



Zelluläre Aufnahme und Toxizität von Tonerpartikeln *in vitro*

S. Tautz^{1,2}, U. Zimmermann¹, J. Hippler³, G. Fulda², L. Jonas², A.W. Rettenmeier¹, E. Dopp¹

¹Institut für Hygiene und Arbeitsmedizin, Universitätsklinikum, Universität Duisburg-Essen, ²Institut für Pathologie, Universität Rostock, ³Institut für Umweltanalytik, Universität Duisburg-Essen

Einleitung

Tonerpartikel aus Tonerpatronen für Laserdrucker und Kopierer können während des Nachfüllens bzw. während des Druck-/Kopierprozesses Angestellte, Servicetechniker und Produktionsarbeiter inhalativ belasten. Die Wirkung von Toneremissionen (Stäube + flüchtige Verbindungen) auf die menschliche Gesundheit ist bisher nicht bekannt, jedoch ergeben sich Hinweise auf rezidivierende Entzündungen der Atemwege, Epistaxis, Sinusitis, Asthma bronchiale und allergische Reaktionen. Ziel der vorliegenden Studie war es, die zellulären Effekte nach Tonerpartikelexposition am Zellkulturmodell zu untersuchen und mit der Toxizität von ultrafeinen Kohlenstoffpartikeln zu vergleichen.

Material und Methoden

Zellkultur

3T3-Zellen (primäre embryonale Mäusefibroblasten von ATCC, USA) wurden in DMEM mit 15 % FCS und BEAS-2B (humane bronchiale Epithelzellen) Zellen in DMEM + 10 % FCS kultiviert.

Röntgenmikroanalyse

Die verwendeten Partikel wurden mittels Total Reflexions-Röntgen-Fluoreszenz-Analyse (TRFA) und Rasterelektronenmikroskopie (REM) auf ihre Elementzusammensetzung hin untersucht (Abb.1).

Elektronenmikroskopie

REM:

Die Untersuchungen erfolgten mit einem Rasterelektronenmikroskop (Zeiss) am Elektronenmikroskopischen Zentrum der Universität Rostock (Abb. 1 und 2).

TEM:

Die Transmissionselektronenmikroskopie wurde zusammen mit der Elementanalyse ebenfalls an der Universität Rostock durchgeführt (Abb. 1 und 2).

Zytotoxizität

Exponierte 3T3- und BEAS-2B-Zellen (24h, 48h, 72h) wurden mit Trypan Blau gefärbt und unter dem Lichtmikroskop auf Vitalität untersucht.

Gentoxizität

BEAS-2B-Zellen wurden mit Tonerpartikeln (schwarz und pink) in Konzentrationsbereichen von 1,0 bis 10,0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ behandelt und nach Expositionsende fixiert. Die DNA wurde mit Bisbenzimid (Hoechst 33258) gefärbt und die Anzahl induzierter Mikrokerne pro 1000 Zellen fluoreszenzmikroskopisch bestimmt.

Intrazelluläre Radikalbildung

Die intrazelluläre Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) wurde anhand des H_2DCFDA -Assays nach 15, 30 und 45 min sowie nach 1 h, 3 h, 6 h und 12 h sowohl in 3T3- als auch in BEAS-2B-Zellen ermittelt.

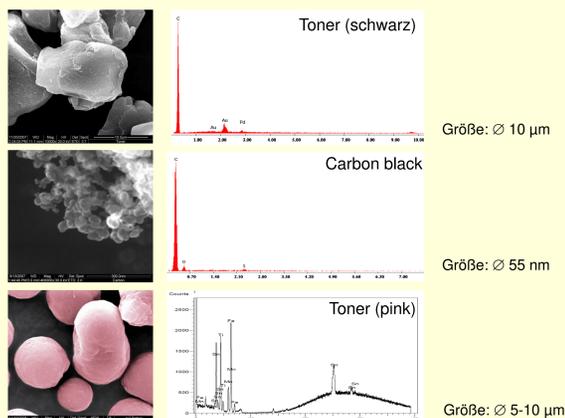
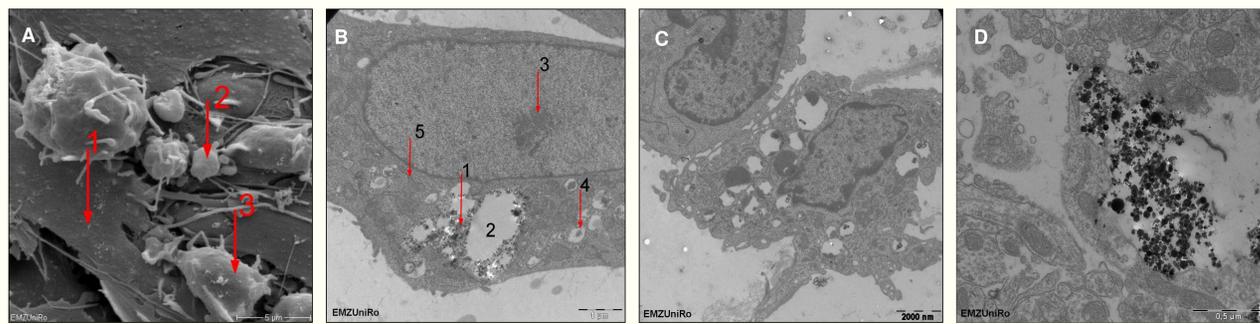


Abb. 1: REM und TRFA der verwendeten Partikel

Ergebnisse

[1] Zelluläre Aufnahme und Lokalisation



1 = Fibroblast, 2 = Tonerpartikel, 3 = apoptotische Zelle (ER = Endoplasmatisches Retikulum)

1 = Tonerabrieb, 2 = Lysosomen, 3 = Zellkern, 4 = Vakuole, 5 = ER

Abb. 2: REM- (A) und TEM- (B-D) Aufnahmen von Partikel-exponierten 3T3-Zellen ($5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, 24 h). A-C: Tonerpartikel (schwarz), D: Carbon black. Die Zellorganellen (Nucleus, Mitochondrien, ER) waren nicht belastet.

