

Gesundheitliche Effekte durch Zinkoxid im Niedrigdosisbereich

Studie zur Dosis-Wirkungsbeziehung

Olaf Hagemeyer, Christian Monsé, Christian Eisenhawer, Thomas Brüning, Rolf Merget

Zinkoxid (ZnO) kann bei verschiedenen Arbeitsprozessen wie zum Beispiel dem thermischen Schneiden, beim Schweißen oder Schmelzen freigesetzt werden. In höheren Konzentrationen eingeatmet, kann Zinkoxid zu gesundheitlichen Effekten führen. Bei Schweißern ist das sogenannte Metallrauchfieber nach Einatmen hoher Konzentrationen von ZnO-Partikeln bekannt. Im Expositions-labor des IPA wurde eine Studie zur Darstellung einer Dosis-Wirkungsbeziehung für Zinkoxid durchgeführt. Der nachfolgende Beitrag stellt eine Zusammenfassung des Artikels von Monsé et al (2018) aus der Zeitschrift *Particle and Fibre Toxicology* dar.

Verwendet wird Zinkoxid (ZnO) als Pigment in Farben zum Beispiel in Steingrau, Zinkgrau oder Zinkweiß, als Aktivator für Vulkanisationsprozesse, in der Herstellung von Keramik, Glas, Kunststoffen sowie für elektrische Bauteile und Schmierstoffe. Erhöhte Expositionen gegenüber ZnO können unter anderem zum sogenannten Metallrauchfieber, einer Erkrankung mit schnupfenähnlichen Symptomen führen. Betroffen hiervon sind insbesondere Schweißer, die unter anderem beim thermischen Schneiden, Schweißen und Schmelzen gegenüber ZnO-Partikeln exponiert sein können. Die ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft (MAK-Kommission) hat 2009 eine Absenkung des Grenzwertes für Zink und seine Verbindungen auf $0,1 \text{ mg/m}^3$ für den A-Staub vorgenommen. Der bis dahin in der MAK-Liste geführte Wert lag bei 1 mg/m^3 Zinkoxid (A-Staub). In der für den MAK-Wert relevanten Studie sind Beckett et al. (2005) aufgrund der technischen Bedingungen mit der Konzentration für ZnO von $0,5 \text{ mg/m}^3$ unterhalb des Effektniveaus geblieben, so dass keine lowest observed effect concentration (LOEC) bestimmt werden konnte (s. Info-Kasten). Da in der Studie von Beckett et al. nur zwei Stunden unter Ruhebedingungen exponiert wurde, wurde der MAK-Wert bei $0,1$ und nicht bei $0,5 \text{ mg/m}^3$ festgelegt. Eine neue, angepasste Humanstudie mit höherer Exposition und Ableitung des LOEC zur Überprüfung der Schlussfolgerungen aus der Beckett-Studie war daher erforderlich. Mit der im

IPA durchgeführten Studie sollte eine Dosis-Wirkungskurve für Kurzzeit-Effekte von nano-skalierten Zinkoxidpartikeln beschrieben werden.

Studienaufbau

Die Zinkoxid-(ZnO)-Nanopartikel wurden mit einem am IPA entwickelten und validierten Flammgenerator generiert (Monsé et al. 2014). Untersucht wurden 16 freiwillige, gesunde Probanden. Um weitere Einflussgrößen zu minimieren, wurden nur Personen, die nicht rauchten und keine Allergien hatten, eingeschlossen. Sie wurden gegenüber ZnO in einer mittleren Partikelgröße von weniger als 100 nm in Konzentrationen von $0, 0,5, 1,0$ und $2,0 \text{ mg/m}^3$ über jeweils vier Stunden bei zwischenzeitlicher Simulation arbeitstypischer, körperlicher Belastung durch Ergometrie exponiert. Die Exposition erfolgte mit doppelter Blindung (s. Info-Kasten). Lediglich bei der höchsten Konzentration von $2,0 \text{ mg/m}^3$ erfolgte aufgrund der Vorgaben der Ethikkommission eine einfache Blindung. Das Intervall zwischen den Expositionen betrug mindestens zwei Wochen. Es wurden je acht Frauen und Männer im mittleren Alter von 26 (19 -42) Jahren eingeschlossen.

