größten Anstiege der Silber-Blutkonzentration wurden bei Proband 6 (139 ng/l) und 7 (239 ng/l) zwei bzw. drei Stunden nach Versuchsbeginn beobachtet. Die Silbergehalte lagen am Ende des neunstündigen Beobachtungszeitraums immer noch deutlich über dem Ausgangsniveau. Um den zeitlichen Verlauf der Ausscheidekinetik vollständig zu erfassen, wurde bei drei Teilnehmern 24 Stunden nach Versuchsbeginn noch eine weitere Blutprobe entnommen. Abbildung 11 zeigt, dass in diesen Zeitraum die Silberkonzentration wieder vollständig auf Hintergrundniveau abgesunken war. Insgesamt wurde von den Probanden nur ein sehr geringer Teil des oral zugeführten Mikrosilbers über den Darm resorbiert. Auch war die Silbermenge im Prä-Post-Vergleich in allen Urinproben nahezu unverändert (Abbildung 12). Bei Proband 6 war die über den Urin ausgeschiedene Silbermenge vor Versuchsbeginn sogar doppelt so hoch wie nach Einnahme des Mikrosilbers. Die in Abbildung 12 dargestellten Silbermengen repräsentieren demnach die natürliche Schwankung der renalen Silberausscheidung. Vor diesem Hintergrund ist davon auszugehen, dass der überwiegende Teil des Mikrosilbers unresorbiert über Fäzes ausgeschieden wurde.

4.4 Kinetik von nanoskaligem Silber nach oraler Zufuhr

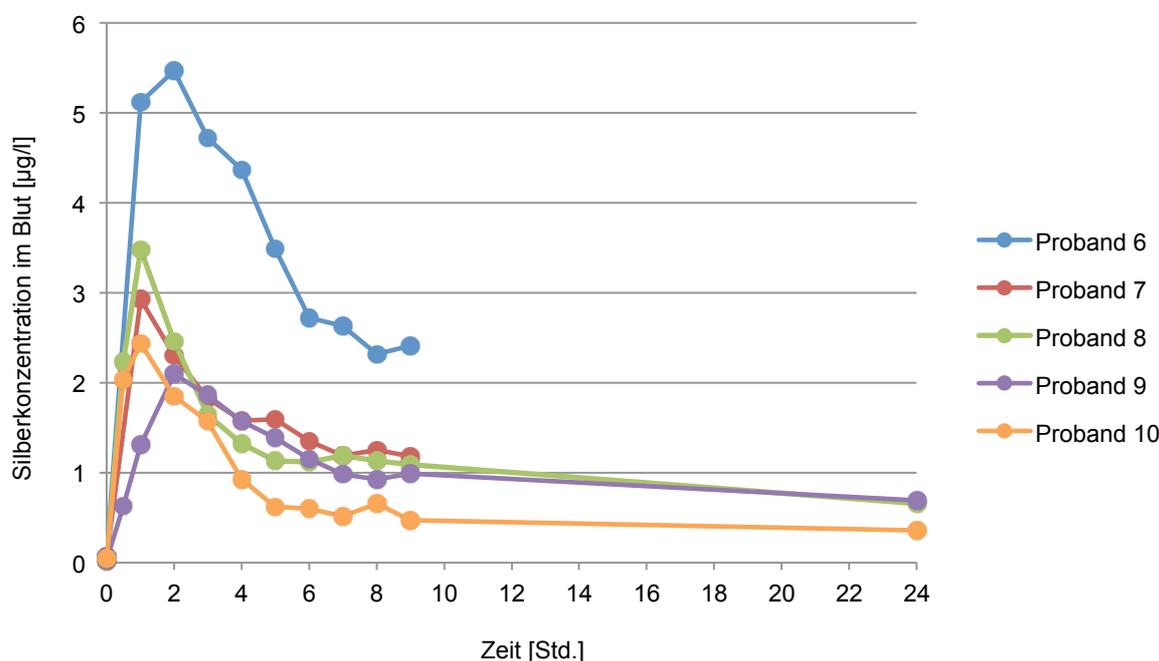


Abbildung 13: Konzentrationsverlauf von Silber im Blut von fünf gesunden Probanden über 24 Stunden nach oraler Einnahme von 1,75 mg nanoskaligem Silber suspendiert in VE-Wasser. Bei Proband 6 und 7 wurden nicht zu allen Zeitpunkten Blutproben genommen.

