



# Untersuchungen zur Zytotoxizität und Genotoxizität von ausgewählten flüchtigen organischen Verbindungen (VOC) unter Verwendung eines neuartigen biologischen Kammeremissions- und -expositionssystems (BIKAS): ein Ansatz zur Risikobewertung von flüchtigen Innenraumschadstoffen

Gminski R., Tang T., Mersch-Sundermann V.

Institut für Innenraum- und Umwelttoxikologie (IIUT), Justus-Liebig-Universität Gießen, Universitätsklinikum Gießen und Marburg, Deutschland



## EINLEITUNG

Bauprodukte und Einrichtungsgegenstände können eine bedeutsame Quelle für die Belastung der Innenraumluft durch flüchtige organische Verbindungen (VOC) darstellen. Ein erhebliches Problem bei der Untersuchung solcher VOC mittels *in vitro*-Systemen (Zellkulturen) besteht darin, dass Zellen in konventionellen Kulturen nicht gegenüber Gasen exponiert werden können. Zur Untersuchung der zellbiologischen Wirkung flüchtiger Stoffe müssen daher die Stoffe entweder in flüssiger Form in die Zellkulturen eingebracht oder in anderen Modellen, z.B. in kostenintensiven Tierstudien untersucht werden. Um die Wirkung gasförmiger Substanzen bzw. komplexer Emissionen aus Materialien und Baustoffen an humanen Lungenzellkulturen untersuchen zu können, wurde ein biologisches Kammeremissions- und -expositionssystem (BIKAS) entwickelt und am Modell-VOC Limonen untersucht. Limonen wird vorwiegend als Duftstoff oder als Lösungsmittel eingesetzt und dient als Reiniger und Verdünnungsmittel z.B. in der Lackindustrie.

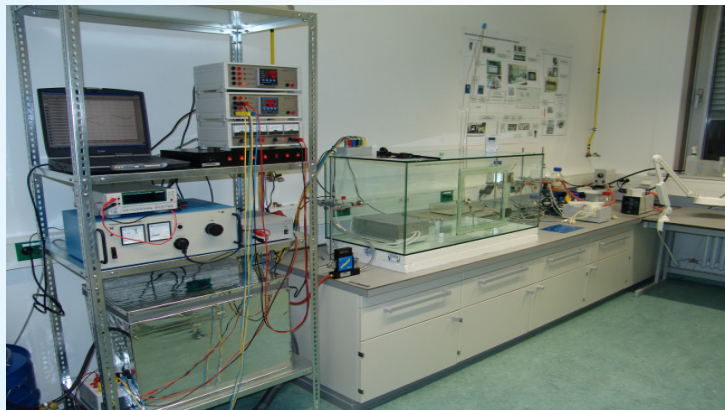


Abb. 1: BIKAS, entwickelt am IIUT der JLU Gießen, kann biologische bzw. toxische Effekte von VOC-Emissionen aus Bauprodukten direkt in humanen Lungenzellkulturen erfassen (Gesamte Anlage mit den Kernstücken des Cultex®-Systems der Fa. Vitrocell und der Emissionskammer)

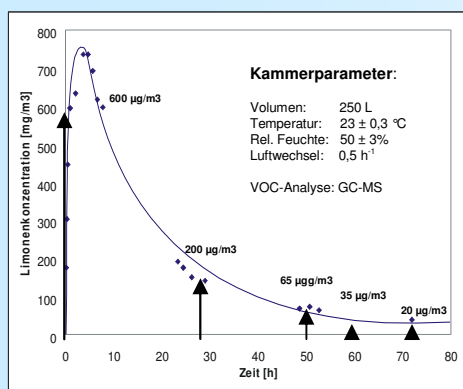


Abb. 2: BIKAS-Kammeruntersuchung. Modell-VOC: Limonen

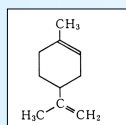


Abb. 3 Cultex®-Zellkultursystem von Vitrocell

## MATERIAL & METHODEN

BIKAS basiert auf einer Kombination bestehender Technologien, die in einem elektronisch geregelten System zusammengefügt wurden (Abb. 1). Herzstück von BIKAS ist eine Emissionskammer (V=0,25 m<sup>3</sup>), in der unter kontrollierten Temperatur-, Feuchte-, Luftwechsel- und Strömungsbedingungen (Temperatur 22 °C, Flussrate 2,2 ml/min, Feuchte 50%, Luftwechsel 0,5 h<sup>-1</sup>) Konzentrationsgradienten (Abb. 2) flüchtiger Stoffe aus verschiedenen Prüfmateriale eingestellt werden, sowie ein Transwell-Zellkultursystem unter Verwendung des Cultex®-Systems (Vitrocell, Abb. 3), mittels der humane Lungenzellen A549 direkt, d.h. an der Zelloberfläche gegenüber den in der Kammer eingestellten Stoffkonzentrationen des Modell-VOC Limonen für 1 h exponiert werden. Parallel zu den biologischen Messungen (Zytotoxizität, Genotoxizität) findet eine Analyse der VOC mittels Probennahme auf Air-Toxic-Tubes<sup>®</sup> und anschließender GC-MS-Analyse nach Thermodesorption statt.