Neben einer Eignungs- und einer Abschlussuntersuchung wurden die Probanden vor, sofort nach Exposition und nach etwa 24 Stunden medizinisch untersucht. Neben Symptomen wurden die folgenden objektiven Effektparameter ge-

Kurz gefasst

wählt: Körpertemperatur, Entzündungs- und Gerinnungsmarker im Blut, Entzündungsmarker im induzierten Sputum, Entzündungsmarker im Atemexhalat, kardiozirkulatorische Parameter wie die Herzfrequenzvariabilität und Repolarisation, pulmonale Parameter sowie das fraktionierte exhalierete Stickstoffmonoxid (FeNO). Die erhobenen Daten wurden statistisch analysiert und ausgewertet.

Für die Studie liegt ein positives Votum der Ethik-Kommission der Ruhr-Universität Bochum vor

Ergebnisse für Effektparameter

Für zahlreiche der untersuchten Effektparameter wie zum Beispiel sämtliche Lungenfunktions- und kardiozirkulatorischen Parameter wurden keine expositionsbedingten signifikanten Veränderungen gesehen.

Veränderungen zeigten sich dagegen bei den Symptomen „Fiebergefühl“, „Krankheitsgefühl“ und „Muskelschmerz“. Eine geringe Häufung dieser Beschwerden war bei einer Exposition gegenüber einer Konzentration von 2,0 mg/m³ ZnO vier Stunden nach Expositionsbeginn erkennbar.

Bei zwei Probanden traten bei einer Exposition gegenüber 1,0 mg/m³ ZnO und bei sechs Probanden bei einer Exposition gegenüber 2,0 mg/m³ ZnO Temperaturerhöhungen von mehr als 37,5 °C auf. Bei nur einem Probanden betrug die Temperaturerhöhung mehr als 37,5 °C sowohl bei 1,0 als auch bei 2,0 mg/m³ ZnO.

Da die Probanden ihren Nachtschlaf nicht zur Messung der Temperatur unterbrachen, kann über den Verlauf des Temperaturanstiegs zwischen etwa 12 Stunden und 24 Stunden nach der Exposition keine Aussage gemacht werden. Insgesamt passt jedoch der zeitliche Verlauf der angegebenen Beschwerden und der Temperatur zur Annahme der Ausbil-

LOEC = Lowest observed effect concentration: Ein toxikologischer Endpunkt in der Toxizitätsbestimmung, um die Toxizität einer Substanz anzugeben. Die geringste Konzentration beziehungsweise Dosis eines Toxins, die eine statistisch messbare Wirkung auf den untersuchten Organismus zeigt.

NOEL = No Observed Effect Level: Ein toxikologischer Endpunkt in der Toxizitätsbestimmung. Der NOEL entspricht der höchsten Dosis oder Expositionskonzentration eines Stoffes in subchronischen oder chronischen Studien, bei der keine statistisch signifikante Wirkung beobachtet werden kann.

(Quelle: Wikipedia)

- Zinkoxid (ZnO) kann bei verschiedenen Arbeitsprozessen wie zum Beispiel dem Schweißen freigesetzt werden.
- Im Expositionslabor des IPA wurde eine Studie zur Darstellung einer Dosis-Wirkungsbeziehung für ZnO mit den Konzentrationen 0, 0,5, 1,0 und 2,0 mg/m³ durchgeführt.
- Es konnten nur bei wenigen Parametern konzentrationsabhängige Effekte nachgewiesen werden.
- Aufgrund dieser Studie wäre ein NOEL zwischen 0,5 und 1,0 mg/m³ ZnO abzuleiten.

dung eines „Zinkfiebers“ sechs bis zehn Stunden nach der Exposition gegenüber 2,0 mg/m³ ZnO.

Die Konzentration von C-reaktivem Protein (CRP) im Serum ist ein empfindlicher Entzündungsparameter. Im untersuchten Kollektiv zeigte sich nach 24 Stunden ($p < 0,0001$) eine Dosis-Wirkungsbeziehung, wobei der Anstieg im Vergleich zur Nullexposition bei 2,0 mg/m³ ZnO statistisch signifikant war ($p < 0,0001$).