Nanosilber wurde im Vergleich zu Mikrosilber von allen Probanden gut intestinal resorbiert (Abbildung 13). Die maximalen Silber-Blutkonzentrationen (C_{max} : 2,1 $\mu\text{g/l}$ bis 5,4 $\mu\text{g/l}$) wurden ein bis zwei Stunden nach Einnahme erreicht und lagen 37- bis 183-fach über dem natürlichen Belastungsspiegel vor Versuchsbeginn (MW 45 $\text{ng/l} \pm 28 \text{ ng/l}$). Bei drei Probanden (6, 7 und 9) war sechs Stunden nach Einnahme die Hälfte der maximalen Silberkonzentration im Blut abgebaut (Halbwertszeit), bei zwei Probanden (8 und 10) bereits nach drei bis vier Stunden. Die Elimination verlief insgesamt langsam. Am Ende des Beobachtungszeitraums (24 Stunden) lagen die Silbergehalte (0,36 $\mu\text{g/l}$ bis 0,69 $\mu\text{g/l}$) immer noch 8- bis 35-fach über dem Ausgangswert. Ein Unterschied in der Aufnahme- und Eliminationskinetik zwischen männlichen und weiblichen Teilnehmern war nicht zu beobachten. Vergleicht man die Belastungsspitzen der Silberkonzentrationen im Blut nach Einnahme von Mikro- und Nanosilber, so ist festzustellen, dass nanoskalige Silberpartikel etwa 23-fach besser über den Darm aufgenommen werden als mikroskalige Partikel desselben Materials. Interessanterweise spiegelte sich dieser Befund nicht in den Silber-Uringehalten wider. Wie auch beim Mikrosilberversuch war die Silbermenge im Prä-Post-Vergleich in allen Urinproben nahezu unverändert oder bewegte sich innerhalb der natürlichen Streuung (Abbildung 14).