[2] Zytotoxizität

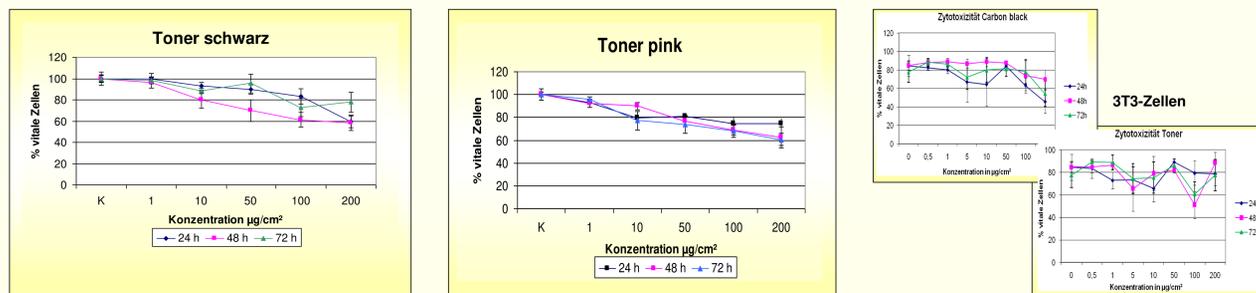


Abb. 3: Toxizität von Tonerpartikeln (schwarz, pink) in BEAS-2B-Zellen sowie von Carbon black und Toner (schwarz) in 3T3-Zellen nach 24 h bis 72 h Exposition. Die zytotoxischen Effekte sind in den humanen Zellen weniger stark ausgeprägt.

[3] Gentoxizität

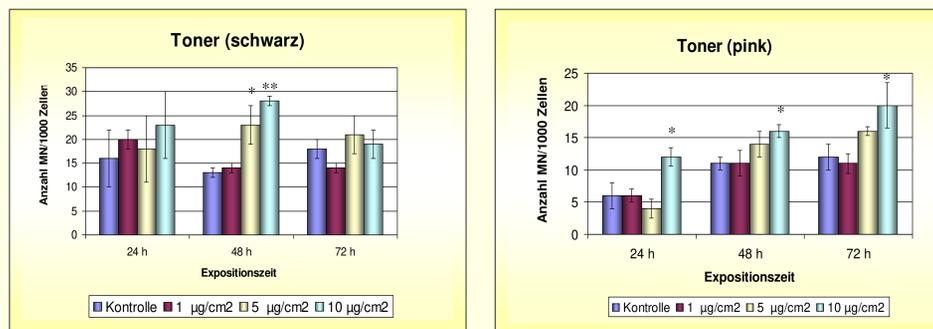


Abb. 4: Mikrokerninduktion in BEAS-2B-Zellen nach Exposition gegenüber Tonerpartikeln. Die gentoxischen Effekte sind nur schwach ausgeprägt (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).

[4] Radikalbildung

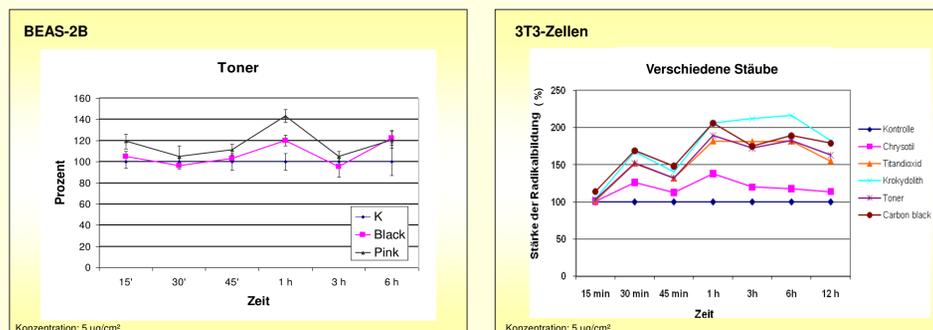


Abb. 5: Tonerpartikel induzierten sowohl in 3T3- als auch in BEAS-2B-Zellen eine erhöhte intrazelluläre Radikalbildung.

Schlussfolgerungen

Im gewählten Zellkulturmodell wurde sowohl ein zytotoxisches als auch ein gentoxisches Potenzial (inkl. Radikalbildung) verschiedener Tonerstäube nachgewiesen. Die beobachteten Effekte waren jedoch schwächer ausgeprägt als die nach Carbon black-Exposition (ultrafeine Partikel). Auch das Zellmodell spielte eine Rolle, da humane Zellen unempfindlicher reagierten. Tonerpartikel verschiedener Größen waren intrazellulär nachweisbar, Zellkern und -organellen waren dagegen nicht belastet. In nachfolgenden Studien sollen Emissionsmessungen und toxikologische Untersuchungen verknüpft werden. Auch sollen additive Effekte (Partikel + flüchtige Verbindungen wie z.B. Di-/Tributylzinn, Styrol und Phenol) Beachtung finden.