Ebenso zeigte sich für die Konzentration eines weiteren Entzündungsparameters Serum Amyloid A (SAA) nach 24 Stunden eine Dosis-Wirkungsbeziehung, wobei der Anstieg im Vergleich zur Nullexposition bei 1,0 und 2,0 mg/m³ ZnO statistisch signifikant war ($p=0,0076$ bzw. $p=0,0002$). Die Korrelation zwischen CRP- und SAA-Serum-Konzentrationen betrug $r=0,78$.

Der prozentuale Anteil der neutrophilen Granulozyten im Blut als Hinweis für eine mögliche Infektion war 24 Stunden nach allen Expositionen gegenüber der Nullexposition statistisch signifikant erhöht ($p < 0,0001$). Es zeigte sich nach 24 Stunden eine Dosis-Wirkungsbeziehung (Abb. 1).

Der Anteil der neutrophilen Granulozyten war unter Belastung bei Nullexposition direkt nach Beendigung des Aufenthalts im Expositionslabor etwa so hoch wie bei der Exposition bei 1,0 mg/m³ ZnO nach 24-Stunden. Zum Zeitpunkt der Abschlussuntersuchung waren alle Werte wieder im Bereich der Ausgangswerte (Abbildung 1).

Sputumanalysen wurden jeweils nur einmalig 24 Stunden nach Expositionsbeginn durchgeführt. Zum Vergleich der Daten lagen Sputa aus der Eignungs- und Abschlussuntersuchung sowie der Nullexposition vor. Der Verlauf der neu-

trophilen Granulozyten im Sputum und von IL-8 zeigte eine statistisch signifikante Änderung bei 0,5 und 2,0 mg/m³ ZnO, nicht jedoch bei 1,0 mg/m³ ZnO. Eine Dosis-Wirkungsbeziehung war nicht zu erkennen.

Als weitere Markerproteine für eine Entzündungsreaktion wurden die Matrix-Metalloprotease 9 (MMP 9) und die Tissue-Inhibitor Metalloproteinase-1 (TIMP-1) gemessen. Der Anstieg der Konzentrationen war bei allen Expositionen statistisch signifikant. Auch hier war eine Dosis-Wirkungsbeziehung nicht zu erkennen.

Nachweis konzentrationsabhängiger Effekte

Zusammenfassend konnten in der von uns durchgeführten Zinkoxidstudie mit Nanopartikeln bei ZnO-Konzentrationen von 0,5, 1,0 und 2,0 mg/m³ nur bei wenigen einzelnen Parametern konzentrationsabhängige Effekte nachgewiesen werden. Es traten bei einer Konzentration von 2,0 mg/m³ ZnO etwas häufiger grippeähnliche (flu-like) Symptome wie Fiebergefühl, Krankheitsgefühl oder Muskelschmerz auf. Diese Symptome sind in der Literatur als „ZnO-typisch“ beschrieben (Kuschner et al. 1995).

Der Rückgang des belastungsbedingten Anstiegs der Zahl neutrophiler Granulozyten im Blut erfolgte ab 1,0 mg/m³ ZnO verzögert. Unter Berücksichtigung von Rangfolgetabellen waren die Werte bei 2,0 mg/m³ ZnO gegenüber den Kontrollbedingungen eindeutig auffällig und wiesen zugleich eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung auf. Die Akutphaseproteine CRP und SAA zeigten einen konzentrationsabhängigen Anstieg bei 1,0 mg/m³ und 2,0 mg/m³ ZnO. Im Sputum waren die neutrophilen Granulozyten, IL-8, MMP-9 und TIMP-1 bereits bei einer Konzentration von 0,5 mg/m³ ZnO erhöht, allerdings ohne Konzentrations-Wirkungs-Beziehung. Sämtliche weitere Parameter im Sputum waren ohne ZnO-assoziierte Effekte. Der Verlauf der Sputumparameter unterscheidet sich von den oben beschriebenen systemischen Parametern (Temperatur, Blutparameter) insofern, als bereits bei 0,5 mg/m³ ZnO Konzentrationsanstiege von Entzündungsmarkern gemessen wurden. Eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung war dabei nicht oder deutlich weniger darzustellen. Der Verlauf der Sputumparameter deutet somit eher auf einen On-off-Effekt als auf eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung hin. Uns liegen keine Vergleichsdaten aus anderen Untersuchungen zur Bedeutung der Konzentrationsänderungen von Sputumparametern bei stufenweise applizierter Partikelkonzentration vor. Wir können bislang diese Effekte weder eindeutig interpretieren noch einer spezifischen ZnO- oder allgemeinen (Nano-) Partikelwirkung zuordnen.