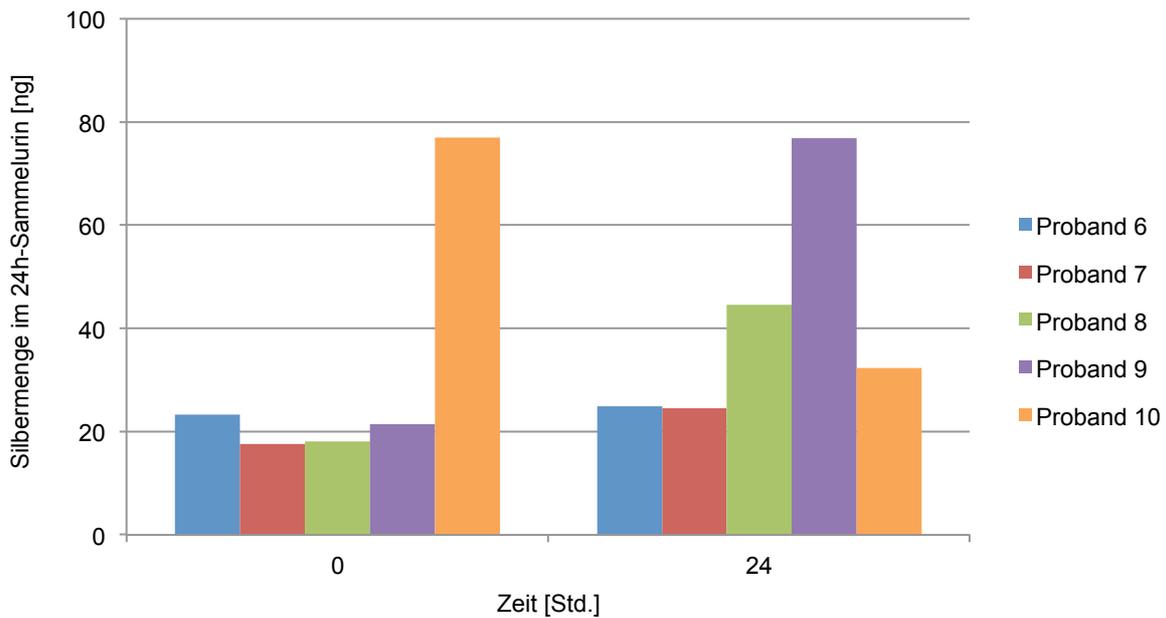


Abbildung 14: Dargestellt ist die Silbermenge im 24h-Sammelurin von fünf Probanden jeweils 24 Stunden vor (0-Stundenwert) und 24 Stunden nach (24-Stundenwert) oraler Einnahme einer wässrigen Suspension mit 1,75 mg nanoskaligem Silber.

Das resorbierte Silber muss sich also entweder in bestimmten Organen des Körpers abgelagert haben, um erst später schrittweise über die Nieren eliminiert zu werden, oder es wurde biliär, über die Gallengänge der Leber und nachfolgend über den Dickdarm aus dem Körper ausgeschieden. Beide Möglichkeiten könnten erklären, warum trotz hoher Blutspiegel bei allen Probanden kein signifikanter Anstieg der Silbermenge im Urin festzustellen war. Für die kinetischen Untersuchungen wurde 1,75 mg Nanosilber oral verabreicht. Bezogen auf diese Gesamtdosis nahmen die Studienteilnehmer nicht mehr als 10 % des Nanosilbers über den Magen-Darm-Trakt auf. Der Rest wurde unresorbiert über Fäzes ausgeschieden. In Umweltmedien sind Nanosilbergehalte im Milligrammbereich eher unwahrscheinlich. Aktuelle Messungen zur Belastung von bayerischen Gewässern belegen, dass sich die Nanosilberkonzentrationen in der Isar abseits von Einleitungsstellen (≤ 3 ng/l) und in verschiedenen oberbayerischen Seen ($\leq 1,3$ ng/l) auf sehr niedrigem Niveau bewegen (Schuster M et al., 2015. Cloud Point Extraction als Schlüssel für die Bestimmung von Silber-Nanopartikeln in Umweltproben. Vortrag, Nano-Fachtagung LfU). Auch Trinkwasser enthält nur äußerst geringe Mengen an Nanosilber (8 ng/l), das hauptsächlich aus korrodierten Kupfertrinkwasserleitungen freigesetzt wird. Nanosilberpartikel werden zwar 23-fach besser über den Darm aufgenommen als mikroskalige Partikel desselben Materials. Aufgrund einer geringen Umweltexposition und einer insgesamt niedrigen Resorption (10 %) ist im Vergleich zum Mikrosilber aber nicht von einem erhöhten Gesundheitsrisiko durch Nanosilber auszugehen.

5. Zusammenfassung

Der Verwendung synthetischer Partikel (sP) kommt eine immer größere Bedeutung im Rahmen der allgemeinen technischen Weiterentwicklung unserer Gesellschaft zu. Der vermehrte Einsatz von mit Partikeln hergestellten oder optimierten Produkten könnte aber auch zu einer stärkeren Belastung der Umwelt und des Menschen führen. Für die inhalative Aufnahme liegen mittlerweile zahlreiche Studien vor, die die Resorption von Partikeln aus dem Lungengewebe und den Weitertransport in Sekundärorgane belegen. Experimentelle Daten zur Aufnahme von mikro- und nanoskaligen sP aus dem Magen-Darm-Trakt fehlen dagegen weitgehend. Die Informationen sind jedoch im Rahmen der Risikovorsorge notwendig, da Nanopartikel möglicherweise im Darm schneller resorbiert werden als mikroskalige Partikel desselben Materials. Das durchgeführte Projekt zielte darauf ab, die Aufnahmekinetik von umweltrelevanten synthetischen Mikro- und Nanopartikeln aus dem Magen-Darm-Trakt des Menschen näher zu charakterisieren. Im Fokus der Untersuchungen standen Partikel, die sich durch äußere Einträge in der unmittelbaren Lebenswelt des Menschen anreichern (Silber) oder in größeren Mengen gezielt eingesetzt werden (Titandioxid).