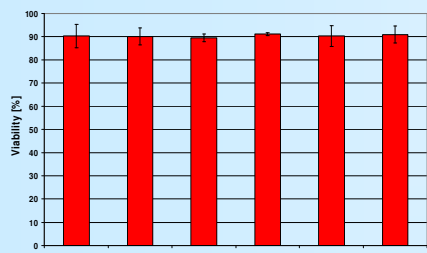


Abb. 4: Untersuchung der Viabilität (Erythrosin-B-Vitalfärbung) von humanen A549-Lungenzellen (Zellzahl: 7,5x10<sup>4</sup>) nach 1h Exposition gegenüber 0-600 mg/m<sup>3</sup> Limonen in der Expositionsluft (Flow: 5 ml/min) unter Einsatz von BIKAS und Cultex®-Transwell-System (4,6 cm<sup>2</sup>).

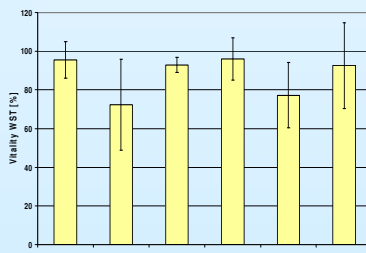


Abb. 5: Untersuchung der Viabilität (WST-Assay) von humanen A549-Lungenzellen (Zellzahl: 7,5x10<sup>4</sup>) nach 1h Exposition gegenüber 0-600 mg/m<sup>3</sup> Limonen in der Expositionsluft (Flow: 5 ml/min) unter Einsatz von BIKAS und Cultex®-Transwell-System (4,6 cm<sup>2</sup>).

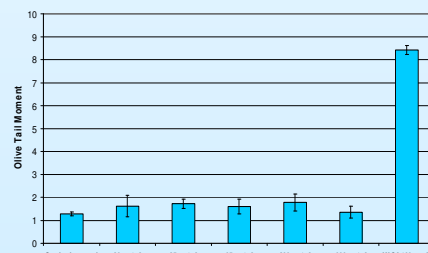


Abb. 6: Untersuchung von DNA-Brüchen (SCGE, COMET Assay) in humanen A549-Lungenzellen (Zellzahl: 7,5x10<sup>4</sup>) nach 1h Exposition gegenüber 0-600 mg/m<sup>3</sup> Limonen in der Expositionsluft (Flow: 5 ml/min) unter Einsatz von BIKAS und Cultex®-Transwell-System (4,6 cm<sup>2</sup>).

## ERGEBNISSE & ZUSAMMENFASSUNG

BIKAS kann biologische bzw. toxische Effekte von VOC-Emissionen aus verschiedenen Materialien und Bauprodukten, die in die Kammer eingebracht werden, direkt in humanen Lungenzellkulturen erfassen (biologische Prüfung). Die Vitalität/Proliferation wird derzeit mittels morphologischer Parameter, Erythrosin B- und WST-Test (Abb. 4 und 5), die Genotoxizität mittels Einzelzell-Gelelektrophorese-Assay (COMET Assay, Abb. 6) geprüft. Für Limonen als Modell-VOC wurden keine dosisabhängigen zytotoxischen und genotoxischen Effekte in humanen A549-Zellen gefunden. Die Eignung weiterer Endpunkte in diesem System wie die Klastogenese (Mikrokernelinduktion), Expression proinflammatorischer Zytokine (IL-6, IL-10, TNFα), die Änderung des Glutathiongehalts sowie die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) werden zur Zeit untersucht. Das hier vorgestellte biologische Prüfverfahren kann als Grundlage für eine gesundheitliche Bewertung sowohl von Bauprodukten (Holz, Holzwerkstoffen, Paneelen, Linoleum, Bodenbeläge, Dispersionswandfarben, Lacke, Dichtstoffe, Verlegewerkstoffe) als auch von Mobiliar und elektronischen Geräten wie Kopierer und Drucker dienen.

Kontakt: Prof. Dr. med. Volker Mersch-Sundermann, Institut für Innenraum- und Umwelttoxikologie (IIUT), Justus-Liebig-Universität Gießen, Universitätsklinikum Gießen und Marburg, Aulweg 123, 35385 Gießen, Germany; e-mail: volker.mersch-sundermann@uniklinikum-giessen.de; <http://www.uniklinikum-giessen.de/toxi>