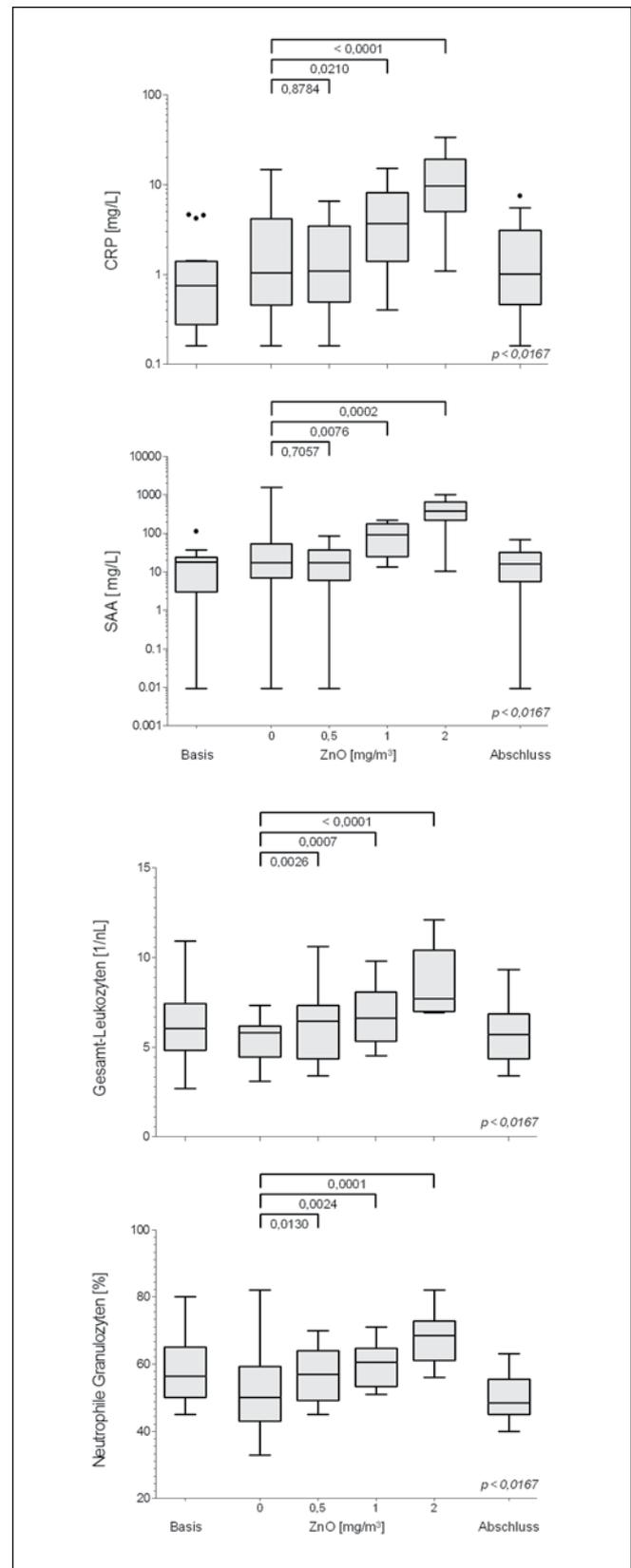


Abb. 1: Effektparameter mit signifikanten Veränderungen im Blut 24 Stunden nach Exposition (nach: Monsé et al. 2018).

Befunde kompatibel mit früheren Studien

Die Befunde sind unter Berücksichtigung unterschiedlicher Expositionsbedingungen kompatibel mit einer früheren Studie mit ZnO-haltigen Schweißrauch. Diese dauerte sechs Stunden mit einer kürzeren körperlichen Belastungsphase und beschrieb einen NOEL für zinkhaltige Schweißrauche zwischen 0,9 und 1,2 mg/m³ Zink, was einer ZnO-Konzentration von ca. 1,1 und 1,4 mg/m³ entspricht (Brand et al. 2014). Dabei ist zu berücksichtigen, dass der quantitative Vergleich beider Studien nur eingeschränkt möglich ist, da unterschiedliche Partikelgrößen verwendet wurden. Außerdem haben Brand et al. die ZnO-Konzentration offensichtlich nicht gemessen, sondern aus einer anderen Studie abgeschätzt.