Die Korngrößen der eingesetzten Mikro- und Nanopartikel wurden vor Versuchsbeginn mit unabhängigen Analysemethoden (REM, DLS, aF4/MALS) umfassend charakterisiert und die Integrität der Partikelgröße bei Dispersion in wässrigen Medien sichergestellt. Im Rahmen eines umfangreichen Humanbiomonitorings konnte gezeigt werden, dass mikro- und nanoskaliges Titandioxid über verschiedene Korngrößen (8/80/190 nm) hinweg gleichermaßen schlecht über den Magen-Darm-Trakt in die Blutbahn aufgenommen wird und die Ausscheidung des Metalls mehrheitlich über Fäzes verläuft. Saure pH-Bedingungen, wie sie während der Verdauung im Magen vorherrschen, hatten keinen Einfluss auf das Agglomerationsverhalten von Nano-Titandioxid. Die schlechte Partikelresorption muss demnach mit anderen Faktoren (z.B. Wechselwirkungen mit Komponenten aus dem Speisebrei) zusammenhängen oder liegt generell in der physikochemischen Beschaffenheit (Unverdaulichkeit) des Materials begründet. Nanoskalige Silberpartikel wurden dagegen 23-fach besser intestinal resorbiert als mikroskalige Partikel desselben Materials. Die maximalen Silber-Blutkonzentrationen (C_{max} : 2,1 $\mu\text{g/l}$ bis 5,4 $\mu\text{g/l}$) wurden ein bis zwei Stunden nach Einnahme erreicht und lagen 37- bis 183-fach über dem natürlichen Belastungsspiegel vor Versuchsbeginn. Die Halbwertszeit lag im Mittel bei etwa 4,5 Stunden. Der Abbau des Silbers im Blut verlief insgesamt langsam. 24 Stunden nach Einnahme lagen die Silbergehalte immer noch 8- bis 35-fach über dem Ausgangswert. Ein Unterschied in der Aufnahme- und Eliminationskinetik zwischen männlichen und weiblichen Teilnehmern war nicht zu beobachten. Da trotz hoher Blutspiegel bei allen Probanden kein signifikanter Anstieg der Silbermenge im Urin festzu-

stellen war, muss das resorbierte Silber entweder im Körper abgelagert oder biliär ausgeschieden worden sein. Nanosilberpartikel werden zwar 23-fach besser über den Darm aufgenommen werden als mikroskalige Partikel desselben Materials. Aufgrund einer geringen Umweltexposition (Isar/Seen: $\leq 1,3$ ng/l, Trinkwasser: 8 ng/l) und einer insgesamt niedrigen Resorption (10 %) ist im Vergleich zum Mikrosilber aber nicht von einem erhöhten Gesundheitsrisiko durch Nanosilber auszugehen.

Die im Berichtszeitraum gewonnenen Erkenntnisse sind neuartig und liefern wichtige Informationen zur Aufnahme von sP über den menschlichen Magen-Darm-Trakt. Sie sind insbesondere vor dem Hintergrund einer zunehmenden Anreicherung von sP in der unmittelbaren Lebenswelt des Menschen von Bedeutung. Im Rahmen des Projektes wurde eine anspruchsvolle Metallanalytik aufgebaut und durch Vernetzung mit wissenschaftlichen Kooperationspartnern weiterentwickelt. Das erarbeitete Know-how soll für weitere Fragestellungen im Rahmen der Toxikokinetik von synthetischen Umweltpartikeln eingesetzt werden. Von besonderem Interesse sind Verbrauchergruppen mit einer gestörten Funktion von Magen und Dünndarm (z.B. Morbus Crohn). Durch derartige Untersuchungen könnten wichtige Erkenntnisse zum Gefährdungspotenzial synthetischer Umweltpartikel bei vulnerablen Gruppen gewonnen werden.