

**Untersuchungen zur genetischen Toxizität von Emissionen  
aus Laserdruckern in humanen A549-Zellen  
mittels VITROCELL® Kultivierungs- und Expositionsmodul**

Tao Tang, Richard Gminski und Volker Mersch-Sundermann

aus dem

Institut für Umweltmedizin und Krankenhaushygiene

Department of Environmental Health Sciences

(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. habil. Volker Mersch-Sundermann)

Medizinische Fakultät der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Breisgau

Universitätsklinikum

**Freiburg, den 10.05.2010**

## Zusammenfassung

Frühere Studien zu den biologischen Wirkungen von Tonerpartikeln, aber auch von komplexen Emissionen aus Laserdruckern und Kopierern während des Druckvorgangs warfen die Frage auf, ob bei Exposition gegenüber Bestandteilen von Tonern bzw. den Emissionen während des Druckvorgang genotoxische, d.h. mutagene bzw. DNA-schädigende oder auch karzinogene Effekte zu erwarten sind (Goud et al., 2001, 2004; Gadhia et al., 2005; Pott und Roller, 2005; Roller 2008; Mersch-Sundermann et al., 2010 zur Publikation eingereicht).

Ziel der durchgeführten Studie<sup>1</sup> war es, vor diesem Hintergrund zu untersuchen, ob die beim Betrieb von fünf modellhaft ausgewählten, gebrauchten Laserdruckern freigesetzten Stoffe toxische Wirkungen in humanen Zellen besitzen.

Zu diesem Zweck wurden Studien an fünf Laserdruckern (bezeichnet mit A bis E; Herstellungsjahre: 1997-2006) durchgeführt, die in einem 1 m<sup>3</sup> großen, als Emissionskammer umkonstruierten Edelstahl-Klimaschrank (Fa. ESPEC, Typ PR-4ST) aufgestellt wurden (Luftwechselrate: 1/h). Der bis zu 1-stündige Druckprozess (BAM-Druckvorlage) wurde von extern gestartet und die Kammerluft dann direkt auf humane A549-Zellen geleitet, die in einem Vitrocell®-Expositionssystem auf einer semipermeablen Membran als Monolayer kultiviert waren. Das Vitrocell®-System ermöglicht – anders als submerse Zellkulturen - eine Exposition von Zielzellen mit luftgetragenen Stoffen direkt an der Luft/Zell-Grenzfläche.

Neben Temperatur, Luftfeuchte, Ozon-, TOC- und VOC/TVOC-Konzentrationen wurden Feinstaubkonzentrationen (PM10, PM2.5 und PM1.0) mittels Laserpartikelzähler (Fa. Grimm, Modell 1.108) sowie Partikel im Nanometerbereich (10 nm – 1000 nm) mittels Kondensationspartikelzähler (Fa. TSI Modell 3007) in der Kammeratmosphäre - soweit möglich - online erfasst. Eine chemische Spezifizierung der Partikel wurde in dieser Studie nicht vorgenommen, was für die Fragestellung toxischer Effekte primär auch eher bedeutungslos ist.

Zur Ermittlung toxischer Effekte wurde in den A549-Zellkulturen die Zytotoxizität mittels WST-1-Assay (intakte Atmungskette, mitochondriale Integrität) sowie die Induktion von Mikrokernen nach Cytokinese-Block als Indikator für genetische Toxizität (klastogene und aneugene Wirkungen) vor und während verschiedener Druckphasen untersucht. Bei A549 handelt es sich um eine breit eingesetzte Bronchialkarzinomzelllinie, die typische epitheliale Eigenschaften besitzt, metabolisch kompetent und damit ähnlich den Typ-II-Alveolarzellen ist (Giard et al., 1973; Lieber et al., 1976; Forster et al. 1998).