In der Literatur finden sich keine experimentellen Humanstudien mit mehreren Partikel-Konzentrationen. Der Grund hierfür ist in dem überaus hohen Aufwand zur Durchführung einer solchen Studie zu sehen. Für die unterschiedlichen Konzentrationen waren 224 Untersuchungszeitpunkte erforderlich. Die Probandenauswahl mit nicht oder wenig allergischen Probanden war ebenfalls aufwändig. Durch die Darstellung einer Dosis-Wirkungsbeziehung für systemische Effekte können die gemessenen Effekte besser interpretiert und von zufälligen Ereignissen abgegrenzt werden. Wir interpretieren die systemischen ZnO-induzierten Effekte als Effekte von resorbierten Zn-Ionen, insofern sind die Ergebnisse nicht auf inerte Partikel wie granuläre biobeständige Stäube (GBS) übertragbar.

Fazit

Bei einer ZnO-Konzentration von 2 mg/m³ kommt es zwar noch zu keinen erkennbaren Veränderungen von Lungenfunktion oder kardiozirkulatorischen Parametern. Einzelne Probanden reagieren dann aber bereits mit grippe-ähnlichen Symptomen wie Fieber. Auch bei 1 mg/m³ wurden statistisch signifikante Änderungen einzelner Parameter beschrieben, deren mögliche Adversität und gesundheitliche Relevanz jedoch kritisch zu diskutieren sind. Ein NOEL wäre aufgrund dieser Studie zwischen 0,5 und 1,0 mg/m³ ZnO abzuleiten.

Blindung

In den meisten Fällen werden Studien als Doppelblindstudien durchgeführt. Hier sind weder die beteiligten Ärztinnen und Ärzte noch die teilnehmenden Personen informiert.

Bei einfach verblindeten Studien ist nur einer der Beteiligten verblindet, also entweder die Studienärztin beziehungsweise der Studienarzt oder die Probanden.

Die Untersuchungen wurden mit finanzieller Unterstützung der Wirtschaftsvereinigung Metalle durchgeführt.

Die Autoren:

**Prof. Dr. Thomas Brüning, Dr. Christian Eisenhauer,
Dr. Olaf Hagemeyer,
Prof. Dr. Rolf Merget, Dr. Christian Monsé**
IPA

Literatur

Beckett W S, Chalupa D F, Puly-Brown A, Speers D M, Stewart J C, Frampton M W, Utell M J, Huang L S, Cox C, Zareba W, Oberdörster G: Comparing inhaled ultrafine versus fine zinc oxide particles in healthy humans. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 171: 1129-1135

Brand P, Bauer M, Gube M, Lenz K, Reisinger U, Spiegel-Ciobanu V E, Kraus T: Relationship between welding fume concentration and systemic inflammation after controlled exposure of human subjects with welding fumes from metal inert gas brazing of zinc-coated materials. *J Occup Environ Med.* 2014; 56: 1-5

Kuschner WG, D'Alessandro A, Wintermeyer SF, Wong H, Boushey HA, Blanc PD. Pulmonary responses to purified zinc oxide fume. *J Investig Med.* 1995; 43: 371-378

Monsé C, Monz C, Dahmann D, Asbach C, Stahlmecke B, Lichtenstein N, Buchwald K-E, Merget R, Bünger J, Brüning T: Development and Evaluation of a Nanoparticle Generator for Human Inhalation Studies with Airborne Zinc Oxide. *Aerosol Sci Technol* 2014; 48: 418-426

Monsé C, Hagemeyer O, Raulf M, Jettkant B, van Kampen V, Kendzia B, Gering V, Kappert G, Weiß T, Ulrich N, Marek EM, Bünger J, Brüning T, Merget R: Concentration-dependent systemic response after inhalation of nano-sized zinc oxide particles in human volunteers. *Particle Fibre Toxicol* 2018; 15: 8