---

<sup>1</sup> Teile der Studie wurde von der „Stiftung Viamedica – Stiftung für eine gesunde Medizin“, Freiburg, und der „Stiftung nanoControl – Atmen heißt Leben“, Hamburg finanziert. Die Studie wurde geleitet durch Dr. rer. nat. Richard Gminski, Leiter der AG „Innenraumtoxikologie“ am Institut für Umweltmedizin und Krankenhaushygiene, Freiburg

Die untersuchten Laserdrucker emittierten je nach Druckprozess (S/W-Druck, Farbdruck, Papierart) zahlreiche verschiedene VOC in – bezogen auf die Einzelsubstanzen – niedrigen Konzentrationen von jeweils nur einigen  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  in der Kammerluft mit TVOC-Konzentrationen, die im Maximum einige hundert  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  über der Reinluftkontrolle lagen.

Die Ozonkonzentrationen in der Kammerluft erhöhten sich im Vergleich zum Stand-by-Betrieb während des Druckprozesses um 2 bis 18  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ .

Die  $\text{PM}_{10}$ -Feinstaubkonzentrationen beim Druckbetrieb erreichten im Maximum 7,4  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ; bezeichnend war allerdings, dass – wie bereits in der 2007 abgeschlossenen Büroraumstudie (Mersch-Sundermann 2007) tendenziell gezeigt wurde – bei drei der untersuchten Drucker (C, D+E) während des Druckvorgangs ein Anstieg der mittleren Zahl nanoskaliger Partikel (auch „initial burst“) um Faktoren von etwa  $2,0 \times 10^4$  (C)  $1,6 \times 10^2$  (D) und  $1,4 \times 10^3$  (E) im Vergleich zur Reinluftkontrolle beobachtet werden konnte.

Die Emissionen aus zwei der untersuchten Drucker führten in A549-Zellen im Vergleich zur Reinluftkontrolle nach 1-stündiger Exposition zu einer signifikant ( $p < 0,001$ ) erhöhten Induktion von Mikrokernen als Zeichen genetischer Toxizität bei fehlender Zytotoxizität. Interessanterweise zeigte sich eine Reduktion der Zellviabilität um knapp 40% nur bei Drucker E und nur bei Einsatz von Recyclingpapier. Die Emissionen aus den Druckern D und E induzierten  $20,8 \pm 3,0$  ( $n=5$ ) bzw.  $24,8 \pm 2,8$  Mikrokerne ( $n=5$ ) im Vergleich zur Reinluftkontrolle mit  $6,8 \pm 1,3$  Mikrokernen ( $n=6$ ). Bei einem der fünf untersuchten Drucker (D) konnte eine Mikrokerninduktion bereits nach  $\frac{1}{2}$ -stündiger Exposition und Druck von (nur) 100 Seiten gesehen werden.

Bei aller Vorsicht im Hinblick auf die Interpretation und die Limitierungen der durchgeführten *in vitro*-Studie, zeigen die Ergebnisse, dass durch Exposition gegenüber den Emissionen von zwei der fünf untersuchten Laserdrucker prinzipiell und signifikant gentoxische Effekte in humanen Zielzellen induziert werden können, wobei aufgrund des kleinen Kammervolumens und der ebenfalls kleinen Zelloberfläche bezüglich der Exposition „worst-case“-Bedingungen widerspiegelt werden. Dabei bleibt wegen der vorerst limitierten Anzahl der untersuchten Geräte ungeklärt, welche Komponenten in den Emissionen für die DNA-Schäden verantwortlich zeichnen.

Insgesamt handelt es sich bei den eingesetzten Methoden, den Emissionsmessungen, der A549-Zelllinie, dem Vitrocell®-Transwellssystem wie auch der Toxizitätsassays (biologische Endpunkte) um standardisierte Verfahren bzw. evaluierte Labormodelle mit breiter Anwendung bei unterschiedlichen, so auch toxikologischen Fragestellungen. Um ein Risiko für den Menschen abzuleiten, sind weitere Studien unerlässlich, die die Ergebnisse der vorliegenden Studie z.B. in Tier- und/oder Humanstudien absichern und Kenntnisse über mögliche Dosiswirkungen generieren zu können.